

## **Ein neuer Wirkstoff in SPICE-artigen Kräutermischungen: Charakterisierung von JWH-250, seinen Methyl- und Trimethylsilylderivaten**

**Folker Westphal<sup>1</sup>, Thomas Junge<sup>1</sup>, Frank Sönnichsen<sup>2</sup>, Peter Rösner<sup>2</sup>, Jan Schäper<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Landeskriminalamt Schleswig-Holstein, Mühlenweg 166, 24116 Kiel

<sup>2</sup>Otto-Diels-Institut für Organische Chemie, Christian-Albrechts-Universität zu Kiel,  
Olshausenstr. 40, 24098 Kiel

<sup>3</sup>Bayerisches Landeskriminalamt, Maillinger Str. 15, 80636 München

---

### **Zusammenfassung**

Wir berichten über die massenspektrometrische und NMR-spektroskopische Charakterisierung eines weiteren cannabinoidmimetischen Indolderivates (JWH-250), das kürzlich in einer Sicherstellung des Bayerischen Landeskriminalamts sowohl in Reinsubstanz als auch in der gleichzeitig sichergestellten Kräutermischung aufgetreten ist. Dieser synthetische Cannabinoidrezeptoragonist ist damit in Deutschland zum ersten Mal als vierter Wirkstoff in SPICE-artigen Kräutermischungen sichergestellt worden. Mit dem Auftreten weiterer Analoga und Derivate muss offensichtlich weiterhin gerechnet werden.

### **1. Einleitung**

In der Rauchdroge SPICE wurden Ende 2008 auf dem deutschen Drogenmarkt zunächst die cannabinoidrezeptor-aktiven Wirkstoffe N-Pentyl-3-(1-naphthoyl)indol (JWH-018, **1**) [1] und die beiden C8-Isomeren (**2**) von CP 47,497 entdeckt [2-4]. Zusammen mit CP 47,497 und seinen beiden C-6- und C-9-Isomeren wurden die Verbindungen **1** und **2** Ende Januar 2009 unter die Anlage II des deutschen Betäubungsmittelgesetzes gestellt. Schon kurze Zeit später wurde die Verbindung **3** (JWH-073), das C4-Isomer von JWH-018, in einem SPICE-Produkt entdeckt [5]. Eine Reihe von N-alkylierten 3-(1-Naphthoyl)- und 3-(2-Naphthoyl)indolen wurde daraufhin mikrosynthetisch hergestellt und deren Massenspektren zur Identifizierung von weiteren möglichen auftretenden Abwandlungsprodukten publiziert [6].

Die Sicherstellung von ca. 3 g der Verbindung JWH-250 erfolgte im Rahmen einer polizeilichen Durchsuchungsmaßnahme in Bayern, bei der ferner u. a. größere Mengen an TFMPP (1-(3-Trifluormethylphenyl)piperazin) und pFPP (1-(4-Fluorphenyl)piperazin) sowie Kleinmengen an Mephedron (4-Methylmethcathinon) aufgefunden wurden. Neben den aufgeführten Designer-Drogen wurden Lebensmittelfarbstoffe, ein eingefärbter Tablettierhilfsstoff, Tablettier-Presswerkzeug mit einschlägigen Prägungen und leere Hartgelatine-Kapseln sichergestellt. Ferner wurde eine Kleinmenge einer Kräutermischung in einer unbeschrifteten Druckverschlussstüte aufgefunden.

### **2. Material und Methoden**

Eine Probe des sichergestellten weißen Pulvers wurde vom Bayerischen LKA zur Analyse zur Verfügung gestellt. Alle benutzten Chemikalien und Lösungsmittel wurden in p.a.-Qualität erworben.

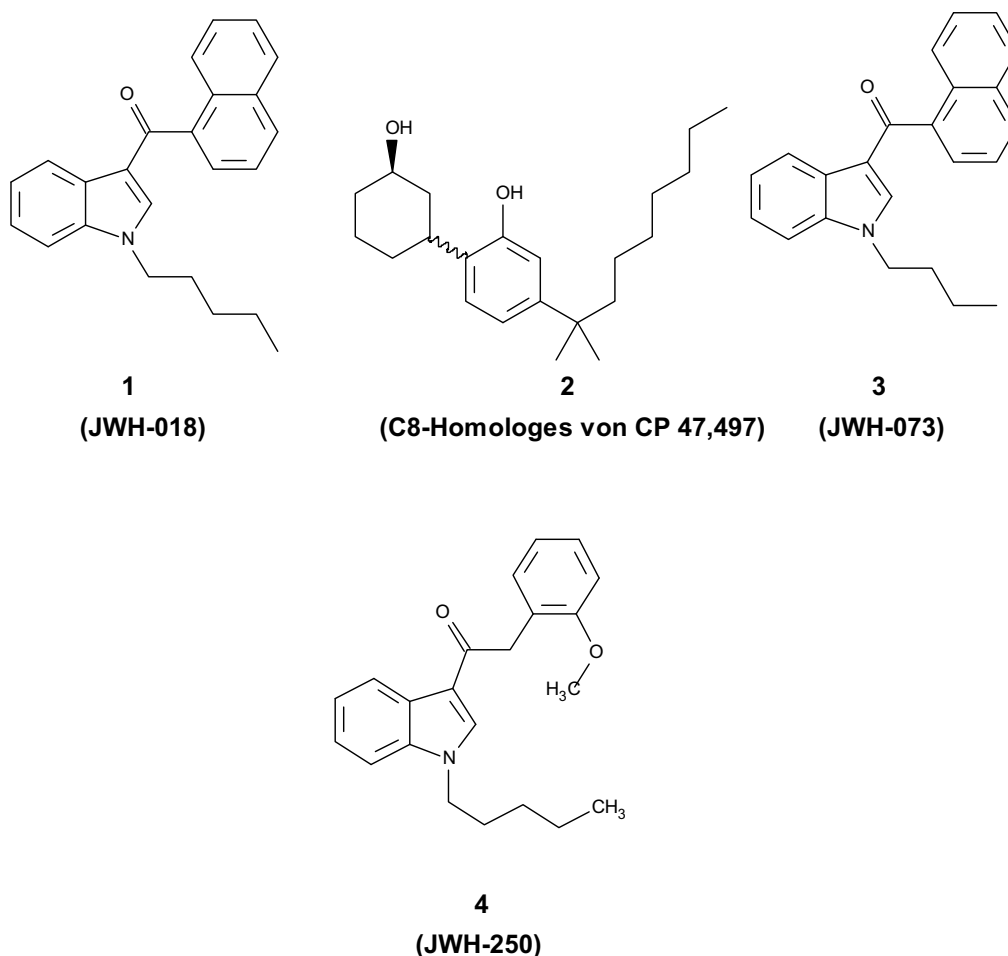


Abb. 1. Bisher in Deutschland aufgetauchte, cannabinoidrezeptoraktive Wirkstoffe in SPICE-artigen Kräutermischungen.

### 2.1. Dünnschichtchromatographische Untersuchungen

Als stationäre Phase wurden TLC Silicagel 60 F<sub>254</sub>-Platten der Fa. Merck verwendet. Die mobile Phase wies folgende Zusammensetzung auf: Cyclohexan/Diethylamin 9:1. Das Anlösen der Wirkstoffe erfolgte in Methanol/Dichlormethan (1:1). Die Sichtbarmachung der Spots erfolgte durch Besprühen mit einer salzsaurer Kaliumiodplatinat-Lösung. Zur Herstellung der Kaliumiodplatinat-Lösung wurden 3 mL 10%ige Hexachloroplatin(IV)säurelösung mit 97 mL Wasser versetzt und 100 mL 6%ige Kaliumiodid-Lösung hinzugefügt. Diese Kaliumiodplatinat-Lösung wurde im Verhältnis 3:2 mit konzentrierter Salzsäure versetzt.

### 2.2. Infrarotspektrometrische Untersuchungen

Das Infrarotspektrum wurde mit einem Nicolet 380 FT-IR mit einer Smart Golden Gate ATR-Einheit der Firma Thermo Scientific im Wellenzahlenbereich 650 – 4000 cm<sup>-1</sup> aufgenommen.

