

Aus dem  
Institut für Rechtsmedizin  
Institut der Ludwig-Maximilians-Universität München



**Nachweis und quantitative Bestimmung neuer psychoaktiver Stoffe (NPS) in  
humanen Biomatrices wie Blut und Urin mittels Massenspektrometrie  
einschließlich Metabolitenaufklärung im Urin und Einordnung im forensisch-  
toxikologischen Kontext**

Dissertation  
zum Erwerb des Doktorgrades der Humanbiologie  
an der Medizinischen Fakultät  
der Ludwig-Maximilians-Universität München

vorgelegt von  
Isabel Brückner

aus  
Saarbrücken

Jahr  
2025

---

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der  
Ludwig-Maximilians-Universität München

|                    |                              |
|--------------------|------------------------------|
| Erstes Gutachten:  | Prof. Dr. med. Matthias Graw |
| Zweites Gutachten: | Prof. Dr. Thomas Gudermann   |
| Drittes Gutachten: | PD Dr. Michael Paal          |

|        |                                 |
|--------|---------------------------------|
| Dekan: | Prof. Dr. med. Thomas Gudermann |
|--------|---------------------------------|

|                             |            |
|-----------------------------|------------|
| Tag der mündlichen Prüfung: | 08.10.2025 |
|-----------------------------|------------|

**AFFIDAVIT**

Promotionsbüro  
Medizinische Fakultät

**Eidesstattliche Versicherung**

Brückner, Isabel

Name, Vorname

Ich erkläre hiermit an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Titel:

**Nachweis und quantitative Bestimmung neuer psychoaktiver Stoffe (NPS) in humanen Biomatrices wie Blut und Urin mittels Massenspektrometrie einschließlich Metabolitenauflklärung im Urin und Einordnung im forensisch-toxikologischen Kontext**

selbständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

München, 17.10.2025

Ort, Datum

Isabel Brückner

Unterschrift Doktorandin

## INHALTSVERZEICHNIS

|                                                                             |    |
|-----------------------------------------------------------------------------|----|
| AFFIDAVIT .....                                                             | 3  |
| INHALTSVERZEICHNIS.....                                                     | 4  |
| ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS .....                                                 | 5  |
| PUBLIKATIONSLISTE .....                                                     | 6  |
| 1 BEITRAG ZU DEN VERÖFFENTLICHUNGEN.....                                    | 7  |
| 1.1 BEITRAG ZU PUBLIKATION I .....                                          | 7  |
| 1.2 BEITRAG ZU PUBLIKATION II .....                                         | 7  |
| 2 EINLEITUNG .....                                                          | 8  |
| 2.1 NEUE PSYCHOAKTIVE STOFFE .....                                          | 8  |
| 2.2 SYNTHETISCHE CATHINONE .....                                            | 9  |
| 2.2.1 ALLGEMEINE PHARMAKOLOGISCHE ASPEKTE .....                             | 9  |
| 2.3 PYRROLIDINOPHENONE – EINE UNTERGRUPPE DER SYNTHETISCHEN CATHINONE ..... | 11 |
| 2.3.1 $\alpha$ -PHP UND $\alpha$ -PiHP .....                                | 12 |
| 2.3.2 MDPHP UND MDPHpP.....                                                 | 13 |
| 2.4 FORENSISCH-TOXIKOLOGISCHER KONTEXT .....                                | 13 |
| 2.4.1 ANALYTISCHE NACHWEISMETHODEN .....                                    | 14 |
| 2.4.2 PROBLEMSTELLUNG IM HINBLICK AUF NPS .....                             | 15 |
| 2.5 ZIELSETZUNG .....                                                       | 16 |
| 3 ZUSAMMENFASSUNG .....                                                     | 18 |
| 4 ABSTRACT (ENGLISH).....                                                   | 20 |
| 5 PAPER I .....                                                             | 21 |
| 6 PAPER II .....                                                            | 22 |
| 7 LITERATURVERZEICHNIS .....                                                | 23 |
| 8 DANKSAGUNG .....                                                          | 28 |

**ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS**

|                |                                                                |
|----------------|----------------------------------------------------------------|
| 4-MMC          | 4-Methylmethcathinon, Mephedron                                |
| 5-HT           | 5-Hydroxytryptamin, Serotonin                                  |
| $\alpha$ -PHP  | $\alpha$ -Pyrrolidinohexanophenon                              |
| $\alpha$ -PiHP | $\alpha$ -Pyrrolidinoisohexanophenon                           |
| $\alpha$ -PPP  | $\alpha$ -Pyrrolidinopropiophenon                              |
| $\alpha$ -PVP  | $\alpha$ -Pyrrolidinovalerophenon                              |
| BtMG           | Betäubungsmittelgesetz                                         |
| DA             | Dopamin                                                        |
| DAT            | Dopamin-Transporter                                            |
| EI             | Elektronenstoßionisation                                       |
| EMCDDA         | <i>European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction</i> |
| ESI            | Elektronensprayionisation                                      |
| GC-MS          | Gaschromatographie-Massenspektrometrie                         |
| LC-MS/MS       | Flüssigkeitschromatographie-Tandemmassenspektrometrie          |
| MDMA           | 3,4-Methylendioxyamphetamin                                    |
| DMC            | 3,4-Methylendioxyamphetamin, Mephedron                         |
| MDPHP          | 3,4-Methylendioxy- $\alpha$ -pyrrolidinohexanophenon           |
| MDHPpP         | 3,4-Methylendioxy- $\alpha$ -pyrrolidinoheptanophenon          |
| MDPPP          | 3,4-Methylendioxy- $\alpha$ -pyrrolidinopropiophenon           |
| MDPV           | 3,4-Methylendioxy- $\alpha$ -pyrovaleron                       |
| $m/z$          | Masse-zu-Ladungsverhältnis                                     |
| NE             | Norepinephrin                                                  |
| NET            | Norepinephrin-Transporter                                      |
| NPS            | Neue psychoaktive Stoffe                                       |
| NpSG           | Neue-psychoaktive-Stoffe-Gesetz                                |
| NT             | Neurotransmitter                                               |
| SERT           | Serotonin-Transporter                                          |
| ZNS            | Zentrales Nervensystem                                         |

## PUBLIKATIONSLISTE

### Publikationen, die Bestandteil dieser kumulativen Dissertation sind:

Brueckner I., Welter-Luedeke J., Zangl A., Graw M., Paul L.D.,  $\alpha$ -Pyrrolidinohexanophenone ( $\alpha$ -PHP) vs.  $\alpha$ -pyrrolidinoisohexanophenone ( $\alpha$ -PiHP): A toxicological investigation about plasma concentrations and behavior in forensic routine cases. *J Anal Toxicol*, 2024, 48(5): 299-313.  
DOI: 10.1093/jat/bkae011

Brueckner I., Welter-Luedeke J., Gutjahr-Ruhland C., Graw M., Paul L.D., Toxicological detection of the new psychoactive substances MDPHP and MDPHPp in human urine samples by elucidation of their urinary metabolites using gas chromatography–mass spectrometry. *J Anal Toxicol*, 2025. DOI: 10.1093/jat/bkaf026

### Vorträge:

Brueckner I., Welter-Luedeke J., Zangl A., Graw M., Paul L.D.  
 $\alpha$ -Pyrrolidinohexanophenone ( $\alpha$ -PHP) and  $\alpha$ -Pyrrolidinoisohexanophenone ( $\alpha$ -PiHP): The party is going on  
60<sup>th</sup> *International Association of Forensic Toxicologists Meeting* 2023, Rom, August 2023.

Brueckner I., Welter-Luedeke J., Koch E., Halter S., Graw M., Paul L.D.  
K.o.-Joint? Die synthetischen Cannabinoide 5F-ADB und 5F-MDMB-PICA bei entsprechenden forensisch-toxikologischen Fragestellungen  
99. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Rechtsmedizin, Luzern, September 2020.

# 1 BEITRAG ZU DEN VERÖFFENTLICHUNGEN

Im Folgenden wird der Eigenanteil der Promovendin an den jeweiligen Publikationen dargestellt.

## 1.1 BEITRAG ZU PUBLIKATION I

$\alpha$ -Pyrrolidinohexanophenone ( $\alpha$ -PHP) vs.  $\alpha$ -pyrrolidinoisohexanophenone ( $\alpha$ -PiHP): A toxicological investigation about plasma concentrations and behavior in forensic routine cases

Brueckner I., Welter-Luedeke J., Zangl A., Graw M., Paul L.D.

J Anal Toxicol, 2024, 48(5): 299-313. DOI: 10.1093/jat/bkae011

Der Eigenanteil der Promovendin umfasste neben einer Beteiligung an der Studienkonzeption die eigenständige retrospektive Datenerhebung aus authentischen Routine-Fällen, die Evaluation der Plasmakonzentrationsbereiche sowie die Auswertung und Interpretation im forensisch-toxikologischen Kontext. Ebenso führte die Promovendin die Literaturrecherche, die Erstellung der Tabellen und Grafiken sowie das Verfassen des Erstmanuskripts selbstständig durch. Darüber hinaus war die Promovendin an der Überarbeitung des Erstmanuskripts sowie am Revisionsprozess beteiligt.

## 1.2 BEITRAG ZU PUBLIKATION II

Toxicological detection of the new psychoactive substances MDPHP and MDPHpP in human urine samples by elucidation of their urinary metabolites using gas chromatography–mass spectrometry

Brueckner I., Welter-Luedeke J., Gutjahr-Ruhland C., Graw M., Paul L.D.

J Anal Toxicol, 2025. DOI: 10.1093/jat/bkaf026

Der Eigenanteil der Promovendin bestand neben einer Beteiligung an der Studienkonzeption aus der eigenständigen retrospektiven Datenerhebung aus authentischen Routine-Fällen, der Identifizierung der unbekannten Substanzspektren und Aufklärung der Metaboliten sowie der darauffolgenden Auswertung und Interpretation der Ergebnisse. Zudem führte die Promovendin die Literaturrecherche, die Erstellung der Grafiken und das Verfassen des Erstmanuskripts selbstständig durch. Darüber hinaus war die Promovendin an der Überarbeitung des Erstmanuskripts beteiligt und hat maßgeblich am Revisionsprozess mitgewirkt.

