

Trends auf dem Gebiet der synthetischen Cannabinoidmimetika: Massenspektren und ATR-IR-Spektren neuer Verbindungen aus dem Zeitraum Ende 2010 bis Ende 2011

Stefan Kneisel¹, Folker Westphal², Bjoern Moosmann¹, Volker Brecht³, Philippe Bisel³, Christian Vidal⁴, Andrea Jacobsen-Bauer⁵, Wolf-Rainer Bork⁶, Volker Auwärter¹

¹Institut für Rechtsmedizin, Forensische Toxikologie, Albertstraße 9, 79104 Freiburg

²Landeskriminalamt Schleswig-Holstein, Mühlenweg 166, 24116 Kiel

³Institut für Pharmazeutische Wissenschaften, Albert-Ludwigs-Universität Freiburg, Albertstraße 25, 79104 Freiburg

⁴Landeskriminalamt Niedersachsen, Schützenstraße 2, 30161 Hannover

⁵Landeskriminalamt Baden-Württemberg, Taubenheimstraße 85, 70372 Stuttgart

⁶Landeskriminalamt Berlin, Tempelhofer Damm 12, 12101 Berlin-Tempelhof

Abstract

During the last months once again a high number of synthetic cannabimimetics have been seized by German authorities. These compounds are currently distributed via several online trading platforms providing a wide diversity of substances. Hence, particularly the identification of isobaric substances involves the danger of an incorrect assignment of mass spectra. In certain cases, this leads to considerable analytical challenges. In the majority of cases, they can only be mastered by combining multiple analytical techniques. In this article, mass spectrometric and infrared spectroscopic data of some newly emerged cannabimimetics are presented.

Zusammenfassung

Innerhalb der letzten Monate wurde in Deutschland erneut eine große Anzahl synthetischer Cannabinoidmimetika sichergestellt. Diese werden derzeit vor allem in großem Umfang über einschlägige Online-Handelsplattformen vertrieben. Die enorme Vielfalt an verschiedenen Substanzen birgt vor allem bei isobaren Verbindungen häufig die Gefahr einer falschen Zuordnung von Massenspektren. Dies führt in einigen Fällen zu besonderen analytischen Herausforderungen, die meist nur durch die Kombination mehrerer analytischer Verfahren zu bewältigen sind. In dem vorliegenden Artikel werden weitere massenspektrometrische und – soweit verfügbar – auch infrarotspektroskopische Daten neuer Cannabinoidmimetika zur Verfügung gestellt.

1. Einleitung

Der Markt der Räuchermischungen und darin enthaltener synthetischer Cannabinoidmimetika entwickelt sich nach wie vor äußerst dynamisch [1-3]. So vergeht momentan kaum ein Monat ohne Identifizierung neuer, hochpotenter Substanzen. Das Reservoir, aus dem die Hersteller schöpfen können, ist ausgesprochen groß, da einerseits die pharmakologische Charakterisierung (v. a. die Bindungsaffinität zum Cannabinoid-Rezeptor Typ 1) hunderter synthetischer Cannabinoide in der wissenschaftlichen Literatur beschrieben und somit zugänglich ist [4-11], und andererseits bei Kenntnis der wichtigsten Pharmakophore durch einfache Permutation von Substituenten schnell Verbindungen kreiert werden können, die mit hoher Wahrscheinlichkeit pharmakologisch aktiv sind. Desweiteren blüht der Handel mit Reinsubstanzen (vorwiegend Aminoalkylindolen), die im Kilomaßstab über einschlägige Online-Handelsplattformen als „Research Chemicals“ vertrieben werden. Diese Entwicklungen werfen für die Seite

der Strafverfolgung erhebliche Probleme auf. Der Sachverständigenausschuss des Bundesinstitutes für Arzneimittel und Medizinprodukte (BfArM) empfahl am 03.05. und 06.12. letzten Jahres u. a. die zuvor dominant in Räuchermischungen aufgetretenen Cannabinoide JWH-250, JWH-081 und JWH-122 in die Anlage II des Betäubungsmittelgesetzes (BtMG) aufzunehmen. Hierauf reagierten die Hersteller jedoch umgehend, was sich vor allem zu Beginn dieses Jahres in einer hohen Anzahl neuer Räuchermischungen äußerte, die das hoch CB₁-affine Aminoalkylindol JWH-210 enthielten. Im weiteren Verlauf wurden vom Sachverständigenausschuss dieses und weitere synthetische Cannabinoide (zurzeit insgesamt 12) für eine Unterstellung in naher Zukunft empfohlen.

Erst kürzlich berichteten wir über die Identifizierung mehrerer neuer Cannabinoidmimetika in Räuchermischungen und präsentierten GC-EI-MS- sowie ATR-IR-Spektren weiterer zu erwartender Substanzen [2]. Tatsächlich traten bereits kurze Zeit nach der Veröffentlichung dieser Daten die ersten jener Substanzen in kommerziell erhältlichen Räuchermischungen auf (JWH-200, JWH-203, AM-694). Während in den meisten Produkten noch immer regelmäßig Substanzen zu finden sind, die – wie in den Produkten der ersten Generationen – aus der wissenschaftlichen Literatur stammen, konnten jüngst zunehmend Cannabinoidmimetika identifiziert werden, die völlig neue Substitutionsmuster zeigen [12] oder durch Kombination verschiedener Strukturelemente bereits bekannter Substanzen entstanden sind [13]. Durch die große Anzahl an Substanzen entstehen zunehmend analytische Herausforderungen bei der Identifizierung neuer synthetischer Cannabinoide. So genügt mittlerweile nicht in jedem Fall allein eine Identifizierung durch Abgleich von GC-EI-MS-Spektrum und Retentionsindex. Vielmehr kann es zur Unterscheidung von Stellungsisomeren oder Isobaren notwendig sein, zusätzliche analytische Verfahren wie IR-Spektroskopie, hochauflösende Massenspektrometrie oder Produktionsspektrometrie einzusetzen [12]. Schwierigkeiten können auch nebeneinander vorliegende Isomere bereiten, die gaschromatographisch nicht getrennt werden und so bei der GC-MS-Untersuchung zu Mischspektren führen. Solche Isomere müssen zur eindeutigen Identifizierung gegebenenfalls mittels Dünnschichtchromatographie oder präparativer HPLC bzw. Flashchromatographie voneinander getrennt werden.

In diesem Artikel präsentieren wir weitere GC-EI-MS- und – soweit genügend Substanz vorhanden war – auch ATR-IR-Spektren von seit dem Erscheinen des letzten Artikels neu in Kräutermischungen aufgetretenen Cannabinoidmimetika. Darüber hinaus werden analytische Daten einiger synthetischer Cannabinoide dargestellt, die zwar noch nicht in fertigen Räuchermischungen aufgetreten sind, aber bereits als „Research Chemicals“ angeboten werden.

2. Material und Methoden

2.1. Chemikalien

2-Methyl-3-(1-naphthoyl)-1-pentylindol (JWH-007, **1**), 1-[(N-Methylpiperidin-2-yl)methyl]-3-(1-naphthoyl)indol (AM-1220, **2**), 1-(N-Methylazepan-3-yl)-3-(1-naphthoyl)indol (**3**), 3-(1-Adamantoyl)-1-pentylindol (**4**), 1-(5-Fluorpentyl)-3-(4-methylnaphtho-1-yl)indol (**5**), sowie 3-[(2-Methoxyphenyl)acetyl]-1-[(1-methylpiperidin-2-yl)methyl]indol (**6**) wurden aus Räuchermischungen isoliert, die aus Sicherstellungen des Landeskriminalamtes Berlin und des Instituts für Rechtsmedizin Freiburg stammten. Die Identifizierung von 2-Methyl-3-(1-naphthoyl)-1-propylindol (JWH-015, **7**), 3-[(2-Methylphenyl)acetyl]-1-pentylindol (JWH-251, **8**), 1-(5-Fluorpentyl)-3-(1-naphthoyl)indol (AM-2201, **9**), 2-Methyl-3-(1-(4-methoxybenzoyl))-1-(2-(morpholin-4-yl)ethyl)indol (WIN 48,098, **10**) sowie 1-Naphthyl-(4-pentoxynaphth-1-yl)methanon (CRA-13, **11**) in Räuchermischungen erfolgte am Institut für Rechtsmedizin Freiburg anhand des Abgleichs von GC-EI-Massenspektren und Retentionsindizes

mit dort vorhandenen Referenzsubstanzen. Die Substanzen 3-(4-Brom-1-naphthoyl)-1-pentylindol (JWH-387, **12**) sowie 3-(4-Fluor-1-naphthoyl)-1-pentylindol (JWH-412, **13**) stammten aus Sicherstellungen der Polizei in Baden-Württemberg und lagen jeweils als Feststoffprobe vor. 3-(2-Methoxybenzoyl)-1-pentylindol (**14**) wurde vom Landeskriminalamt Niedersachsen als Feststoffprobe zur Verfügung gestellt. 3-(4-Chlor-1-naphthoyl)-1-pentylindol (JWH-398, **15**) und 1-(2-Cyclohexylethyl)-3-[(2-methoxyphenyl)acetyl]indol (RCS-8, **16**) wurden als Referenzsubstanzen von Cayman Chemical (Ann Arbor, Michigan, USA) bezogen.