### 2.3. NMR-Untersuchungen

Probenvorbereitung: Zur NMR-spektroskopischen Untersuchung wurden 12 mg der Verbindung **4** in 0,6 mL  $\text{CDCl}_3$  gelöst.

Geräte: Die NMR-Spektren wurden mit einem Bruker DRX NMR Spektrometer aufgenommen (Resonanzfrequenz 500.13 MHz für  $^1\text{H}$ -NMR Spektren und 125.77 MHz für  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektren). Mit Hilfe von Standardpulsprogrammen wurden bei 300 K: ein eindimensionales (1D)  $^1\text{H}$ -NMR, ein CPD-entkoppeltes  $^{13}\text{C}$ -NMR und ein  $^{13}\text{C}$ -NMR-DEPT-Experiment mit  $^1\text{H}$ -Entkopplung (GARP) aufgenommen, um die Resonanzfrequenzen aller Protonen und Kohlenstoffatome zu erhalten. Außerdem wurden ein 2D-gradient selected COSY [7], ein  $^1\text{H},^{13}\text{C}$ -HSQC [8] and ein HMBC [9] aufgenommen, die geminale und vicinale Protonen, Kohlenstoffatome mit ihren direkt verbundenen Protonen bzw. Kohlenstoffatome mit im Allgemeinen zwei oder drei Bindungen entfernten Protonen korrelieren [10]. Alle Spektren wurden auf Trimethylsilan bezogen.

### 2.4. GC-MS-Untersuchungen

Probenvorbereitung: Zur GC-MS-Analyse wurde ca. 2 mg des Pulvers in 1 mL Wasser suspendiert, mit 5%-iger Natronlauge alkalisiert und mit 2 mL Diethylether extrahiert. 1  $\mu\text{L}$  dieses Extraktes wurde in das GC-MS-System injiziert.

Geräte: Die Analysen erfolgten mit GC-MS bestehend aus einem Gaschromatographen (Trace GC Ultra) der Firma Thermo Electron mit Autosampler CTC CombiPAL, gekoppelt mit einem TSQ7000 Triple-Quadrupol-Massenspektrometer der Firma Thermo-Finnigan.

GC-Parameter: Die Aufgabe erfolgte splittless. Die Injektortemperatur betrug  $220^\circ\text{C}$ . Trägergas war Helium. Für die Trennung wurde eine Fused Silica DB-1 Säule der Firma J&W, Länge 30 m, Innendurchmesser 0,25 mm, Filmdicke 0,25  $\mu\text{m}$  verwendet. Das Temperaturprogramm startete bei  $80^\circ\text{C}$  mit einer Haltezeit von 1 min und heizte anschließend mit  $15^\circ\text{C}/\text{min}$  auf eine Endtemperatur von  $280^\circ\text{C}$  auf, die 20 min gehalten wurde. Die Temperatur der Transferline zum Massenspektrometer betrug  $280^\circ\text{C}$ .

MS-Parameter: Es wurde ein Massenbereich von  $m/z = 29 - 600$  mit einem Scan/sec gemessen. Zur Aufnahme der Elektronenstoß-Ionisations (EI)-Massenspektren wurde eine Ionisationsenergie von 70 eV bei einer Emissionsstromstärke von 400  $\mu\text{A}$  verwendet. Die Temperatur der Ionenquelle betrug  $175^\circ\text{C}$ . Die Chemische Ionisation (CI) wurde mittels Methan als Reaktandgas bei einem Druck von 1.5 mmTorr bei sonst gleichen Ionisationsbedingungen durchgeführt. Bei den CI-Spektren wurde ein Massenbereich von  $m/z = 50 - 600$  aufgenommen.

Bei der Tochterionenspektrometrie (EI-MS/MS) wurde als Kollisionsgas Argon unter den oben beschriebenen Ionisationsbedingungen verwendet. Die Kollisionsenergie wurde mit ca. 20 eV und der Kollisionsgasdruck mit ca. 1.5 mmTorr vorgegeben. Die exakten Parameter für Kollisionsenergie und Kollisionsgasdruck wurden mithilfe von n-Butylbenzol über die Fragmentintensitätsverhältnisse von  $m/z$  92/91 auf 0.2 sowie  $m/z$  65/91 auf 0.02 eingestellt [11]. Dies gewährleistet die Reproduzierbarkeit der aufgenommenen Tochterionenspektren und die Nutzung einer Tochterionenspektren-Bibliothek zur Identifizierung der Struktur der Tochterionen [12].

Derivatisierungen: Zur Methylierung wurde 1  $\mu\text{L}$  des Etherextraktes von **4** mit 0,5  $\mu\text{L}$  Methylute (Phenyltrimethylammoniumhydroxid, 0,1 M in Methanol) in das GC-MS-System injiziert. Das Trimethylsilylderivat wurde durch Zugabe von 30  $\mu\text{L}$  MSTFA zu ca. 2 mg der Festsubstanz

in ein 1,8 mL Glasvial und anschließendes Erwärmen des Reaktionsgemisches bei 70°C für 30 min im verschlossenen Vial hergestellt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wurde das Reaktionsgemisch mit 1 mL Chloroform verdünnt und 1  $\mu$ L des Gemisches in das GC-MS-System injiziert.

### 3. Ergebnisse und Diskussion

Nach den Ergebnissen der NMR-, GC-MS- und GC/MS/MS-Untersuchungen handelt es sich bei der übersandten Substanz um ein am Stickstoffatom n-pentylalkyliertes und in 3-Position ortho-methoxyphenylacetyl-substituiertes Indol. Die Verbindung ist von J.W. Huffmann unter dem Acronym JWH-250 als cannabinoidrezeptor-aktive Substanz beschrieben worden [13].

Das  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum, das  $^{13}\text{C}$ - und das  $^{13}\text{C}/^1\text{H}$ -HSQC-Spektrum von **4** sind in den Abbildung 2 und 3 abgebildet. Die vollständige Signalzuordnung findet sich in Tabelle 1.

