Neue Aspekte in der Haaranalytik auf Cannabinoide und der Analytik im Bereich neuer Drogen

INAUGURALDISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades (Dr. rer. nat.)

der Fakultät für Chemie und Pharmazie

der Albert-Ludwigs-Universität Freiburg im Breisgau

vorgelegt von

Björn Moosmann

aus Freiburg im Breisgau

2015

Die praktischen Arbeiten zur Erstellung der vorliegenden Dissertation wurden im Zeitraum von Juli 2011 bis Oktober 2014 am Institut für Rechtsmedizin des Universitätsklinikums der Albert-Ludwigs-Universität Freiburg durchgeführt.

Vorsitzender des Promotionsausschusses:	Prof. Dr. Stefan Weber
Referent:	Prof. Dr. Rolf Schubert
Betreuer der Arbeit und Korreferent:	Prof. Dr. Volker Auwärter
Datum der Promotion:	25.06.2015

Vielen Dank

Die vorliegende Arbeit wäre ohne die Hilfe und Unterstützung zahlreicher Personen nicht möglich gewesen:

Besonders bedanken möchte ich mich bei Prof. Auwärter. Danke Volker für die Anstellung und die Überlassung des spannenden und abwechslungsreichen Promotionsthemas, für deine regelmäßige Bereitschaft die durchgeführten Studien und Versuche durch vollen Körpereinsatz zu unterstützen, für die Anregungen, das Vertrauen und für die Möglichkeit des selbstständigen Arbeitens.

Herrn Prof. Pollak danke ich für die Möglichkeit die Dissertation am Institut für Rechtsmedizin durchführen zu können, die finanzielle Unterstützung für nationale und internationale Tagungsreisen und Fortbildungen sowie die Hilfe bei ethischen Fragestellungen.

Herrn Prof. Schubert danke ich für die freundliche Aufnahme und Betreuung der Dissertation von Seiten der Fakultät für Chemie und Pharmazie und Frau Prof. Regine Süss für die Bereitschaft als Drittprüferin zur Verfügung zu stehen.

Der GTFCh und dem DAAD danke ich für die finanzielle Unterstützung die die Teilnahme an den TIAFT-Tagungen in San Francisco, Hamamatsu, Funchal und Buenos Aires ermöglicht haben.

„Meinen“ Praktikantinnen Anne Querner und Tsvetelina Valcheva sowie „meinem“ Praktikant Maurice Wilde danke ich für ihren Einsatz in den verschiedensten Projekten.

Meinen derzeitigen und ehemaligen Kolleginnen und Kollegen in der Arbeitsgruppe Forensische Toxikologie danke ich für die tolle Arbeitsatmosphäre und die stetige

Hilfsbereitschaft. Besonderer Dank gilt hierbei meinen Vorgängerinnen auf dem „Acid-Projekt“ Nadine Roth und Ariane Wohlfarth. Stefan Kneisel und Melanie Hutter danke ich für die engagierte Einarbeitung in die Thematik der synthetischen Cannabinoide, sowie Verena Angerer und Florian Franz für die aktuelle Zusammenarbeit in diesem Themengebiet und Laura Huppertz für die HRMS Messungen.

Volker Brecht, Sascha Ferlaino und Dr. Philippe Bisel danke ich für die zahlreichen Strukturbestätigungen der Designer Benzodiazepine und synthetischen Cannabinoide mittels NMR-Spektroskopie.

Frau Prof. Annette Thierauf-Emberger danke ich für ihre stetige Bereitschaft venöse Zugänge zu legen und für die zahlreichen Blutentnahmen.

Raija Hammer, Kathrin Riedy, Jens Klingele und Dr. Merja Neukamm möchte ich für die gute Zusammenarbeit in der Routineanalytik auf Benzodiazepine danken.

Meinen Freunden danke ich für die Unterstützung und das Verständnis wenn ich des Öfteren gefehlt habe.

Meinen Eltern und meinem Bruder danke ich für die bedingungslose Unterstützung.

Katja, danke, für die Motivation, für die fachlichen Diskussionen, für dein Verständnis wenn es wieder einmal wieder spät wurde, für die Unterstützung bei diversen Studien und für so vieles mehr.

Für euch beide!

Publikationsverzeichnis

Originalbeiträge, Erst-/Letztautorenschaften

- Moosmann B, Kneisel S, Girreser U, Brecht V, Westphal F, Auwärter V: Separation and structural characterization of the synthetic cannabinoids JWH-412 and 1-[(5-fluoropentyl)-1H-indol-3yl]-(4-methylnaphthalen-1-yl)methanone using GC-MS, NMR analysis and a flash chromatography system. *Forensic Sci Int*, 2012; 220: e17-e22.

- Moosmann B, Huppertz LM, Hutter M, Buchwald A, Ferlaino S, Auwärter V: Detection and identification of the designer benzodiazepine flubromazepam and preliminary data on its metabolism and pharmacokinetics. *J Mass Spectrom*, 2013; 48 (11): 1150-1159.

- Moosmann B, Hutter M, Huppertz LM, Ferlaino S, Redlingshöfer L, Auwärter V: Characterization of the designer benzodiazepine pyrazolam and its detectability in human serum and urine. *Forensic Toxicol*, 2013; 31 (2): 263-271.

- Moosmann B, Kneisel S, Wohlfarth A, Brecht V, Auwärter V: A fast and inexpensive procedure for the isolation of synthetic cannabinoids from 'Spice' products using a flash chromatography system. *Anal Bioanal Chem*, 2013; 405 (12): 3929-3935.

- Hutter M[#], Moosmann B[#], Kneisel S, Auwärter V: Characteristics of the designer drug and synthetic cannabinoid receptor agonist AM-2201 regarding its chemistry and metabolism. *J Mass Spectrom*, 2013; 48 (7): 885-894.
  [#] geteilte Erstautorenschaft

- Moosmann B, Roth N, Auwärter V: Hair analysis for THCA-A, THC and CBN after passive in vivo exposure to marijuana smoke. *Drug Test Anal*, 2014; 6 (1-2): 119-125.

- Moosmann B, Bisel P, Auwärter V: Characterization of the designer benzodiazepine diclazepam and preliminary data on its metabolism and pharmacokinetics. *Drug Test Anal*, 2014; 6 (7-8): 757-763.

- Moosmann B, Valcheva T, Neukamm MA, Angerer V, Auwärter V: Hair analysis of synthetic cannabinoids: does the handling of herbal mixtures affect the analyst's hair concentration? *Forensic Toxicol,* 2015; 33 (1): 37-44.

- Moosmann B, Angerer V, Auwärter V: Inhomogeneities in herbal mixtures - a serious risk for consumers. *Forensic Toxicol,* 2015; 33 (1): 54-60.

- Moosmann B, Roth N, Hastedt M, Jacobsen-Bauer A, Pragst F, Auwärter V: Cannabinoid findings in children hair - what do they really tell us? An assessment in the light of three different analytical methods with focus on interpretation of Δ9-tetrahydrocannabinolic acid A concentrations. *Drug Test Anal*, 2015; 7 (5): 349-357.

- Huppertz LM, Bisel P, Westphal F, Franz F, Auwärter V, Moosmann B: Characterization of the four designer benzodiazepines clonazolam, deschloroetizolam, flubromazolam and meclonazepam, and identification of their in vitro metabolites. *Forensic Toxicol,* DOI: 10.1007/s11419-015-0277-6.

- Moosmann B, King LA, Auwärter V: Designer benzodiazepines: a new challenge. *World Psychiatry*, DOI: 10.1002/wps.20236.

- Moosmann B, Roth N, Auwärter V: Hair analysis for Δ9-tetrahydrocannabinolic acid A (THCA-A) and Δ9-tetrahydrocannabinol (THC) after handling cannabis plant material. *Drug Test Anal* (zur Publikation angenommen).

- Moosmann B, Roth N, Auwärter V: Finding cannabinoids in hair does not prove cannabis consumption. (eingereicht).

Originalbeiträge, Co-autorenschaften

- Roth N, Moosmann B, Auwärter V: Development and validation of an LC-MS/MS method for quantification of Δ9-tetrahydrocannabinolic acid A (THCA-A), THC, CBN and CBD in hair. *J Mass Spectrom*, 2013; 48 (2): 227-233.

- Kneisel S, Speck M, Moosmann B, Auwärter V: Stability of 11 prevalent synthetic cannabinoids in authentic neat oral fluid samples: glass versus polypropylene containers at different temperatures. *Drug Test Anal*, 2013; 5 (7): 602-606.

- Kneisel S, Speck M, Moosmann B, Corneillie TM, Butlin NG, Auwärter V: LC/ESI-MS/MS method for quantification of 28 synthetic cannabinoids in neat oral fluid and its application to preliminary studies on their detection windows. *Anal Bioanal Chem*, 2013; 405 (14): 4691-4706.

- Koller V, Auwärter V, Zlabinger J, Grummt T, Moosmann B, Knasmueller S: Investigation of the in vitro toxicological properties of the synthetic cannabimimetic drug CP-47,497-C8. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 2014, 277 (2): 164-171.

- Hutter M, Moosmann B, Auwärter V, Neukamm MA: Hair analysis for JWH-018, JWH-122 and JWH-210 after passive in vivo exposure to synthetic cannabinoid smoke. *Forensic Toxicol* 2015; 33 (1): 69-76.

Sonstige Veröffentlichungen

- Moosmann B, Auwärter V: World Health Organization: critical review on AM-2201.
  http://www.who.int/medicines/areas/quality_safety/4_7_review.pdf?ua=1

- Moosmann B, Auwärter V: World Health Organization: critical review on JWH-018.
  http://www.who.int/medicines/areas/quality_safety/4_5_review.pdf?ua=1

- Moosmann B, Auwärter V: World Health Organization: critical review on JWH-073.
  http://www.who.int/medicines/areas/quality_safety/4_6_review.pdf?ua=1

- Kneisel S, Westphal F, Moosmann B, Brecht V, Bisel P, Vidal C, Jacobsen-Bauer A, Bork W, Auwärter V: Trends auf dem Gebiet der synthetischen Cannabinoidmimentika: Massenspektren und ATR-IR-Spektren neuer Verbindungen aus dem Zeitraum Ende 2010 bis 2011. *Toxichem Krimtech*, 2011, 78 (3): 468-479.

- Kneisel S, Westphal F, Moosmann B, Brecht V, Bisel P, Vidal C, Jacobsen-Bauer A, Bork W, Auwärter V. Cannabimimetics II: Mass spectra and ATR-IR spectra of new compounds between the end of 2010 and late 2011. *TIAFT Bulletin,* 2011, 41 (3): 29-38.

- Hutter M, Moosmann B, Wurst FM, Auwärter V: Benzodiazepine in der Fahreignungsdiagnostik - Immunoassay versus Flüssigchromatographie-Tandemmassenspektrometrie (LC-MS/MS). Tagungsband 7. Gemeinsames Symposium der DGVP 2011.

Konferenzbeiträge, Vorträge

- Moosmann B, Kneisel S, Auwärter V: A fast and inexpensive procedure for the isolation of synthetic cannabinoids from 'Spice' products using a flash chromatography system. 2012 (Young scientists symposium of the 50th Annual meeting of The International Association of Forensic Toxicologists (TIAFT), Hamamatsu, Japan, 03.-08.06.2012).

- Moosmann B, Roth N, Auwärter V: Study on the external contamination of hair through sidestream marijuana smoke. 2012 (The 50th Annual Meeting of the International Association of Forensic Toxicologists (TIAFT), Hamamatsu, Japan, 03.-08.06.2012).

- Moosmann B, Kneisel S, Auwärter V: Trennung und strukturelle Charakterisierung von synthetischen Cannabinoiden mittels GC-MS, NMR-Analyse und Flash Chromatographie. 2012 (Herstellerseminar der Firma Axel Semrau, Frankfurt (Main)).

- Moosmann B, Roth N, Auwärter V: Studie zur Kontamination von Kopfhaar durch Marihuanarauch. Rechtsmedizin, 2012; 22 (4): 285 (91. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Rechtsmedizin, Freiburg, 18.-22.09.2012).

- Moosmann B, Kneisel S, Auwärter V: Trennung und strukturelle Charakterisierung von synthetischen Cannabinoiden mittels GC-MS, NMR-Analyse und Flash Chromatographie. 2013 (Neue Techniken für die Synthese, Herstellerseminar, Fa. Axel Semrau, Berlin).

- Moosmann B, Hutter M, Huppertz LM, Auwärter V: Charakterisierung der Designer-Benzodiazepine Pyrazolam und Flubromazepam: Analytik, Metabolismus und Pharmakokinetik. Rechtsmedizin, 2013; 23 (4): 308

(92. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Rechtsmedizin, Saarbrücken, 17.-21.09.2013).

- Moosmann B, Angerer V, Hutter M, Franz F, Auwärter V: Synthetic cannabinoid receptor agonists: methods of detection and current knowledge on toxicity. 2014 (New Drugs 2014, Rom, Italien 14-15.05.2014).

- Moosmann B, Roth N, Hastedt M, Jacobsen-Bauer A, Pragst F, Auwärter V: Cannabinoid findings in children hair – What do they really tell us? 2014 (19th Annual meeting of the Society of Hair Testing (SoHT), Bordeaux, Frankreich, 11-13.06.2014).

- Moosmann B, Roth N, Hastedt M, Jacobsen-Bauer A, Pragst F, Auwärter V: Cannabinoid findings in children hair – What do they really tell us? 2014 (Alternative sampling strategies in toxicology and therapeutic drug monitoring, Ghent, Belgien, 18-19.09.2014).

- Moosmann B, Auwärter V: Δ^9-Tetrahydrocannabinol (THC) and 11-*nor*-9-carboxy-THC (THC-COOH) findings in hair samples after controlled oral intake of dronabinol. 2014 (The 52nd Annual Meeting of the International Association of Forensic Toxicologists (TIAFT), Buenos Aires, Argentinien , 09.-13.11.2014).

- Moosmann B, Angerer V, Franz F, Huppertz L, Hutter M, Auwärter V: Synthetic cannabinoid receptor agonists. 2014 (Silamed, Montreux, Schweiz, 18-20.11.2014).

- Moosmann B, Auwärter V: Screeningverfahren für neue psychoaktive Substanzen – Möglichkeiten und Grenzen von immunochemischen Analysen. 2014 (13. Expertenworkshop, Hanau, 20.-21.11.2014).

- Moosmann B, Auwärter V: Δ^9-Tetrahydrocannabinol (THC) and 11-*nor*-9-carboxy-THC (THC-COOH) findings in hair samples after controlled oral intake of dronabinol. 2015 (XIX. GTFCh-Symposium, Mosbach (Baden), 16.-18.04.2015).

- Moosmann B, Auwärter V: Δ^9-Tetrahydrocannabinol (THC) and 11-*nor*-9-carboxy-THC (THC-COOH) findings in hair samples after controlled oral intake of dronabinol. 2015 (20th meeting of the Society of Hair Testing, São Paulo, Brasilien, 03.–06.05.2015).

Konferenzbeiträge, Poster

- Moosmann B, Kneisel S, Auwärter V: A fast and inexpensive procedure for the isolation of synthetic cannabinoids from 'Spice' products using a flash chromatography system. 2011 (Joint Meeting of the Society of Forensic Toxicologists (SOFT) & The International Association of Forensic Toxicologists (TIAFT), San Francisco, USA, 25.-30.9.2011).

- Moosmann B, Roth N, Auwärter V: Hair analysis for THCA-A, THC and CBN after handling cannabis plant material. Toxichem Krimtech, 2013; 80 (2): 138 (XVIII. GTFCh-Symposium, Mosbach (Baden), 18.-20.04.2013).

- Moosmann B, Roth N, Auwärter V: Hair Analysis for THCA-A, THC and CBN after handling cannabis plant material. 2013 (51st Annual Meeting of the International Association of Forensic Toxicologists (TIAFT), Funchal, Portugal, 02.-06.09.2013).

- Moosmann B, Hutter M, Huppertz LM, Auwärter V: Characterization of the designer benzodiazepines pyrazolam and flubromazepam and study on their detectability in human serum and urine. 2013 (51st Annual Meeting of the International Association of Forensic Toxicologists (TIAFT), Funchal, Madeira, Portugal, 02. – 06.09.2013).

- Moosmann B, Hutter M, Huppertz LM, Auwärter V: Characterization of the designer benzodiazepines pyrazolam and flubromazepam and study on their detectability in human serum and urine. 2013 (DPhG Annual Meeting, Freiburg, 9. - 11. Oktober 2013).