2.2. Gaschromatographie-Massenspektrometrie (GC-MS)

Probenvorbereitung: Proben der sichergestellten Kräutermischungen wurden mit Ethanol extrahiert [3]. Pulverproben wurden in Ethanol oder Isopropanol in einer Konzentration von mindestens 100 µg/mL gelöst. 1 µL dieser Extrakte wurde in das GC-MS-System injiziert.

Geräte: Die Analysen erfolgten auf einem GC-MS-System bestehend aus einem Gaschromatograph (Trace GC Ultra) der Firma Thermo Scientific mit Autosampler CTC CombiPAL (CTC Analytics, Schweiz), gekoppelt mit einem TSQ7000 Triple-Quadrupol-Massenspektrometer der Firma Thermo-Finnigan.

GC-Parameter: Die Aufgabe erfolgte splitless. Die Injektortemperatur betrug 220 °C. Trägergas war Helium (1 mL/min, constant flow). Für die Trennung wurde eine Fused Silica DB-1 Säule der Firma J&W, Länge 30 m, Innendurchmesser 0,25 mm, Filmdicke 0,25 µm verwendet. Das Temperaturprogramm startete bei 80 °C mit einer Haltezeit von 2 min und heizte anschließend mit 15 °C/min auf eine Endtemperatur von 280 °C auf, die 21 min gehalten wurde. Die Temperatur der Transferline zum Massenspektrometer betrug 280 °C.

MS-Parameter: Es wurde ein Massenbereich von $m/z = 29 - 600$ mit einem Scan pro Sekunde gemessen. Zur Aufnahme der Elektronenstoß-Ionisations (EI)-Massenspektren wurde eine Ionisationsenergie von 70 eV bei einer Emissionsstromstärke von 400 µA verwendet. Die Temperatur der Ionenquelle betrug 175 °C.

Retentionsindizes (RI) sind als Kovats Indizes, berechnet nach Messung einer *n*-Alkan-Mischung mithilfe des oben angegebenen Temperaturprogramms, angegeben.

2.3. ¹H- und ¹³C-NMR-Untersuchungen

Zur Identifizierung der Substanzen JWH-015 (**7**), JWH-251 (**8**), AM-2201 (**9**), WIN 48,098 (**10**) und CRA-13 (**11**) wurden Substanzen verwendet, die als „Research Chemicals“ erworben wurden. Diese wurden gaschromatographisch-massenspektrometrisch und NMR-spektroskopisch vermessen, um die jeweilige Struktur zu bestätigen. Bei den aus Kräutermischungen isolierten Verbindungen wurden nach präparativer chromatographischer Anreicherung Strukturbestätigungen mittels GC-MS und NMR vorgenommen oder die Verbindungen mittels der NMR-spektroskopisch abgesicherten, gekauften Wirkstoffe unter Zuhilfenahme der Infrarotspektroskopie durch Vergleich identifiziert. Die NMR-spektroskopischen Daten werden in diesem Artikel nicht präsentiert.

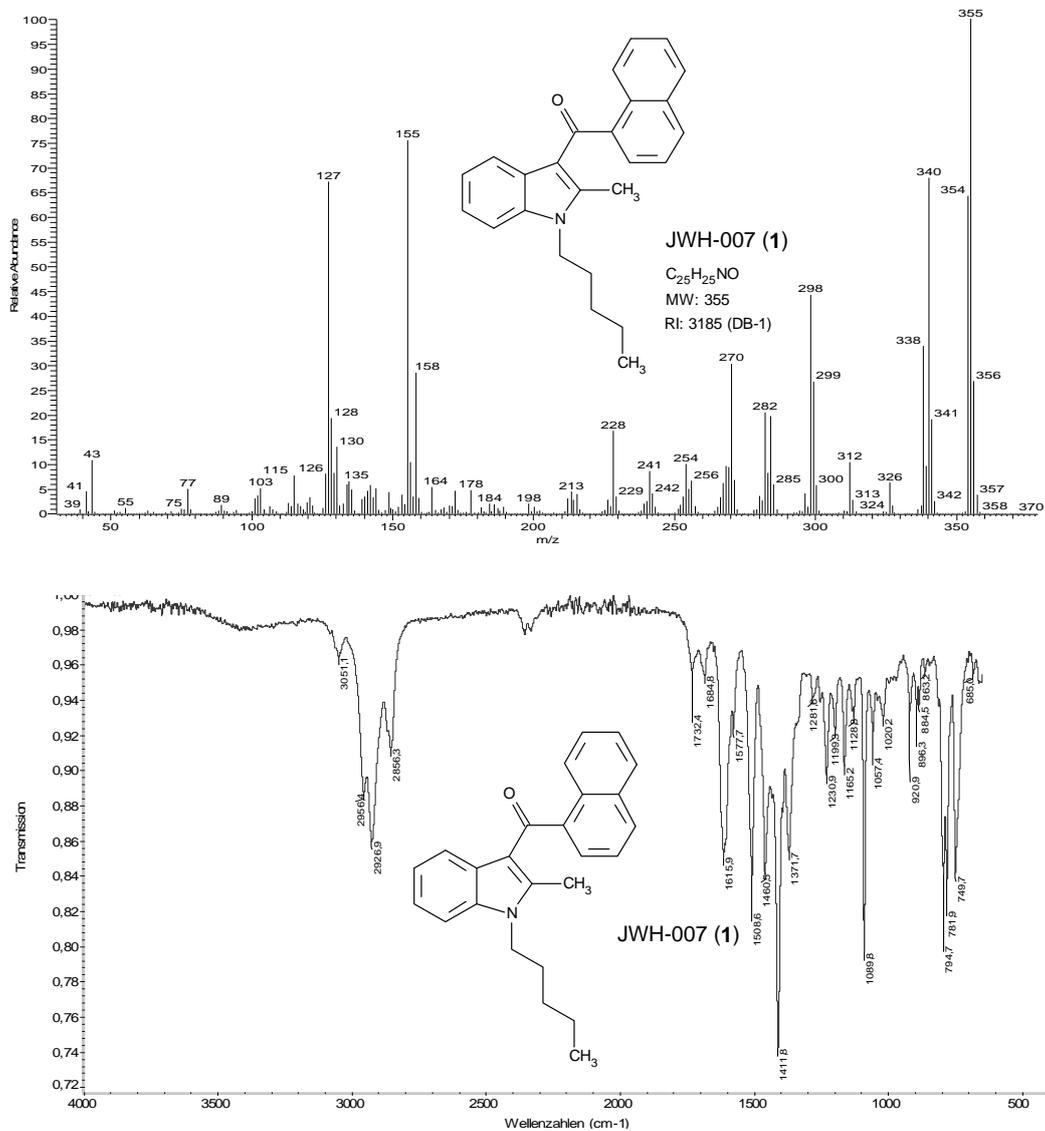
2.4. Infrarotspektroskopie

Zur Aufnahme der ATR-IR-Spektren wurde ein Nicolet 380 FT-IR mit einer Smart Golden Gate Diamant ATR verwendet. Die Wellenzahlauflösung wurde auf 4 cm⁻¹ eingestellt und die Spektren in einem Bereich von 600 – 4000 cm⁻¹ aufgenommen.