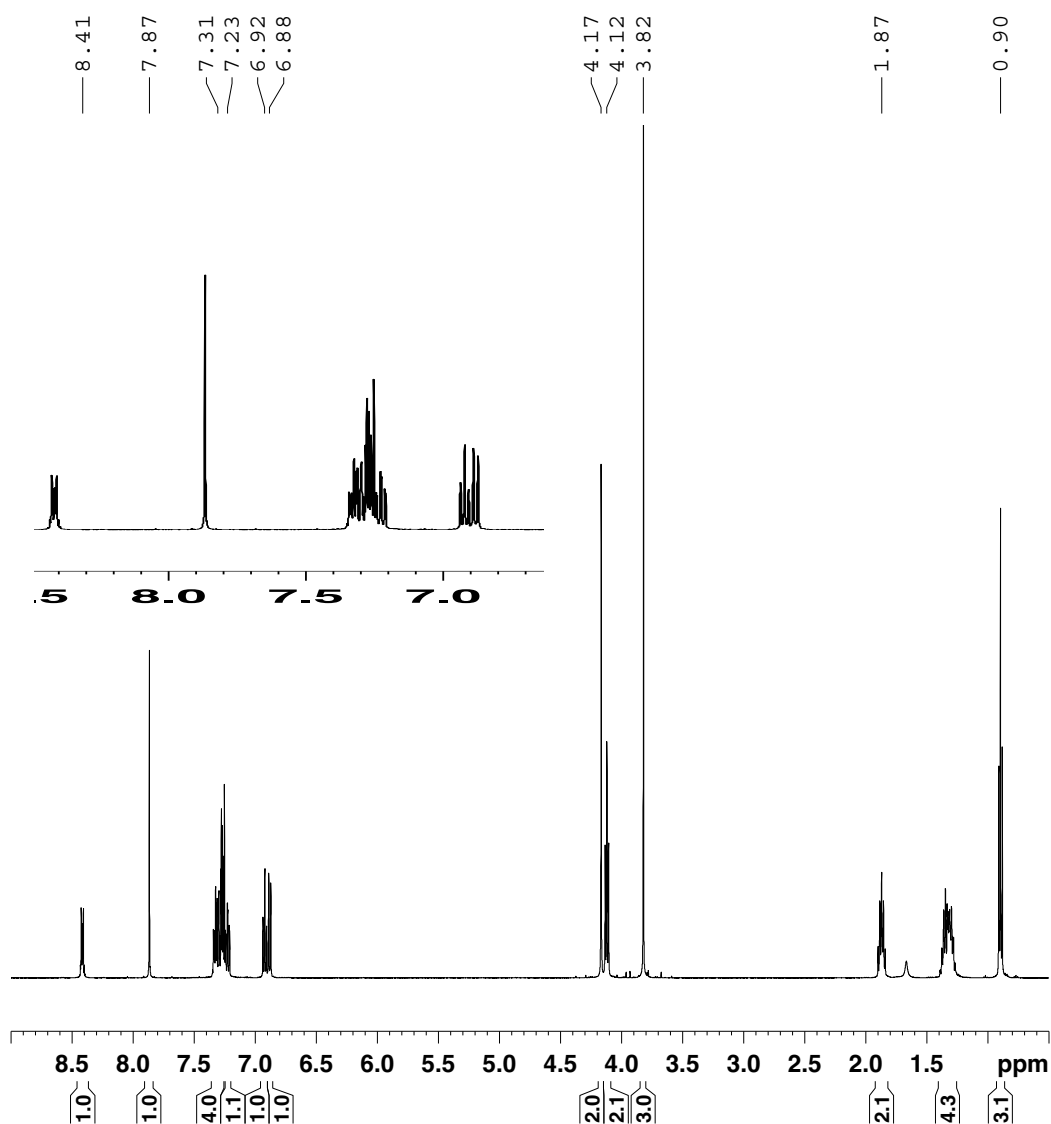


Abb. 2.  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von JWH-250 (**4**).

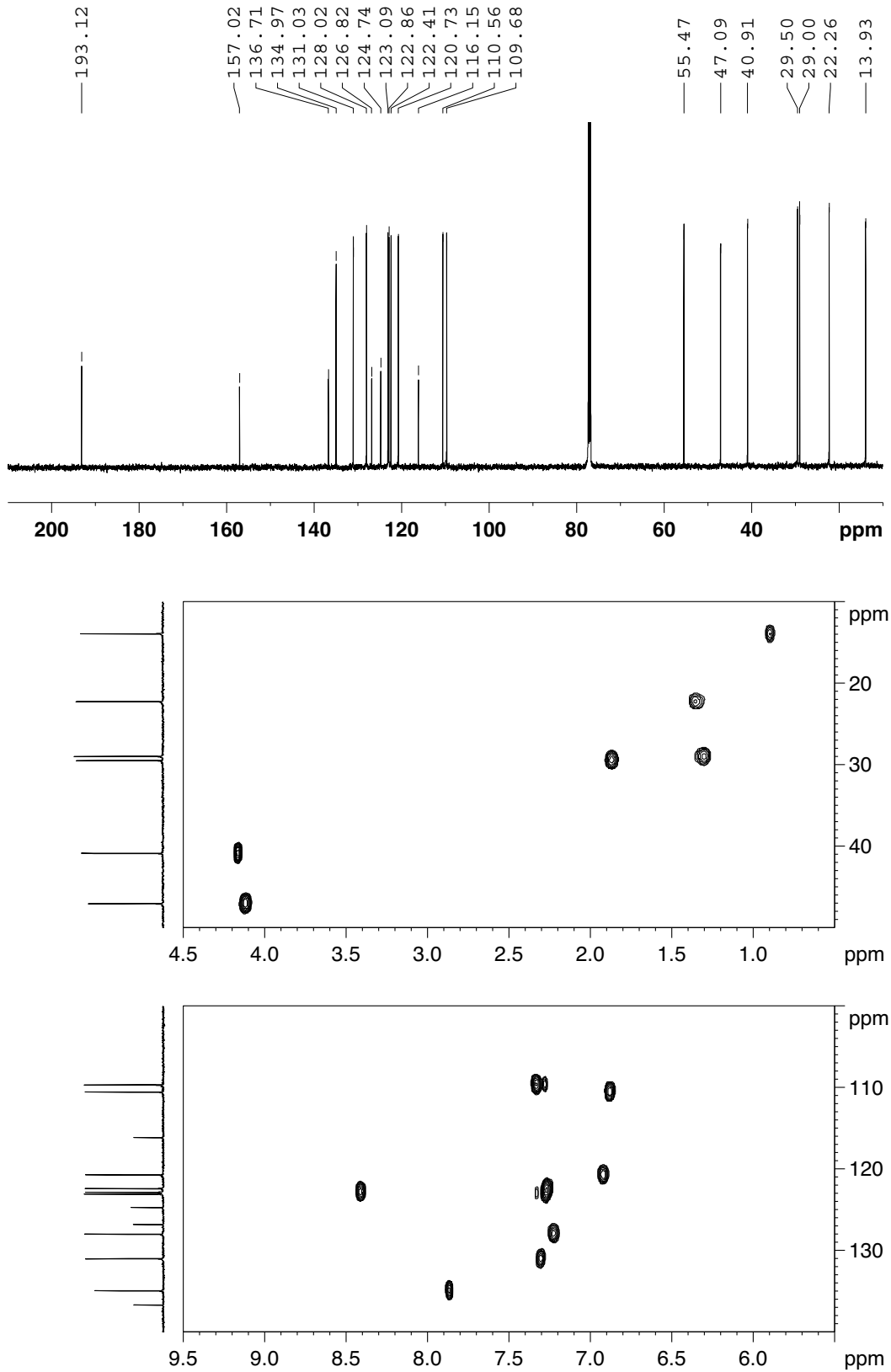
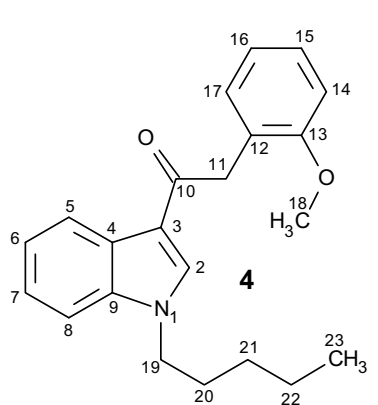


Abb. 3. <sup>13</sup>C-NMR-Spektrum von JWH-250 (4) (oben), Ausschnitte des <sup>13</sup>C/<sup>1</sup>H-HSQC-NMR-Spektrums von JWH-250 (4) (Mitte und unten).

Tab. 1. NMR-Signaluordnung von JWH-250 (**4**).


Atom	Signallage	Atom	Signallage
H-2	7.86 ppm, s	C-2	135.0 ppm
H-5	7.26 ppm, m	C-3	116.1 ppm
H-6	7.27 ppm, m	C-4	126.8 ppm
H-7	7.27 ppm, m	C-5	122.9 ppm
H-8	7.33 ppm, m	C-6	123.4 ppm
H-11	4.17 ppm, s	C-7	122.1 ppm
H-14	6.88 ppm, dd	C-8	109.7 ppm
H-15	7.22 ppm, ddd	C-9	136.7 ppm
H-16	6.92 ppm, ddd	C-10	193.1 ppm
H-17	7.30 ppm, dd	C-11	40.91 ppm
H-18	3.82 ppm, s	C-12	124.7 ppm
H-19	4.12 ppm, t	C-13	157.0 ppm
H-20	1.87 ppm, pent	C-14	110.6 ppm
H-21	1.25 – 1.40 ppm, m	C-15	128.0 ppm
H-22		C-16	120.7 ppm
H-23	0,896 ppm, t	C-17	131.0 ppm
		C-18	55.47 ppm
		C-19	47.09 ppm
		C-20	29.50 ppm
		C-21	29.00 ppm
		C-22	22.26 ppm
		C-23	13.93 ppm

Signalmultiplizität: s = Singulett, m = Multipllett, dd = doppeltes Dublett, ddd = Dublett vom doppelten Dublett, t = Triplet, pent = Pentublett.

Die <sup>1</sup>H- und <sup>13</sup>C-NMR-Spektren sowie die C-H- und H-H-Korrelationen belegten eindeutig die Struktur und das Substitutionsmuster im Aromaten der Verbindung **4**.