- Moosmann B, Roth N, Hastedt M, Jacobsen-Bauer A, Pragst F, Auwärter V: Cannabinoid findings in children hair – What do they really tell us? 2014 (The 52nd Annual Meeting of the International Association of Forensic Toxicologists (TIAFT), Buenos Aires, Argentinien , 09.-13.11.2014).

Wissenschaftliche Auszeichnungen

- Young Scientists Award for Best Poster at the Annual Meeting of TIAFT, San Francisco, USA, 2011, 30.09.2011.

Abkürzungsverzeichnis

11-OH-THC	11-Hydroxy- Δ^9-tetrahydrocannabinol
AUC	Fläche der Konzentrations-Zeit-Kurve (area under the curve)
CB	Cannabinoidrezeptor
CBD	Cannabidiol
GABA	γ–Aminobuttersäure
GC	Gaschromatographie
HR-MS	Hochaufgelöste Massenspektrometrie
HWZ	Eliminationshalbwertszeit
IR	Infrarot
LC	Flüssigkeitschromatographie
MS	Massenspektrometrie
NMR	Kernspinresonanzspektroskopie
NPS	Neue Psychoaktive Subtanzen
THC	Δ^9-Tetrahydrocannabinol
THCA-A	Δ^9-Tetrahydrocannabinolsäure A
THC-COOH	11-*Nor*-9-carboxy-Δ^9-tetrahydrocannabinol

Inhaltsverzeichnis

1. EINLEITUNG 1

1.1 Cannabis sativa 1
1.1.1 Inhaltsstoffe 1
1.1.2 Δ^9-Tetrahydrocannabinolsäure A 3
1.1.3 Metabolismus 4

1.2 Synthetische Cannabinoide 5
1.2.1 Klassifizierung 5
1.2.2 Synthetische Cannabinoide in Drogenzubereitungen 7

1.3 Haaranalytik 9
1.3.1 Einlagerung von Substanzen in das Haar 10
1.3.2 Haaranalytik auf pflanzliche Cannabinoide 10
1.3.3 Haaranalytik auf synthetische Cannabinoide 13

1.4 Designer Benzodiazepine 15
1.4.1 Klassifizierung 16
1.4.2 Wirkmechanismus 18
1.4.3 Pharmakokinetik 18

1.5 Ziele der Arbeit 21

2. PUBLIKATION DER ERGEBNISSE 22

2.1. Haaranalytik auf pflanzliche Cannabinoide 22

2.2. Synthetische Cannabinoide 95

2.3. Designer Benzodiazepine 138

3. ZUSAMMENFASSUNG UND AUSBLICK 191

3.1. Haaranalytik auf pflanzliche Cannabinoide 191

3.2. Synthetische Cannabinoide 192

3.3. Designer Benzodiazepine 193

4. LITERATURVERZEICHNIS 195

5. LEBENSLAUF 202

1. Einleitung

1.1 Cannabis sativa

Schätzungsweise 125 bis 227 Millionen Menschen haben im Jahr 2012 Cannabis konsumiert. Dies entspricht einem Anteil von 2,7 bis 4,9 % der Bevölkerung im Alter von 15 bis 64 Jahren[1]. Somit ist Cannabis, außer Alkohol und Nikotin, die am häufigsten konsumierte Droge weltweit. Aus diesem Grund stellt der Nachweis eines Cannabiskonsums in biologischen Proben in der forensischen Toxikologie eine wichtige Aufgabe dar. Des Weiteren wird Cannabis mittlerweile wieder häufiger medizinisch angewendet. Indikationen sind hierbei unter anderem die Behandlung des Glaukoms, der Schmerzen, Übelkeit, Neuralgien und es findet Einsatz zur Verbesserung der Symptomatik bei Multipler Sklerose, sowie zur Appetitsteigerung beim sogenannten Wasting-Syndrom[2-4].

Bezüglich der Cannabis-Taxonomie bestehen unter Biologen immer noch verschiedene Auffassungen und so wurde z.B. von Small und Croquist eine Einteilung nach Chemotypen (Δ^9-Tetrahydrocannabinol (THC) : Cannabidiol (CBD) Verhältnis) vorgenommen, wobei innerhalb der Gattung Cannabis *sativa* L. zwischen den Unterarten Cannabis *sativa* und Cannabis *indica* unterschieden wird. Jede der beiden Unterarten kann ferner in die Varianten Kultur- und Wildtyp unterteilt werden[5]. Hillig und Mahlberg hingegen unterscheiden Cannabis *sativa* und Cannabis *indica* als verschiedene Gattungen[6].

1.1.1 Inhaltsstoffe

Für eine vollständige Übersicht der chemischen Bestandteile von Cannabis *sativa* L. wird auf den Übersichtsartikel von ElSohly und Slade verwiesen[7]. Die spezifischste Klasse von Bestandteilen in der Cannabispflanze sind die Cannabinoide, deren Name

sich von der botanischen Bezeichnung ableitet. Diese Klasse kann in elf Subklassen unterteilt werden (Abbildung 1).

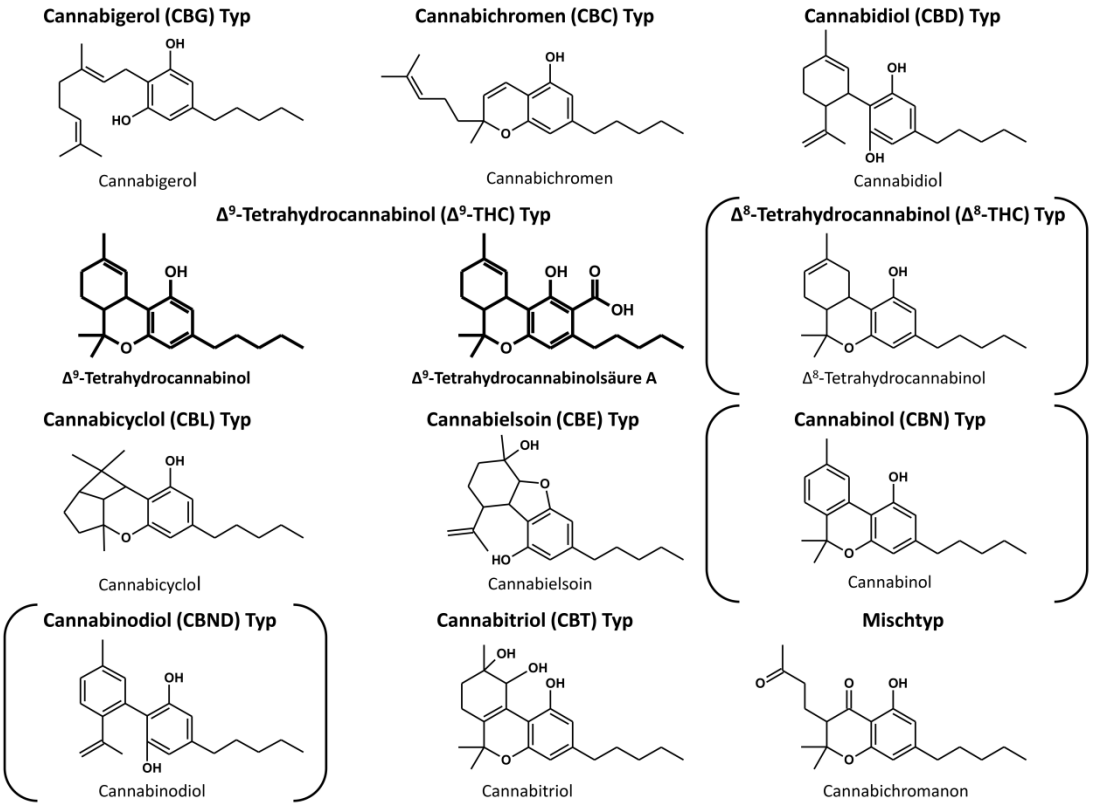


Abbildung 1 Chemische Grundstrukturen der Cannabinoidsubklassen. Die in Klammern angegebenen Subklassen werden als Artefakte angesehen.

Die Nomenklatur der Cannabinoide kann sowohl nach dem Monoterpen- als auch nach dem Dibenzopyransystem erfolgen (Abbildung 2), wobei in dieser Arbeit letzteres verwendet wird.

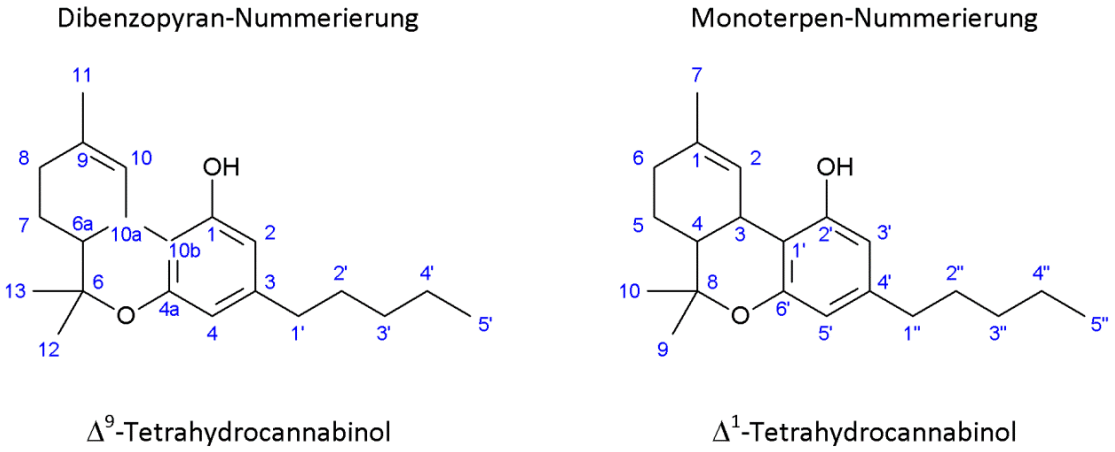


Abbildung 2 Dibenzopyran- und Monoterpennummerierungssystem für Tetrahydrocannabinol.

1.1.2 Δ9-Tetrahydrocannabinolsäure A

Δ^9-Tetrahydrocannabinolsäure A (THCA-A) ist die nicht psychoaktiv wirksame biosynthetische Vorläufersubstanz des psychoaktiven THC und Hauptbestandteil des Cannabinoidanteils in frischem Pflanzenmaterial[8, 9]. THCA-A wird durch Erhitzen – z.B. beim Rauchen – nur unvollständig zu THC decarboxyliert[10] (Abbildung 3) und wurde erstmals 2007 in Serum-, Urin- und Speichelproben von Cannabiskonsumenten nachgewiesen[11, 12].

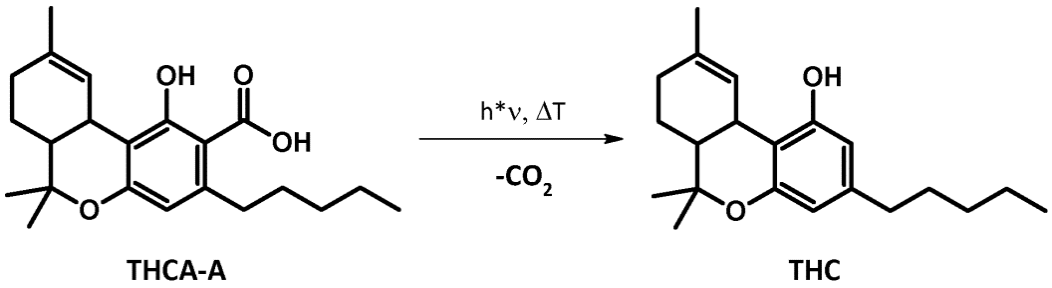


Abbildung 3 Bildung von Δ^9-Tetrahydrocannabinol (THC) durch Decarboxylierung von Δ^9-Tetrahydrocannabinolsäure A (THCA-A).

1.1.3 Metabolismus

THC wird vorwiegend in der Leber durch Cytochrom-P450-Enzyme metabolisiert. Die Hauptreaktionen sind hierbei Hydroxylierungen und weitere Oxidationen. Es wurden bisher über 100 Metaboliten identifiziert[13]. Der Hauptstoffwechselweg ist die Hydroxylierung an der C-11-Position zu 11-Hydroxy-THC (11-OH-THC)[14]. Dieser Metabolit wird weiter zu 11-*Nor*-9-carboxy-THC (THC-COOH) oxidiert und im Anschluss mit Glucuronsäure konjugiert (Abbildung 4)[15]. Die Ausscheidung läuft mit über 65 % einer Dosis hauptsächlich über die Fäzes, wobei 35 % innerhalb der ersten 72 Stunden eliminiert werden[14, 16]. Des Weiteren werden ca. 25 % einer Dosis über den Urin ausgeschieden[14]. In Fäzes sind 11-OH-THC und THC-COOH die Hauptmetaboliten, während im Urin hauptsächlich THC-COOH-glucuronid ausgeschieden wird[17].

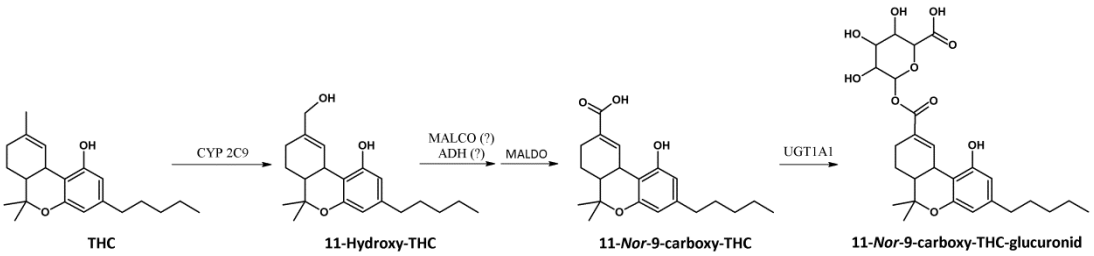


Abbildung 4 Δ^9-Tetrahydrocannabinol (THC) und dessen Hauptmetabolite 11-Hydroxy-Δ^9-tetrahydrocannabinol (11-OH-THC**),** 11-*Nor*-9-carboxy-Δ^9-tetrahydrocannabinol (THC-COOH) und 11-*Nor*-9-carboxy-Δ^9-tetrahydrocannabinolglucuronid[15].
(MALCO: Microsomale Alkoholoxygenase; ADH: Alkoholdehydrogenase; MALDO: Microsomale Aldehydoxygenase)

1.2 Synthetische Cannabinoide

Synthetische-Cannabinoid-Rezeptor Agonisten, die umgangssprachlich als synthetische Cannabinoide bezeichnet werden, sind Substanzen, die THC-ähnliche Effekte verursachen, jedoch nicht natürlichen Ursprungs sind. Nachdem 1965 die erste Totalsynthese von THC publiziert wurde[18] und insbesondere nach der Identifizierung der Cannabinoidrezeptoren CB1 und CB2[19-22], synthetisierten und testeten verschiedene Pharmaunternehmen und universitäre Forschungsgruppen diverse Strukturklassen mit dem Ziel, neue Therapeutika zur Behandlung verschiedenster Symptome und Erkrankungen (z.B. starke Schmerzen, Appetitlosigkeit, Wasting-Syndrom, Multiple Sklerose, Glaukom) zu entwickeln[23, 24]. Im Vordergrund stand hierbei vor allem die Entwicklung von Substanzen, die keine Cannabis typischen Nebenwirkungen aufweisen (z.B. psychotrope Wirkung) und im Gegensatz zu THC auch synthetisch leicht zugänglich sind. Zusätzlich wurden die Struktur-Wirkungs-Beziehungen der Cannabinoide intensiv untersucht[25-28].
Vermutlich im Jahr 2004 wurden im Internet die ersten synthetischen Cannabinoide, getarnt als Räuchermischungen (siehe Kapitel 1.2.2), als legale Alternative zu Cannabis angeboten[29-31]. Beworben wurden diese Produkte als rein pflanzlicher Natur. Im Jahr 2008 stieg die Popularität dieser Produkte rapide an. Dies ist insbesondere auch der hohen medialen Aufmerksamkeit zum damaligen Zeitpunkt zuzusprechen. Im Dezember 2008 wurden schließlich die beiden synthetischen Cannabinoide JWH-018 und CP-47,497-C8 in Räuchermischungen als zugesetzte psychoaktive Komponente identifiziert[30].