## 2 EINLEITUNG

### 2.1 NEUE PSYCHOAKTIVE STOFFE

Bei neuen psychoaktiven Stoffen (NPS) handelt es sich umgangssprachlich um sogenannte Designerdrogen, die synthetisch hergestellt werden und anschließend als bisher unbekannte Substanzen auf dem Drogenmarkt in Erscheinung treten. Laut *European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction* (EMCDDA) werden NPS zum Zwecke des europäischen Frühwarn- und Risikobewertungssystems als Substanzen oder Zubereitungen definiert, welche nicht unter internationale Abkommen zum Umgang mit Drogen und psychoaktiven Substanzen fallen, aber hinsichtlich ihrer potenziellen gesundheitlichen und sozialen Risiken mit diesen vergleichbar sind [1]. Auf dem Drogenmarkt werden sie häufig auch als „*Research Chemicals*“ oder „*Legal Highs*“ bezeichnet [2, 3]. Das Ziel der NPS-Herstellung ist es, durch (geringfügige) Veränderungen der Molekülstrukturen bekannter und bereits regulierter Suchtstoffe aktuelle gesetzliche Regelungen wie das Betäubungsmittelgesetz (BtMG) zu umgehen, um als „legal“ zu gelten [2, 4]. Unter das BtMG fallen nur einzelne, explizit in dessen Anlagen aufgeführte Substanzen. Eine Aufnahme einer neuen Substanz in die Anlagen beansprucht jedoch längere Zeit, was dazu führt, dass in diesem Zeitraum der Drogenmarkt mit vermeintlich „legalen“ NPS beliefert wird. Um diesem „Katz-und-Maus-Spiel“ entgegenwirken zu können, wurde in Deutschland in Ergänzung zum BtMG das Neue-psychoaktive-Stoffe-Gesetz (NpSG) entwickelt. Im Gegensatz zum BtMG erfasst das NpSG nicht nur einzelne Substanzen, sondern ganze Stoffgruppen [4], welche von einem Grundgerüst mit verschiedenen kombinier- und austauschbaren Substituenten ausgehen. Somit wird ein breiteres Spektrum an Substanzen abgedeckt, um eine effektivere Eindämmung der Verbreitung von NPS erzielen zu können. Derzeit umfasst das NpSG Stoffgruppen wie Phenethylamine (einschließlich Cathinone), synthetische Cannabinoide, Benzodiazepine und Tryptamine und wird zudem regelmäßig um neue Stoffgruppen erweitert [4]. Trotz der Maßnahmen, die den Entwicklungen des Drogenmarktes entgegenzuwirken versuchen, stellt dessen Schnelllebigkeit ein Problem dar. Sobald eine Substanz einem bestehenden Gesetz unterstellt wird, verschwindet sie häufig wieder vom Schwarzmarkt und wird durch eine neu synthetisierte Substanz ersetzt, die die gesetzlichen Regelungen wiederum umgeht bzw. umgehen soll. In Europa konnte seit 2008 ein starker Zuwachs an NPS beobachtet werden [1]. Bis Ende 2023 wurden über 950 NPS registriert, von denen 26 in besagtem Jahr das erste Mal auf dem Drogenmarkt erschienen sind [5]. Weltweit wurden bis zum Jahr 2023 insgesamt 1240 NPS erfasst [6].

NPS können häufig unkompliziert z. B. über Internetplattformen erworben werden, wobei die Kosten hierfür oftmals geringer sind als für herkömmliche Drogen. Dies, aber unter anderem auch die Hoffnung auf fehlende Nachweisbarkeit in üblichen Drogentests sind Aspekte, welche Konsumierende dazu bewegen können, sich für NPS zu entscheiden [1, 7]. Manche Personen hingegen konsumieren solche Substanzen auch gezielt in der Hoffnung, neue Drogenwirkungen zu erleben [1, 7, 8].

Trotz der Veränderungen chemischer Strukturen zum Zwecke der Gesetzesumgehungen sollen

die grundlegenden Wirkmechanismen der jeweiligen bekannten Suchtstoffe jedoch möglichst beibehalten bzw. lediglich gering verändert werden [2, 3]. Im Gegensatz zu „klassischen“ Drogen wie beispielsweise Amphetamin oder Cocain gibt es allerdings nur wenige bis keine Erfahrungsberichte zu solchen Substanzen. Zudem sind kontrollierte humane Studien mit Suchtstoffen und insbesondere mit neuen Designerdrogen in den meisten Fällen nicht existent und auch ethisch nicht vertretbar. Daher sind Wirkungen sowie Nebenwirkungen für Konsumierende nur schwer einschätzbar.

Ungeachtet dessen werden NPS nach wie vor zahlreich auf dem Schwarzmarkt gehandelt [5, 6]. Betrachtet man z. B. die Gruppe der synthetischen Cathinone, so gibt es laut EMCDDA Hinweise darauf, dass der Handel synthetischer Cathinone nach Europa zugenommen hat und dass diese zusätzlich vermehrt in Europa produziert werden. Dies könnte zur Folge haben, dass synthetische Cathinone auf dem europäischen Stimulantienmarkt zukünftig noch stärker vertreten sein werden [5].

## 2.2 SYNTHETISCHE CATHINONE

Cathinon (siehe Abbildung 1A) ist ein Inhaltsstoff des Khatstrauchs und strukturell eng mit Amphetamin (siehe Abbildung 1B) verwandt, besitzt jedoch zusätzlich eine Ketogruppe in  $\beta$ -Position. Das Kauen von Blättern des Khatstrauchs war früher vor allem im Osten Afrikas und in südlichen arabischen Gebieten verbreitet. Für die hierbei auftretende psychostimulierende, amphetaminähnliche Wirkung ist das Alkaloid Cathinon hauptverantwortlich [9, 10].

Einige von dieser Struktur abgeleitete Cathinone wurden erstmals im Rahmen pharmazeutischer Forschung synthetisiert, wobei sie jedoch niemals als Medikament auf den Markt gebracht oder nach Zulassung wieder aus dem Handel genommen wurden [11-14]. Eine Ausnahme stellt hierbei Bupropion dar, ein heute noch existierender Arzneistoff mit einer Cathinon-Grundstruktur, der zur Behandlung von Episoden einer depressiven Erkrankung zugelassen ist [15].

Abgesehen davon werden synthetische Cathinone hauptsächlich missbräuchlich verwendet. Neben synthetischen Cannabinoiden zählen sie zu den am häufigsten vertretenen Substanzklassen der NPS [5, 6]. Auf dem Schwarzmarkt sind synthetische Cathinone umgangssprachlich auch als „Badesalze“ bekannt [12, 16, 17]. Sie werden teilweise als „legaler“ Ersatz für Amphetamin, 3,4-Methylendioxyamphetamin (MDA, siehe Abbildung 1C) oder Cocain angeboten, werden allerdings fälschlicherweise auch als diese ausgegeben oder werden ihnen beigemischt [1, 3, 5, 18]. Demzufolge kann ein „Badesalz“-Konsum durch Personen auch unbeabsichtigt und unwissentlich erfolgen.

### 2.2.1 ALLGEMEINE PHARMAKOLOGISCHE ASPEKTE

Unabhängig von der Art aufgenommener Stoffe – ob beispielsweise Drogen oder Arzneistoffe – ist das Wirkprinzip eines systemisch wirkenden Stoffes im menschlichen Körper gleich: nach

Aufnahme eines Stoffes und gegebenenfalls Resorption in die Blutbahn gelangt dieser zum entsprechenden Targetmolekül, dem Wirkort, um dort einen (gewünschten) Effekt zu erzielen [19, 20]. Die Aufnahme eines synthetischen Cathinons kann über mehrere Wege stattfinden, oftmals erfolgt die Applikation nasal, oral oder intravenös [21-23]. Aufgrund einer meist guten Permeabilität durch die Bluthirnschranke [24] können synthetische Cathinone anschließend aus dem Blut an ihren Wirkort im zentralen Nervensystem (ZNS) übertreten. Bedingt durch unterschiedliche Molekülstrukturen können sich synthetische Cathinone jedoch auch in ihren Wirkmechanismen unterscheiden. So haben Studien gezeigt, dass synthetische Cathinone vom Pyrrolidinophenon-Typ, wie z. B.  $\alpha$ -Pyrrolidinovalerophenon ( $\alpha$ -PVP) und 3,4-Methylenedioxy- $\alpha$ -pyrovaleron (MDPV), ähnlich wie Cocain als Inhibitoren an Monoamintransportern wirken und die Wiederaufnahme der Neurotransmitter (NT) Dopamin (DA), Norepinephrin (NE) und Serotonin (5-HT, 5-Hydroxytryptamin) aus dem synaptischen Spalt blockieren [24-29]. Im Gegensatz dazu wirken andere synthetische Cathinone wie z. B. Mephedron (4-MMC, 4-Methylmethcathinon) oder Methylon (MDMC, 3,4-Methylenedioxy-methcathinon) als Substrate an Monoamintransportern und erhöhen die Freisetzung von DA, NE und 5-HT in den synaptischen Spalt, ähnlich zu Amphetamin [24-26, 30].