Die Dünnschichtchromatographie mit anschließender Behandlung mit Kaliumiodplatinat-Lösung bietet eine Möglichkeit, bei der Untersuchung von Kräutermischungen stickstoffhaltige Wirkstoffe zu detektieren. Untersucht wurden die Wirkstoffe JWH-018, JWH-073 und JWH-250. Die rötliche Anfärbung der Spots der untersuchten Wirkstoffe nach Besprühen mit einer Kaliumiodplatinat-Lösung wiesen auf das Vorliegen dieser Substanzen hin. Die R<sub>f</sub>-Werte der untersuchten Wirkstoffe waren jedoch bei Kräutermischungen teilweise von den sonstigen Inhaltsstoffen abhängig (R<sub>f</sub>-Wertebereich von etwa 0,4 bis 0,6). Ferner war in den getesteten Laufmitteln eine eindeutige Trennung aller drei Substanzen nur ansatzweise möglich.

Das EI Massenspektrum von **4** ist in Abb. 4 dargestellt. Das Spektrum zeigt als Basispeak das nach Ionisierung am Carbonylsauerstoffatom und α-Spaltung zu erwartende Indoloylkation bei m/z = 214. Anschließender Verlust der n-Pentylkette führt zum unsubstituierten Indoloylkation mit m/z = 144. Hochoaufgelöste massenspektrometrische Bestimmung der Fragmente bestätigten die Bruttoformeln C<sub>14</sub>H<sub>16</sub>NO (214) und C<sub>9</sub>H<sub>6</sub>NO (144). Das Fragment mit m/z = 144 verliert CO unter Bildung des Fragments m/z = 116. Außerdem findet sich untergeordnet noch das Fragment mit m/z = 121 (Methoxybenzylkation) nach Ionisierung im Methoxyphenylyring und Benzylspaltung sowie dessen weitere Zerfallsprodukte als Fragmente der Aromatenserie.

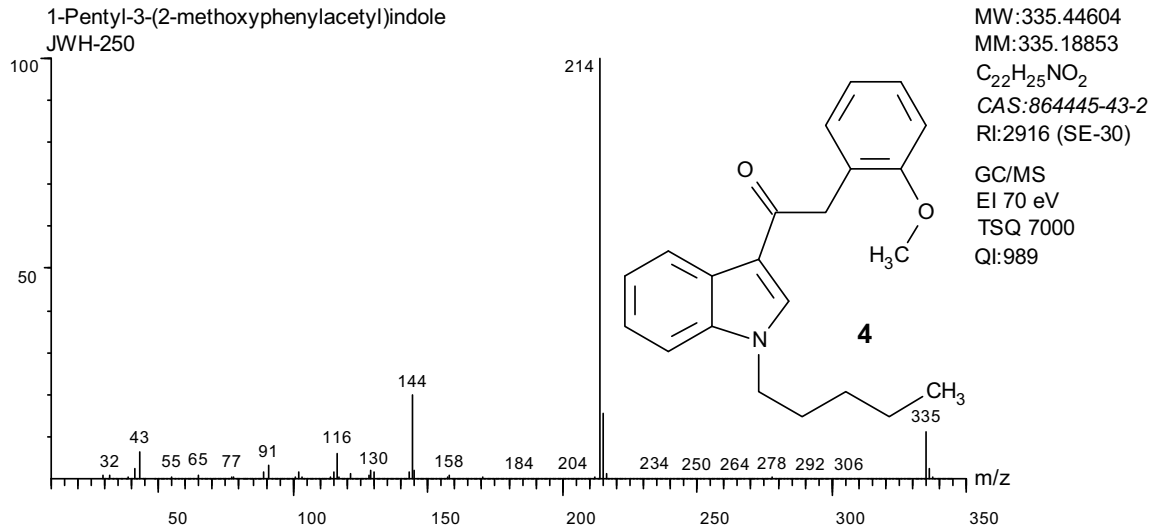


Abb. 4. EI-Massenspektrum (70 eV) von JWH-250 (4).

Die Molmasse von **4** wurde durch Aufnahme eines Massenspektrums nach chemischer Ionisation mit Methan als Reaktandgas bestätigt (Abb. 5). Es zeigt neben dem zu erwartenden protonierten Molekularion bei  $m/z = 336$  die typischen Anlagerungsprodukte bei  $m/z = 364$  [ $M + C_2H_5$ ]<sup>+</sup> und  $376$  [ $M + C_3H_5$ ]<sup>+</sup>.

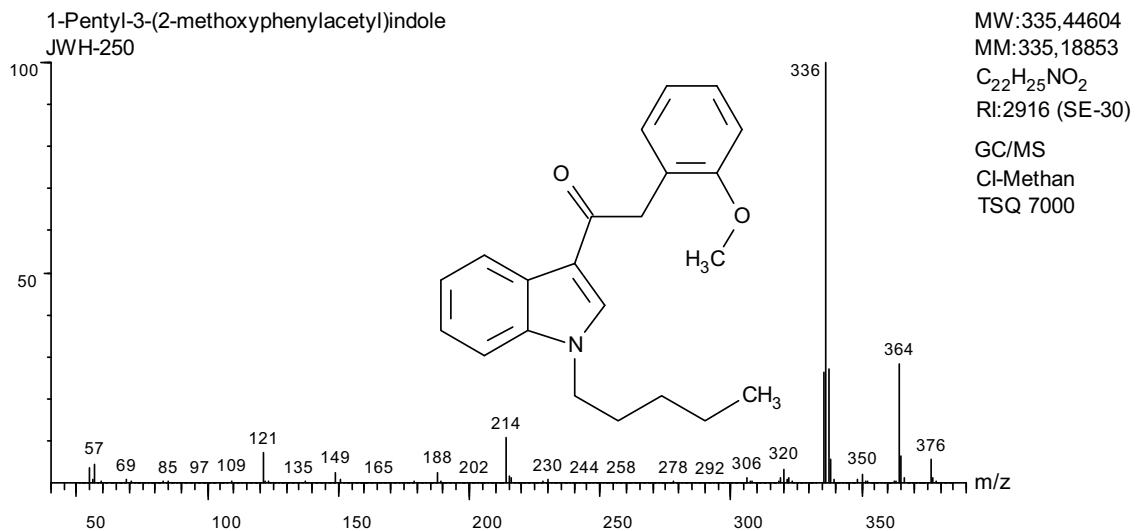


Abb. 5. CI-Massenspektrum (70 eV, Methan) von JWH-250 (4).

Der pentylsubstituierte Indoloyl-Molekülteil von **4** konnte auch durch tochterionenspektrometrische Untersuchungen des Fragments  $m/z = 214$  nach EI bestätigt werden (Abb. 6).