1.2.1 Klassifizierung

Die regelmäßige Unterstellung von einzelnen synthetischen Cannabinoiden unter das Betäubungsmittelgesetz bzw. von Stoffgruppen in Ländern mit den entsprechenden rechtlichen Rahmenbedingungen ist die Triebkraft für das permanente Erscheinen neuer struktureller Modifikationen (Abbildung 5)[32-34].

Diese Strukturvielfalt erschwert eine stringente Klassifizierung in einzelne Gruppen, daher wird im Folgenden ausschließlich auf die wesentlichen Strukturmerkmale (‚Bausteine') eingegangen. Nahezu alle bisher als Rauschmittel angebotenen synthetischen Cannabinoide bestehen aus vier Bausteinen: Einer Kernstruktur, einem Rest an der N1-Position, einem Linker und einem Brückenrest. Die zwei dominantesten Kernstrukturen, die nahezu alle als ‚Legal high' gehandelten synthetischen Cannabinoide aufweisen, sind das Indol und das Indazol. Gängige Reste am Stickstoff des Indols / Indazols (N1) sind Alkylketten (z.T. terminal fluoriert) sowie Benzyl und Cyclohexylmethylgruppen. Die Verbindung (Linker) zwischen Kernstruktur und Brückenrest kann z.B. über eine Ketogruppe, ein Carboxamid oder einen Carbonsäureester erfolgen. Als Brückenrest finden sich unter anderem Naphthyl-, Phenyl-, 4-Fluorbenzyl-, Cycloalkyl- (z.B. Tetramethylcyclopropyl), Adamantyl-, Quinolinyl- und Cumyl-Reste sowie Valinsäureamide bzw. Valinsäureester. Exemplarisch sind in Abbildung 6 die Strukturformeln verschiedener synthetischer Cannabinoide dargestellt und weitere aufgelistet.

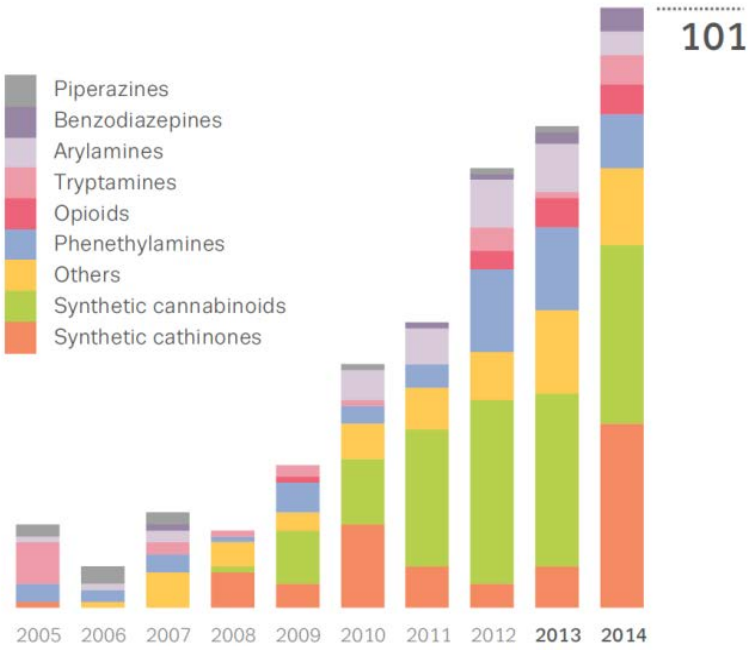
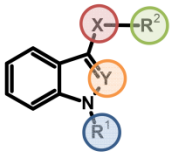


Abbildung 5 Anzahl der an das EU-Frühwarnsystem gemeldeten Neuen Psychoaktiven Substanzen im Zeitraum von 2005 bis 2014[34].



	Y	R¹	R²	X
AB-001	H	Pentyl	Adamanytl	Methanon
AB-PINACA	H	Pentyl	1-Amino-3-methyl-1-oxobutan-2-yl	Carboxamid
ADBICA	H	Pentyl	1-Amino-3,3-dimethyl-1-oxobutan-2-yl	Carboxamid
AM-1220	H	(1-Methylpiperidin-2-yl)methyl	Napthyl	Methanon
AM-2201	H	5-Fluoropentyl	Napthyl	Methanon
AM-2232	H	4-Cyanobutyl	Napthyl	Methanon
AM-679	H	Pentyl	2-Iodophenyl	Methanon
Cumyl-PICA	H	Pentyl	2-Phenylpropan-2-yl	Carboxamid
JWH-018	H	Pentyl	Napthyl	Methanon
JWH-019	H	Hexyl	Napthyl	Methanon
JWH-073	H	Butyl	Napthyl	Methanon
JWH-200	H	2-(4-Morpholino)ethyl	Napthyl	Methanon
JWH-210	H	Pentyl	4-Ethyl-1-naphthyl	Methanon
JWH-251	H	Pentyl	2-(2-methylphenyl)	Methanon
NNEI	H	Pentyl	Napthyl	Carboxamid
PB-22	H	Pentyl	Quinolin-8-yl	Carboxylat
RCS-4	H	Pentyl	4-Methoxyphenyl	Methanon
SDB-006	H	Pentyl	Benzyl	Carboxamid
THJ-018	N	Pentyl	Napthyl	Methanon
UR-144	H	Pentyl	2,2,3,3-Tetramethylcyclopropyl	Methanon

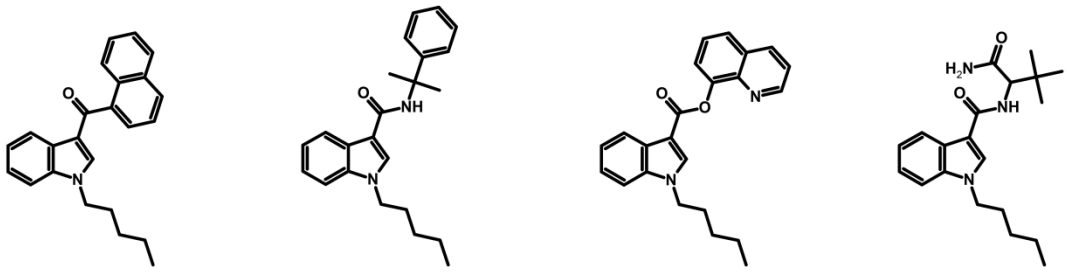


Abbildung 6 Beispiele für unterschiedliche synthetische Cannabinoide.

1.2.2 Synthetische Cannabinoide in Drogenzubereitungen

Die gebräuchlichste Konsumform für synthetische Cannabinoide ist das Rauchen von sogenannten Räuchermischungen. Hierbei ist das synthetische Cannabinoid auf pflanzliches Trägermaterial (z.B. Damiana (*Turnera diffusa*)) aufgebracht (Abbildung 7)[35]. Die Herstellung erfolgt in der Regel durch Aufsprühen einer Cannabinoid-haltigen Lösung oder durch das Einweichen des Pflanzenmaterials in einer solchen. Herstellungsbedingt kann es hierdurch zu erheblichen Schwankungen des Wirkstoffgehalts in dem Pflanzenmaterial kommen. Hierdurch wird das Risiko einer Überdosierung erheblich erhöht. Es ist sowohl von Schwankungen des Wirkstoffgehaltes zwischen einzelnen Verkaufseinheiten als auch innerhalb einzelner Verkaufseinheiten auszugehen[36-38]. Des Weiteren lassen die Produktnamen der Räuchermischungen (z.B. „Jamaican Gold Extreme“, „Mad Hatter“, „Spice“, „Wasted“) keinen Rückschluss auf den enthaltenen Wirkstoff zu. In

Folge dessen ist es möglich, dass äußerlich nicht unterscheidbare Produkte ein oder mehrere unterschiedliche synthetische Cannabinoide enthalten. Als besonders gefährlich ist dies in Fällen anzusehen, in denen eine Substanz mit geringer Potenz durch einen Wirkstoff mit deutlich höherer Potenz ersetzt wird. Dies erfolgt häufig ohne Änderung des Wirkstoffgehalts.

Abbildung 7 Beispiel einer typischen Räuchermischung.

1.3 Haaranalytik

Die Haaranalytik auf Medikamentenwirkstoffe und Drogen wird in vielen Bereichen angewendet. Beispielsweise werden mittels Haaranalysen die Compliance von Patienten[39, 40] und auch die Abstinenzzeiträume von Alkohol- und Drogenkonsumenten bei Fahreignungsbegutachtungen überwacht[41-43]. Des Weiteren wird eine Haaranalyse regelmäßig nach etwaigen Beibringungen von Drogen oder Medikamenten im Zusammenhang mit z.B. Sexualverbrechen oder Raub[44-47], in „Workplace-Drug-Testing“ Programmen[48] und bei Verstößen gegen das Betäubungsmittelgesetz zur Klärung, ob Eigenkonsum vorliegt, durchgeführt. Häufig werden Haarproben auch bei Fragestellungen in Sorgerechts- und Kindesmisshandlungsfällen untersucht[49-51]. Im Falle von drogenkonsumierenden Eltern / Sorgeberechtigten soll in der Regel mittels Haaranalyse auf das Gefahrenpotential für das Kind geschlossen werden. Dies fällt je nach Art der Exposition unterschiedlich aus. Ein Drogenkonsum der Eltern / Sorgeberechtigten in Abwesenheit des Kindes, wirkt sich in der Regel „lediglich“ indirekt durch eventuelle Vernachlässigung und ungünstige soziale Wohnverhältnisse aus. In derartigen Fällen kann jedoch auch z.B. durch nicht sachgerecht gelagerte Drogen im Haushalt eine mittelbare Gefahr entstehen. Eine gesundheitliche Gefahr für das Kind besteht insbesondere bei Drogen, die geraucht werden (z.B. Cannabisprodukte, Crack, Heroin oder Methamphetamin (Crystal Meth)), wenn der Konsum in unmittelbarer Nähe des Kindes stattfindet. Hierbei kommt es unweigerlich zu einer passiven Aufnahme der Wirkstoffe. Der dritte und schwerwiegendste Fall, der sofortige Maßnahmen erfordert, ist die Beibringung von Drogen oder Medikamenten, um das Kind beispielweise ruhig zu stellen.

Insbesondere in Fällen, in denen die Befunde schwerwiegende rechtliche Konsequenzen für die Betroffenen haben können, müssen Bewertungen mit äußerster Vorsicht abgegeben werden.

1.3.1 Einlagerung von Substanzen in das Haar

Erste Hypothesen gingen von einer ausschließlichen Substanzeinlagerung über den Blutkreislauf während des Haarwachstums aus[52]. Ferner wurde vermutet, dass die Regionen in denen die Einlagerung stattfindet, nach Abschluss der Haarbildung unzugänglich sind, sodass die eingelagerte Substanz vor äußerlichen Einflüssen geschützt ist und weder aus dem Haar entfernt noch strukturell verändert werden kann. Aufgrund der relativ konstanten Haarwachstumsrate in der anagenen Phase waren somit viele Wissenschaftler davon überzeugt, dass mittels der Haaranalytik definitive Aussagen bezüglich Konsumzeitpunkt und -menge getroffen werden können. Mittlerweile ist jedoch bekannt, dass derartige „unzugängliche Regionen“ im Haar nicht existieren[53]. Von Pragst *et al.* wurde ein zweites Modell vorgeschlagen, welches prinzipiell drei mögliche Einlagerungswege berücksichtigt. Es wird zum einen weiterhin von einer Einlagerung über den Blutkreislauf während der Haarbildung ausgegangen. Als weitere Quellen kommen jedoch die über Sebum und Schweiß vermittelte Einlagerung und die externe Kontamination von Haaren hinzu (Abbildung 8)[54].

1.3.2 Haaranalytik auf pflanzliche Cannabinoide

Im Bereich der Haaranalytik auf Cannabinoide gibt es bisher sehr wenige fundierte Studien, welche die Einlagerungswege untersuchen. Die einzige Studie, die sich mit der Einlagerung von Cannabinoiden über den Blutkreislauf in das Haar befasst, wurde 1995 veröffentlicht und betrachtet lediglich das Verhalten des THC-Metaboliten THC-COOH[55]. Diese Studie wurde an Ratten durchgeführt, wobei nicht sicher auszuschließen ist, dass auch eine Eintragung über Speichel (Fellpflege) und Urin in das Haar als Einlagerungsweg zu den festgestellten Haarkonzentrationen beigetragen hat. Dennoch wird seither ein Nachweis von THC-COOH im Haar als zweifelsfreier Beweis für eine Aufnahme des Cannabiswirkstoffes THC angesehen[53].

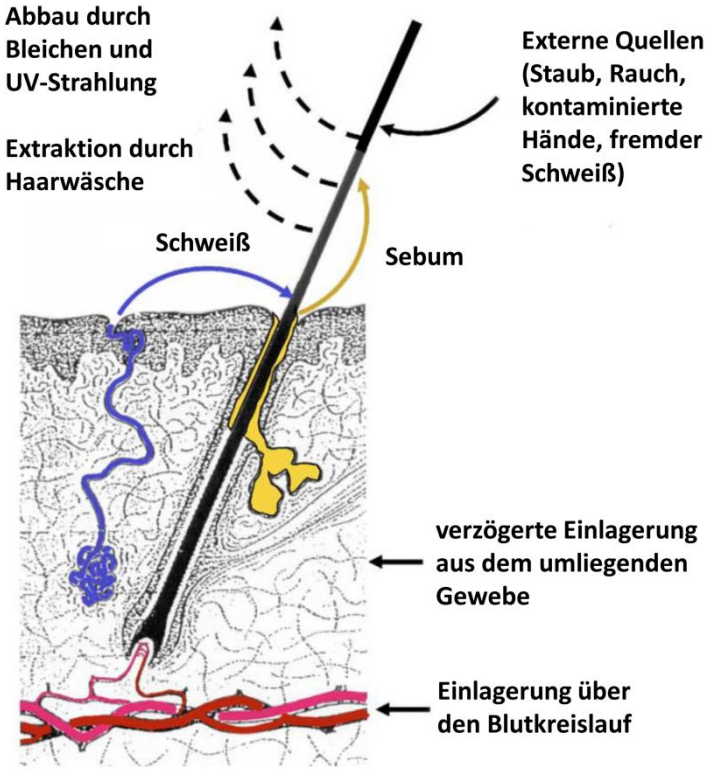


Abbildung 8 Einlagerung und Extraktion von Drogen in das menschliche Haar (modifiziert aus Pragst und Balikova[54]).

Zur Einlagerung von THC über den Blutkreislauf in das Haar gibt es bisher keine publizierten Studien. Es ist aber Konsens, dass bei dem Nachweis von THC im Haar eine externe Kontamination nicht generell ausgeschlossen werden kann. Als Hauptkontaminationsquelle wird hierbei der Cannabisrauch angesehen, welcher sich zu der gegebenenfalls über den Blutkreislauf eingelagerten Menge THC addiert. Viele Toxikologen vertreten allerdings die Ansicht, dass eine derartige Kontamination lediglich die Haaroberfläche betrifft und durch angemessene Waschprozeduren entfernbar ist. Trotz der Möglichkeit einer Verzerrung der Ergebnisse durch Rauchkontamination wird in der Praxis weiterhin vorwiegend THC als einziger Zielanalyt in der Haaranalyse eingesetzt (z.B. in der Drogenabstinenzkontrolle für die Fahreignungsbegutachtung und in so genannten „Workplace drug testing“-Programmen). Gründe hierfür sind unter anderem die hohen Analysenkosten für den Nachweis von THC-COOH im Haar, da dieser Analyt

nur in extrem niedrigen Konzentrationen detektiert wird und hierfür eine sehr aufwendige Analytik unter Einsatz einer teuren apparativen Ausstattung erforderlich ist. Die THC-COOH-Konzentration im Haar liegt bei Cannabiskonsumenten in der Regel im sub-pg/mg bis zu wenigen pg/mg Bereich[56-66]. Selbst in Fällen mit nachweislichem Cannabiskonsum ist nicht immer THC-COOH detektierbar[59]. Im Gegensatz zu den THC-COOH-Konzentrationen im Haar liegt die Spanne der THC-Konzentration im Bereich zwischen wenigen pg/mg und mehreren ng/mg[67, 59]. Diese Konzentrationsunterschiede spiegeln sich unter anderem auch in den Richtlinien der Society of Hair Testing wieder, in denen ein Grenzwert von 0,2 pg/mg für THC-COOH und 50 pg/mg für THC empfohlen wird[68]. Eine mögliche Erklärung für die Unterschiede zwischen den THC-COOH- und den THC-Konzentrationen im Haar könnte sein, dass saure Substanzen aufgrund ihrer geringeren Affinität zu dem ebenfalls sauren Melanin generell schlechter in das Haar eingelagert werden[54]. Allerdings ist nach der Aufnahme von THC die Fläche unter der Konzentrations-Zeit-Kurve (AUC) im Serum von THC deutlich geringer als die von THC-COOH, wodurch dies zumindest teilweise kompensiert werden sollte.