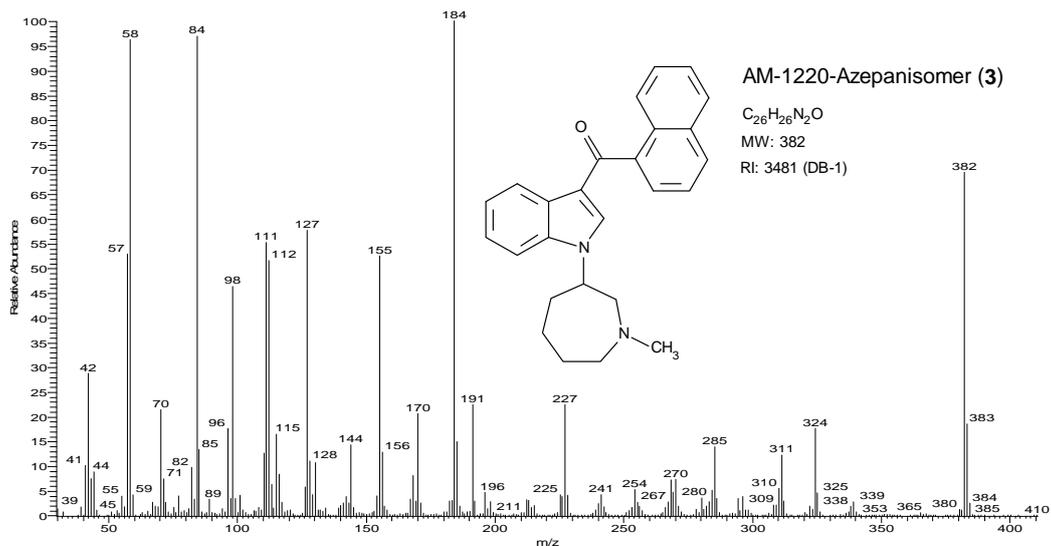
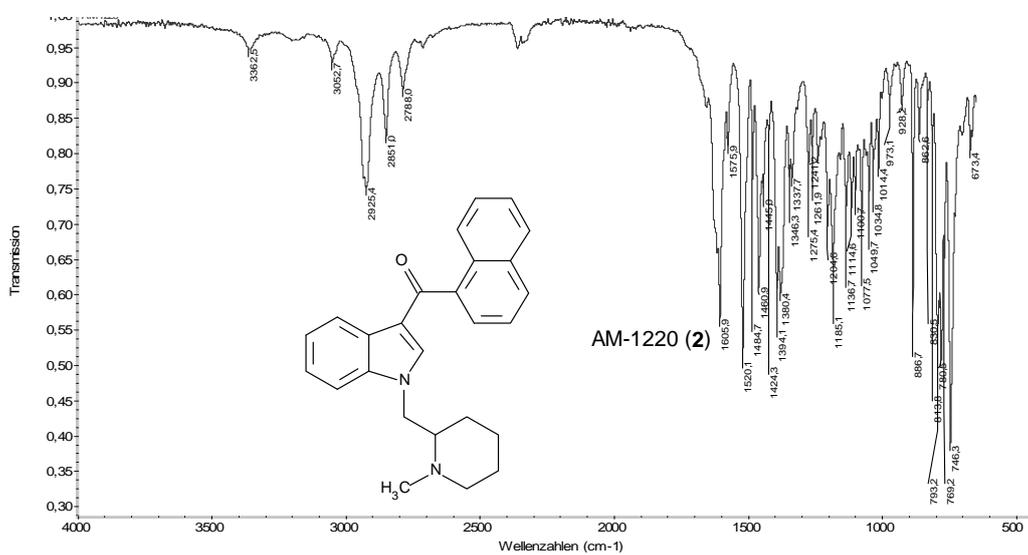
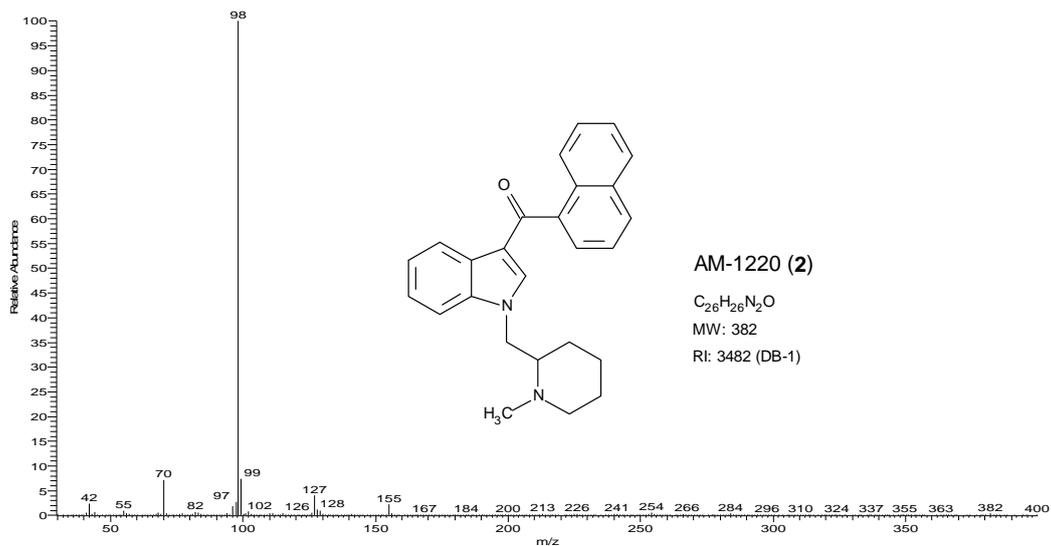
3. Massenspektren und ATR-IR-Spektren

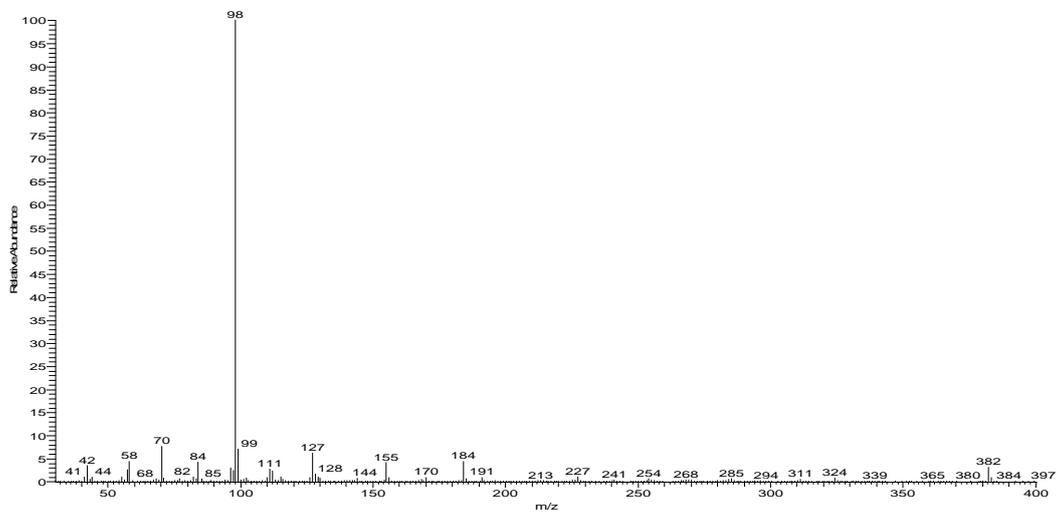
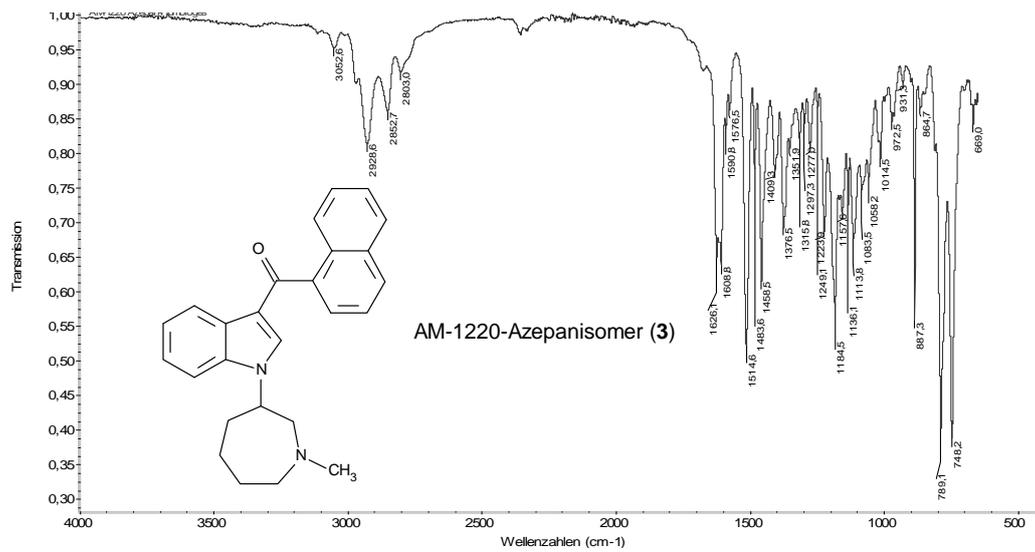
3.1. Sichergestellte Cannabinoidmimetika Ende 2010 bis Oktober 2011

Im Folgenden werden die Massenspektren nach Elektronenstoßionisation und, soweit genügend Substanz vorhanden war, auch die ATR-IR-Spektren abgebildet.