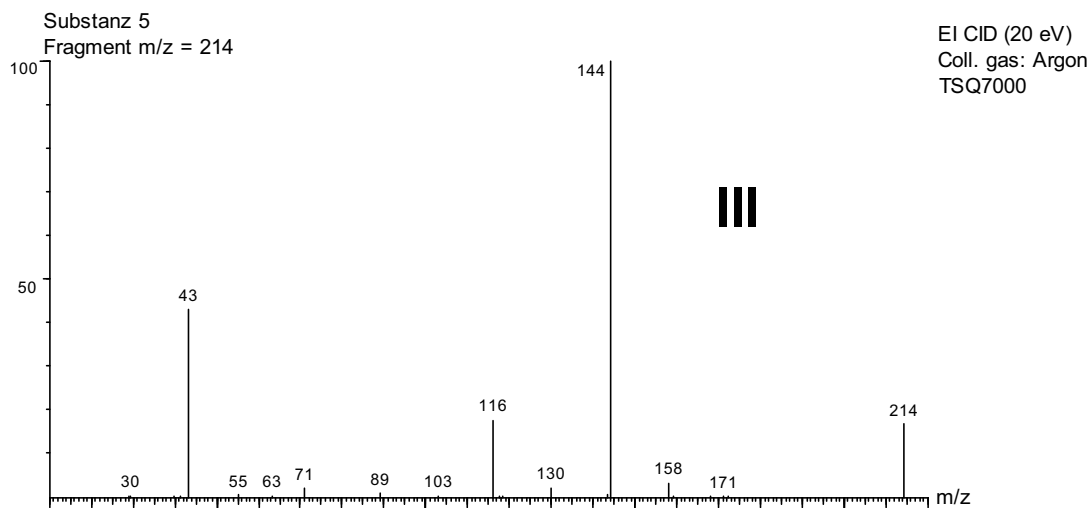
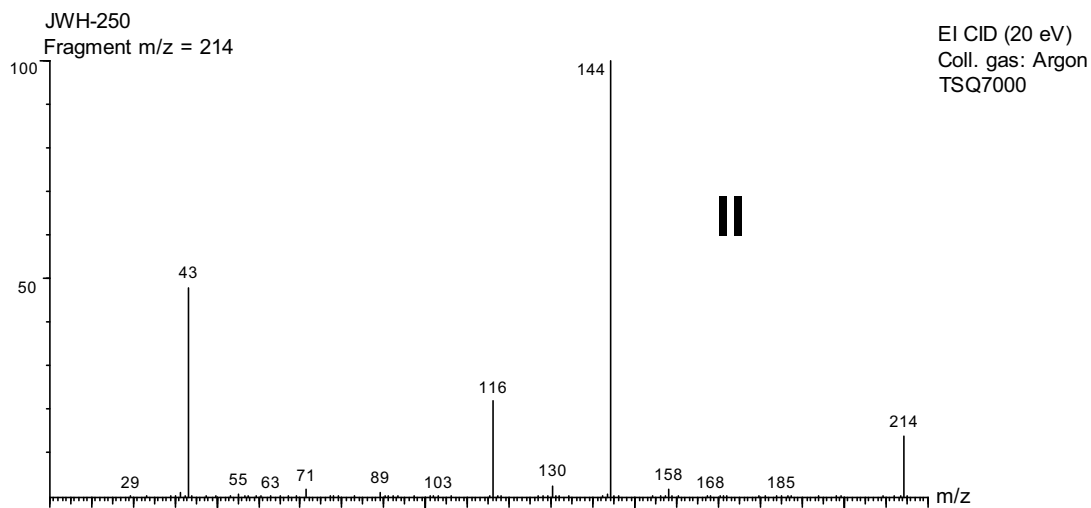
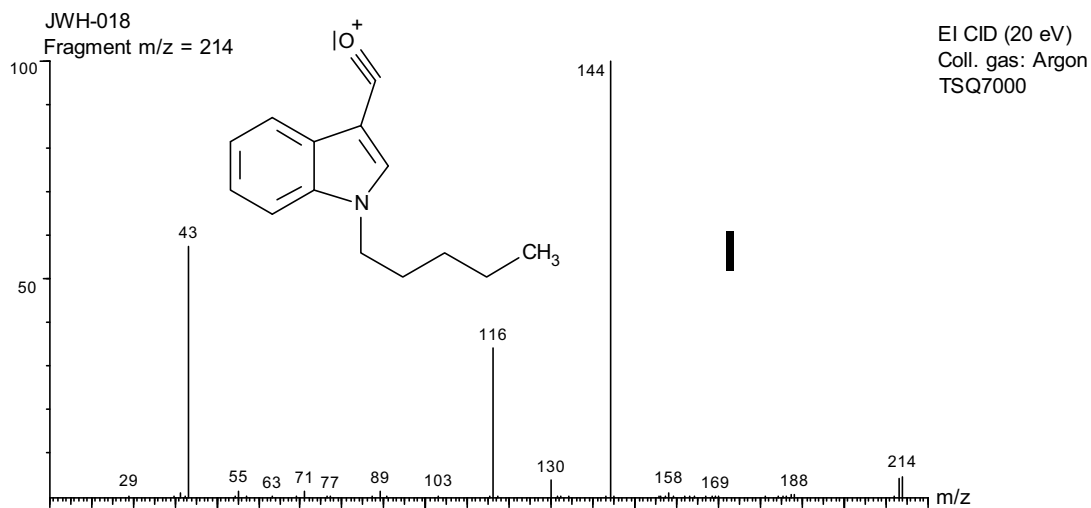


Abb. 6. Tochterionenspektrum des Fragments m/z = 214 nach EI von JWH-018 (I), JWH-250 (4, II) und der Substanz 5 (III).



Das Tochterionenspektrum des Fragments  $m/z = 214$  von **4** zeigt eine hervorragende Übereinstimmung mit dem des Fragments  $m/z = 214$  von JWH-018, was die zugrundeliegende gleichartige Struktur beider Ionen und damit die N-Pentyl-Indoloyl-Partialstruktur von **4** bestätigt. Weitere Untersuchungen, ob auch mit isomeren Pentylresten substituierte Indoloyl-Kationen durch tochterionenspektrometrische Untersuchungen unterschieden werden können, werden zurzeit durchgeführt.

Weiterhin wurden noch die EI-MS-Spektren nach Methylierung und Silylierung aufgenommen (Abb. 7 und 8). Neben der Methylierung und Silylierung der entsprechenden Enole und der Generierung von je zwei Isomeren durch die entstehende E/Z-Isomerie werden bei der Methylierung auch die in Alphastellung zur Carbonylgruppe methylierten Derivate erhalten.

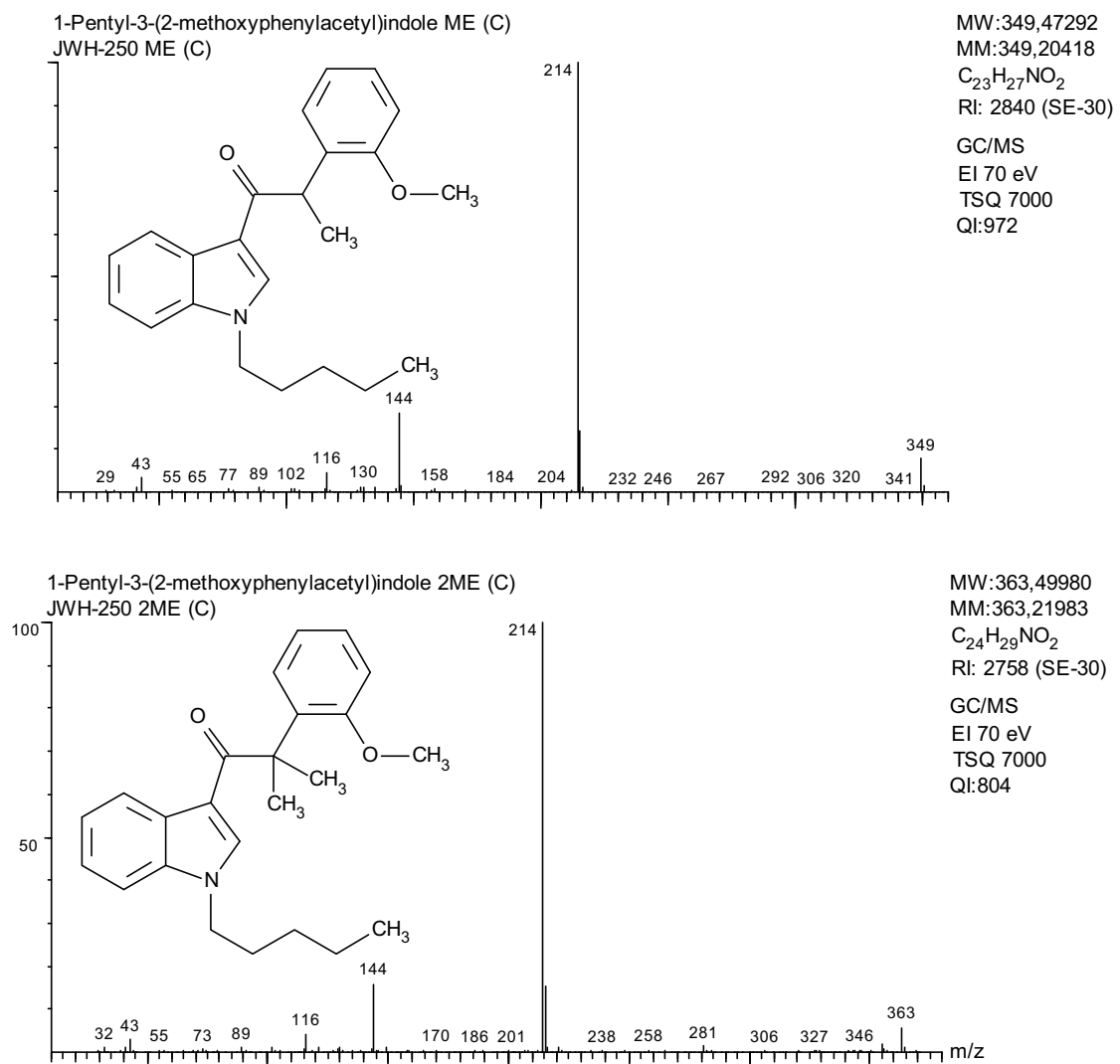


Abb.7a. EI-Massenspektren (70 eV) der C-methylierten Verbindungen von JWH-250 (**4**).