Im Jahr 2009 wurde von Auwärter *et al.* erstmalig THCA-A im Haar nachgewiesen[69]. Auf Grundlage dieser Beobachtung wurde von den Autoren ein wissenschaftlicher Selbstversuch durchgeführt, bei welchem ein Freiwilliger über 30 Tage täglich 10 mg THCA-A oral einnahm. Einen Monat nach der letzten Einnahme wurde das seit der ersten Einnahme unrasierte Barthaar des Probanden auf THCA-A untersucht. Trotz der permanenten Einnahme hoher Dosen THCA-A konnte dieser Analyt nicht im Haar nachgewiesen werden. Dies führte zu der Vermutung, dass THCA-A und eventuell auch ein Großteil des THC nicht über die Blutbahn, sondern über externe Kontamination in das Haar gelangt[69]. Ferner wurde postuliert, dass THCA-A als spezifischer Marker für eine externe Kontamination dienen könnte. Der genaue Einlagerungsweg von THCA-A in das Haar blieb jedoch ungeklärt und es wurde die Vermutung aufgestellt, dass die Hauptursache der THCA-A-Kontaminationen in forensischen Proben in der Kondensation von Nebenstromrauch auf dem Haar und Diffusion von THCA-A in das Haar besteht. Des Weiteren wurde die Beobachtung

gemacht, dass in vielen forensischen Haarproben die Konzentration an THCA-A im Haar die THC-Konzentration um ein Vielfaches übersteigt. Dies stellt auch ein analytisches Problem dar, da THCA-A während der Extraktion aus dem Haar oder bei der Analyse decarboxyliert werden kann (z.B. durch hohe Temperaturen im Gaschromatographen) und es somit zu einer artefaktischen Erhöhung der THC-Konzentrationen kommt (Abbildung 3)[10]. Als besonders kritisch ist die alkalische Hydrolyse des Haares vor der Extraktion anzusehen, die eine Standardmethode der Haaranalytik auf Cannabinoide darstellt[69-74, 54]. Bei diesem Analysenansatz kann von einer hohen Umwandlungsrate von THCA-A zu THC ausgegangen werden[69]. In Folge dieser Umwandlung könnte es zu einer Ungleichbehandlung eines Betroffenen kommen, da z.B. der Grenzwert für THC im Haar von 20 pg/mg im Rahmen der Fahreignungsbegutachtung[43] bei alkalischer Hydrolyse dann überschritten werden kann wenn nur THCA-A im Haar ist. Extrahiert man jedoch die identische Haarprobe methanolisch, müsste der Betroffene hingegen nicht mit Konsequenzen rechnen.

1.3.3 Haaranalytik auf synthetische Cannabinoide

Im Bereich der Haaranalytik auf synthetische Cannabinoide gibt es bisher sehr wenige Erkenntnisse über die Einlagerungswege. Es ist zudem nicht bekannt, ob und in welchem Umfang diese Substanzen über den Blutkreislauf in das Haar eingelagert werden. In der Regel sind die Konzentrationen an synthetischen Cannabinoiden und deren Metaboliten im Serum im Vergleich zu THC und dessen Metaboliten deutlich geringer[75, 76]. Infolgedessen wären, bei ähnlicher Einlagerungsrate wie für THC geringere Konzentrationen dieser Substanzen im Haar zu erwarten.

Nahezu alle bisher veröffentlichten Publikationen zur Haaranalytik auf synthetische Cannabinoide beinhalten lediglich die Muttersubstanzen als Zielanalyten[77, 72] und nur wenigen Arbeitsgruppen gelang es bisher, Metaboliten von synthetischen Cannabinoiden im Haar nachzuweisen[78-80]. Ähnlich wie bei Cannabis besteht die

Gefahr einer externen Kontamination der Haare, und zwar sowohl durch Nebenstromrauch[81] als auch durch den Umgang mit den Produkten.

1.4 Designer Benzodiazepine

Die Analyse auf Benzodiazepine spielt sowohl in der forensischen als auch in der klinischen Toxikologie eine sehr wichtige Rolle. Hauptursachen hierfür sind die große Verwendung dieser Substanzen als Schlaf- und Beruhigungsmittel sowie der Einsatz zur Behandlung von Angstzuständen, Muskelverspannungen und Krampfanfällen in Kombination mit einem hohen Missbrauchs- und Abhängigkeitspotential. Schätzungen zu Folge sind allein in Deutschland 1,1 – 1,2 Millionen Menschen von Benzodiazepinen abhängig[82]. Benzodiazepine unterliegen in den meisten Ländern der Verschreibungspflicht und – so auch in Deutschland - zusätzlich betäubungsmittelrechtlichen Bestimmungen. Falls eine ärztliche Verordnung entgegen dem Wunsch des Patienten nicht fortgesetzt wird oder eine Selbstmedikation vorgenommen wird, kaufen Betroffene die Medikamente häufig auf dem Schwarzmarkt oder fälschen Rezepte. Seit 2004 wurden verstärkt sogenannte, ‚Legal-Highs' vertrieben und erfreuten sich zunehmender Beliebtheit. Während zu Beginn dieses Phänomens vorrangig synthetische Cannabinoide (siehe Kapitel 1.2), Designeramphetamin- und Cathinonderivate gehandelt wurden, wurden wenig später in Internetshops auch Stoffe wie das Benzodiazepin Phenazepam oder das Thienodiazepin Etizolam angeboten[83]. Bei beiden Substanzen handelt es sich um Arzneistoffe, die in einer begrenzten Anzahl an Ländern (z.B. Russland und Indien) eine Zulassung besitzen. Zunächst unterlagen beide Substanzen in vielen europäischen Ländern nicht den betäubungsmittelrechtlichen Bestimmungen und stellten somit eine „legale" Alternative zu den verschreibungsfähigen Benzodiazepinen dar. 2012 erschienen mit Pyrazolam (8-Brom-1-methyl-6-pyridin-2-yl-4*H*-[1,2,4]triazol[4,3][1,4] benzodiazepin) und Flubromazepam (7-Brom-5-(2-fluorphenyl)-1,3-dihydro-2*H*-1,4-benzodiazepin-2-on) die ersten Benzodiazepine, welche ausschließlich für den Drogenmarkt synthetisiert wurden. Diese Stoffe stellten somit die ersten Vertreter der seither stetig wachsenden Gruppe der Designer Benzodiazepine dar. Typische Darreichungsformen der im Internet in verschiedenen Dosierungen angebotenen

Designer Benzodiazepine sind Tabletten, Kapseln und sogenannte Blotter (vgl. Abbildung 9). Zusätzlich werden viele Stoffe als Pulver in Reinform angeboten. Die Preise betragen in diesem Fall häufig nur ca. 5-10 Cent pro Konsumeinheit.

Abbildung 9 Beispiele von über Internetshops angebotenen Designer Benzodiazepinhaltigen Tabletten, Blotter und von reinem Wirkstoff in Pulverform.

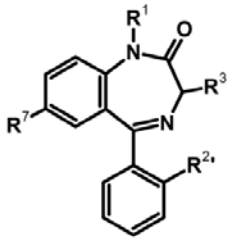
1.4.1 Klassifizierung

Die einzelnen Vertreter der unter dem Sammelbegriff „Benzodiazepine“ zusammengefassten Gruppe an Arzneistoffen und Drogen können chemisch-strukturell in folgende Untergruppen eingeteilt werden:

- 1,4-Benzodiazepine
- 1,5-Benzodiazepine
- Imidazobenzodiazepine
- Thienodiazepine
- Triazolobenzodiazepine

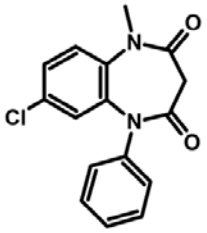
Beispiele für verschiedene Vertreter der einzelnen Gruppen, inklusive der Strukturformeln der drei ersten Designer Benzodiazepine Diclazepam, Flubromazepam und Pyrazolam sind in Abbildung 10 dargestellt.

1,4-Benzodiazepine



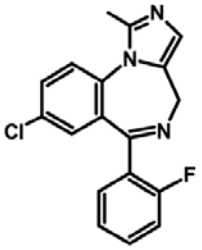
	R1	R3	R7	R2'
Clonazepam	H	H	NO_2	Cl
Diazepam	CH_3	H	Cl	H
Diclazepam	CH_3	H	Cl	Cl
Flubromazepam	H	H	Br	F
Flunitrazepam	CH_3	H	NO_2	F
Oxazepam	H	OH	Cl	H
Phenazepam	H	H	Br	Cl

1,5-Benzodiazepine



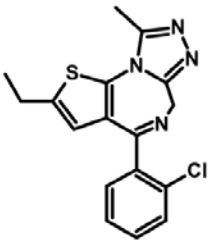
Clobazam

Imidazobenzodiazepine



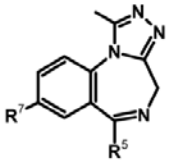
Midazolam

Thienodiazepine



Etizolam

Triazolobenzodiazepine



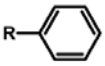
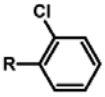
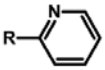
	R5	R7
Alprazolam		Cl
Triazolam		Cl
Pyrazolam		Br

Abbildung 10 Beispiele für die unterschiedlichen Strukturklassen der Benzodiazepine.

1.4.2 Wirkmechanismus

Benzodiazepine binden als positive allosterische Modulatoren an einer spezifischen Bindungsstelle zwischen der α- und γ-Untereinheit des $GABA_A$-Rezeptors[84]. Die Bindung eines Benzodiazepin-Agonisten führt hierbei zu einer effektiveren Stimulation des Rezeptors durch den endogenen Liganden γ–Aminobuttersäure (GABA) und somit zu einer Zunahme der Öffnungswahrscheinlichkeit des Chloridkanals. Die therapeutisch genutzten Eigenschaften (anxiolytisch, beruhigend, schlaffördernd, muskelrelaxierend und antikonvulsiv) weisen prinzipiell alle in der Praxis eingesetzten Benzodiazepine auf.

1.4.3 Pharmakokinetik

Viele der Benzodiazepine werden vor ihrer Ausscheidung extensiv verstoffwechselt[85]. Ein typischer Metabolisierungsschritt ist hierbei die Hydroxylierung. Im Fall von 1,4-Benzodiazepinen erfolgt diese vorrangig an der C3-Position[86]. Bei Imidazo- und Triazolobenzodiazepinen findet die Hydroxlierung dagegen überwiegend an der Methylgruppe des annelierten Triazol- oder Imidazolrings sowie an der C4-Position statt[87-89]. Bei 1,4-Benzodiazepinen mit Alkylsubstituenten an N1 kommt es in der Regel zu einer Desalkylierung[90]. Bei Benzodiazepinen mit einer Nitrogruppe an C7- bzw. C8-Position wird diese reduziert und im Anschluss acetyliert[91, 92]. Im Urin werden die Benzodiazepine mit einer Hydroxylgruppe bzw. die hydroxylierten Metaboliten fast ausschließlich als Konjugate mit Glucuronsäure ausgeschieden[93, 94]. In Abbildung 11 ist beispielhaft der Metabolismus von Diazepam dargestellt[85].

Sehr häufig sind die Metaboliten ebenfalls pharmakologisch aktiv und werden teilweise, wie z.B. die Metaboliten des Diazepams, als eigenständige Medikamente vermarktet. Unterschiede zwischen den einzelnen Wirkstoffen liegen vor allem in ihrer Eliminationshalbwertszeit (HWZ) (Tabelle 1). Bei langwirksamen Benzodiazepinen kommt es bei täglicher Einnahme unweigerlich zu einer

Bioakkumulation. Hierdurch ergibt sich die Möglichkeit, auch einen länger zurückliegenden Konsum nachzuweisen. Andererseits besteht jedoch die erhöhte Gefahr für eine Intoxikation, falls der Konsument zu früh eine weitere Dosis einnimmt oder das Benzodiazepin in Kombination mit weiteren zentraldämpfenden Substanzen (z.B. Opiate / Opioide und Alkohol) eingenommen wird[95-97]. Bei kurzwirksamen und potenten Benzodiazepinen (z.B. Triazolam) sind hingegen insbesondere bei einem einmaligen Konsum bzw. einer Beibringung (z.B. als K.O. Mittel) eine zeitnahe Probenahme und eine empfindliche Nachweismethode dringend erforderlich.

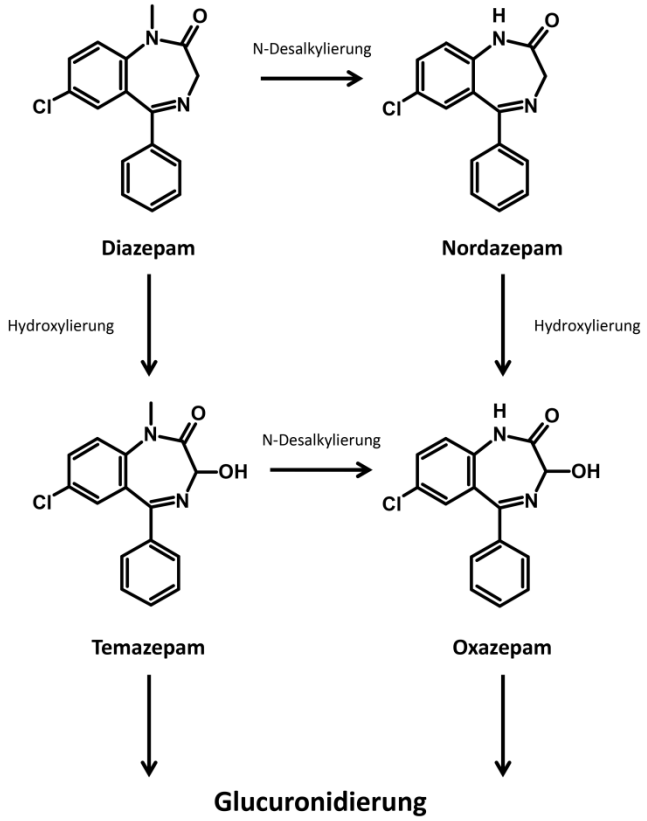


Abbildung 11 Metabolismus von Diazepam.

Tabelle 1 Eliminationshalbwertszeiten (HWZ) von kurz-, mittel- und langwirkenden Benzodiazepinen.

Substanz	HWZ [Std]
Kurz wirkende Benzodiazepine	
Etizolam	3,4[98]
Midazolam	2,3[99]
Triazolam	2-4[100]
Mittellang wirkende Wirkdauer	
Alprazolam	9-16[101]
Flunitrazepam	13,5-19,2[102]
Oxazepam	5-15[93]
Lang wirkende Benzodiazepine	
Clobazam	18*[103]
Clonazepam	18,7-39[104]
Diazepam	21-37*[105]
Phenazepam	60[83]

* Metabolit(e) mit langer Halbwertszeit

1.5 Ziele der Arbeit

Im ersten bearbeiteten Themenkomplex sollten die Einlagerungswege von THC, THCA-A und THC-COOH in das menschliche Haare aufgeklärt werden. Anhand von drei Studien sollten die Einlagerung von THC und THCA-A nach Nebenstromrauchexposition, nach dem Hantieren mit Cannabismaterial und die Einlagerungsrate über den Blutkreislauf ermittelt werden. Des Weiteren sollte die Hypothese überprüft werden, dass THC-COOH ausschließlich über den Blutkreislauf in das Haar eingelagert wird. Aufgrund der Tatsache, dass für die Haaranalytik in verschiedenen Laboren unterschiedliche Aufarbeitungen angewendet werden, sollte auch analysiert werden, in welchem Umfang die Extraktion und Analyse Auswirkungen auf die Bestimmung der THCA-A-und der THC-Konzentration im Haar hat.