Demzufolge können sich die Wirkungen nach Konsum verschiedener synthetischer Cathinone unterscheiden. Problematisch ist hierbei, dass das Wissen der Konsumierenden über neue Substanzen und deren Wirkungen oftmals begrenzt ist und auch in Userforen häufig nur wenige Erfahrungsberichte zu finden sind. Konsumieren Personen wissentlich „Badesalze“, werden aufgrund der strukturellen Ähnlichkeiten zu Amphetamin und MDMA häufig vergleichbare Wirkungen erwartet bzw. erhofft. Aufgrund der bereits erwähnten NT-Erhöhung im synaptischen Spalt und damit verbundener zentraler Erregung [19, 20] zählen hierzu beispielsweise Euphorie und Empathie sowie gesteigerte Aktivität, Energie und Produktivität [22, 23]. Jedoch wurden auch unerwünschte Nebenwirkungen wie unter anderem Tachykardie, Hypertonie, Hyperthermie, Agitation, Brustschmerzen und Krampfanfälle bis hin zu Todesfällen im Zusammenhang mit synthetischen Cathinonen beobachtet [31-38].

Damit ein Stoff nach erfolgter Ein- bzw. Aufnahme wieder aus dem Körper ausgeschieden werden kann, werden insbesondere lipophile Stoffe im Körper verstoffwechselt und zu hydrophileren Substanzen transformiert [19]. Hierbei werden zwei Metabolisierungsphasen unterschieden: Phase-I-Reaktionen und Phase-II-Reaktionen. Bei der Phase-I-Reaktion werden Stoffe strukturell verändert, indem sie oxidiert, reduziert oder hydrolysiert werden, wodurch sowohl eine Inaktivierung als auch eine Aktivierung der Stoffe hervorgerufen werden kann. Bei der Phase-II-Reaktion werden Stoffe, welche teilweise auch erst in Phase-I-Reaktion entstanden sein können, an körpereigene Substanzen gekoppelt. Beide Phasen dienen der (erleichterten) renalen Ausscheidung von exogen aufgenommenen Stoffen [19, 20]. Diesem Prinzip entsprechend wird auch Cathinon im Körper verstoffwechselt. Lediglich ein geringer Anteil wird unverändert im Urin ausgeschieden [39]. Zudem haben Studien über den Metabolismus synthetischer Cathinone gezeigt, dass diese ebenfalls ausgeprägten Stoffwechselprozessen unterliegen [40-44].

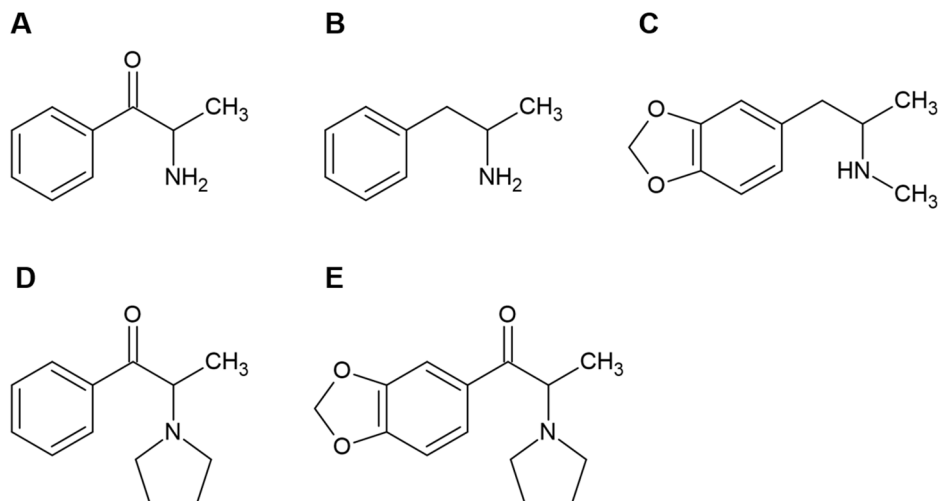


Abbildung 1: Strukturformeln von **A** Cathinon, **B** Amphetamin, **C** MDMA, **D** α-PPP, **E** MDPPP

## 2.3 PYRROLIDINOPHENONE – EINE UNTERGRUPPE DER SYNTHETISCHEN CATHINONE

Pyrrolidinophenone weisen die Grundstruktur von Cathinon auf und zählen daher zu einer Untergruppe der synthetischen Cathinone. Sie besitzen als gemeinsames Strukturmerkmal einen Pyrrolidinring, können sich jedoch, wie hier am Beispiel von α-Pyrrolidinopropiophenon (α-PPP, siehe Abbildungen 1D) und 3,4-Methylenedioxy-α-pyrrolidinopropiophenon (MDPPP, siehe Abbildungen 1E) gezeigt, hinsichtlich ihrer Substituenten am Benzolring unterscheiden oder auch Variationen in ihrer Seitenkette aufweisen. Aufgrund ihrer engen strukturellen Ähnlichkeit zu Amphetamin (siehe Abbildung 1D und 1B) und MDMA (siehe Abbildung 1E und 1C) liegt ein ähnlicher Wirkmechanismus dieser Substanzen nahe. Eine *in vitro* Studie hat gezeigt, dass MPDV neben einer sehr hohen Permeabilität durch die Bluthirnschranke eventuell auch einem aktiven Transportmechanismus unterliegt [24] und somit gut in das ZNS gelangen kann. Im ZNS erhöhen Pyrrolidinophenone, wie bereits in Kapitel 2.2.1 erwähnt, die Konzentration an NTs im synaptischen Spalt, indem sie als Wiederaufnahmehemmer von NTs wirken, vergleichbar mit Cocain. Hier haben *in vitro* Studien gezeigt, dass sie potente Inhibitoren an Dopamin-Transportern (DAT) und Norepinephrin-Transportern (NET) sind, jedoch nur eine geringe Potenz zur Inhibition von Serotonin-Transportern (SERT) aufweisen. Im Unterschied zu Cocain zeigen sie eine stärkere DAT- und NET-Inhibition, sind aber weniger potente SERT-Inhibitoren [26-29, 45]. Für ihren Wirkmechanismus scheint ihr Strukturmerkmal, der Pyrrolidinring, von Bedeutung zu sein [46]. Zudem wurde in *in vitro* Studien gezeigt, dass eine Verlängerung der Alkyl-Seitenkette zu einer erhöhten Potenz an unter anderem DATs führt [27, 46]. Da sowohl Drogenwirkung als auch Missbrauchspotential mit stärkerer DAT-Inhibition zunehmen [27, 47, 48], kann davon ausgegangen werden, dass diese Effekte bei Pyrrolidinophenonen zumindest vergleichbar, wenn nicht sogar stärker ausgeprägt sind als bei Cocain. Unter der Wirkung

verschiedener Pyrrolidinophenone wurde häufig aggressives bis hin zu psychotischem Verhalten beobachtet [31, 33, 49-54].

Bezüglich der Verstoffwechselung von Pyrrolidinophenonen wurde in diversen Studien demonstriert, dass sie einem ausgeprägten und komplexen Metabolisierungsprozess unterliegen. Häufige metabolische Reaktionen sind beispielsweise Oxidierung des Pyrrolidinrings, oxidative Ringöffnung zur Bildung eines primären Amins sowie Demethylierung mit anschließender Methylierung im Falle einer vorhandenen Methylendioxy-Gruppe [55-61].

Bereits im Arbeitskreis durchgeführte Studien haben gezeigt, dass Pyrrolidinophenone auch im Raum München vermehrt konsumiert werden [49, 50]. Aufgrund des erwähnten Trends von ständig neu entwickelten NPS hat sich die hier vorgestellte Dissertation auf die Untersuchung der vier neuartigen Pyrrolidinophenone  $\alpha$ -Pyrrolidinohexanophenon ( $\alpha$ -PHP),  $\alpha$ -Pyrrolidinoisohexanophenon ( $\alpha$ -PiHP), 3,4-Methylendioxy- $\alpha$ -pyrrolidinohexanophenon (MDPHP) und 3,4-Methylendioxy- $\alpha$ -pyrrolidinoheptanophenon (MDPHpP) fokussiert, um neue wissenschaftliche Erkenntnisse für forensisch-toxikologische Untersuchungen zu erlangen.

### 2.3.1 $\alpha$ -PHP UND $\alpha$ -PiHP

$\alpha$ -PHP und  $\alpha$ -PiHP sind zwei synthetische Designerstimulantien, die zur Gruppe der Pyrrolidinophenone gehören. Der strukturelle Unterschied der beiden Substanzen liegt in deren Alkyl-Seitenkette: durch eine Verzweigung bei gleichbleibender Summenformel entsteht  $\alpha$ -PiHP, das Iso-Isomer von  $\alpha$ -PHP (siehe Abbildung 2A und 2B). Die Substanz  $\alpha$ -PHP, die im Jahr 2014 das erste Mal auf dem europäischen Schwarzmarkt in Erscheinung getreten ist [62], unterliegt in Deutschland seit Januar 2021 dem BtMG [63]. Dahingegen wurde  $\alpha$ -PiHP in Europa erstmals im Jahr 2016 verzeichnet [64] und ist in Deutschland seit Juni 2023 dem BtMG unterstellt [65].

Im Zeitraum von 2017 bis 2023 sind  $\alpha$ -PHP und  $\alpha$ -PiHP zunehmend in humanen Blutproben der Routinefälle des Instituts für Rechtsmedizin der LMU München nachgewiesen worden, weshalb eine forensisch-toxikologische Evaluation beider Substanzen im Rahmen dieser Dissertation erfolgte. Detailliertere Informationen zu diesen beiden Stimulantien können Publikation I entnommen werden.