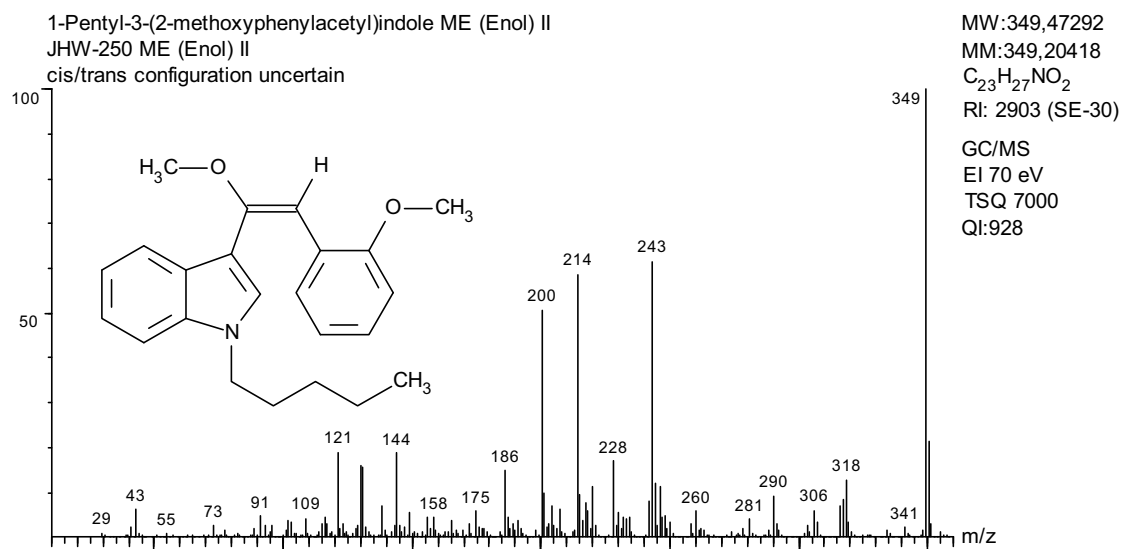
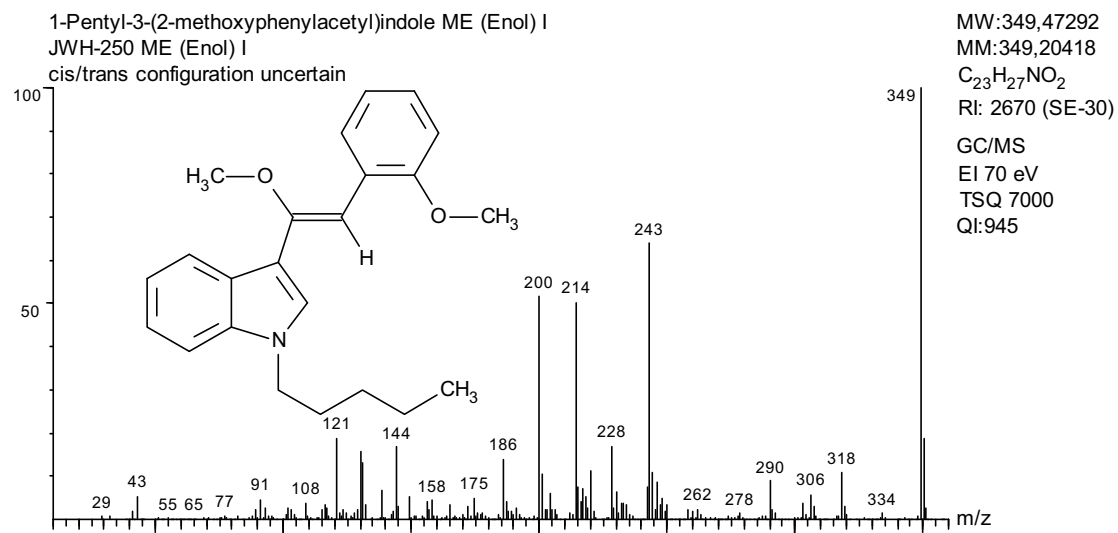


Abb.7b. EI-Massenspektren (70 eV) der methylierten Enolisomere von JWH-250 (4).

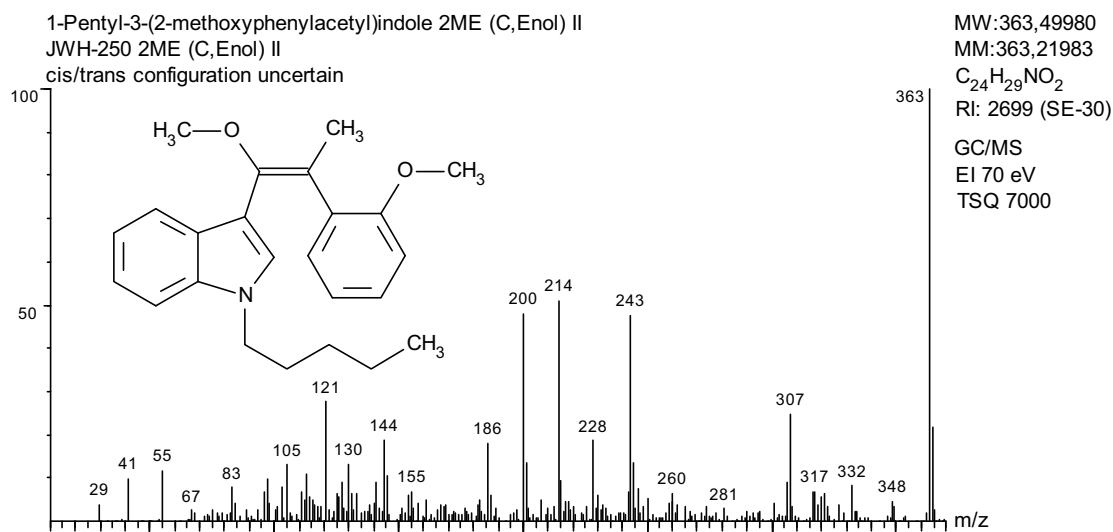
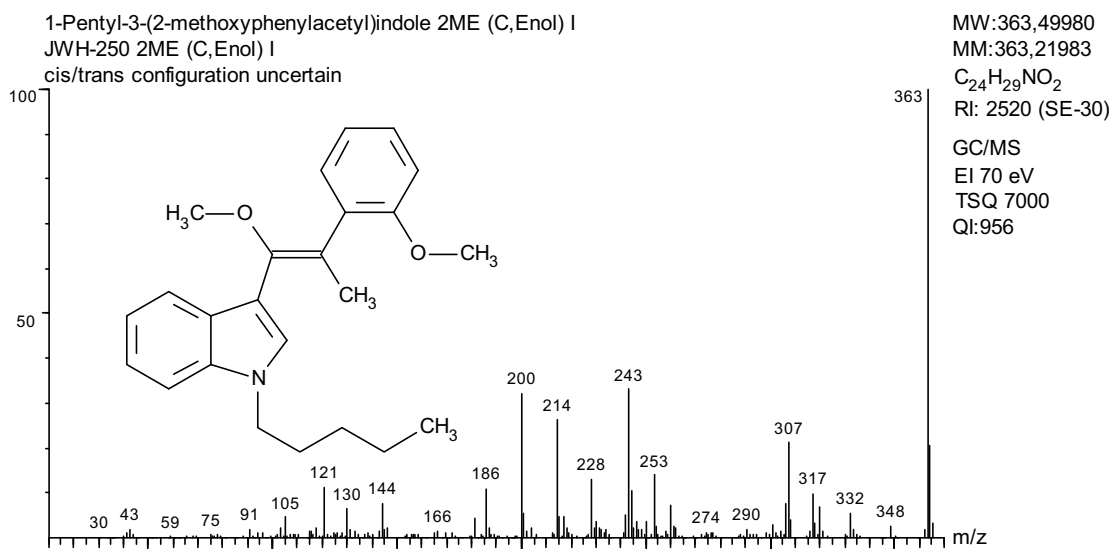


Abb.7c. EI-Massenspektren (70 eV) der C- und O-methylierten Isomere von JWH-250 (4) (unteres Spektrum durch KW im unteren Massenbereich und Untergrund überlagert).