Im zweiten Themenkomplex, der sich mit synthetischen Cannabinoiden befasst, sollte zum einen eine Methode zur einfachen und schnellen Extraktion und Aufreinigung dieser Substanzen aus Räuchermischungen mittels Flash-Chromatographie entwickelt werden. Zum anderen sollte die Wirkstoffverteilung in Räuchermischungen untersucht werden. Zusätzlich sollte ermittelt werden, ob der Umgang mit Räuchermischungen im Rahmen von Sicherstellungen zu einer Kontamination der Haare der mit der Analyse beauftragten Labormitarbeiter führen kann.

Im dritten Themenkomplex sollte das Phänomen der Designer Benzodiazepine untersucht werden. Hierbei standen die Identifizierung neuer Substanzen sowie die Ermittlung erster pharmakokinetischer Parameter im Vordergrund. Um den Nachweis einer Aufnahme dieser neuen Substanzen in biologischen Proben zu ermöglichen, sollten zudem die Hauptmetaboliten identifiziert und immunchemische Screeningverfahren evaluiert werden.

2. Publikation der Ergebnisse

2.1. Haaranalytik auf pflanzliche Cannabinoide

a) Moosmann B, Roth N, Auwärter V. Hair analysis for THCA-A, THC and CBN after passive in vivo exposure to marijuana smoke. *Drug Test Anal*, 2014; 6 (1-2): 119-125.

Hair analysis for THCA-A, THC and CBN after passive in vivo exposure to marijuana smoke

In dieser Studie wird aufgezeigt, dass die durch Marihuanarauch verursachte Kontamination mit Cannabinoiden zu einer dauerhaften Einlagerung dieser Stoffe in das Haar führen kann und auch durch mehrere Waschschritte nicht mehr entfernbar ist. Am Ende des Expositionszeitraums konnten THC-Konzentrationen ähnlich denen eines regelmäßigen Cannabiskonsumenten im Haar nachgewiesen werden. Auch sieben Wochen nach Ende der Exposition lag die THC-Konzentration noch oberhalb des in Deutschland für die Abstinenzkontrolle in Fahreignungsbegutachtungen angewendeten Cut-offs (20 pg/mg). Des Weiteren wurde verdeutlicht, dass eine derartige Kontamination sehr inhomogen über das Kopfhaar verteilt sein kann. THCA-A wurde nur in sehr geringen Mengen im Haar nachgewiesen, wodurch eine relevante Übertragung auf diesem Wege ausgeschlossen werden konnte.

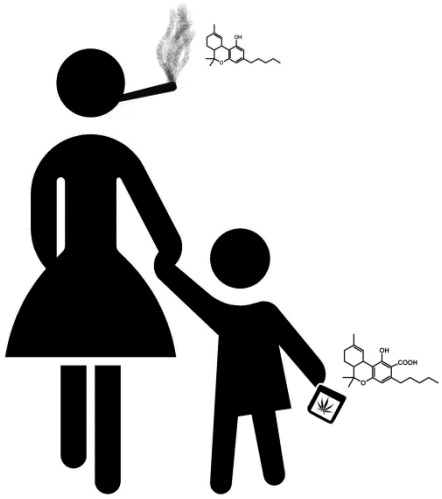
Moosmann B, Roth N, Auwärter V. Hair analysis for THCA-A, THC and CBN after passive in vivo exposure to marijuana smoke. *Drug Test Anal*, 2014; 6 (1-2): 119-125.

Aufgrund von urheberrechtlichen Bestimmungen sind die Seiten 23 bis 28 nicht Bestandteil der Online-Veröffentlichung.

http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/dta.1474/abstract

b) Moosmann B, Roth N, Hastedt M, Jacobsen-Bauer A, Pragst F, Auwärter V. Cannabinoid findings in children hair - what do they really tell us? An assessment in the light of three different analytical methods with focus on interpretation of Δ9-tetrahydrocannabinolic acid A concentrations. *Drug Test Anal;* 2015, 7 (5): 349-357.

Cannabinoid findings in children hair – what do they really tell us? An assessment in the light of three different analytical methods with focus on interpretation of Δ9-tetrahydrocannabinolic acid A concentrations



Diese Studie zeigt Probleme bei der Interpretation in Fällen positiv auf THC getesteter Kinderhaarproben auf. Bei der Untersuchung von ca. 80 Haarproben Drogen konsumierender Eltern und deren Kindern konnte gezeigt werden, dass ein Großteil der im Haar nachgewiesenen Cannabinoide durch eine Übertragung von THCA-A und THC mittels kontaminierter Hände bzw. Oberflächen erklärbar ist. Ein Nachweis von THC in Kinderhaaren ist daher nicht als Beweis für eine Cannabisrauch-Exposition des Kindes anzusehen, was bis dato in der Begutachtungspraxis angenommen wurde.

Als zweiten Aspekt behandelt die Publikation die Problematik des Einsatzes verschiedener analytischer Methoden in den Laboren, die Haaranalysen auf Cannabinoide als Dienstleistung anbieten. Bisher wird größtenteils eine Analyse mittels GC-MS nach alkalischer Hydrolyse des Haars und anschließender Flüssig-Flüssig-Extraktion durchgeführt. Durch die Instabilität von THCA-A unter diesen drastischen Bedingungen kommt es hierbei zu einer partiellen Umwandlung der THCA-A zu THC und somit zu einer analytisch-artefaktischen Erhöhung der festgestellten THC-Konzentration, was insbesondere bei Verwendung von Cut-off-Werten als sehr problematisch anzusehen ist.

Moosmann B, Roth N, Hastedt M, Jacobsen-Bauer A, Pragst F, Auwärter V. Cannabinoid findings in children hair - what do they really tell us? An assessment in the light of three different analytical methods with focus on interpretation of Δ9-tetrahydrocannabinolic acid A concentrations. *Drug Test Anal;* 2015, 7 (5): 349-357.

Aufgrund von urheberrechtlichen Bestimmungen sind die Seiten 31 bis 50 nicht Bestandteil der Online-Veröffentlichung.

http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/dta.1692/abstract

c) Moosmann B, Roth N, Auwärter V. Hair analysis for Δ9-tetrahydrocannabinolic acid A (THCA-A) and Δ9-tetrahydrocannabinol (THC) after handling cannabis plant material. *Drug Test Anal.* Zur Publikation angenommen.

Hair analysis for Δ9 tetrahydrocannabinolic acid A (THCA-A) and Δ9-tetrahydrocannabinol (THC) after handling cannabis plant material

In dieser Studie sollten zehn Probanden an fünf aufeinanderfolgenden Tagen auf Szene-übliche Weise jeweils einen Joint drehen. In den anschließend abgenommenen Haarproben konnten sowohl THCA-A als auch THC nachgewiesen werden. Auch einen Monat nach dem Expositionszeitraum waren nahezu alle gesammelten Haarproben noch positiv auf beide Analyten. Es konnte in allen Proben im Vergleich zu THC ein höherer Anteil an THCA-A nachgewiesen werden, wobei das Verhältnis in einem Bereich lag, wie man ihn auch bei Cannabiskonsumenten typischerweise findet. Anhand dieser Studie konnte somit der Hauptübertragungsweg von THCA-A in das Haar geklärt werden. Dass in vielen Fällen die höchsten Konzentrationen im proximalen Segment detektiert wurden, ist als besonders kritisch anzusehen, da dieser Befund als Konsum fehlinterpretiert werden könnte, der zeitnah zur Probennahme stattgefunden hat.

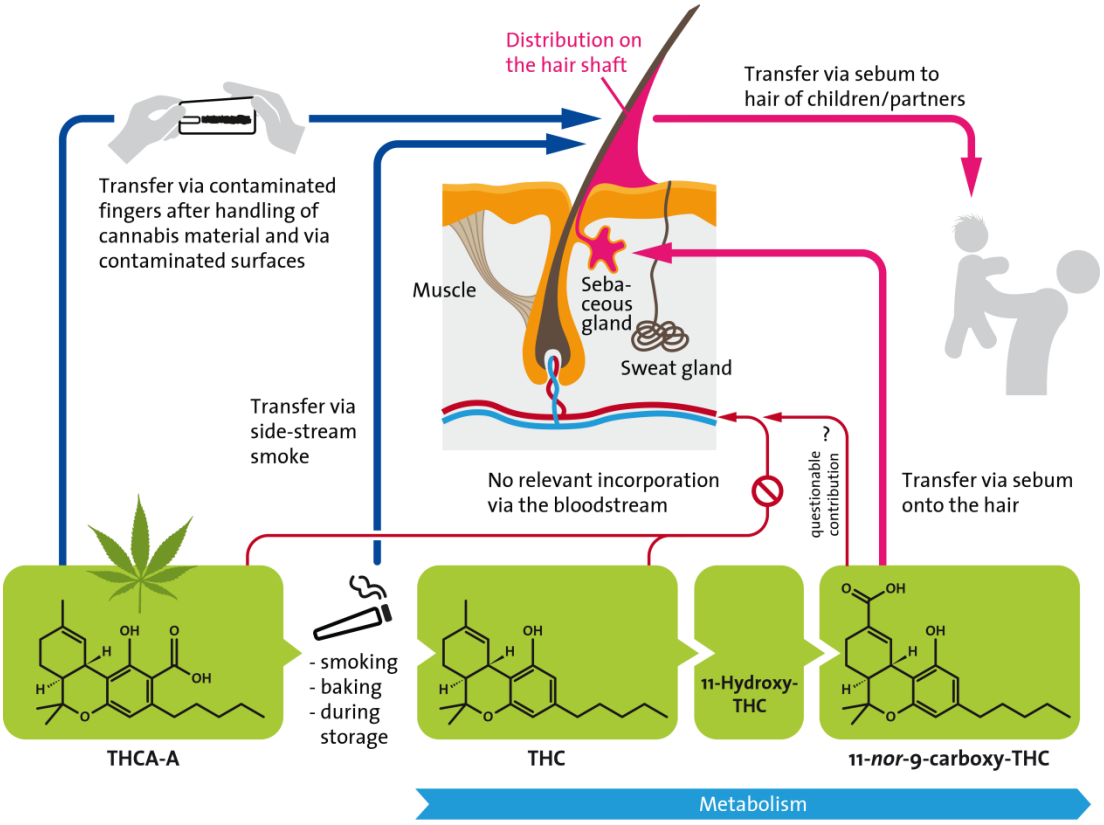
Moosmann B, Roth N, Auwärter V. Hair analysis for Δ9-tetrahydrocannabinolic acid A (THCA-A) and Δ9-tetrahydrocannabinol (THC) after handling cannabis plant material. *Drug Test Anal.* DOI: 10.1002/dta.1830.

Aufgrund von urheberrechtlichen Bestimmungen sind die Seiten 52 bis 67 nicht Bestandteil der Online-Veröffentlichung.

http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/dta.1830/abstract

d) Moosmann B, Roth N, Auwärter V. Finding cannabinoids in hair does not prove cannabis consumption. (eingereicht).

Finding cannabinoids in hair does not prove cannabis consumption



Zur Klärung der Einlagerungsrate von THC über den Blutkreislauf in das Haar wurde eine Studie durchgeführt, in der zwei Probanden über 30 Tage Dronabinol (THC) oral einnahmen (Tagesdosis 7,5 mg). Ferner beschäftigt sich die Studie damit, die Einlagerungswege von THC-COOH in das Haar zu untersuchen und zu klären, ob eine Übertragung dieses Analyten über einen Konsumenten auf z.B. Familienangehörige möglich ist. Neben dem Kopfhaar wurden von beiden Probanden zusätzlich Körperhaare und Sebum-/Schweißproben analysiert. Trotz Verwendung einer sehr empfindlichen Flüssigchromatograhie-Massenspektrometrie-Methode (LC-MS^3) und der Analyse der proximalen 1 cm langen Haarsegmente konnte in keiner Haarprobe THC nachgewiesen werden. Hierdurch konnte aufgezeigt werden, dass der über den

Blutkreislauf eingelagerte Anteil an THC keinen relevanten Beitrag zu den Befunden in Konsumentenhaar liefern kann. Des Weiteren konnte THC-COOH in den Haarproben beider Probanden nachgewiesen werden. Es zeigte sich jedoch auch, dass eine Einlagerung über den Blutkreislauf nicht der einzige Einlagerungsweg sein kann, da THC-COOH auch in distalen Haarabschnitten detektiert wurde. Diese Abschnitte repräsentieren einen Zeitraum der vor der Einnahme liegt. Der Konzentrationsverlauf entlang des Haarschaftes deutet hierbei auf eine Einlagerung via Sebum/Schweiß hin. Dies konnte anhand des Nachweises von THC-COOH in Sebum-/Schweißproben, die während der Einnahmephase erhoben wurden bestätigt werden.

Moosmann B, Roth N, Auwärter V. Finding cannabinoids in hair does not prove cannabis consumption. *Scientific Reports*; DOI: 10.1038/srep14906.

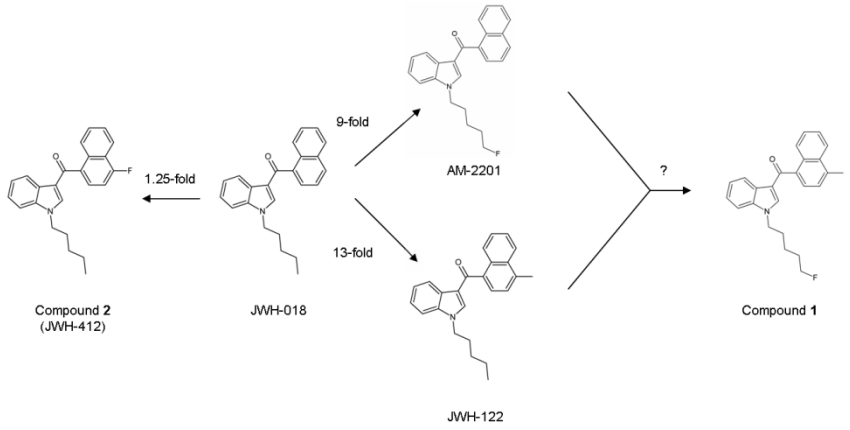
Aufgrund von urheberrechtlichen Bestimmungen sind die Seiten 70 bis 94 nicht Bestandteil der Online-Veröffentlichung.

http://www.nature.com/articles/srep14906

2.2. Synthetische Cannabinoide

a) Moosmann B, Kneisel S, Girreser U, Brecht V, Westphal F, Auwärter V. Separation and structural characterization of the synthetic cannabinoids JWH-412 and 1-[(5-fluoropentyl)-1H-indol-3yl]-(4-methylnaphthalen-1-yl)methanone using GC-MS, NMR analysis and a flash chromatography system. *Forensic Sci Int*, 2012; 220: e17-e22.

Separation and structural characterization of the synthetic cannabinoids JWH-412 and 1-[(5-fluoropentyl)-1H-indol-3yl]-(4-methylnaphthalen-1-yl)methanone using GC-MS, NMR analysis and a flash chromatography system



In dieser Publikation wird die Identifizierung der beiden neuen synthetischen Cannabinoide JWH-412 und MAM-2201 behandelt. Hierbei kommt eine eigens entwickelte Flash-Chromatographiemethode zum Einsatz, welche es ermöglicht aus Räuchermischungen Referenzmaterial hoher Reinheit zu gewinnen.

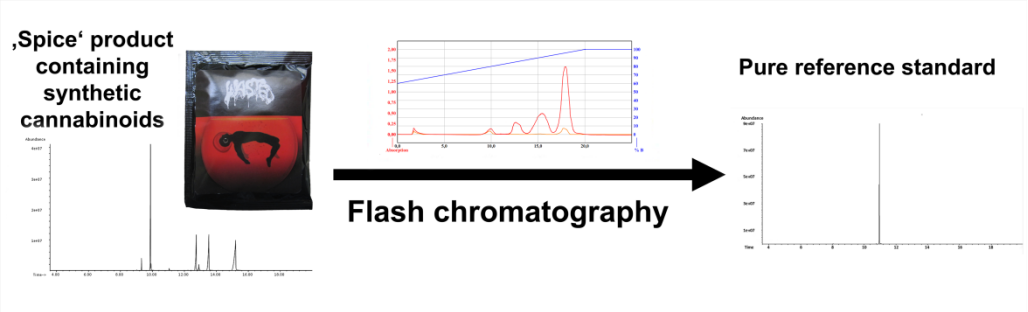
Moosmann B, Kneisel S, Girreser U, Brecht V, Westphal F, Auwärter V. Separation and structural characterization of the synthetic cannabinoids JWH-412 and 1-[(5-fluoropentyl)-1H-indol-3yl]-(4-methylnaphthalen-1-yl)methanone using GC-MS, NMR analysis and a flash chromatography system. *Forensic Sci Int*, 2012; 220: e17-e22.