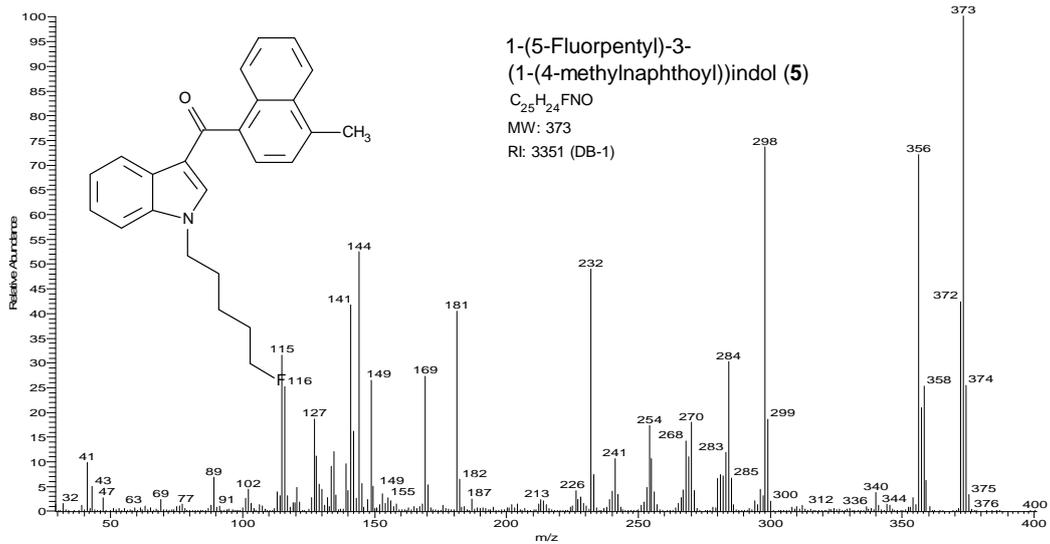
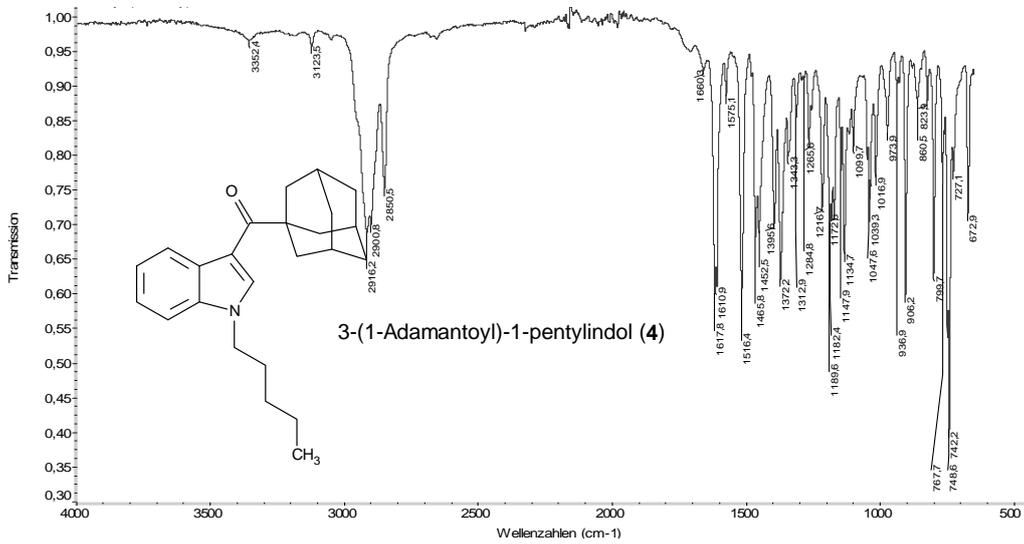
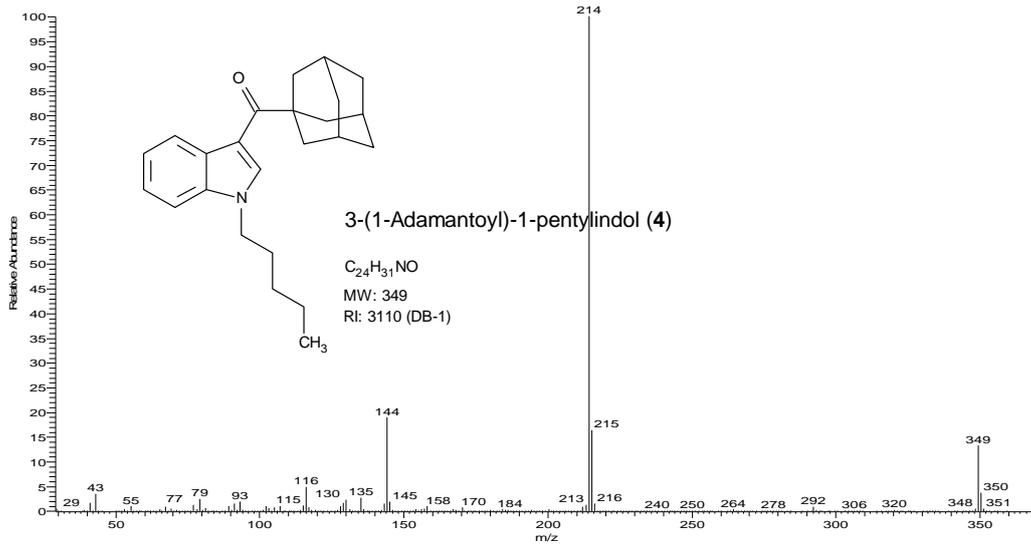
Das Cannabinoidmimetikum AM-1220 (2) lag zusammen mit seinem Azepan-Isomer (3) in einer 70:30 – Mischung zunächst in einem „Research Chemical“ vor und konnte kurze Zeit später auch in dieser Zusammensetzung in mehreren Kräutermischungen nachgewiesen werden. Die beiden Isomere sind unter den verwendeten gaschromatographischen Bedingungen nicht zu trennen. Sie ließen sich jedoch dünnschichtchromatographisch auftrennen und so strukturell charakterisieren. Die beiden Isomere sind massenspektrometrisch und infrarotspektroskopisch sehr gut zu unterscheiden. Da das Mischungsverhältnis produktionsbedingt zu sein scheint, wird hier auch das GC-MS-Spektrum der Mischung, das große Ähnlichkeiten mit dem GC-MS-Spektrum von AM-1220 aufweist, dargestellt.

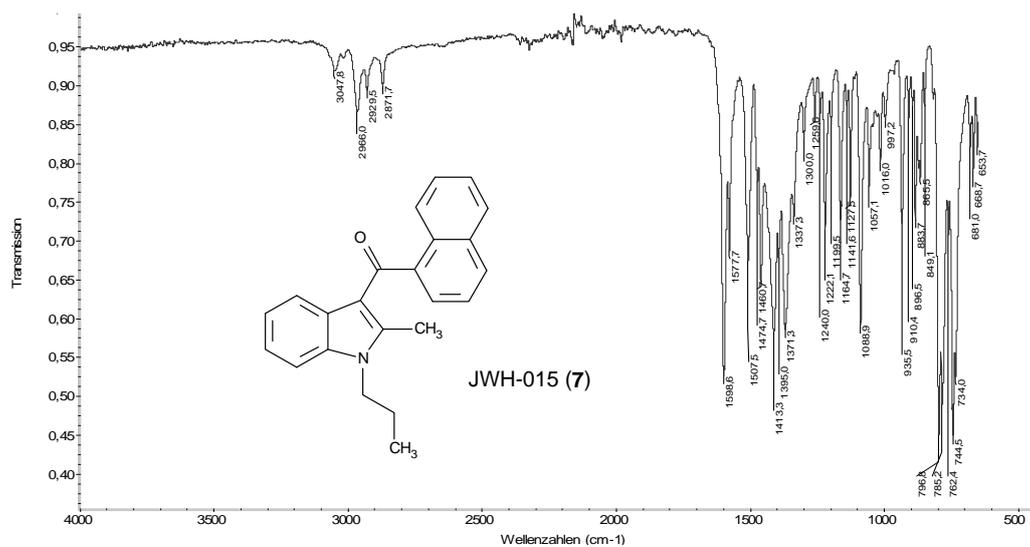
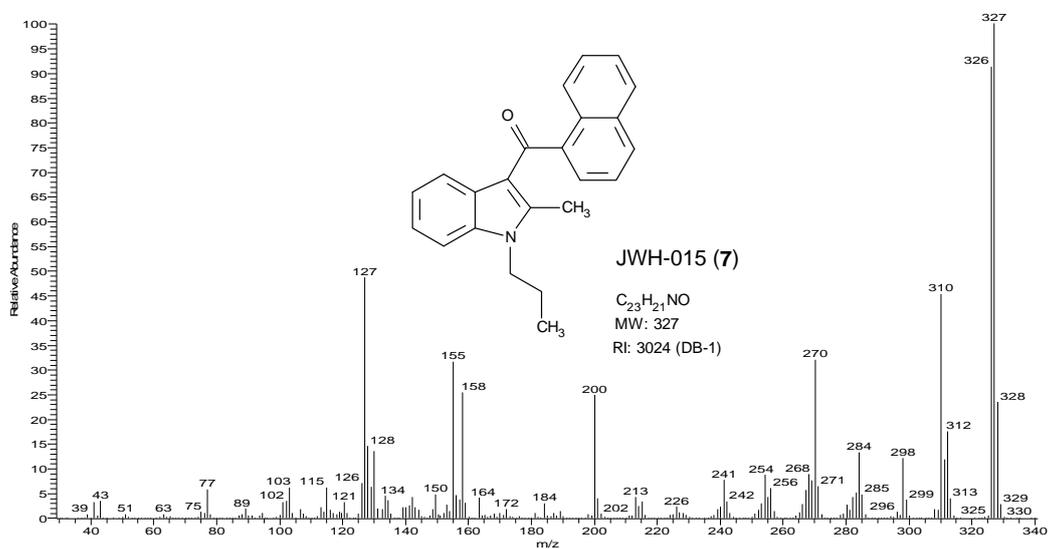
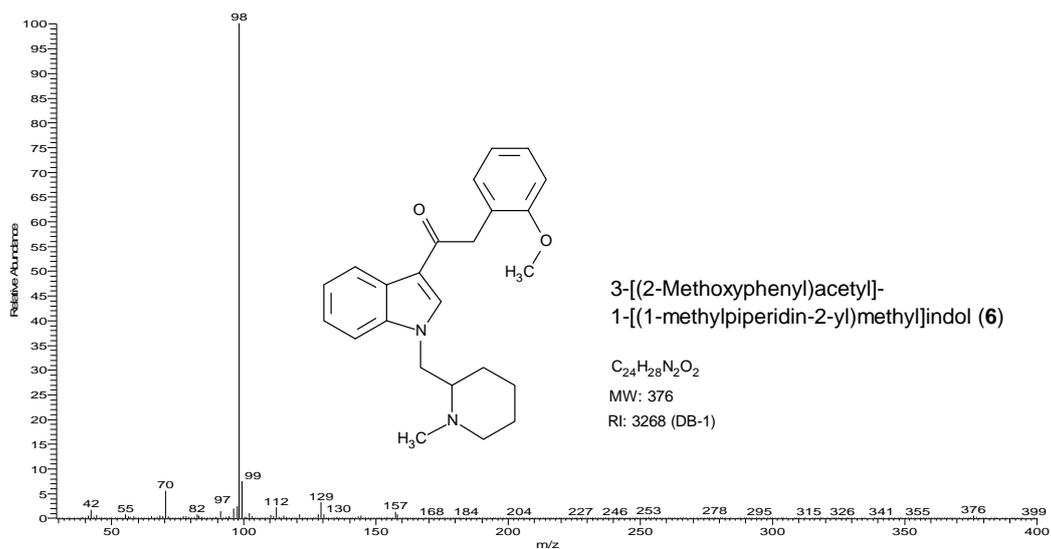