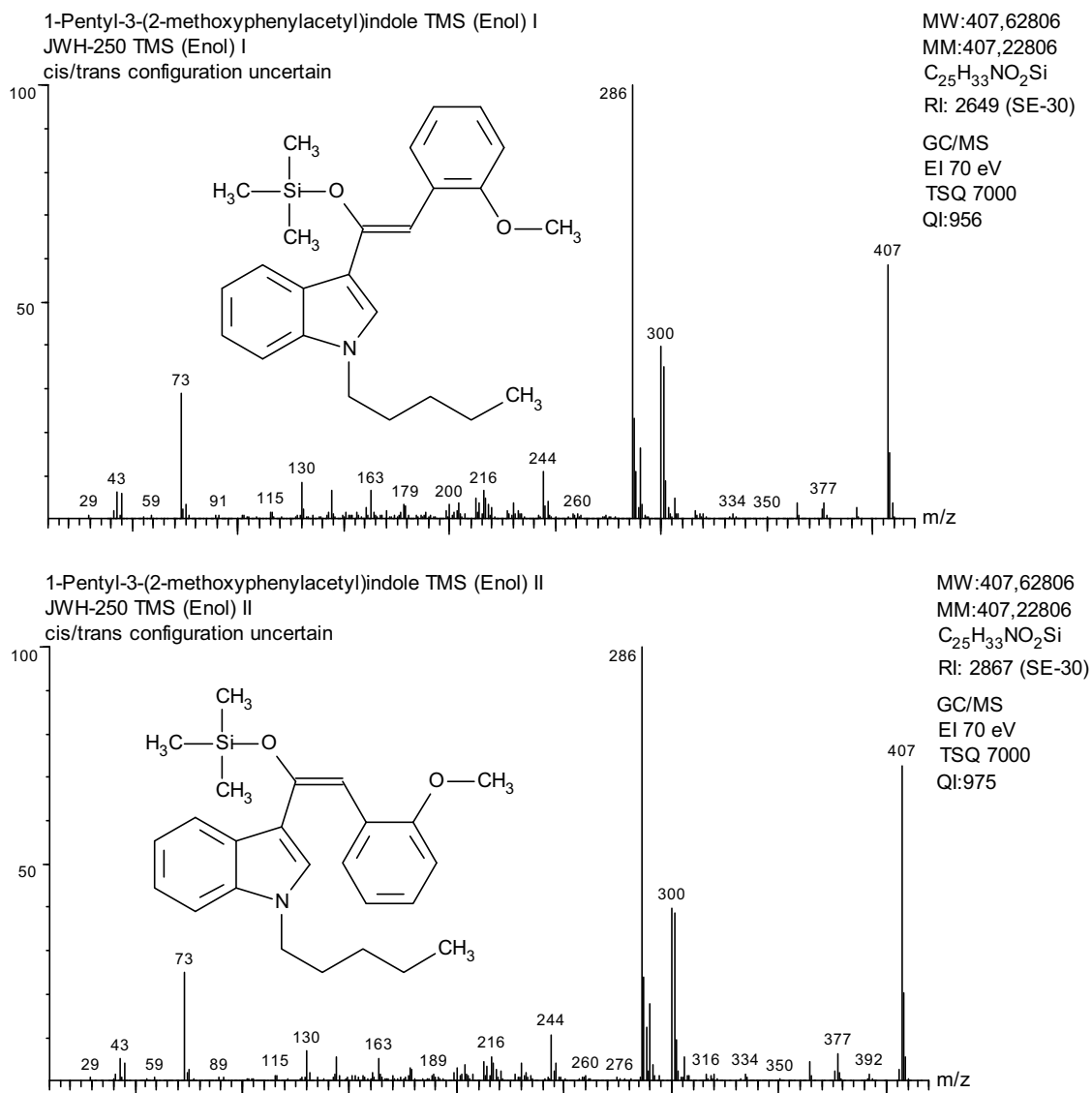


Abb. 8. EI-Massenspektren (70 eV) des silylierten JWH-250 (4).

Als kleine Verunreinigung enthielt das Asservat noch eine Verbindung **5** (Abb. 9) mit einer um 70 Masseneinheiten höheren Molmasse, wie durch Aufnahme des Massenspektrums nach CI bestätigt wurde (Abb. 10).