Aufgrund von urheberrechtlichen Bestimmungen sind die Seiten 96 bis 101 nicht Bestandteil der Online-Veröffentlichung.

http://dx.doi.org/10.1016/j.forsciint.2011.12.010

b) Moosmann B, Kneisel S, Wohlfarth A, Brecht V, Auwärter V. A fast and inexpensive procedure for the isolation of synthetic cannabinoids from 'Spice' products using a flash chromatography system. *Anal Bioanal Chem*, 2013; 405 (12): 3929-3935.

A fast and inexpensive procedure for the isolation of synthetic cannabinoids from 'Spice' products using a flash chromatography system



Diese Publikation behandelt die Entwicklung und Anwendung einer Flash-Chromatographiemethode zur Isolierung synthetischer Cannabinoide aus Räuchermischungen. Mit Hilfe der Methode kann die Zeit zwischen dem ersten Erscheinen einer Substanz und der Integration in quantitative Nachweismethoden erheblich verkürzt werden. Die Methode wurde erfolgreich mit 15 synthetischen Cannabinoiden getestet und es konnten z.B. auch die Enantiomerenpaare *cis-/trans*-CP-47,497-C8 getrennt werden, wodurch eine separate Testung der Toxizität beider Isomere ermöglicht wurde.

Moosmann B, Kneisel S, Wohlfarth A, Brecht V, Auwärter V. A fast and inexpensive procedure for the isolation of synthetic cannabinoids from 'Spice' products using a flash chromatography system. *Anal Bioanal Chem*, 2013; 405 (12): 3929-3935.

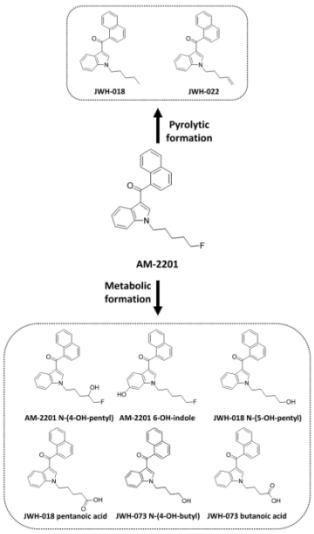
Aufgrund von urheberrechtlichen Bestimmungen sind die Seiten 103 bis 109 nicht Bestandteil der Online-Veröffentlichung.

http://link.springer.com/article/10.1007/s00216-012-6462-0/fulltext.html

c) Hutter M[#], Moosmann B[#], Kneisel S, Auwärter V. Characteristics of the designer drug and synthetic cannabinoid receptor agonist AM-2201 regarding its chemistry and metabolism. *J Mass Spectrom*, 2013; 48 (7): 885-894.

[#] geteilte Erstautorenschaft

Characteristics of the designer drug and synthetic cannabinoid receptor agonist AM-2201 regarding its chemistry and metabolism



In dieser Arbeit wird der Metabolismus des synthetischen Cannabinoids AM-2201 (Fluor-Analogon von JWH-018) untersucht. In forensischen Urinproben konnten neben charakteristischen AM-2201 Metaboliten auch Metaboliten des synthetischen Cannabinoids JWH-018 nachgewiesen werden. Des Weiteren wurden in einem Rauchkondensat von einem mit AM-2201 versetzten Joint in geringer Menge JWH-018 und JWH-022 detektiert. Mit Hilfe eines wissenschaftlichen Selbstversuches konnte gezeigt werden, dass es *in vivo* zu einer metabolischen Defluorierung kommt. Anhand des Nachweises von JWH-018 N-(4-OH-pentyl) kann jedoch eine JWH-018 Aufnahme von einer AM-2201 Aufnahme unterschieden werden auch wenn keine spezifischen Metabolite von AM-2201 mehr nachgewiesen werden können.

Hutter M[#], Moosmann B[#], Kneisel S, Auwärter V. Characteristics of the designer drug and synthetic cannabinoid receptor agonist AM-2201 regarding its chemistry and metabolism. *J Mass Spectrom*, 2013; 48 (7): 885-894.
[#] geteilte Erstautorenschaft

Aufgrund von urheberrechtlichen Bestimmungen sind die Seiten 111 bis 120 nicht Bestandteil der Online-Veröffentlichung.

http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jms.3229/full

d) Moosmann B, Valcheva T, Neukamm MA, Angerer V, Auwärter V. Hair analysis of synthetic cannabinoids: does the handling of herbal mixtures affect the analyst's hair concentration? *Forensic Toxicol*, 2015; 33 (1): 37-44.

Hair analysis of synthetic cannabinoids: does the handling of herbal mixtures affect the analyst's hair concentration?

In dieser Studie wurden Haarproben von Labormitarbeitern auf synthetische Cannabinoide untersucht. Hierbei konnten in den Haarproben von Personen, welche im Rahmen der Laborarbeit eine große Anzahl an Räuchermischungen untersucht haben, synthetische Cannabinoide nachgewiesen werden (z.T. ähnlich hohe Konzentrationen wie bei Konsumenten). Des Weiteren konnten auch synthetische Cannabinoide in Haarproben von Familienangehörigen der Labormitarbeiter nachgewiesen werden. Die Daten der Studie belegen, dass bereits der Umgang mit Räuchermischungen zu positiven Haarbefunden führen kann, die auch durch vorheriges waschen der Proben nicht vermieden werden. Zusätzlich kann auch eine Kreuzkontamination auf Personen auftreten, die in engem körperlichen Kontakt mit Personen stehen, die Kontaminationsträger sind.

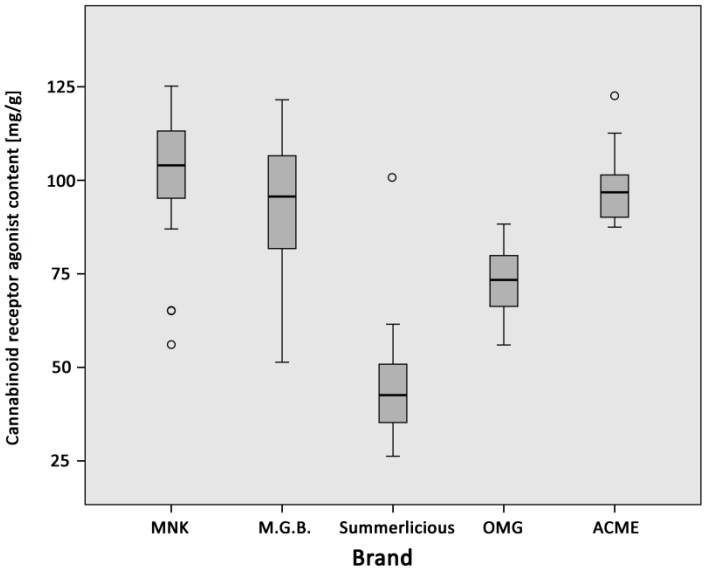
Moosmann B, Valcheva T, Neukamm MA, Angerer V, Auwärter V. Hair analysis of synthetic cannabinoids: does the handling of herbal mixtures affect the analyst's hair concentration? *Forensic Toxicol*, 2015; 33 (1): 37-44.

Aufgrund von urheberrechtlichen Bestimmungen sind die Seiten 122 bis 129 nicht Bestandteil der Online-Veröffentlichung.

http://link.springer.com/article/10.1007/s11419-014-0244-7/fulltext.html

e) Moosmann B, Angerer V, Auwärter V. Inhomogeneities in herbal mixtures - a serious risk for consumers. *Forensic Toxicol*, 2015; 33 (1): 54-60.

Inhomogeneities in herbal mixtures - a serious risk for consumers



In dieser Studie wurden über 600 Räuchermischungsproben (311 Räuchermischungen (31 Marken)) qualitativ und quantitativ untersucht. Es wurden sowohl die Schwankungen des Wirkstoffgehaltes zwischen einzelnen Verkaufseinheiten als auch innerhalb einzelner Verkaufseinheiten ermittelt. Die erhobenen Daten zeigen auf, dass es für Konsumenten derartiger Produkte praktisch nicht möglich ist, den Wirkstoff akkurat zu dosieren. Des Weiteren kommt es regelmäßig zum Austausch von Wirkstoffen innerhalb derselben Marke, was aufgrund der stark variierenden Wirkstoffpotenzen ein erhebliches zusätzliches Gesundheitsrisiko darstellen kann.

Moosmann B, Angerer V, Auwärter V. Inhomogeneities in herbal mixtures - a serious risk for consumers. *Forensic Toxicol*, 2015; 33 (1): 54-60.

Aufgrund von urheberrechtlichen Bestimmungen sind die Seiten 131 bis 137 nicht Bestandteil der Online-Veröffentlichung.

http://link.springer.com/article/10.1007/s11419-014-0247-4/fulltext.html

2.3. Designer Benzodiazepine

a) Moosmann B, Hutter M, Huppertz LM, Ferlaino S, Redlingshöfer L, Auwärter V. Characterization of the designer benzodiazepine pyrazolam and its detectability in human serum and urine. *Forensic Toxicol*, 2013; 31 (2): 263-271.

Characterization of the designer benzodiazepine pyrazolam and its detectability in human serum and urine

In dieser Publikation wird mit Pyrazolam das erste Designer Benzodiazepin identifiziert. Zusätzlich werden erste pharmakokinetische Daten erhoben. Anhand von *in vivo* und *in vitro* Studien konnte entgegen der Erwartung kein Metabolit nachgewiesen werden und es konnte gezeigt werden, dass im Gegensatz zu vielen anderen Benzodiazepinen ein Nachweis der Muttersubstanz im Urin als Konsumnachweis ausreicht.

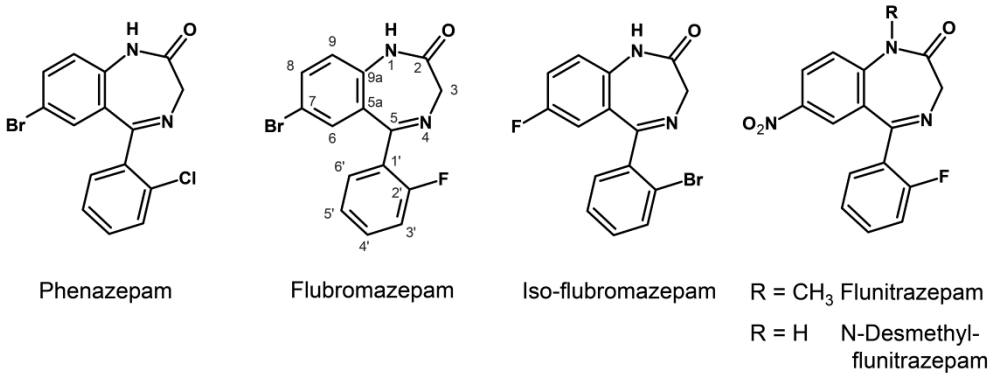
Moosmann B, Hutter M, Huppertz LM, Ferlaino S, Redlingshöfer L, Auwärter V. Characterization of the designer benzodiazepine pyrazolam and its detectability in human serum and urine. *Forensic Toxicol*, 2013; 31 (2): 263-271.

Aufgrund von urheberrechtlichen Bestimmungen sind die Seiten 139 bis 147 nicht Bestandteil der Online-Veröffentlichung.

http://link.springer.com/article/10.1007/s11419-013-0187-4/fulltext.html

b) Moosmann B, Huppertz LM, Hutter M, Buchwald A, Ferlaino S, Auwärter V. Detection and identification of the designer benzodiazepine flubromazepam and preliminary data on its metabolism and pharmacokinetics. *J Mass Spectrom*, 2013; 48 (11): 1150-1159.

Detection and identification of the designer benzodiazepine flubromazepam and preliminary data on its metabolism and pharmacokinetics



In dieser Publikation wird das Designer Benzodiazepin Flubromazepam charakterisiert und es werden erste pharmakokinetische Daten erhoben. Flubromazepam weist eine relativ lange Halbwertszeit auf. Als Hauptmetabolit konnte ein Hydroxy-Flubromazepam identifiziert werden. Zusätzlich wurden verschiedene immunchemische Tests auf ihre Eignung überprüft, eine Aufnahme von Flubromazepam zu detektieren. Die Daten zeigen, dass die Kreuzreaktivität der eingesetzten Antikörper bzw. die z.T. hohen Cut-offs in klinischen Laboren für einen Nachweis oft nicht ausreichen.

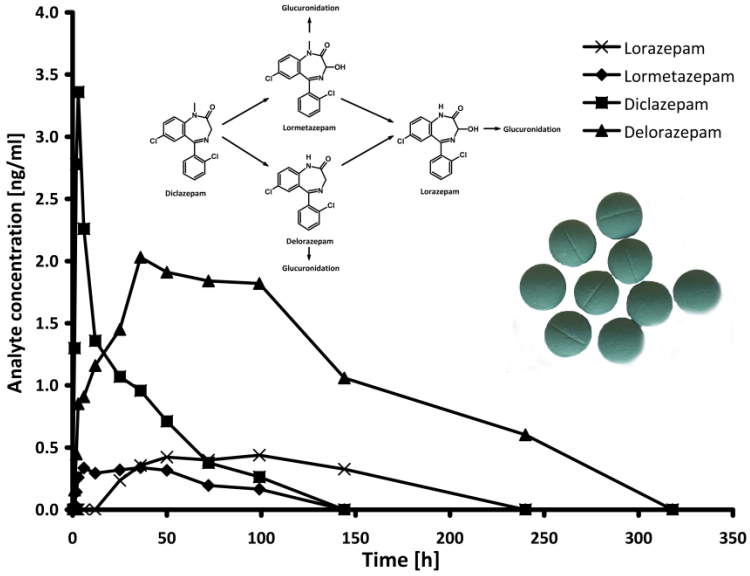
Moosmann B, Huppertz LM, Hutter M, Buchwald A, Ferlaino S, Auwärter V. Detection and identification of the designer benzodiazepine flubromazepam and preliminary data on its metabolism and pharmacokinetics. *J Mass Spectrom*, 2013; 48 (11): 1150-1159.

Aufgrund von urheberrechtlichen Bestimmungen sind die Seiten 149 bis 158 nicht Bestandteil der Online-Veröffentlichung.

http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jms.3279/full

c) Moosmann B, Bisel P, Auwärter V. Characterization of the designer benzodiazepine diclazepam and preliminary data on its metabolism and pharmacokinetics. *Drug Test Anal*, 2014; 6 (7-8): 757-763.

Characterization of the designer benzodiazepine diclazepam and preliminary data on its metabolism and pharmacokinetics



In dieser Publikation wird das Designer Benzodiazepin Diclazepam charakterisiert und es werden erste pharmakokinetische Daten erhoben. Diclazepam weist im Gegensatz zu den anderen bisher verfügbaren Designer Benzodiazepinen die Besonderheit auf, dass es zu bekannten, therapeutisch eingesetzten Benzodiazepinen verstoffwechselt wird (Delorazepam, Lormetazepam, Lorazepam). Infolgedessen sollte insbesondere beim Nachweis der o.g. zugelassenen Benzodiazepine in biologischen Proben zusätzlich eine Analyse auf Diclazepam erfolgen um falsche Schlussfolgerungen zu vemeiden.

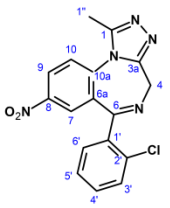
Moosmann B, Bisel P, Auwärter V. Characterization of the designer benzodiazepine diclazepam and preliminary data on its metabolism and pharmacokinetics. *Drug Test Anal*, 2014; 6 (7-8): 757-763.

Aufgrund von urheberrechtlichen Bestimmungen sind die Seiten 160 bis 166 nicht Bestandteil der Online-Veröffentlichung.