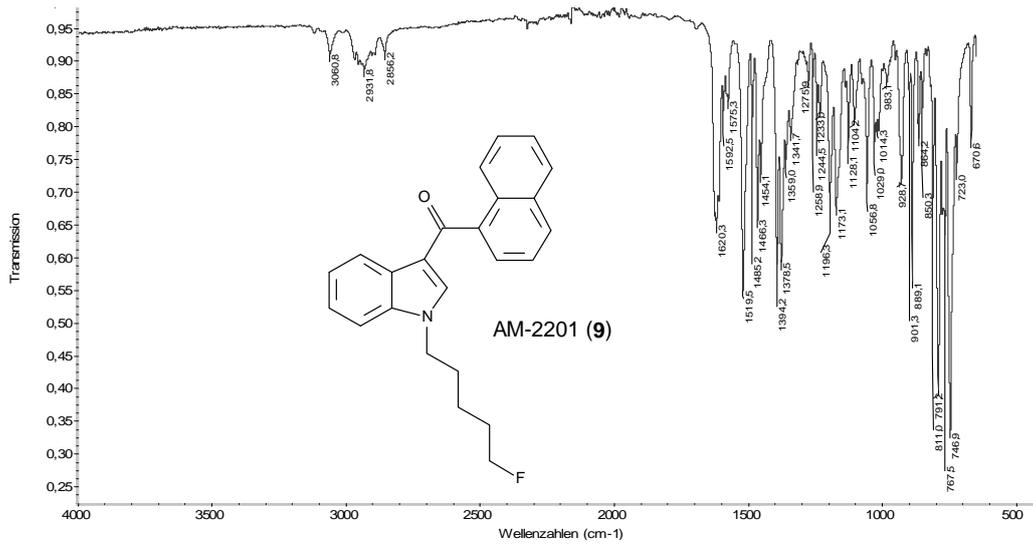
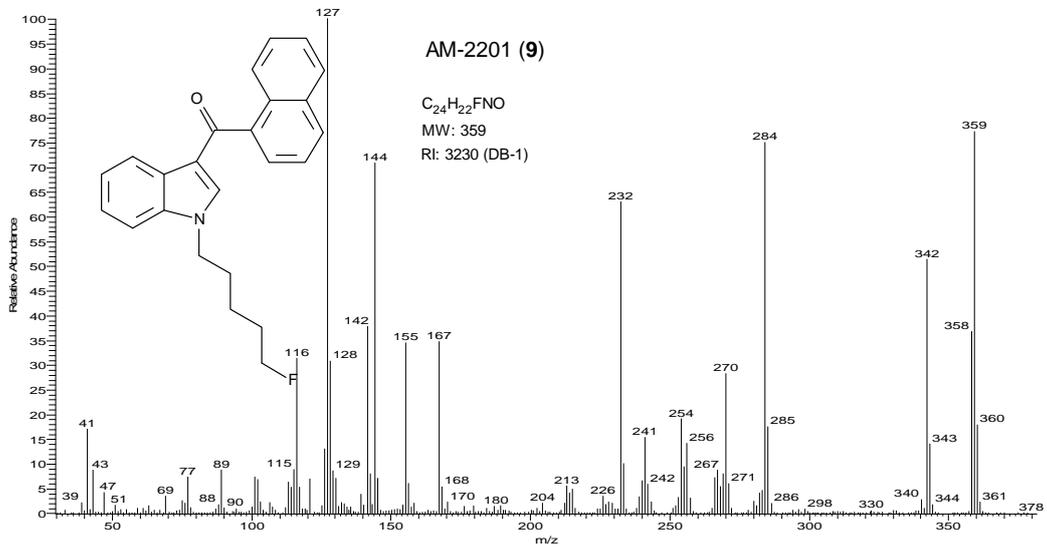
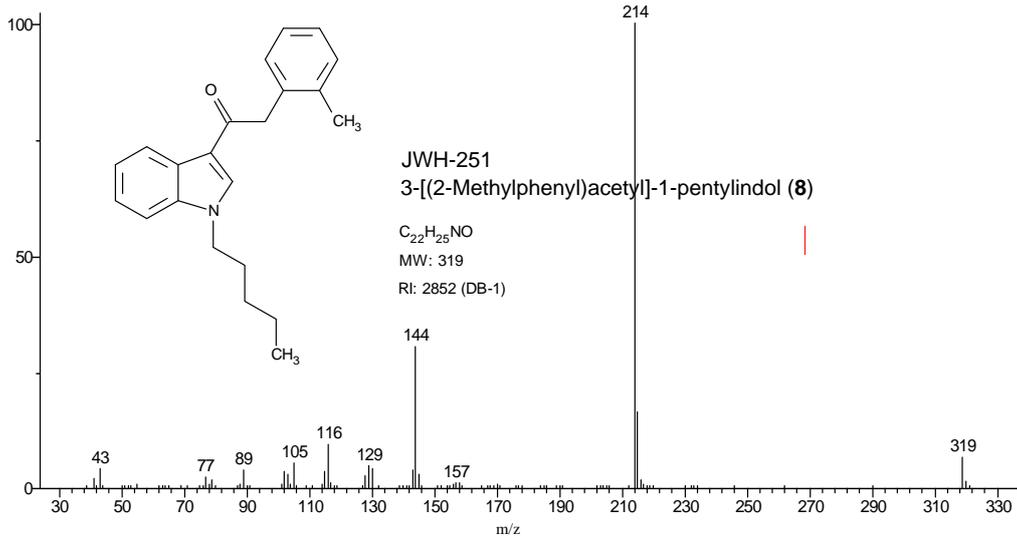