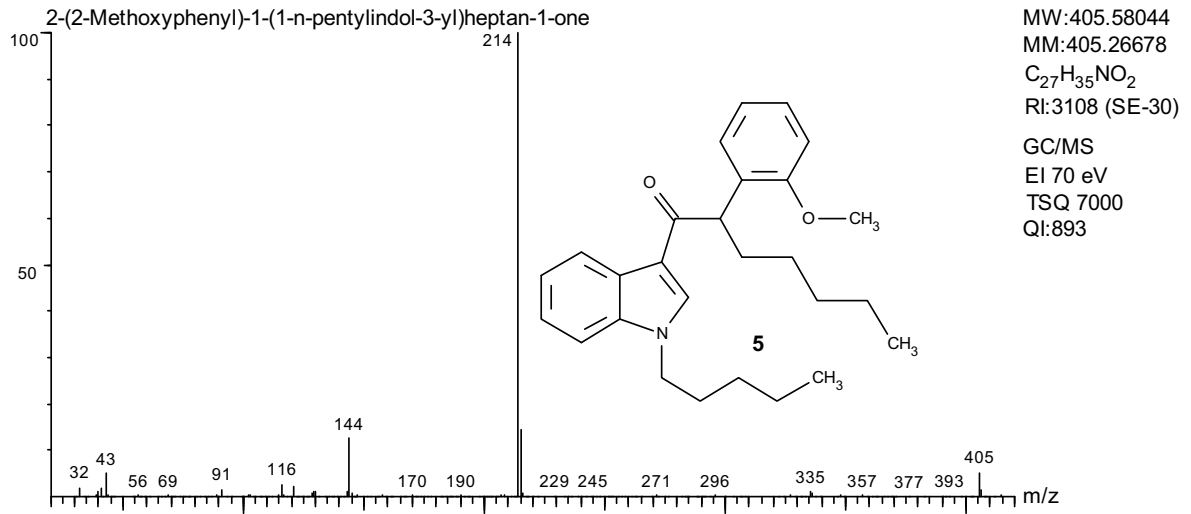


Abb. 9: EI-Massenspektrum (70 eV) der Verbindung **5**

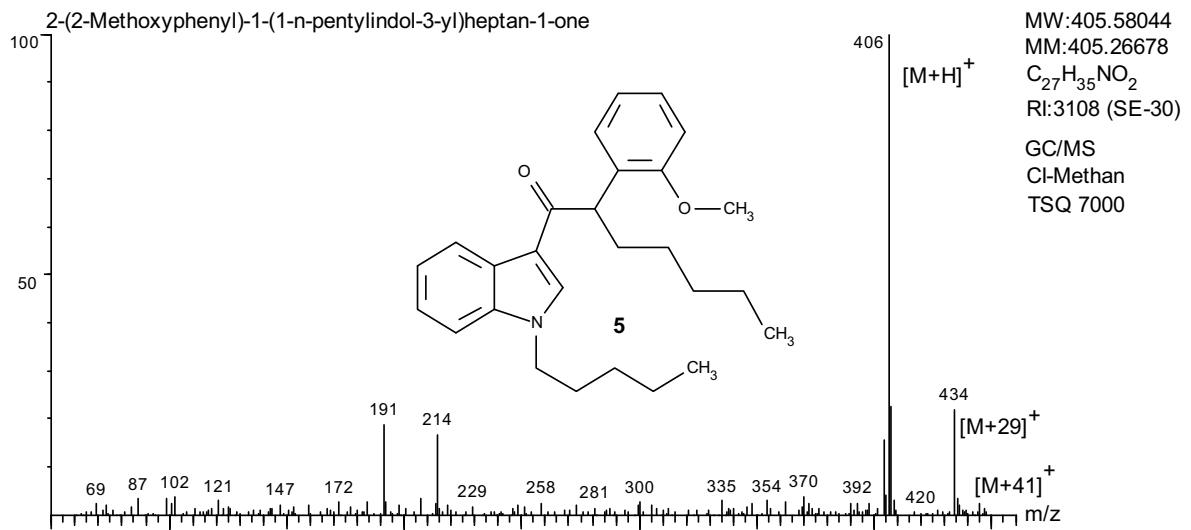


Abb. 10. CI-Massenspektrum (70 eV, Methan) der Verbindung **5**.

Die Verbindung **5** zeigt im EI-Massenspektrum den gleichen Basispeak bei  $m/z = 214$  wie das JWH-250 (**4**) und gleiche Fragmente in dem Massenbereich darunter, jedoch ein um 70 Dalton höheres Molekülion. Das Tochterionenspektrum des Fragmentes  $m/z = 214$  ist wiederum identisch mit dem des N-Pentyl-indoloyl-Kations (Abb. 6, III). Daher muss **5** eine pentylierte Indoloyl-Teilstruktur besitzen, und der zusätzlicher Rest mit der Masse von 70 Dalton muss im Methoxybenzylteil liegen. Nach den obigen Alkylierungsergebnissen liegt es nahe, dass es sich bei Verbindung **5** um ein in Alphastellung zur Carbonylgruppe n-pentyliertes Synthesenebenprodukt handelt.

Die Kleinmenge der ebenfalls sichergestellten Kräutermischung, in deren Extrakt JWH-250 nachgewiesen wurde, war in einem transparenten Druckverschlussstüchchen ohne jegliche Beschriftung aufgefunden worden. Bei der Betrachtung mit einer Stereolupe waren an einigen der in der Kräutermischung enthaltenen Blätter weiße, kristalline Beläge zu erkennen, die abpräpariert wurden und mittels Fourier-Transform-Infrarotspektroskopie als JWH-250 identifiziert werden konnten. Die Kräutermischung enthielt u. a. Eibisch-Blätter, die zusätzlich in separat abgepackter Form in der Wohnung vorhanden waren. Somit ist in Betracht zu ziehen, dass es sich bei der Kräutermischung nicht um ein kommerzielles Produkt, sondern um eine selbst hergestellte Zubereitung handelt, zumal der Wirkstoff JWH-250 selbst in Substanz sichergestellt wurde.

Das IR-ATR-Spektrum von JWH-250 (4) ist in Abbildung 11 dargestellt.

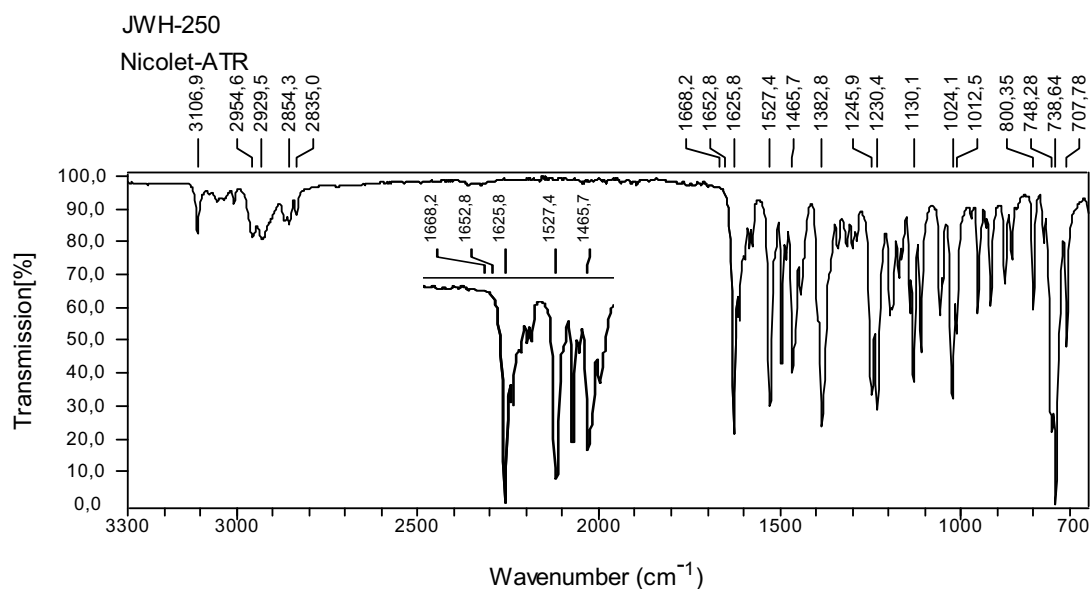


Abb. 11. IR-ATR-Spektrum von JWH-250 (4).

#### 4. Literatur

- [1] Huffman JW, Zengin G, Wu M-J, Lu J, Hynd G, Bushell K, et al. 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(1):89-112.
- [2] Zeitungsmeldung dpa, 15.12.2008, THC Pharm Frankfurt.
- [3] Auwärter V, Dresen S, Weinmann W, Müller M, Pütz M, et al. „SPICE“ and other herbal blends: harmless incense or cannabinoid designer drugs? *Mass Spectrom* 2009;44(5):832-837.
- [4] Auwärter V, Dresen S, Weinmann W, Ferreiros N. „SPICE“ sowie weitere Räucher-mischungen enthalten Designer-Cannabinoid. *Toxichem Krimtech* 2008;75(3):127-129.

- [5] Auwärter V. persönliche Mitteilung, Februar 2009.
- [6] Westphal F, Rösner P, Junge Th. Mass spectra of N-alkylated 3-naphthoylindoles, drug variants possibly emerging as new designer drugs in SPICE-products. In: Pragst F, Arndt T (Hrsg.) XVI. GTFCh-Symposium. Toxikologie psychisch aktiver Substanzen. Psychopharmaka – Neue Drogen – Suchanalyse – Kasuistiken. Verlag Gesellschaft für Toxikologische und Forensische Chemie, 2009:123-135.
- [7] Hurd RE, Gradient enhanced spectroscopy, *J. Magn. Res.* 87 (1990) 422-428.
- [8] Palmer III AG, Cavanagh J, Wright PE, Rance M. Sensitivity improvement in proton-detected two-dimensional heteronuclear correlation NMR spectroscopy. *J Magn Res* 1991;93:151-170.
- [9] Bax A, Summers MF. Proton and carbon-13 assignments from sensitivity-enhanced detection of heteronuclear multiple-bond connectivity by 2D multiple quantum NMR. *J Am Chem Soc* 1986;108:2093-2094.
- [10] Derome AE. *Modern NMR Techniques for Chemistry Research*, Pergamon, Oxford, 1991.
- [11] Dawson PH, Sun WF. A round robin on the reproducibility of standard operating conditions for the acquisition of library MS/MS spectra using triple quadrupols. *Int. J Mass Spectrom Ion Proc* 1984;55:155-170.
- [12] Junge Th, Rösner P, Westphal F. Daughter ion mass spectra of important organic ions. Eine kostenlose Druckversion kann von den Autoren angefordert werden.
- [13] Huffman JW, Szklennik PV, Almond A, Bushell K, Selley DE, et al. 1-Pentyl-3-phenylacetylindoles, a new class of cannabimimetic indoles, *Bioorg Med Chem Lett* 2005;15(18):4110-4113.