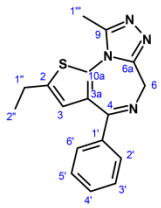
http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/dta.1628/abstract

d) Huppertz LM, Bisel P, Westphal F, Franz F, Auwärter V, Moosmann B. Characterization of the four designer benzodiazepines clonazolam, deschloroetizolam, flubromazolam and meclonazepam, and identification of their in vitro metabolites. *Forensic Toxicol*, DOI: 10.1007/s11419-015-0277-6

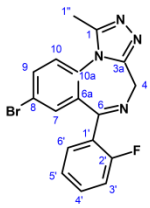
Characterization of the four designer benzodiazepines clonazolam, deschloroetizolam, flubromazolam and meclonazepam, and identification of their in vitro metabolites



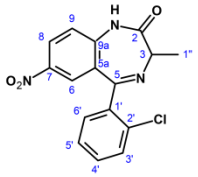
6-(2-Chlorophenyl)-1-methyl-8-nitro-4*H*-[1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]benzodiazepine (clonazolam, **1**)



2-Ethyl-9-methyl-4-phenyl-6*H*-thieno[3,2-*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepine (deschloroetizolam, **2**)



8-Bromo-6-(2-fluorophenyl)-1-methyl-4*H*-[1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]benzodiazepine (flubromazolam, **3**)



5-(2-Chlorophenyl)-3-methyl-7-nitro-1,3-dihydro-2*H*-1,4-benzodiazepin-2-one (meclonazepam, **4**)

Nach der Unterstellung der ersten drei Designer Benzodiazepine unter das schwedische Betäubungsmittelgesetz erschienen mit Clonazolam, Deschloroetizolam, Flubromazolam und Meclonazepam vier Nachfolger auf dem Markt für „Legal-Highs“. In dieser Publikation werden neben der Identifizierung und Charakterisierung mittels Kernspinresonanzspektroskopie (NMR), GC-MS, hochaufgelöster Flüssigchromatographie-Massenspektrometrie (LC-HR-MS) und Infrarot (IR)-Spektroskopie auch Daten bezüglich des jeweiligen *in vitro* Metabolismus präsentiert.

Huppertz LM, Bisel P, Westphal F, Franz F, Auwärter V, Moosmann B. Characterization of the four designer benzodiazepines clonazolam, deschloroetizolam, flubromazolam and meclonazepam, and identification of their in vitro metabolites. *Forensic Toxicol*, DOI: 10.1007/s11419-015-0277-6

Aufgrund von urheberrechtlichen Bestimmungen sind die Seiten 168 bis 188 nicht Bestandteil der Online-Veröffentlichung.

http://link.springer.com/article/10.1007/s11419-015-0277-6/fulltext.html

e) Moosmann B, King LA, Auwärter V. Designer benzodiazepines – a new challenge. *World Psychiatry*, DOI: 10.1002/wps.20236.

Designer benzodiazepines – a new challenge

In dieser Publikation wird ein Überblick über das Phänomen der Designer Benzodiazepine gegeben. Wichtige Punkte wie z.B. die Gefahr, dass diese Substanzen als „Vergewaltigungsdrogen“ eingesetzt werden könnten und nur mit aktuellen Methoden nachgewiesen werden können werden ebenso angesprochen wie die Probleme, welche diese Drogen im psychiatrischen Kontext darstellen.

Moosmann B, King LA, Auwärter V. Designer benzodiazepines – a new challenge. *World Psychiatry*, DOI: 10.1002/wps.20236.

Aufgrund von urheberrechtlichen Bestimmungen ist die Seite 190 nicht Bestandteil der Online-Veröffentlichung.

http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/wps.20236/full

3. Zusammenfassung und Ausblick

3.1. Haaranalytik auf pflanzliche Cannabinoide

Mittels der durchgeführten Studien konnten die Haupteinlagerungswege von THC, THCA-A und THC-COOH in das menschliche Haar aufgeklärt werden. Es konnte gezeigt werden, dass der Anteil an THC, der tatsächlich über den Blutkreislauf in das Haar eingelagert wird, bisher erheblich überschätzt wurde. THCA-A wird ebenso wie THC praktisch ausschließlich über externe Kontamination in relevanten Mengen in das Haar eingelagert. Hauptursache scheint bei diesem Analyten vor allem das Hantieren mit Cannabismaterial und der anschließende Transfer über die Hände auf das Haar zu sein. Des Weiteren wurde aufgezeigt, dass eine alkalische Hydrolyse bei der Analyse auf THC im Haar in der Regel zu einer erheblichen artefaktischen Erhöhung der festgestellten Konzentrationen führt. Die Studien bezüglich THC-COOH machen deutlich, dass bei engem Körperkontakt auch eine Übertragung auf das Haar anderer Personen möglich ist. Dies stellt den eindeutigen Nachweis eines Cannabiskonsums durch die Detektion von THC-COOH im Haar in Frage und kann insbesondere bei der Interpretation von Analysenergebnissen in Kinderhaar (z.B. Fragestellungen im Zusammenhang mit dem Sorgerecht) von erheblicher Bedeutung sein. Anhand der Studien wird ebenfalls deutlich, dass die seit Jahrzehnten gängige Interpretation von Konzentrationsverläufen über Haarsegmente zum retrospektiven zeitaufgelösten Nachweis eines Konsums bzw. einer Beibringung, zumindest für Cannabinoide nicht gerechtfertigt ist, da Voraussetzung hierfür eine ausschließliche Einlagerung über den Blutkreislauf wäre. Auch wenn die Ergebnisse für die untersuchten Cannabinoide nicht direkt auf andere Substanzen übertragen werden können (insbesondere auf weniger lipophile und basische Substanzen), geben die vorliegenden Ergebnisse Anlass, auch die Einlagerungswege anderer Drogen genauer zu untersuchen. Zusammenfassend wurde mit den Ergebnissen eine Basis für eine schlüssige Interpretation

haaranalytischer Ergebnisse geschaffen, die weitreichende Folgen für die gutachterliche Praxis hat.

3.2. Synthetische Cannabinoide

Mittels der entwickelten Flash-Chromatographiemethode ist es möglich synthetische Cannabinoide beim erstmaligen Erscheinen auf dem „Legal-High“-Markt ohne zeitlichen Verzug aus der entsprechenden Räuchermischung zu isolieren und als Referenzmaterial einzusetzen. Hierdurch kann die Zeit, die üblicherweise vergeht bis die Substanz kommerziell als Referenzstandard verfügbar ist, deutlich verkürzt und analytische Methoden für biologische Proben rechtzeitig aktualisiert werden. Mittels der Untersuchung des Metabolismus von AM-2201 konnte erstmalig anhand von Humanproben aufzeigt werden, dass es im Rahmen der Verstoffwechselung von synthetischen Cannabinoiden mit terminal fluorierter Pentylseitenkette zu einem metabolischen Austausch des Fluoratoms gegen eine Hydroxylgruppe kommt. Hierbei entstehen Metaboliten, die zum Teil den Metaboliten der nicht fluorierten Analoga identisch sind. Mit JWH-018 N-(4-OH-pentyl) konnte allerdings ein Metabolit identifiziert werden, der einen Konsum des nichtfluorierten Analogons JWH-018 beweist.

Die Untersuchung von über 600 Räuchermischungsproben zeigte zum Teil erhebliche Schwankungen im Wirkstoffgehalt und beweist, dass es für die Konsumenten solcher Produkte nicht möglich ist, die Droge exakt und reproduzierbar zu dosieren. Zusätzlich führt der regelmäßige Austausch der Wirkstoffe – häufig gegen wesentlich potentere Analoga und ohne Änderung der Produktbezeichnung - zu einem weiteren unvorhersehbaren Gesundheitsrisiko.

In der Haaranalytik auf synthetische Cannabinoide zeichnen sich ähnliche Probleme ab, wie sie im Rahmen dieser Arbeit bereits für pflanzliche Cannabinoide aufgezeigt wurden. Bereits das Hantieren mit den Räuchermischungen kann zur Übertragung der Analyte auf das Haar und einer durch Waschprozesse nicht vollständig entfernbaren Kontamination führen. Es konnte gezeigt werden, dass auch eine

Übertragung auf weitere Personen, die keinen direkten Kontakt mit den Produkten hatten, stattfinden kann.

Angesichts der weiterhin hohen Frequenz mit der neue synthetische Cannabinoide auf dem Markt erscheinen, ist derzeit kein Ende des Katz-und-Maus-Spiels in Sicht und es muss damit gerechnet werden, dass extrem toxische Vertreter dieser Substanzklasse auftauchen.

3.3. Designer Benzodiazepine

Designer Benzodiazepine stellen eine neue, schnell wachsende Gruppe an Neuen Psychoaktiven Substanzen (NPS) dar. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit konnten die ersten sieben Vertreter chemisch-analytisch umfassend charakterisiert und im Fall von Pyrazolam, Flubromazepam und Diclazepam erste pharmakokinetische Daten erhoben werden. Die identifizierten Hauptmetabolisierungsschritte entsprechen denen der bekannten Benzodiazepine und bestehen vorwiegend in Hydroxylierungsreaktionen. Die entsprechenden Metaboliten sind daher als Zielanalyte für die Untersuchung von Urinproben anzusehen. Pyrazolam stellt eine Ausnahme dar, da dieser Stoff aufgrund seiner Hydrophilie unmetabolisiert ausgeschieden wird. Die gängigen für immunchemische Analysen auf Benzodiazepine eingesetzten Antikörper weisen in der Regel eine ausreichend hohe Kreuzreaktivität auf. Allerdings erschweren die niedrigen Serum- und Urinkonzentrationen der hochpotenten Vertreter dieser Stoffklasse den Nachweis mittels Immunoassay. Des Weiteren ist es zwingend erforderlich die massenspektrometrischen Methoden, die zur Bestätigung eines positiven immunologischen Tests eingesetzt werden, regelmäßig zu aktualisieren, da ansonsten die Ergebnisse des Vortests zu Unrecht als „falsch positiv“ bewertet werden könnten. Die extrem hohe pharmakologische Potenz von Stoffen wie z.B. Flubromazolam birgt die Gefahr des Missbrauchs als „Vergewaltigungsdrogen“ durch unbemerkte Beibringung.

Auch wenn Benzodiazepine als eine unter pharmakologisch-toxikologischen Aspekten relativ sichere Stoffklasse angesehen werden können, kann nicht mit

Sicherheit ausgeschlossen werden, dass einige Vertreter die bisher nicht toxikologisch charakterisiert wurden und als Designerdrogen auftauchen, eine starke unerwartete Toxizität aufweisen. Betrachtet man die extreme Dynamik der Marktentwicklung der letzten Jahre bei den synthetischen Cannabinoiden, so ist es als wahrscheinlich anzusehen, dass auch die Anzahl der Designer Benzodiazepine stetig zunehmen wird. Mit der Einführung weiterer Stoffklassen wie z.B. von „Designer-Z-Drugs“ (Analoga von Zolpidem, Zopiclon, Zaleplon) ist ebenfalls zu rechnen.

4. Literaturverzeichnis

1. United Nations Office on Drugs and Crime (2014), *World Drug Report 2014* (United Nations publication, Sales No. E.14.XI.7)
2. Russo EB (2014) Constituents, history, international control, cultivation, and phenotypes of cannabis. In: (ed) Handbook of Cannabis, Oxford: Oxford University Press, pp 1-113
3. Wilkinson ST, D'Souza DC (2014) Problems with the medicalization of marijuana. JAMA 311: 2377-2378
4. Voth EA, Schwartz RH (1997) Medicinal applications of delta-9-tetrahydrocannabinol and marijuana. Ann Intern Med 126: 791-798
5. Small E, Cronquist A (1976) A practical and natural taxonomy for Cannabis. Taxon 25: 405-435
6. Hillig KW, Mahlberg PG (2004) A chemotaxonomic analysis of cannabinoid variation in Cannabis (Cannabaceae). American Journal of Botany 91: 966-975
7. ElSohly MA, Slade D (2005) Chemical constituents of marijuana: The complex mixture of natural cannabinoids. Life Sciences 78: 539-548
8. Swift W, Wong A, Li KM, Arnold JC, McGregor IS (2013) Analysis of cannabis seizures in NSW, Australia: Cannabis potency and cannabinoid profile. PLoS ONE 8: e70052
9. Kanter SL, Musumeci MR, Hollister LE (1979) Quantitative determination of delta 9-tetrahydrocannabinol and delta 9-tetrahydro-cannabinolic acid in marihuana by high-pressure liquid chromatography. J Chromatogr 171: 504-508
10. Dussy FE, Hamberg C, Luginbuhl M, Schwerzmann T, Briellmann TA (2005) Isolation of Δ9-THCA-A from hemp and analytical aspects concerning the determination of Δ9-THC in cannabis products. Forensic Sci Int 149: 3-10
11. Jung J, Kempf J, Mahler H, Weinmann W (2007) Detection of Δ9-tetrahydrocannabinolic acid A in human urine and blood serum by LC-MS/MS. J Mass Spectrom 42: 354-360
12. Moore C, Rana S, Coulter C (2007) Simultaneous identification of 2-carboxy-tetrahydrocannabinol, tetrahydrocannabinol, cannabinol and cannabidiol in oral fluid. Journal of Chromatography B 852: 459-464
13. Grotenhermen F (2003) Pharmacokinetics and pharmacodynamics of cannabinoids. Clin Pharmacokinet 42: 327-360
14. Agurell S, Halldin M, Lindgren J, Ohlsson A, Widman M, Gillespie H, Hollister L (1986) Pharmacokinetics and metabolism of delta 1-tetrahydrocannabinol and other cannabinoids with emphasis on man. Pharmacological Reviews 38: 21-43
15. Maurer HH, Sauer C, Theobald DS (2006) Toxicokinetics of Drugs of Abuse: Current Knowledge of the Isoenzymes Involved in the Human Metabolism of Tetrahydrocannabinol, Cocaine, Heroin, Morphine, and Codeine. Ther Drug Monit 28: 447-453
16. Wall ME, PEREZ-REYES M (1981) The metabolism of Δ9-tetrahydrocannabinol and related cannabinoids in man. J Clin Pharmacol 21: 178S-189S
17. Huestis MA, Smith ML (2014) Cannabinoid pharmacokinetics and disposition in alternative matrices. In: Pertwee RG (ed) Handbook of Cannabis, Oxford: Oxford University Press, pp 296-316

18. Mechoulam R, Gaoni Y (1965) A total synthesis of dl-Δ1-tetrahydrocannabinol, the active constituent of hashish. Journal of the American Chemical Society 87: 3273-3275
19. Matsuda LA, Lolait SJ, Brownstein MJ, Young AC, Bonner TI (1990) Structure of a cannabinoid receptor and functional expression of the cloned cDNA. Nature 346: 561-564
20. Munro S, Thomas KL, Abu-Shaar M (1993) Molecular characterization of a peripheral receptor for cannabinoids. Nature 365: 61-65
21. Makriyannis A, Deng H (2007) Cannabimimetic Indole Derivatives - Patent: US20080090871A1.
22. Huffman JW, Padgett LW (2005) Recent developments in the medicinal chemistry of cannabimimetic indoles, pyrroles and indenes. Curr Med Chem 12: 1395-1411
23. Melvin LS, Johnson MR, Harbert CA, Milne GM, Weissman A (1984) A cannabinoid derived prototypical analgesic. J Med Chem 27: 67-71
24. Compton DR, Johnson MR, Melvin LS, Martin BR (1992) Pharmacological profile of a series of bicyclic cannabinoid analogs: classification as cannabimimetic agents. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics 260: 201-209
25. Melvin LS, Milne GM, Johnson MR, Subramaniam B, Wilken GH, Howlett AC (1993) Structure-activity relationships for cannabinoid receptor-binding and analgesic activity: studies of bicyclic cannabinoid analogs. Molecular Pharmacology 44: 1008-1015
26. Aung MM, Griffin G, Huffman JW, Wu M-J, Keel C, Yang B, Showalter VM *et al.* (2000) Influence of the N-1 alkyl chain length of cannabimimetic indoles upon CB1 and CB2 receptor binding. Drug Alcohol Depend 60: 133-140
27. Huffman JW, Zengin G, Wu M-J, Lu J, Hynd G, Bushell K, Thompson ALS *et al.* (2005) Structure-activity relationships for 1-alkyl-3-(1-naphthoyl)indoles at the cannabinoid CB1 and CB2 receptors: steric and electronic effects of naphthoyl substituents. New highly selective CB2 receptor agonists. Bioorg Med Chem 13: 89-112
28. Wiley JL, Marusich JA, Huffman JW (2014) Moving around the molecule: relationship between chemical structure and in vivo activity of synthetic cannabinoids. Life sciences 97: 55-63
29. Griffiths P, Sedefov R, Gallegos ANA, Lopez D (2010) How globalization and market innovation challenge how we think about and respond to drug use: 'Spice' a case study. Addiction 105: 951-953
30. Auwärter V, Dresen S, Weinmann W, Müller M, Pütz M, Ferreiros N (2009) 'Spice' and other herbal blends: harmless incense or cannabinoid designer drugs? J Mass Spectrom 44: 832-837
31. Auwärter V, Dargan PI, Wood DM (2013) Chapter 13 - Synthetic Cannabinoid Receptor Agonists. In: Dargan PI & Wood DM (ed) Novel Psychoactive Substances, Boston: Academic Press, pp 317-343
32. Dresen S, Ferreiros N, Pütz M, Westphal F, Zimmermann R, Auwärter V (2010) Monitoring of herbal mixtures potentially containing synthetic cannabinoids as psychoactive compounds. J Mass Spectrom 45: 1186-1194
33. Worst TJ, Sprague JE (2015) The "pharmacophore rule" and the "spices". Forensic Toxicol 33: 170-173