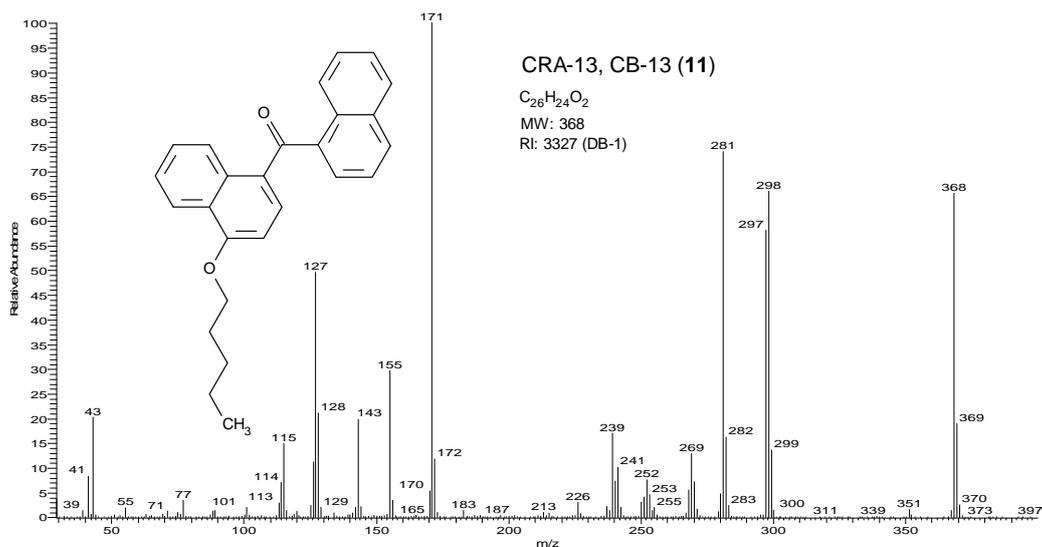
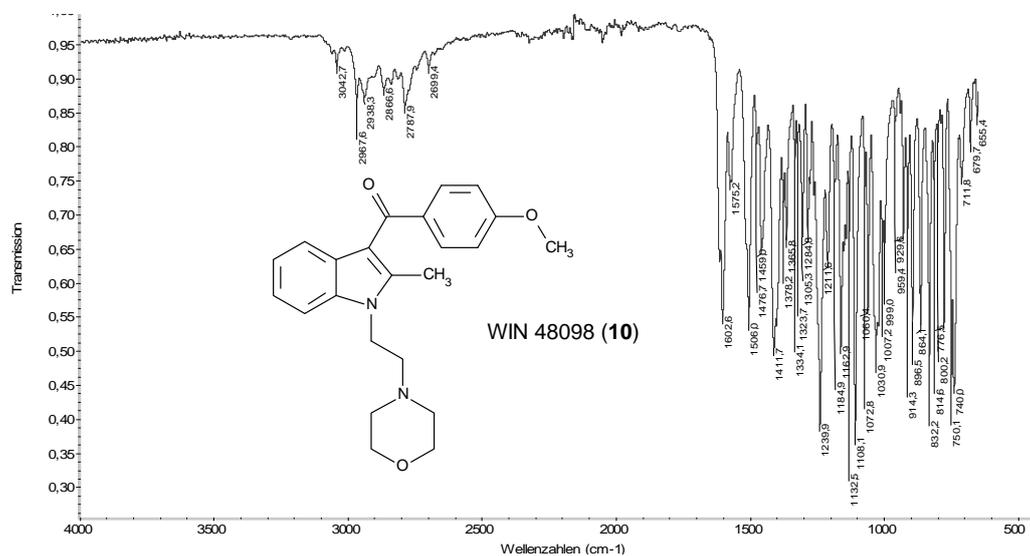
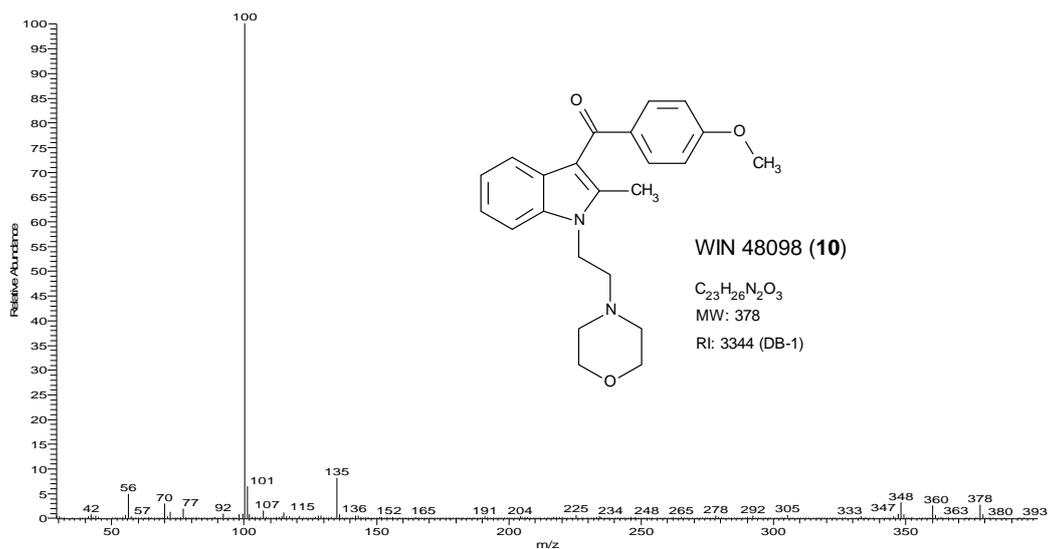
EI-MS von AM-1220 (2) und seinem Azepan-Isomer (3) im Verhältnis 70:30.

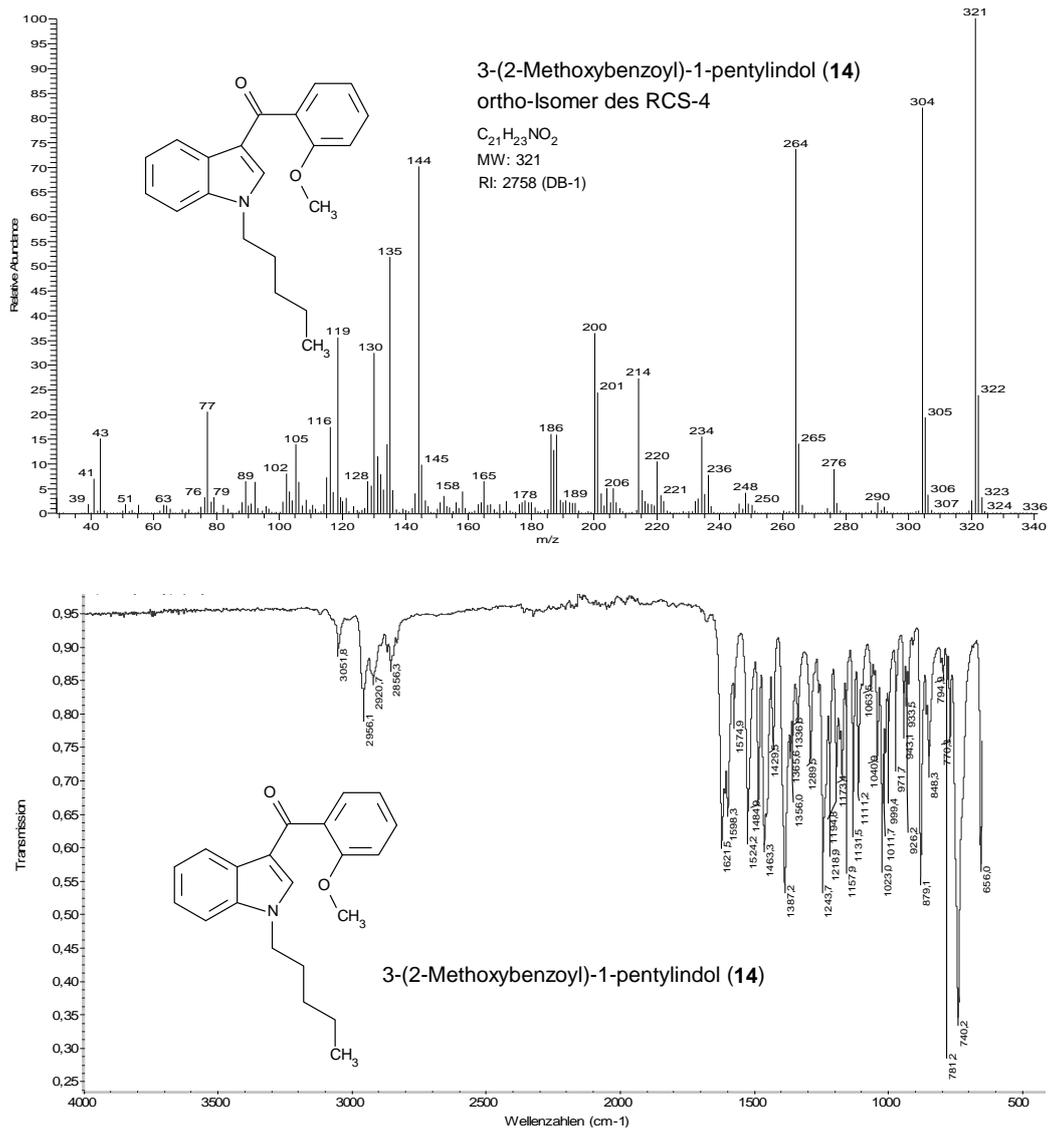
Das mit einer Adamantoyl-Gruppe neuartig substituierte Cannabinoidmimetikum **4** ist nach Elektronenstoßionisation massenspektrometrisch bis auf minimale Unterschiede nicht von dem alphanymethylierten Derivat des JWH-250 [14] zu unterscheiden. Dessen Spektrum ist durch Methylierung von JWH-250 zwar bereits bekannt, ist jedoch selbst noch nicht auf dem Markt aufgetaucht. Die beiden Verbindungen lassen sich NMR-spektrometrisch, tochterionenspektroskopisch oder mithilfe von hochauflösender Massenspektrometrie differenzieren [12]. Ferner sind die Retentionszeiten der beiden Verbindungen deutlich zu unterscheiden. Anhand dieser Beispiele wird deutlich, wie vorsichtig bei der Zuordnung von Massenspektren vorgegangen werden muss.