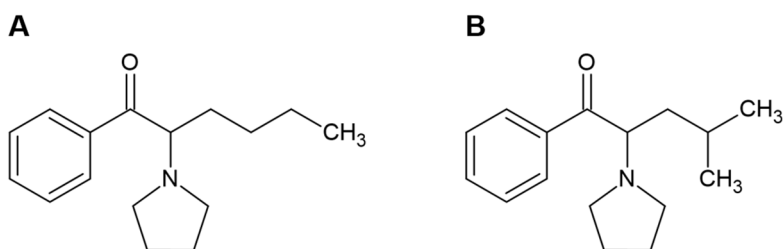


Abbildung 2: Strukturformeln von **A**  $\alpha$ -PHP und **B**  $\alpha$ -PiHP

### 2.3.2 MDPHP UND MDPHPpP

Bei den Substanzen MDPHP und MDPHPpP handelt es sich ebenfalls um zwei synthetische Designerstimulantien der Pyrrolidinophenone. MDPHPpP weist eine um eine Methylgruppe längere Alkyl-Seitenkette auf und ist somit ein Homolog zu MDPHP (siehe Abbildung 3A und 3B). Während MDPHP in Europa erstmals im Jahr 2014 gemeldet wurde [62], ist MDPHPpP erst einige Jahre später, im Jahr 2019, aufgetreten [66]. Beide Substanzen sind derzeit nicht dem BtMG unterstellt, unterliegen jedoch dem NpSG.

In humanen Urinproben der Routinefälle des Instituts für Rechtsmedizin der LMU München im Zeitraum 2017 bis 2024 hat sich bei den Untersuchungen vermehrt der Verdacht eines vorangegangenen MDPHP- und MDPHPpP-Konsums ergeben, weshalb diese Proben vor dem Hintergrund forensisch-toxikologischer Forschungsfragen hinsichtlich dieser Substanzen analysiert wurden. Detailliertere Informationen zu diesen beiden Stimulantien sind in Publikation II zu finden.

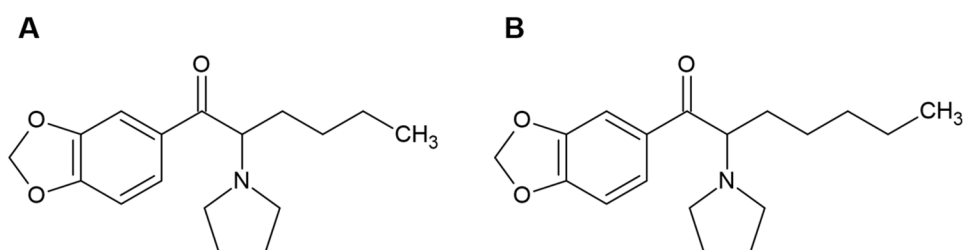


Abbildung 3: Strukturformeln von **A** MDPHP und **B** MDPHPpP

## 2.4 FORENSISCH-TOXIKOLOGISCHER KONTEXT

Die forensische Toxikologie beschäftigt sich im Allgemeinen mit dem Nachweis (und der quantitativen Bestimmung) von Giftstoffen wie z. B. von Drogen oder Arzneistoffen, sowie deren Wirkungen vor dem Hintergrund verschiedener, rechtlicher Fragestellungen [67]. Dabei handelt es sich neben Untersuchungen von Intoxikationen im Zusammenhang mit Todesfällen auch um Untersuchungen von Materialien lebender Personen, die beispielsweise aufgrund von Verkehrsdelikten, Kapitaldelikten oder Betäubungsmittelhandels strafrechtlich in Erscheinung getreten sind. In diesen Fällen werden unter anderem Biomatrices wie Blut oder Urin von Personen mit vorangegangenen Gesetzesverstößen untersucht. In Bezug auf Verkehrsdelikte oder Kapitaldelikte sind Fragestellungen zur Fahrsicherheit oder zur Einsichts- und Steuerungsfähigkeit, umgangssprachlich auch Schuldfähigkeit, von Relevanz. Anhand gemessener Plasmakonzentrationen von Arznei- und Suchtstoffen kann unter Einbeziehung relevanter Falldaten wie z. B. der psychophysischen Symptomatik, eine mögliche Beeinflussung durch Arznei- und Suchtstoffe sowie deren Ausmaß eingeschätzt werden. Bei Verstößen gegen das BtMG spielen häufig Fragen zum generellen Konsumverhalten einer Person und damit auch länger zurückliegende Ein- bzw. Aufnahmen von Arznei- und Suchtstoffen eine Rolle. Daher

werden für diese Zwecke bevorzugt unter anderem Urinproben untersucht. Um hierbei einen entsprechenden Konsum feststellen zu können, sind Kenntnis und Erfassung von Metaboliten einer Substanz daher essentiell.

### 2.4.1 ANALYTISCHE NACHWEISMETHODEN

Zum Nachweis und der quantitativen Bestimmung von Substanzen in Blut- und Urinproben sind chromatographische Verfahren gekoppelt mit (Tandem-)Massenspektrometrie gängige Analysemethoden. Zunächst werden die Proben nach geeigneter Aufarbeitung in das Analysensystem eingebracht. Anschließend werden die in den Proben enthaltenen Substanzen in einem ersten Schritt aufgetrennt und nachfolgend identifiziert und gegebenenfalls quantifiziert. Hierbei sind Flüssigkeitschromatographie-Tandemmassenspektrometrie (LC-MS/MS) und Gaschromatographie-Massenspektrometrie (GC-MS) häufig verwendete Analysetechniken [68].

Bei der Analyse mittels LC-MS/MS werden Analyten getrennt, indem sie mithilfe einer flüssigen mobilen Phase über eine stationäre Phase einer Trennsäule transportiert werden. Bei der stationären Phase handelt es sich häufig um modifizierte Kieselgele. Durch unterschiedliche Wechselwirkungen zwischen den in der mobilen Phase befindlichen Analyten und der stationären Phase bedingt durch unterschiedliche physikochemische Eigenschaften eluieren die Analyten am Ende der Säule zu unterschiedlichen Zeitpunkten, sodass eine Auftrennung erfolgt. Bei der Elektronensprayionisation (ESI) werden die Analyten anschließend ionisiert und in die Gasphase überführt, während die mobile Phase verdampft wird. Hierbei handelt es sich um eine weiche Ionisierungsmethode, welche zum Vorteil hat, dass die Analyten überwiegend unfragmentiert erhalten bleiben. Anschließend erfolgt die massenspektrometrische Analyse, häufig unter Verwendung von drei gekoppelten Quadrupol-Massenanalysatoren. Dabei werden die geladenen Analyten im Hochvakuum anhand ihres Masse-zu-Ladungsverhältnisses ( $m/z$ ) aufgetrennt und detektiert. Im ersten Quadrupol werden die ionisierten Analyten in der Regel in ihrer unfragmentierten Form in einem elektrischen Wechselfeld entsprechend ihrer  $m/z$ -Verhältnisse vorselektiert. Anschließend findet in einem zweiten Quadrupol eine Fragmentierung der Ionen mit Hilfe eines Kollisionsgases statt, woraufhin in einem dritten Quadrupol eine erneute Selektion von mindestens zwei Fragmentionen und deren Weiterleitung an den Detektor erfolgt [69]. Die Identifizierung der Analyten erfolgt anhand von Retentionszeiten, Fragmentionen und deren Peakflächen-Verhältnissen zueinander. Die Quantifizierung findet über die Auswertung der Peakflächen der Fragmentionen nach vorangegangener Kalibration statt.

Bei der GC-MS funktioniert die Trennung der Analyten ähnlich, es kommt jedoch eine gasförmige mobile Phase zum Einsatz, welche zusammen mit den in die Gasphase überführten Analyten über eine stationäre Phase, häufig bestehend aus beschichtetem, hochreinem Quarzglas, innerhalb einer Kapillarsäule transportiert wird. Hierbei werden die Analyten ebenfalls aufgrund ihrer unterschiedlichen Interaktion mit der stationären Phase entsprechend aufgetrennt. Die anschließende Ionisierung der Analyten erfolgt oftmals mittels der Elektronenstoßionisation (EI). Bei dieser Methode handelt es sich um eine sogenannte harte Ionisationsart, da die Analyten

unter Verwendung hoher Energie mit Elektronen „beschossen“ werden und dadurch in viele kleinere, teils charakteristische Fragmentionen zerfallen. Im Anschluss werden die Analyten wieder beispielsweise in einem Quadrupol-Massenanalysator unter Hochvakuum entsprechend ihres  $m/z$ -Verhältnisses aufgetrennt und können anhand ihrer Massenspektren identifiziert werden [69].

Sowohl LC-MS/MS als auch GC-MS sind im Bereich der forensischen Toxikologie etablierte Analysemethoden, um bekannte Arznei- und Suchtstoffe zu identifizieren und bei Bedarf auch zu quantifizieren [70]. Ein Nachweis von unbekannten Substanzen wie im Falle von NPS ist dahingegen aufgrund unbekannter Eigenschaften der Substanzen meist mit analytischen Schwierigkeiten verbunden.