34. European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction (2015), *New psychoactive substances in Europe. An update from the EU Early Warning System (March 2015)* (Publications Office of the European Union, Luxembourg)
35. Fattore L, Fratta W (2011) Beyond THC: the new generation of cannabinoid designer drugs. Frontiers in behavioral neuroscience 5: 1-12
36. Choi H, Heo S, Choe S, Yang W, Park Y, Kim E, Chung H *et al.* (2013) Simultaneous analysis of synthetic cannabinoids in the materials seized during drug trafficking using GC-MS. Anal Bioanal Chem 405: 3919-3963
37. Langer N, Lindigkeit R, Schiebel HM, Ernst L, Beuerle T (2014) Identification and quantification of synthetic cannabinoids in 'spice-like' herbal mixtures: A snapshot of the German situation in the autumn of 2012. Drug Test Anal 6: 59-71
38. Logan BK, Reinhold LE, Xu A, Diamond FX (2012) Identification of synthetic cannabinoids in herbal incense blends in the United States. J Forensic Sci 57: 1168-1180
39. Gottardo R, Fanigliulo A, Sorio D, Liotta E, Bortolotti F, Tagliaro F (2012) Monitoring compliance to therapy during addiction treatments by means of hair analysis for drugs and drug metabolites using capillary zone electrophoresis coupled to time-of-flight mass spectrometry. Forensic Sci Int 216: 101-107
40. Williams J, Patsalos PN, Wilson JF (1997) Hair analysis as a potential index of therapeutic compliance in the treatment of epilepsy. Forensic Sci Int 84: 113-122
41. Dufaux B, Agius R, Nadulski T, Kahl H-G (2012) Comparison of urine and hair testing for drugs of abuse in the control of abstinence in driver's license re-granting. Drug Test Anal 4: 415-419
42. Kronstrand R, Nyström I, Forsman M, Käll K (2010) Hair analysis for drugs in driver's license regranting. A Swedish pilot study. Forensic Sci Int 196: 55-58
43. Schubert W, Dittmann V, Brenner-Hartmann J (2013) *Urteilsbildung in der Fahreignungsbegutachtung - Beurteilungskriterien* (Kirschbaum Verlag Bonn).
44. Bertol E, Mari F, Vaiano F, Romano G, Zaami S, Baglìo G, Busardò FP (2014) Determination of GHB in human hair by HPLC-MS/MS: Development and validation of a method and application to a study group and three possible single exposure cases. Drug Test Anal. Doi: 10.1002/dta.1679
45. Kintz P, Villain M, Ludes B (2004) Testing for the undetectable in drug-facilitated sexual assault using hair analyzed by tandem mass spectrometry as evidence. Ther Drug Monit 26: 211-214
46. Villain M, Chèze M, Dumestre V, Ludes B, Kintz P (2004) Hair to document drug-facilitated crimes: four cases involving bromazepam. J Anal Toxicol 28: 516-519
47. Villain M, Cheze M, Tracqui A, Ludes B, Kintz P (2004) Testing for zopiclone in hair application to drug-facilitated crimes. Forensic Sci Int 145: 117-121
48. SAMHSA (2004) Proposed Revisions to Mandatory guidelines for federal workplace drug testing programs (U.S. Department of Health and Mental Services, Substance Abuse and Mental Health Services Administration).
49. Lewis D, Moore C, Morrissey P, Leikin J (1997) Determination of drug exposure using hair: application to child protective cases. Forensic Sci Int 84: 123-128
50. Pragst F, Broecker S, Hastedt M, Herre S, Andresen-Streichert H, Sachs H, Tsokos M (2013) Methadone and illegal drugs in hair from children with parents in maintenance treatment or suspected for drug abuse in a german community. Ther Drug Monit 35: 737-752

51. Smith FP, Kidwell DA (1996) Cocaine in hair, saliva, skin swabs, and urine of cocaine users' children. Forensic Sci Int 83: 179-189
52. Baumgartner W, Hill V, Blahd W (1989) Hair analysis for drugs of abuse. J Forensic Sci 34: 1433-1453
53. Kintz P (2007) *Analytical and practical aspects of drug testing in hair* (Boca Raton, Taylor & Francis Group).
54. Pragst F, Balikova MA (2006) State of the art in hair analysis for detection of drug and alcohol abuse. Clinica Chimica Acta 370: 17-49
55. Nakahara Y, Takahashi K, Kikura R (1995) Hair analysis for drugs of abuse. X. Effect of physicochemical properties of drugs on the incorporation rates into hair. Biological & Pharmaceutical Bulletin 18: 1223-1227
56. Han E, Choi H, Lee S, Chung H (2011) A comparative study on the concentrations of 11-nor-Δ-9-tetrahydrocannabinol-9-carboxylic acid (THCCOOH) in head and pubic hair. Forensic Sci Int 212: 238-241
57. Han E, Choi H, Lee S, Chung H, Song JM (2011) A study on the concentrations of 11-nor-Δ9-tetrahydrocannabinol-9-carboxylic acid (THCCOOH) in hair root and whole hair. Forensic Sci Int 210: 201-205
58. Han E, Chung H, Song JM (2012) Segmental hair analysis for 11-nor-Δ9-tetrahydrocannabinol-9-carboxylic acid and the patterns of cannabis use. J Anal Toxicol 36: 195-200
59. Huestis MA, Gustafson RA, Moolchan ET, Barnes A, Bourland JA, Sweeney SA, Hayes EF *et al.* (2007) Cannabinoid concentrations in hair from documented cannabis users. Forensic Sci Int 169: 129-136
60. Kim JY, Cheong JC, Lee JI, In MK (2011) Improved gas chromatography-negative ion chemical ionization tandem mass spectrometric method for determination of 11-nor-Δ9-tetrahydrocannabinol-9-carboxylic acid in hair using mechanical pulverization and bead-assisted liquid-liquid extraction. Forensic Sci Int 206: e99-e102
61. Mieczkowski T (1995) A research note: the outcome of GC/MS/MS confirmation of hair assays on 93 cannabinoid (+) cases. Forensic Sci Int 70: 83-91
62. Mieczkowski T (2003) Assessing the potential of a "color effect" for hair analysis of 11-nor-9-carboxy-Δ9-tetrahydrocannabinol: Analysis of a large sample of hair specimens. Life Sciences 74: 463-469
63. Moore C, Rana S, Coulter C, Feyerherm F, Prest H (2006) Application of two-dimensional gas chromatography with electron capture chemical ionization mass spectrometry to the detection of 11-nor-Δ9-tetrahydrocannabinol-9-carboxylic acid (THC-COOH) in hair. J Anal Toxicol 30: 171-177
64. Sachs H, Dressler U (2000) Detection of THCCOOH in hair by MSD-NCI after HPLC clean-up. Forensic Sci Int 107: 239-247
65. Thieme D, Sachs H, Uhl M (2014) Proof of cannabis administration by sensitive detection of 11-nor-Delta (9)-tetrahydrocannabinol-9-carboxylic acid in hair using selective methylation and application of liquid chromatography-tandem and multistage mass spectrometry. Drug Test Anal 6: 112-118
66. Uhl M, Sachs H (2004) Cannabinoids in hair: strategy to prove marijuana/hashish consumption. Forensic Sci Int 145: 143-147
67. Kauert G, Röhrich J (1996) Concentrations of Δ9-tetrahydrocannabinol, cocaine and 6-monoacetylmorphine in hair of drug abusers. Int J Legal Med 108: 294-299

68. Cooper GAA, Kronstrand R, Kintz P (2012) Society of Hair Testing guidelines for drug testing in hair. Forensic Sci Int 218: 20-24
69. Auwärter V, Wohlfarth A, Traber J, Thieme D, Weinmann W (2010) Hair analysis for Δ9-tetrahydrocannabinolic acid A - new insights into the mechanism of drug incorporation of cannabinoids into hair. Forensic Sci Int 196: 10-13
70. Musshoff F, Junker HP, Lachenmeier DW, Kroener L, Madea B (2002) Fully automated determination of cannabinoids in hair samples using headspace solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry. J Anal Toxicol 26: 554-560
71. Nadulski T, Pragst F (2007) Simple and sensitive determination of Δ9-tetrahydrocannabinol, cannabidiol and cannabinol in hair by combined silylation, headspace solid phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry. Journal of Chromatography B 846: 78-85
72. Salomone A, Gerace E, D'Urso F, Di Corcia D, Vincenti M (2012) Simultaneous analysis of several synthetic cannabinoids, THC, CBD and CBN, in hair by ultra-high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry. Method validation and application to real samples. J Mass Spectrom 47: 604-610
73. Wilkins D, Haughey H, Cone E, Huestis M, Foltz R, Rollins D (1995) Quantitative analysis of THC, 11-OH-THC, and THCCOOH in human hair by negative ion chemical ionization mass spectrometry. J Anal Toxicol 19: 483-491
74. Baciu T, Borrull F, Aguilar C, Calull M (2015) Recent trends in analytical methods and separation techniques for drugs of abuse in hair. Analytica Chimica Acta 856: 1-26
75. Kneisel S, Auwärter V (2012) Analysis of 30 synthetic cannabinoids in serum by liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry after liquid-liquid extraction. J Mass Spectrom 47: 825-835
76. Kronstrand R, Roman M, Andersson M, Eklund A (2013) Toxicological findings of synthetic cannabinoids in recreational users. J Anal Toxicol 37: 534-541
77. Hutter M, Kneisel S, Auwärter V, Neukamm MA (2012) Determination of 22 synthetic cannabinoids in human hair by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Journal of Chromatography B 903: 95-101
78. Salomone A, Gerace E, Luciano C, Di Corcia D, Vincenti M (2014) Quantification of 22 synthetic cannabinoids and 10 metabolites in human hair. Toxicologie Analytique et Clinique 26: S14
79. Kim J, In S, Park Y, Park M, Kim E, Lee S (2013) Deposition of JWH-018, JWH-073 and their metabolites in hair and effect of hair pigmentation. Anal Bioanal Chem 405: 9769-9778
80. Kim J, Park Y, Park M, Kim E, Yang W, Baeck S, Lee S *et al.* (2015) Simultaneous determination of five naphthoylindole-based synthetic cannabinoids and metabolites and their deposition in human and rat hair. Journal of pharmaceutical and biomedical analysis 102: 162-175
81. Thorspecken J, Skopp G, Pötsch L (2004) In vitro contamination of hair by marijuana smoke. Clinical Chemistry 50: 596-602
82. Glaeske G (2012) Medikamente - Psychotrope und andere Arzneimittel mit Missbrauchs- und Abhängigkeitspotenzial. In: Suchtfragen DHf (ed) Jahrbuch Sucht 2012, Lengerich: Papst, pp 90-111
83. Maskell PD, De Paoli G, Nitin Seetohul L, Pounder DJ (2012) Phenazepam: The drug that came in from the cold. J Forensic Leg Med 19: 122-125

84. Sigel E, Buhr A (1997) The benzodiazepine binding site of GABAA receptors. Trends in Pharmacological Sciences 18: 425-429
85. United Nations Office on Drugs and Crime (1997), *Recommended methods for the detection and assay of barbiturates and benzodiazepines in biological specimens. Manual for use by National laboratories* (United Nations publication, UN document ID number: ST/NAR/28)
86. Breimer DD (1979) Pharmacokinetics and metabolism of various benzodiazepines used as hypnotics. Br J Clin Pharmacol 8: 7S-13S
87. Gorski JC, Jones DR, Hamman MA, Wrighton SA, Hall SD (1999) Biotransformation of alprazolam by members of the human cytochrome P4503A subfamily. Xenobiotica 29: 931-944
88. Kitagawa H, Esumi Y, Kurosawa S, Sekine S, Yokoshima T (1979) Metabolism of 8-chloro-6-(o-chlorophenyl)-1-methyl- 4H-s-triazolo [4,3-a] [1,4] benzodiazepine, triazolam, a new central depressant. I. Absorption, distribution and excretion in rats, dogs and monkeys. Xenobiotica 9: 415-428
89. Kronbach T, Mathys D, Umeno M, Gonzalez FJ, Meyer UA (1989) Oxidation of midazolam and triazolam by human liver cytochrome P450IIIA4. Molecular Pharmacology 36: 89-96
90. Schwartz MA, Koechlin BA, Postma E, Palmer S, Krol G (1965) Metabolism of diazepam in rat, dog, and man. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics 149: 423-435
91. Coller JK, Somogyi AA, Bochner F (1999) Flunitrazepam oxidative metabolism in human liver microsomes: involvement of CYP2C19 and CYP3A4. Xenobiotica 29: 973-986
92. Mattila MAK, Larni HM (1980) Flunitrazepam: a review of its pharmacological properties and therapeutic use. Drugs 20: 353-374
93. Greenblatt D (1981) Clinical Pharmacokinetics of Oxazepam and Lorazepam. Clin Pharmacokinet 6: 89-105
94. Hyland R, Osborne T, Payne A, Kempshall S, Logan YR, Ezzeddine K, Jones B (2009) In vitro and in vivo glucuronidation of midazolam in humans. Br J Clin Pharmacol 67: 445-454
95. Caplehorn JRM, Drummer OH (2002) Fatal methadone toxicity: signs and circumstances, and the role of benzodiazepines. Aust N Z J Public Health 26: 358-362
96. Reynaud M, Petit G, Potard D, Courty P (1998) Six deaths linked to concomitant use of buprenorphine and benzodiazepines. Addiction 93: 1385-1392
97. Tanaka E (2002) Toxicological interactions between alcohol and benzodiazepines. Clinical Toxicology 40: 69-75
98. Fracasso C, Confalonieri S, Garattini S, Caccia S (1991) Single and multiple dose pharmacokinetics of etizolam in healthy subjects. European Journal of Clinical Pharmacology 40: 181-185
99. Heizmann P, Eckert M, Ziegler WH (1983) Pharmacokinetics and bioavailability of midazolam in man. Br J Clin Pharmacol 16: 43S-49S
100. Kales A, Bixler EO, Vela-Bueno A, Soldatos CR, Nikiaus DE, Manfredi RL (1986) Comparison of short and long half-life benzodiazepine hypnotics: Triazolam and quazepam. Clin Pharmacol Ther 40: 378-386
101. Greenblatt D, Wright CE (1993) Clinical Pharmacokinetics of Alprazolam. Clin Pharmacokinet 24: 453-471

102. Boxenbaum HG, Posmanter HN, Macasieb T, Geitner KA, Weinfeld RE, Moore JD, Darragh A *et al.* (1978) Pharmacokinetics of flunitrazepam following single- and multiple-dose oral administration to healthy human subjects. J Pharmacokinet Biopharm 6: 283-293

103. Rupp W, Badian M, Christ O, Hajdu P, Kulkarni RD, Taeuber K, Uihlein M *et al.* (1979) Pharmacokinetics of single and multiple doses of clobazam in humans. Br J Clin Pharmacol 7: 51S-57S

104. Kaplan SA, Alexander K, Jack ML, Puglisi CV, de Silva JAF, Lee TL, Weinfeld RE (1974) Pharmacokinetic profiles of clonazepam in dog and humans and of flunitrazepam in dog. J Pharm Sci 63: 527-532

105. Kaplan SA, Jack ML, Alexander K, Weinfeld RE (1973) Pharmacokinetic profile of diazepam in man following single intravenous and oral and chronic oral administrations. J Pharm Sci 62: 1789-1796

Die Seite 202 (Lebenslauf) enthält persönliche Daten. Sie ist deshalb nicht Bestandteil der Online-Veröffentlichung.