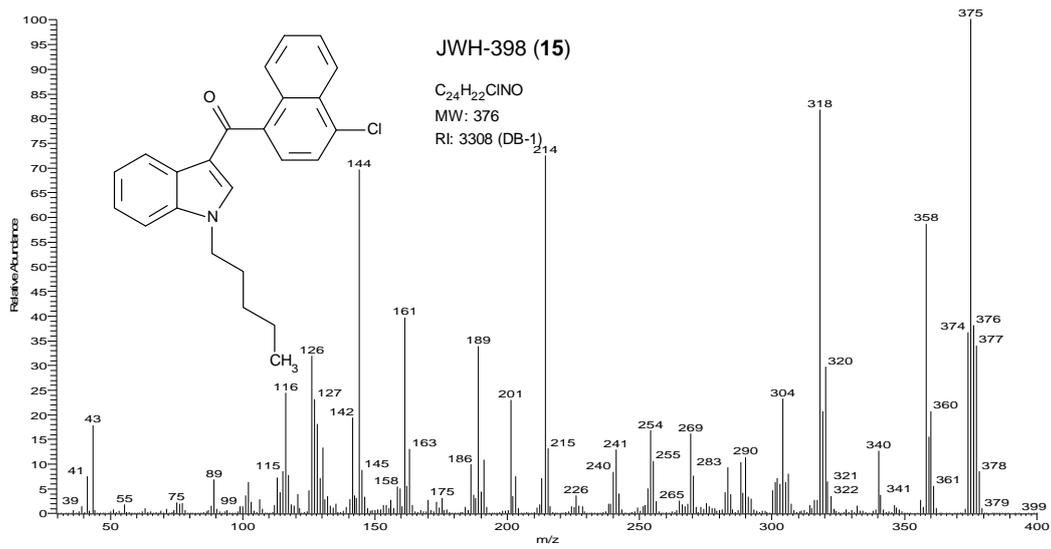






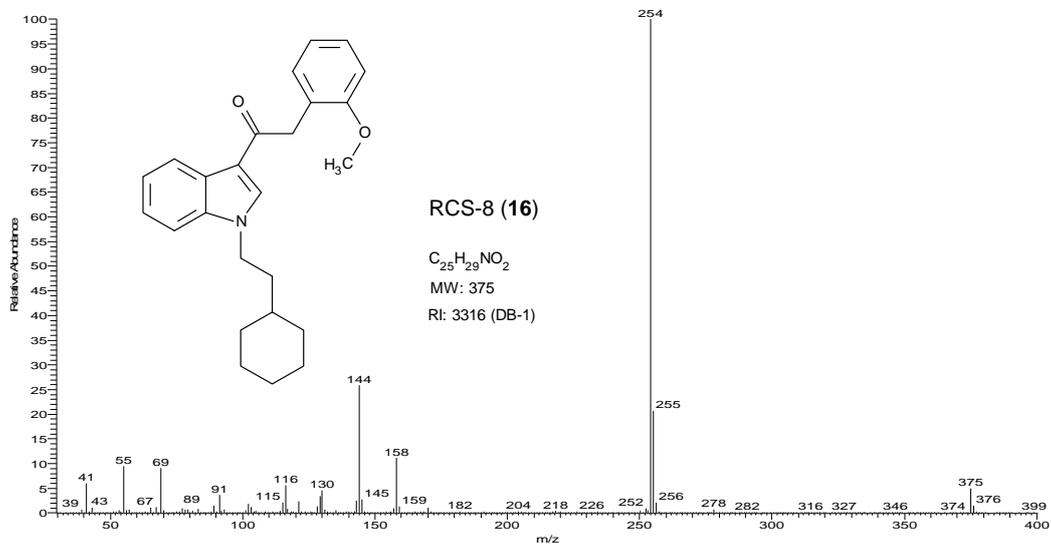


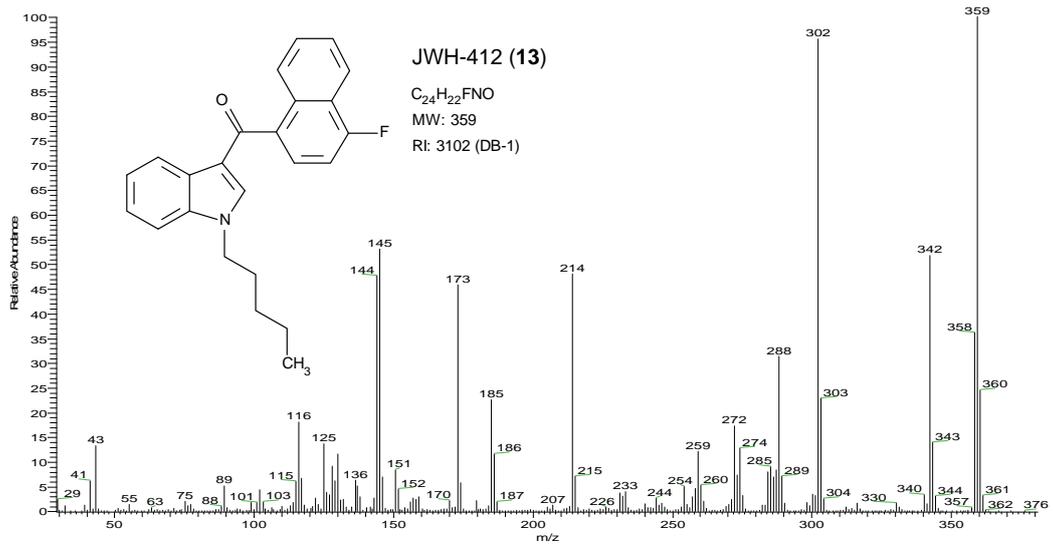
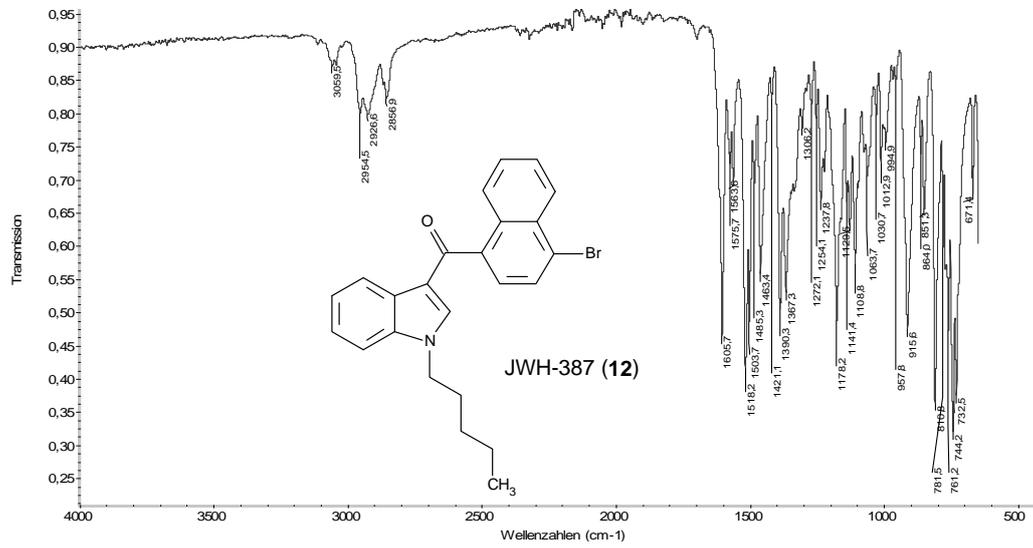
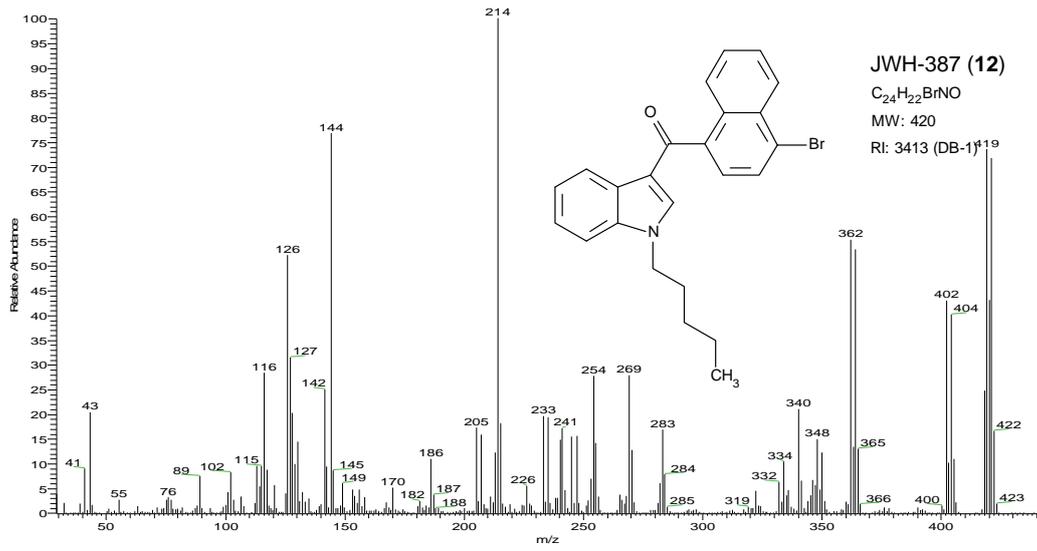
Das ortho-Isomer von RCS-4 (**14**) konnte bereits als Wirkstoff in Kräutermischungen identifiziert werden. Eine Verbindung mit identischem Massenspektrum wurde in England vermutlich fälschlicherweise als 3-(4-Hydroxymethyl)benzoyl)-1-pentylindol, also als Isobares mit einer para-Hydroxymethylgruppe anstelle einer ortho-Methoxygruppe, identifiziert. Die in Deutschland in Kräutermischungen und als Festsubstanz sichergestellten Asservate enthielten jedoch immer die Verbindung **14**, was in verschiedenen Laboratorien durch NMR-Spektroskopie bestätigt wurde.