## 2.4.2 PROBLEMSTELLUNG IM HINBLICK AUF NPS

NPS stellen die forensische Toxikologie in vielerlei Hinsicht vor große Herausforderungen. Die stetigen Veränderungen der strukturellen Eigenschaften von Designerdrogen erschweren eine analytische Detektion dieser Substanzen, da Referenzmaterialien hierfür meist fehlen [71]. Darüber hinaus sind NPS oft nur in niedrigen Konzentrationen in Biomatrices zu finden [68], weshalb Analysemethoden sehr sensitiv sein müssen. Neben der erschwerten qualitativen und quantitativen Bestimmung von NPS spielen bei der Analyse von Biomatrices wie Blut und Urin auch weitere Faktoren eine wichtige Rolle. Im Gegensatz zu zugelassenen Medikamenten mit vorangegangenen klinischen Studien sind im Falle von NPS keine bzw. nur wenige Daten zu Pharmakologie und Toxikologie existent, da bei Missbrauchsdrogen aus ethischen Gründen keine kontrollierten humanen Studien durchgeführt werden können [72]. Demzufolge sind Informationen zu Dosierung, Potenz, erwartenden Plasmakonzentrationsbereichen, Kinetik, Wirkungen und Intoxikationserscheinungen bei Überdosierung für solche Substanzen, insbesondere für Menschen, in den meisten Fällen nicht bekannt. Selbst bei erfolgreichem qualitativem Nachweis einer Substanz in einer Blutprobe und einer erfolgten Quantifizierung ist es daher schwierig, anhand der nachgewiesenen Substanzen auf eine Wirkung zu schließen oder aufgrund der gemessenen Plasmakonzentrationen eine Aussage über den Grad der Beeinflussung der Personen abzuschätzen. Zudem stellt ein begrenztes Zeitfenster zur Detektion nach Konsum solcher Substanzen eine Schwierigkeit dar. Beeinflusst wird dies durch die Eliminationshalbwertszeit von Stoffen, nach welcher die Konzentration eines Stoffes nur noch zur Hälfte vorliegt [19, 20]. Während der Nachweis eines Stoffes im Blut je nach Halbwertszeit oft nur Stunden bis maximal wenige Tage möglich ist, kann er im Urin zwar länger erfolgen, allerdings beeinflussen Halbwertszeiten dieses Detektionsfenster ebenfalls. Wie bereits in Kapitel 2.2.1 erwähnt, unterliegen vor allem lipophile Substanzen ausgeprägten Stoffwechselprozessen. Demzufolge wird die Muttersubstanz häufig nur in geringen Anteilen im Urin ausgeschieden. Die Kenntnis des Metabolisierungsprozesses und der daraus resultierenden Metaboliten ist daher unerlässlich, um eine Identifizierung von Targetanalyten zu ermöglichen, anhand derer ein vorangegangener Konsum von NPS nachgewiesen werden kann [73]. Darüber hinaus stellt die

Detektion von Metaboliten in Urinproben einen wichtigen Anhaltspunkt bei der Bewertung einer vorangegangenen Körperpassage eines Stoffes dar. Angesichts des Fehlens kontrollierter humaner Studien liegen im Falle von NPS hierzu jedoch nur sehr begrenzte Daten aus authentischen Urinproben vor. Folglich erweist sich der Nachweis eines NPS-Konsums in humanen Urinproben oft als Herausforderung.

Vor diesem Hintergrund sind aktuelle Beobachtungen zu synthetischen Cathinonen als bedenklich zu bewerten. Zum einen konnte laut EMCDDA ein eher neuer Trend zu einem zunehmend gebräuchlicheren Konsum dieser Substanzen wahrgenommen werden, was hinsichtlich der unbekannten gesundheitlichen Risiken ein Problem darstellt. Zum anderen konnte in den Jahren 2022 und 2023 festgestellt werden, dass synthetische Cathinone immer häufiger insbesondere MDMA-Produkten beigemischt wurden, was auf Fehldeklarationen und/oder Verunreinigungen schließen lässt. Hinzu kommt, dass Stoffe oder Zubereitungen, welche synthetische Cathinone enthalten, häufig ein optisch ähnliches Erscheinungsbild aufweisen wie bekannte Drogen, was das Risiko eines unbewussten Konsums solcher Substanzen zusätzlich erhöhen kann [5]. Zusammen genommen lassen diese Feststellungen vermuten, dass es in Zukunft zu einem weiteren Anstieg von Fällen kommen kann, in welche synthetische Cathinone involviert sind, was folglich zu einer Häufung der beschriebenen Problemstellungen in Bezug auf diese Substanzen führen kann. Um genauere Erkenntnisse zu synthetischen Cathinonen zu erlangen, sind daher forensische und klinische Untersuchungen von Bedeutung. [5]

## 2.5 ZIELSETZUNG

Aufgrund der unzureichenden Studienlage war das Ziel der hier durchgeführten Arbeit die Untersuchung unterschiedlicher Aspekte vier verschiedener neuartiger Pyrrolidinophenone im forensisch-toxikologischen Kontext. Dies beinhaltete den analytischen Nachweis in humanen Matrices inklusive der Evaluation von Plasmakonzentrationsbereichen sowie Untersuchungen von (Aus)Wirkungen auf Konsumierende und von Metabolisierungsprozessen (siehe Abbildung 4). Hierzu wurden im Rahmen von Routineuntersuchungen Blut- und Urinproben von Personen analysiert, welche zuvor gegen das Gesetz verstoßen haben, beispielsweise in Form von Trunkenheit im Verkehr, Delikten wie z. B. (gefährlicher) Körperverletzung oder bei Verstößen gegen das BtMG/NpSG.

Die humanen Blutproben wurden routinemäßig aufgearbeitet und vorrangig mittels LC-MS/MS untersucht. Die Evaluation der Plasmakonzentrationsbereiche von  $\alpha$ -PHP und  $\alpha$ -PiHP erfolgte, nachdem die Substanzen qualitativ und quantitativ bestimmt werden konnten. Anschließend wurden die Ergebnisse unter Berücksichtigung relevanter Falldaten wie unter anderem der psychophysischen Symptomatik, anonymisiert ausgewertet, mit dem Ziel, mögliche Beeinflussungen der Konsumierenden durch die Wirkungen der beiden Substanzen zu identifizieren. Durchführung, Ergebnisse sowie Interpretation hierzu sind im Detail Publikation I zu entnehmen.

Die humanen Urinproben wurden ebenfalls routinemäßig aufgearbeitet und mittels GC-MS

untersucht. Bei Verdacht auf einen MDPHP- oder MDPHP-P-Konsum erfolgte im Anschluss die anonymisierte Auswertung der Urinproben zur Identifizierung der beiden Substanzen, entsprechender Metabolite sowie der Targetanalyten. Durchführung, Ergebnisse sowie Interpretation hierzu finden sich detailliert in Publikation II.

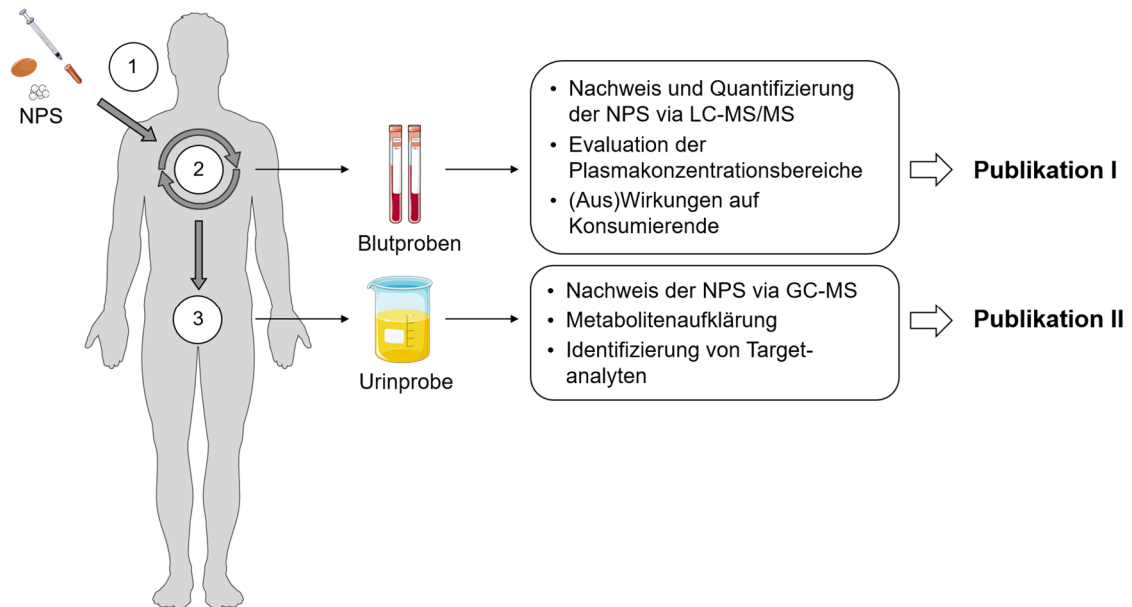


Abbildung 4: Schematische Darstellung der durchgeführten wissenschaftlichen Projekte sowie der daraus resultierenden Publikationen. Nach vorangegangenem NPS-Konsum (1) verteilt sich diese Substanz im Blut (2) um entsprechende Wirkungen zu erzielen und wird anschließend metabolisiert und über den Urin (3) ausgeschieden. Bei Begehung einer Straftat und anschließender Vorstellung im Institut für Rechtsmedizin wurden zugehörige Blut- und/oder Urinproben entnommen, welche dann routinemäßig mittels chromatographisch-massenspektrometrischer Methoden untersucht wurden und unter Hinzuziehung relevanter Falldaten analysiert und interpretiert wurden.

Für diese Abbildung wurden Grafiken von Server Medical Art (Servier: <https://smart.servier.com/>) verwendet und teilweise modifiziert. Lizenziert unter CC BY 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

### 3 ZUSAMMENFASSUNG

In den hier durchgeführten Studien wurden humane Blut- und Urinproben von Personen nach vorangegangem NPS-Konsum untersucht, um neue wissenschaftliche Erkenntnisse über NPS für forensisch-toxikologische Untersuchungen zu erlangen.

Publikation I hat sich mit dem Nachweis von  $\alpha$ -PHP und  $\alpha$ -PiHP sowie der Ermittlung von Plasmakonzentrationsbereichen in humanen Blutproben und anschließender Untersuchung der (Aus)Wirkungen dieser Substanzen auf Konsumierende beschäftigt. In insgesamt 33 Blutplasmaproben aus dem Zeitraum 2017 bis 2021 wurde  $\alpha$ -PHP nachgewiesen, während in 8 Blutplasmaproben aus dem Zeitraum 2020 bis 2023  $\alpha$ -PiHP festgestellt wurde. Die Detektion und Quantifizierung von  $\alpha$ -PHP wurde hierfür vorrangig mittels einer validierten LC-MS/MS-Methode durchgeführt, welche auch zur Detektion von  $\alpha$ -PiHP genutzt wurde, wohingegen die Quantifizierung von  $\alpha$ -PiHP über die  $\alpha$ -PHP-Kalibration erfolgte. Hierbei wurden für  $\alpha$ -PHP Plasmakonzentrationen von ca. 0,75  $\mu\text{g/L}$  bis 128  $\mu\text{g/L}$  gemessen mit einem Mittelwert von 23,2  $\mu\text{g/L}$  und einem Medianwert von 16,3  $\mu\text{g/L}$  und für  $\alpha$ -PiHP von 7,33  $\mu\text{g/L}$  bis 118  $\mu\text{g/L}$  mit einem Mittelwert von 44,7  $\mu\text{g/L}$  und einem Medianwert von 33,7  $\mu\text{g/L}$ . Bei der Betrachtung der psychophysischen Symptomatik war das gezeigte Zustandsbild der betroffenen Personen von aggressivem und/oder psychotischem bis zu lethargischem Verhalten sehr heterogen. Ein wesentliches Hindernis bei der Herleitung einer Plasmakonzentrations-Wirk-Beziehung war unter anderem ein ausgeprägtes polytoxikomanes Verhalten der Konsumierenden, was auch einen Beikonsum weiterer Pyrrolidinophenone, aber auch von Opiaten/Opioiden, Benzodiazepinen, Pregabalin oder Alkohol umfasste. Nach Evaluation der einzelnen Fälle ergaben sich in dieser Studie jedoch Hinweise darauf, dass ein Konsum von  $\alpha$ -PHP und  $\alpha$ -PiHP, vergleichbar mit anderen Pyrrolidinophenonen, zu aggressivem und psychotischem Verhalten führen kann. Dies zeigte sich auch darin, dass es sich bei einer Vielzahl der begangenen Straftaten um Gewaltverbrechen handelte.

Publikation II hat sich mit dem Nachweis von MDPHP und MDPHpP sowie der Identifizierung von Phase-I-Metaboliten in humanen Urinproben sowie von Targetanalyten befasst. Die Urinproben wurden hierzu mittels GC-MS nach vorangegangener Hydrolyse von Phase-II-Metaboliten und anschließender Acetylierung untersucht. Hierbei konnten ausgehend von Referenzspektren der Muttersubstanzen MDPHP und MDPHpP deren Phase-I-Metabolite identifiziert werden. Anhand dieser Spektren konnten folgende Stoffwechselprozesse von MDPHP und MDPHpP abgeleitet werden: Demethylierung der Methylendioxygruppe mit anschließender Methylierung, Oxidation des Pyrrolidinrings, *N,N*-bisdealkylierung des Pyrrolidinrings zum primären Amin, Hydroxylierung der Seitenkette sowie Kombinationen aus diesen Schritten. Darüber hinaus wurden für beide Substanzen in Abhängigkeit von den Auftretenshäufigkeiten Targetanalyten für die entsprechende Untersuchungsmethode bestimmt. Bei diesen handelt es sich neben den Muttersubstanzen um Demethylenyl-methyl-MDPH(p)P, Oxo-MDPH(p)P, Demethylenyl-methyl-oxo-MDPH(p)P und Demethylenyl-methyl-*N,N*-bisdealkyl-MDPH(p)P. Dementsprechend kann

durch Extraktion der Ionen, welche den Basispeak in den Massenspektren dieser Analyten repräsentieren, ein typisches Chromatogramm nach MDPH(p)P-Konsum dargestellt werden. Targetionen für MDPHP sind demnach  $m/z$  140, 154 und 86 und für MDPHPpP  $m/z$  154, 168 und 100. Dies ermöglicht einen zuverlässigen Nachweis eines vorangegangenen Konsums beider Substanzen in Urinproben.

## 4 ABSTRACT (ENGLISH)

In this dissertation, human blood and urine samples of individuals, who had previously consumed NPS, were analyzed to obtain new scientific findings for forensic toxicological investigations.

Research paper I dealt with the detection of  $\alpha$ -PHP and  $\alpha$ -PiHP, the elucidation of plasma concentrations in human blood plasma samples, and a subsequent investigation of their effects on consumers. In 33 blood plasma samples between 2017 and 2021,  $\alpha$ -PHP was identified, whereas in 8 blood plasma samples between 2020 and 2023,  $\alpha$ -PiHP was detected. The detection and quantification of  $\alpha$ -PHP were primarily performed by a validated LC-MS/MS method. This method was also used for the  $\alpha$ -PiHP detection, but the quantification was performed via the  $\alpha$ -PHP calibration curve. The measured plasma concentrations for  $\alpha$ -PHP ranged from ca. 0.75  $\mu\text{g/L}$  to 128  $\mu\text{g/L}$ , with a mean of 23.2  $\mu\text{g/L}$  and a median of 16.3  $\mu\text{g/L}$  and for  $\alpha$ -PiHP from 7.33  $\mu\text{g/L}$  to 118  $\mu\text{g/L}$ , with a mean of 44.7  $\mu\text{g/L}$  and a median of 33.7  $\mu\text{g/L}$ . In assessing the psychophysical symptomatology, the shown clinical behavior was quite heterogeneous and involved aggressive and/or psychotic behavior as well as lethargic behavior. A substantial hindrance in establishing a correlation between plasma concentrations and effects was, amongst others, a distinctive poly-drug use of the individuals. This also included the consumption of other pyrrolidinophenones as well as opiates/opioids, benzodiazepines, pregabalin, or alcohol. However, after evaluating the individual cases, this study suggested that consumption of  $\alpha$ -PHP and  $\alpha$ -PiHP, similar to other pyrrolidinophenones, can lead to aggressive and psychotic behavior. This was further supported by the observation that the committed offenses were often violent crimes.

Research paper II dealt with the detection of MDPHP and MDPHpP and the investigation of their phase-I-metabolites in human urine samples as well as the identification of target analytes. After hydrolysis of phase-II-metabolites and subsequent acetylation, the urine samples were analyzed using GC-MS. Based on reference spectra of MDPHP and MDPHpP, their Phase I metabolites could be identified in this context. Derived from these spectra, the following metabolism steps could be elucidated: demethylenation of the methylenedioxy moiety with a following methylation, oxidation of the pyrrolidine ring, *N,N*-bisdealkylation of the pyrrolidine ring to its primary amine, hydroxylation of the side chain and combinations of these. Depending on their occurrence frequency, target analytes for both substances for the used analytical method were suggested. These include, in addition to the mother substances, demethylenyl-methyl-MDPH(p)P, oxo-MDPH(p)P, demethylenyl-methyl-oxo-MDPH(p)P, and demethylenyl-methyl-*N,N*-bisdealkyl-MDPH(p)P. Accordingly, by extracting the ions that represent the base peak in the mass spectra of these analytes, a typical chromatogram can be generated after MDPH(p)P consumption. Therefore, the target ions for MDPHP are *m/z* 140, 154, and 86, and for MDPHpP, *m/z* 154, 168, and 100. This enables a reliable detection of prior consumption of both substances in urine samples.

## 5 PAPER I

**$\alpha$ -Pyrrolidinohexanophenone ( $\alpha$ -PHP) vs.  $\alpha$ -pyrrolidinoisohexanophenone ( $\alpha$ -PiHP): A toxicological investigation about plasma concentrations and behavior in forensic routine cases.**

Brueckner I., Welter-Luedeke J., Zangl A., Graw M., Paul L.D.

Journal of Analytical Toxicology, 2024, 48(5): 299-313.

DOI: 10.1093/jat/bkae011

## 6 PAPER II

**Toxicological detection of the new psychoactive substances MDPHP and MDPHPpP in human urine samples by elucidation of their urinary metabolites using gas chromatography–mass spectrometry.**

Brueckner I., Welter-Luedeke J., Gutjahr-Ruhland C., Graw M., Paul L.D.

Journal of Analytical Toxicology, 2025.

DOI: 10.1093/jat/bkaf026

## 7 LITERATURVERZEICHNIS

1. European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction, New psychoactive substances: health and social responses. 2021 [zitiert am 25.04.2025]; Verfügbar unter: [https://www.euda.europa.eu/publications/mini-guides/new-psychoactive-substances-health-and-social-responses\\_en](https://www.euda.europa.eu/publications/mini-guides/new-psychoactive-substances-health-and-social-responses_en).
2. Bundesministerium für Gesundheit, Neue psychoaktive Stoffe (NPS). [zitiert am 25.04.2025]; Verfügbar unter: <https://www.bundesgesundheitsministerium.de/service/begriffe-von-a-z/n/nps>.
3. European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction, New psychoactive substances: 25 years of early warning and response in Europe. An update from the EU Early Warning System (June 2022). Publications Office of the European Union, Luxembourg, 2022.
4. Bundesministerium für Gesundheit, Das Neue-psychoaktive-Stoffe-Gesetz (NpSG). [zitiert am 25.04.2025]; Verfügbar unter: <https://www.bundesgesundheitsministerium.de/service/begriffe-von-a-z/n/npsg>.
5. European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction, European Drug Report 2024: Trends and Developments. 2024 [zitiert am 25.04.2025]; Verfügbar unter: [https://www.euda.europa.eu/publications/european-drug-report/2024\\_en](https://www.euda.europa.eu/publications/european-drug-report/2024_en).
6. United Nations Office on Drugs and Crime (UNODC), World Drug Report 2024. United Nations publication, 2024. [zitiert am 25.04.2025]; Verfügbar unter: <https://www.unodc.org/unodc/en/data-and-analysis/world-drug-report-2024.html>
7. United Nations Office on Drugs and Crime (UNODC), World Drug Report 2023. United Nations publication, 2023. [zitiert am 25.04.2025]; Verfügbar unter: <https://www.unodc.org/unodc/en/data-and-analysis/world-drug-report-2023.html>
8. Reuter P., Pardo B., Can new psychoactive substances be regulated effectively? An assessment of the British Psychoactive Substances Bill. *Addiction*, 2017, 112(1): 25-31.
9. Kalix P., Braenden O., Pharmacological aspects of the chewing of khat leaves. *Pharmacol Rev*, 1985, 37(2): 149-64.
10. Widler P., Mathys K., Brenneisen R., Kalix P., Fisch H.U., Pharmacodynamics and pharmacokinetics of khat: a controlled study. *Clin Pharmacol Ther*, 1994, 55(5): 556-62.
11. Glennon R.A., Young R., Neurobiology of 3,4-methylenedioxypyrovalerone (MDPV) and  $\alpha$ -pyrrolidinovalerophenone ( $\alpha$ -PVP). *Brain Res Bull*, 2016, 126(Pt 1): 111-126.
12. Brandt S.D., King L.A., Evans-Brown M., The new drug phenomenon. *Drug Test Anal*, 2014, 6(7-8): 587-97.
13. Cunningham G.L., Diethylpropion in the treatment of obesity. *J Coll Gen Pract*, 1963, 6(2): 347-9.
14. Gardos G., Cole J.O., Evaluation of pyrovalerone in chronically fatigued volunteers. *Curr Ther Res Clin Exp*, 1971, 13(10): 631-5.
15. Fachinformation Elontril 150 mg/300 mg Tabletten mit veränderter Wirkstofffreisetzung, Stand der Information: April 2024.
16. Banks M.L., Worst T.J., Rusyniak D.E., Sprague J.E., Synthetic Cathinones and amphetamine analogues: What's the rave about? *J Emerg Med*, 2014, 46(5): 632-42.
17. Prosser J.M., Nelson L.S., The toxicology of bath salts: a review of synthetic cathinones. *J Med Toxicol*, 2012, 8(1): 33-42.
18. Giné C.V., Espinosa I.F., Vilamala M.V., New psychoactive substances as adulterants of controlled drugs. A worrying phenomenon? *Drug Test Anal*, 2014, 6(7-8): 819-24.
19. Geisslinger G., Menzel S., Gudermann T., Hinz B., Ruth P., Mutschler E., Mutschler Arzneimittelwirkungen: Pharmakologie - Klinische Pharmakologie - Toxikologie. 11. Auflage, 2020, Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft.