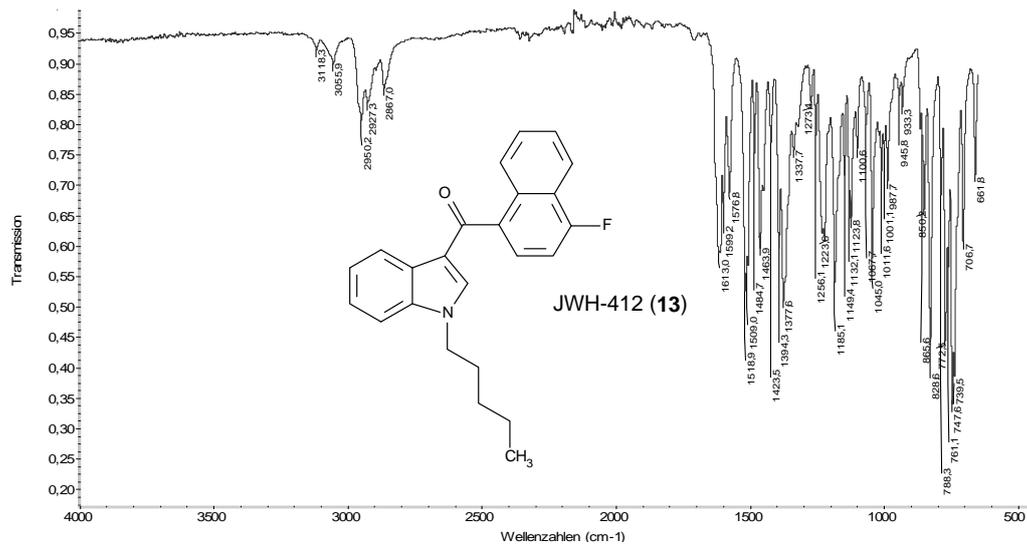


3.2. Bereits käufliche Cannabinoidmimetika

Die folgenden synthetischen Cannabinoide sind bereits als „Research Chemicals“ im Internet zu beziehen und z. T. als solche bereits sichergestellt worden. Sie sind bisher noch nicht in Räuchermischungen detektiert worden.







4. Danksagung

Die Autoren danken der EU-Kommission (JUST/2009/DPIP/AG/0948), dem Bundesministerium für Gesundheit sowie der Stadt Frankfurt (Main) für die finanzielle Förderung des Projektes 'Spice and synthetic cannabinoids'. Desweiteren gebührt Herrn Ulrich Girreser, Pharmazeutisches Institut der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel großer Dank für einen Teil der Strukturaufklärungen durch NMR. Herrn Dr. Peter Rösner, Firma DigiLab Kiel, sei herzlich gedankt für die finanzielle Unterstützung bei dem Erwerb von Referenzstandards.

5. Literatur

- [1] Auwärter V, Dresen S, Weinmann W, Müller M, Pütz M, Ferreirós N. 'Spice' and other herbal blends: harmless incense or cannabinoid designer drugs? *J Mass Spectrom* 2009;44:832-837.
- [2] Kneisel S, Westphal F, Rösner P, Brecht V, Ewald A, Klein B, Pütz M, Thiemt S, Auwärter V. Cannabinoidmimetika: Massenspektren und IR-ATR-Spektren neuer Verbindungen aus den Jahren 2009/2010. *Toxichem Krimtech* 2011;78(1):23-35.
- [3] Dresen S, Ferreirós N, Pütz M, Westphal F, Zimmermann R, Auwärter V. Monitoring of herbal mixtures potentially containing synthetic cannabinoids as psychoactive compounds. *J Mass Spectrom* 2010;45:1186-1194.
- [4] Aung MM, Griffin G, Huffman JW, Wu M, Keel C, Yang B, Showalter VM, Abood ME, Martin BR. Influence of the N-1 alkyl chain length of cannabimimetic indoles upon CB(1) and CB(2) receptor binding. *Drug Alcohol Depend* 2000;60:133-140.
- [5] Huffman JW, Dai D, Martin BR, Compton DR. Design, Synthesis and Pharmacology of Cannabimimetic Indoles. *Bioorg. Med. Chem Lett* 1994;4:563-566.
- [6] Huffman JW, Mabon R, Wu MJ, Lu J, Hart R, Hurst DP, Reggio PH, Wiley JL, Martin BR. 3-Indolyl-1-naphthylmethanes: new cannabimimetic indoles provide evidence for aromatic stacking interactions with the CB(1) cannabinoid receptor. *Bioorg Med Chem* 2003;11:539-549.

- [7] Huffman JW, Padgett LW. Recent developments in the medicinal chemistry of cannabimimetic indoles, pyrroles and indenes. *Curr Med Chem* 2005;12:1395-1411.
- [8] Huffman JW, Szklennik PV, Almond A, Bushell K, Selley DE, He H, Cassidy MP, Wiley JL, Martin BR. 1-Pentyl-3-phenylacetylindoles, a new class of cannabimimetic indoles. *Bioorg. Med Chem Lett* 2005;15:4110-4113.
- [9] Huffman JW, Zengin G, Wu MJ, Lu J, Hynd G, Bushell K, Thompson AL, Bushell S, Tartal C, Hurst DP, Reggio PH, Selley DE, Cassidy MP, Wiley JL, Martin BR. Structure-activity relationships for 1-alkyl-3-(1-naphthoyl)indoles at the cannabinoid CB(1) and CB(2) receptors: steric and electronic effects of naphthoyl substituents. New highly selective CB(2) receptor agonists. *Bioorg Med Chem* 2005;13:89-112.
- [10] Reggio PH, Huffman JW. *Cannabimimetic Indoles, Pyrroles, and Indenes: Structure-Activity Relationships and Receptor Interactions*, Humana Press, New York, 2009;49-94.
- [11] Wiley JL, Compton DR, Dai D, Lainton JAH, Phillips M, Huffman JW, Martin BR. Structure-Activity Relationships of Indole- and Pyrrole-Derived Cannabinoids. *J Pharmacol Exp Ther* 1998;285:995-1004.
- [12] Kneisel S, Westphal F, Bisel P, Brecht V, Broecker S, Auwärter V. Identification and structural characterization of the synthetic cannabinoid 3-(1-adamantoyl)-1-pentylindole: An unexpected additive in "herbal incense". *J Mass Spectrom* 2011; submitted for publication.
- [13] Moosmann B, Kneisel S, Girreser U, Brecht V, Westphal F, Auwärter V. Separation and structural characterisation 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* 2011; submitted for publication.
- [14] Westphal F, Junge T, Sönnichsen F, Rösner P, Schäper J. Ein neuer Wirkstoff in SPICE-artigen Kräutermischungen: Charakterisierung von JWH-250, seinen Methyl- und Trimethylsilylderivaten. *Toxichem Krimtech* 2010;77(1):8-22.