20. Freissmuth M., Offermanns S., Böhm S., *Pharmakologie und Toxikologie: von den molekularen Grundlagen zur Pharmakotherapie*. 3. Auflage, 2020, Berlin: Springer.
21. Riley A.L., Nelson K.H., To P., López-Arnau R., Xu P., Wang D., Wang Y., Shen H.W., Kuhn D.M., Angoa-Perez M., Anneken J.H., Muskiewicz D., Hall F.S., Abuse potential and toxicity of the synthetic cathinones (i.e., "Bath salts"). *Neurosci Biobehav Rev*, 2020, 110: 150-173.
22. Assi S., Gulyamova N., Kneller P., Osselton D., The effects and toxicity of cathinones from the users' perspectives: A qualitative study. *Hum Psychopharmacol*, 2017, 32(3).
23. Soares J., Costa V.M., Bastos M.L., Carvalho F., Capela J.P., An updated review on synthetic cathinones. *Arch Toxicol*, 2021, 95(9): 2895-2940.
24. Simmler L.D., Buser T.A., Donzelli M., Schramm Y., Dieu L.H., Huwyler J., Chaboz S., Hoener M.C., Liechti M.E., Pharmacological characterization of designer cathinones in vitro. *Br J Pharmacol*, 2013, 168(2): 458-70.
25. Eshleman A.J., Wolfrum K.M., Hatfield M.G., Johnson R.A., Murphy K.V., Janowsky A., Substituted methcathinones differ in transporter and receptor interactions. *Biochem Pharmacol*, 2013, 85(12): 1803-15.
26. Baumann M.H., Walters H.M., Niello M., Sitte H.H., *Neuropharmacology of Synthetic Cathinones*. *Handb Exp Pharmacol*, 2018, 252: 113-142.
27. Marusich J.A., Antonazzo K.R., Wiley J.L., Blough B.E., Partilla J.S., Baumann M.H., Pharmacology of novel synthetic stimulants structurally related to the "bath salts" constituent 3,4-methylenedioxypyrovalerone (MDPV). *Neuropharmacology*, 2014, 87: 206-13.
28. Baumann M.H., Partilla J.S., Lehner K.R., Thorndike E.B., Hoffman A.F., Holy M., Rothman R.B., Goldberg S.R., Lupica C.R., Sitte H.H., Brandt S.D., Tella S.R., Cozzi N.V., Schindler C.W., Powerful cocaine-like actions of 3,4-methylenedioxypyrovalerone (MDPV), a principal constituent of psychoactive 'bath salts' products. *Neuropsychopharmacology*, 2013, 38(4): 552-62.
29. Eshleman A.J., Wolfrum K.M., Reed J.F., Kim S.O., Swanson T., Johnson R.A., Janowsky A., Structure-Activity Relationships of Substituted Cathinones, with Transporter Binding, Uptake, and Release. *J Pharmacol Exp Ther*, 2017, 360(1): 33-47.
30. Baumann M.H., Ayestas M.A., Jr., Partilla J.S., Sink J.R., Shulgin A.T., Daley P.F., Brandt S.D., Rothman R.B., Ruoho A.E., Cozzi N.V., The designer methcathinone analogs, mephedrone and methylone, are substrates for monoamine transporters in brain tissue. *Neuropsychopharmacology*, 2012, 37(5): 1192-203.
31. Beck O., Bäckberg M., Signell P., Helander A., Intoxications in the STRIDA project involving a panorama of psychostimulant pyrovalerone derivatives, MDPV copycats. *Clin Toxicol (Phila)*, 2018, 56(4): 256-263.
32. Wood D.M., Davies S., Greene S.L., Button J., Holt D.W., Ramsey J., Dargan P.I., Case series of individuals with analytically confirmed acute mephedrone toxicity. *Clin Toxicol (Phila)*, 2010, 48(9): 924-7.
33. Spiller H.A., Ryan M.L., Weston R.G., Jansen J., Clinical experience with and analytical confirmation of "bath salts" and "legal highs" (synthetic cathinones) in the United States. *Clin Toxicol (Phila)*, 2011, 49(6): 499-505.
34. Adamowicz P., Hydzik P., Fetal death associated with the use of 3,4-MDPHP and  $\alpha$ -PHP. *Clin Toxicol (Phila)*, 2019, 57(2): 112-116.
35. Adamowicz P., Jurczyk A., Gil D., Szustowski S., A case of intoxication with a new cathinone derivative  $\alpha$ -PiHP - A presentation of concentrations in biological specimens. *Leg Med (Tokyo)*, 2020, 42: 101626.
36. Pieprzyca E., Skowronek R., Czekaj P., Toxicological Analysis of Intoxications with Synthetic Cathinones. *J Anal Toxicol*, 2022, 46(7): 705-711.

37. Di Candia D., Boracchi M., Ciprandi B., Giordano G., Zoja R., A unique case of death by MDPHP with no other co-ingestion: a forensic toxicology case. *Int J Legal Med*, 2022, 136(5): 1291-1296.
38. Rojek S., Maciów-Głąb M., Romańczuk A., Kula K., Synowiec K., Kłys M., New psychoactive substances - 96 cases of deaths related to their use based on the material originating from forensic toxicological practice. *Forensic Sci Int*, 2024, 364: 112204.
39. Toennes S.W., Kauert G.F., Excretion and detection of cathinone, cathine, and phenylpropanolamine in urine after kath chewing. *Clin Chem*, 2002, 48(10): 1715-9.
40. Meyer M.R., Wilhelm J., Peters F.T., Maurer H.H., Beta-keto amphetamines: studies on the metabolism of the designer drug mephedrone and toxicological detection of mephedrone, butylone, and methylone in urine using gas chromatography-mass spectrometry. *Anal Bioanal Chem*, 2010, 397(3): 1225-33.
41. Kamata H.T., Shima N., Zaitzu K., Kamata T., Miki A., Nishikawa M., Katagi M., Tsuchihashi H., Metabolism of the recently encountered designer drug, methylone, in humans and rats. *Xenobiotica*, 2006, 36(8): 709-23.
42. Zaitzu K., Katagi M., Kamata H.T., Kamata T., Shima N., Miki A., Tsuchihashi H., Mori Y., Determination of the metabolites of the new designer drugs bk-MBDB and bk-MDEA in human urine. *Forensic Sci Int*, 2009, 188(1-3): 131-9.
43. Mueller D.M., Rentsch K.M., Generation of metabolites by an automated online metabolism method using human liver microsomes with subsequent identification by LC-MS(n), and metabolism of 11 cathinones. *Anal Bioanal Chem*, 2012, 402(6): 2141-51.
44. Pozo Ó J., Ibáñez M., Sancho J.V., Lahoz-Beneytez J., Farré M., Papaseit E., de la Torre R., Hernández F., Mass spectrometric evaluation of mephedrone in vivo human metabolism: identification of phase I and phase II metabolites, including a novel succinyl conjugate. *Drug Metab Dispos*, 2015, 43(2): 248-57.
45. Persson M., Vikingsson S., Kronstrand R., Green H., Characterization of neurotransmitter inhibition for seven cathinones by a proprietary fluorescent dye method. *Drug Test Anal*, 2024, 16(4): 339-347.
46. Kolanos R., Sakloth F., Jain A.D., Partilla J.S., Baumann M.H., Glennon R.A., Structural Modification of the Designer Stimulant  $\alpha$ -Pyrrolidinovalerophenone ( $\alpha$ -PVP) Influences Potency at Dopamine Transporters. *ACS Chem Neurosci*, 2015, 6(10): 1726-31.
47. Gannon B.M., Galindo K.I., Mesmin M.P., Sulima A., Rice K.C., Collins G.T., Relative reinforcing effects of second-generation synthetic cathinones: Acquisition of self-administration and fixed ratio dose-response curves in rats. *Neuropharmacology*, 2018, 134(Pt A): 28-35.
48. Wee S., Anderson K.G., Baumann M.H., Rothman R.B., Blough B.E., Woolverton W.L., Relationship between the serotonergic activity and reinforcing effects of a series of amphetamine analogs. *J Pharmacol Exp Ther*, 2005, 313(2): 848-54.
49. Diestelmann M., Zangl A., Herrle I., Koch E., Graw M., Paul L.D., MDPV in forensic routine cases: Psychotic and aggressive behavior in relation to plasma concentrations. *Forensic Sci Int*, 2018, 283: 72-84.
50. Paul L.D., Welter-Luedeke J., Penzel S., Zangl A., Graw M., Alpha-Pyrrolidinopentiothiophenone ( $\alpha$ -PVT): A forensic case study including plasma concentrations. *Forensic Sci Int*, 2021, 321: 110721.
51. Grapp M., Kaufmann C., Schwelm H.M., Neukamm M.A., Blaschke S., Eidizadeh A., Intoxication cases associated with the novel designer drug 3',4'-methylenedioxy- $\alpha$ -pyrrolidinohexanophenone and studies on its human metabolism using high-resolution mass spectrometry. *Drug Test Anal*, 2020, 12(9): 1320-1335.
52. Daswani R.R., Choles C.M., Kim D.D., Barr A.M., A systematic review and meta-analysis of synthetic cathinone use and psychosis. *Psychopharmacology (Berl)*, 2024.
53. Arillotta D., Totti A., Dimitrova A., Croce E.B., Di Milia M.G., Gambassi F., Gualco B., Pieraccini G., Mannaioni G., Vaiano F., Clinical manifestations and analytical reports for MDPHP acute intoxication cases. *J Pharm Biomed Anal*, 2024, 241: 115974.

54. Bassi M., et al., The synthetic cathinones MDPHP and MDPV: Comparison of the acute effects in mice, in silico ADMET profiles and clinical reports. *Neurotoxicology*, 2024, 103: 230-255.
55. Springer D., Fritschi G., Maurer H.H., Metabolism of the new designer drug alpha-pyrrolidinopropiophenone (PPP) and the toxicological detection of PPP and 4'-methyl-alpha-pyrrolidinopropiophenone (MPPP) studied in rat urine using gas chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2003, 796(2): 253-66.
56. Springer D., Fritschi G., Maurer H.H., Metabolism and toxicological detection of the new designer drug 3',4'-methylenedioxy-alpha-pyrrolidinopropiophenone studied in urine using gas chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2003, 793(2): 377-88.
57. Springer D., Peters F.T., Fritschi G., Maurer H.H., New designer drug 4'-methyl-alpha-pyrrolidinohexanophenone: studies on its metabolism and toxicological detection in urine using gas chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2003, 789(1): 79-91.
58. Meyer M.R., Du P., Schuster F., Maurer H.H., Studies on the metabolism of the  $\alpha$ -pyrrolidinophenone designer drug methylenedioxy-pyrovalerone (MDPV) in rat and human urine and human liver microsomes using GC-MS and LC-high-resolution MS and its detectability in urine by GC-MS. *J Mass Spectrom*, 2010, 45(12): 1426-42.
59. Meyer M.R., Mauer S., Meyer G.M., Dinger J., Klein B., Westphal F., Maurer H.H., The in vivo and in vitro metabolism and the detectability in urine of 3',4'-methylenedioxy-alpha-pyrrolidinobutyrophenone (MDPBP), a new pyrrolidinophenone-type designer drug, studied by GC-MS and LC-MS(n.). *Drug Test Anal*, 2014, 6(7-8): 746-56.
60. Peters F.T., Meyer M.R., Fritschi G., Maurer H.H., Studies on the metabolism and toxicological detection of the new designer drug 4'-methyl-alpha-pyrrolidinobutyrophenone (MPBP) in rat urine using gas chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2005, 824(1-2): 81-91.
61. Sauer C., Peters F.T., Haas C., Meyer M.R., Fritschi G., Maurer H.H., New designer drug alpha-pyrrolidinovalerophenone (PVP): studies on its metabolism and toxicological detection in rat urine using gas chromatographic/mass spectrometric techniques. *J Mass Spectrom*, 2009, 44(6): 952-64.
62. European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction, EMCDDA–Europol 2014 Annual Report on the implementation of Council Decision 2005/387/JHA, Implementation reports, Publications Office of the European Union, Luxembourg, 2015.
63. Bundesgesetzblatt Jahrgang 2021 Teil I Nr. 2, 21. Verordnung zur Änderung von Anlagen des Betäubungsmittelgesetzes. 2021, Bundesanzeiger Verlag. S. 70.
64. European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction, EMCDDA–Europol 2016 Annual Report on the implementation of Council Decision 2005/387/JHA, Implementation reports, Publications Office of the European Union, Luxembourg, 2017.
65. Bundesgesetzblatt Jahrgang 2023 Teil I Nr. 143, 23. Verordnung zur Änderung von Anlagen des Betäubungsmittelgesetzes. 2023, Bundesanzeiger Verlag. S. 1-2.
66. European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction, New psychoactive substances: global markets, global threats and the COVID-19 pandemic. An update from the EU Early Warning System (December 2020). Publications Office of the European Union, Luxembourg, 2020.
67. Dettmeyer R., Veit F., Verhoff M., Rechtsmedizin. 3. Auflage, 2019, Berlin: Springer.
68. Wagmann L., Maurer H.H., Bioanalytical Methods for New Psychoactive Substances. *Handb Exp Pharmacol*, 2018, 252: 413-439.
69. Gey M., Instrumentelle Analytik und Bioanalytik: Biosubstanzen, Trennmethode, Strukturanalytik, Applikationen. 4. Auflage, 2021, Berlin: Springer Spektrum.
70. Paul L.D., Mußhoff F., Aebi B., Auwärter V., Richtlinie der GTFCh zur Qualitätssicherung bei forensisch-toxikologischen Untersuchungen. *Toxichem Krimtech* 2009, 76: 142-176.

71. Favretto D., Pascali J.P., Tagliaro F., New challenges and innovation in forensic toxicology: focus on the "New Psychoactive Substances". J Chromatogr A, 2013, 1287: 84-95.
72. Welter-Luedeke J., Maurer H.H., Relevance of published blood concentrations of new psychoactive substance for rational case interpretation. WIREs Forensic Science, 2019, 1(1): e1174.
73. Peters F.T., Recent developments in urinalysis of metabolites of new psychoactive substances using LC-MS. Bioanalysis, 2014, 6(15): 2083-107.

## 8 DANKSAGUNG

An erster Stelle möchte ich meiner Betreuungskommission bestehend aus Herrn Prof. Dr. Graw, Frau Prof. Dr. Sinicina und Herrn Prof. Dr. Gudermann dafür danken, dass sie sich meiner angenommen haben und meine Arbeit über die Jahre mit Geduld begleitet haben. Mein Dank gilt hierbei insbesondere meinem Erstbetreuer Herrn Prof. Dr. Graw für die Supervision, die ausdauernde Unterstützung und für das Ermöglichen dieser Promotion.

Des Weiteren danke ich Frau Dr. Liane Paul für die Möglichkeit, die Forschungsarbeit in der Toxikologie durchführen zu können. Darüber hinaus bedanke ich mich für die begleitende Supervision sowie für den fachlichen Austausch während dieser Zeit.

Ich möchte mich ausdrücklich auch bei Frau Dr. Jessica Welter-Lüdeke bedanken, die mir während meiner gesamten Promotionszeit mit Rat und Tat zur Seite stand. Mit deiner kontinuierlichen Unterstützung, deinen wertvollen Impulsen und deiner immer offenen Tür warst du mir eine unverzichtbare Ansprechperson!

Es ist mir auch ein großes Anliegen, mich bei Frau Dr. Anna Zangl, Claudia Gutjahr-Ruhland und Eva Koch zu bedanken. Ihr habt mich immer unterstützt und hattet immer ein offenes Ohr für mich, meinen aufrichtigen Dank dafür!

Ganz besonders möchte ich mich auch bei meiner Lieblingsbüronachbarin Verena bedanken. Unsere beruflichen Wege haben sich zwar nicht lange gekreuzt, aber zum Glück wenigstens so lange, bis eine Freundschaft entstehen konnte, die auch der derzeitigen Distanz standhält. Danke für deinen Beistand in allen Belangen und das Leihen der größten Nervenzelle!

Mein ganz besonderer Dank gilt meiner Familie! Meiner Mama und Armin, meinem Papa und Sandra, meiner Oma und meinem Opa habe ich alles zu verdanken, was ich bis jetzt erreicht habe. Ein riesiges Dankeschön geht dabei vor allem auch an meine Schwester Katrin und meinen brother-in-law Michael für diverse proofreadings, aber vor allem auch für die mentale Stütze und die Bereitschaft, euch immer sich-im-Kreis-drehende Gespräche anzuhören!

Zuletzt gilt mein allerherzlichster Dank meinem Mann Armin, für unermüdliches Zuhören, unzählige Motivationsreden und für die stetige Geduld, alles mitzutragen!



LUDWIG-  
MAXIMILIANS-  
UNIVERSITÄT  
MÜNCHEN

Dekanat Medizinische Fakultät  
Promotionsbüro



## Erklärung zur Übereinstimmung der gebundenen Ausgabe der Dissertation mit der elektronischen Fassung

Brückner, Isabel

Name, Vorname

Hiermit erkläre ich, dass die elektronische Version der eingereichten Dissertation mit dem Titel:

**Nachweis und quantitative Bestimmung neuer psychoaktiver Stoffe (NPS) in humanen  
Biomatrices wie Blut und Urin mittels Massenspektrometrie einschließlich  
Metabolitenauflärung im Urin und Einordnung im forensisch-toxikologischen Kontext**

in Inhalt und Formatierung mit den gedruckten und gebundenen Exemplaren übereinstimmt.

München, 17.10.2025

Ort, Datum

Isabel Brückner

Unterschrift Doktorandin