

Jakob Kristinnson, Þorkell Jóhannesson, Geirprúður Sighvatsdóttir

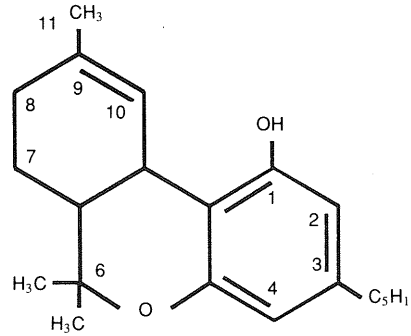
RANNSÓKNIR Á KANNABISSÝNUM Í RANNSÓKNASTOFU Í LYFJAFRÆÐI 1969-1988

INNGANGUR

Kannabisplantan (*Cannabis sativa*) hefur lengi verið notuð bæði til lækninga og til vímu. Hún er upprunnin í Mið-Asíu að því talið er og hefur breiðst þaðan út víða um heim. Elstu heimildir um kannabisnotkun eru frá Kína, um það bil 3000 árum fyrir Krist. Þar var kannabis fyrst og fremst notað sem lyf. Notkun þess til vímu má rekja til Indlands um það bil 2000 árum fyrir Krist. Evrópumenn og aðrar vestrænar þjóðir kynntust kannabisneyslu ekki að ráði fyrr en í lok 18. aldar. Var neysla kannabis þó í upphafi lítil og einkum bundin við fámenna hópa listamanna. Hélt það allt fram yfir miðja þessa öld. Á árunum 1967 og 1968 varð kannabis svo sem hendi væri veifað eftirsóttur vímugjafi og einkum meðal ungs fólks. Er notkun þess nú svo útbreidd, að næst á eftir kaffi, tóbaki og áfengi er kannabis væntanlega mest notað allra efna með verkun á miðtaugakerfið.

Af fjölmörgum efnum, sem einangruð hafa verið úr kannabisplöntunni, er aðeins eitt, delta-9-trans-tetrahydrokannabinól, talið valda vímu (mynd 1). Það telst til þess flokks efna, sem nefndur er kannabínóíðar. Venjulega er það nefnt *tetrahydrokannabinól* (skammstafað THC). Verður svo einnig gert í þessum texta. Af öðrum kannabínóíðum, sem koma fyrir í kannabisplöntunni í einhverjum mæli, má nefna kannabínól (CBN) og kannabídíól (CBD).

Hugtakið kannabis er nú yfirleitt látið taka til hvers hluta plöntunnar *Cannabis sativa*, er hefur kannabínóíða að geyma, þar á meðal



Mynd 1. *Tetrahydrokannabinól (delta-9)*. Forstig. *tetrahydrokannabinóls í kannabisplöntunni eru tetrahydrokannabinól-2-karboxýlsýra og tetrahydrokannabinól-4-karboxýlsýra. Þær má leiða af tetrahydrokannabinóli með því að setja karboxýlsýruhóp (-COOH) í stöðu 2 eða 4. Tetrahydrokannabinól og aðrir kannabínóíðar eru eins og sjá má fenólafbrigði. Efnasambönd þessi innihalda ekki köfnunarefni og eru því ekki alkalóíðar (plöntubasar) líkt og fjölmörg náttúruæfni, sem hafa veruleg áhrif á starfsemi miðtaugakerfisins og notuð eru sem lyf eða með öðrum hætti.*

tetrahydrokannabinól. Enn fremur er hugtakið látið ná til hvernar þeirrar afurðar plöntunnar, sem inniheldur tetrahydrokannabinól.

Kannabis má skipta í nokkra flokka. Eru þeir helstu *maríhúana*, *hass* eða *hassis* og *hassolía*. Maríhúana samanstendur af þurrkuðum blómsprotum kannabisplantna og af laufi þeirra að meira eða minna leyti. Maríhúana er því tiltölulega lítt unnin afurð. Hass er hins vegar mulin, sigtuð, pressuð og jafnvel hreinsuð kvoða eða harpax úr kannabisplöntum. Inniheldur það að jafnaði meira af kannabínóíðum en maríhúana. Skil milli hass og maríhúana eru þó stundum óljós, bæði hvað varðar útlit og magn kannabínóíða. Mest unna afurðin er svo *hassolía*. Er hún framleidd með því að láta lífræn leysiefni draga kannabínóíða úr hassi

Frá Rannsóknastofu í lyfjafræði, Háskóla Íslands.

Fyrirspurnir, bréfaskipti: Jacob Kristinnson

* Frekari upplýsingar um kannabis, sögu þess og verkanir er að finna í Lyfjafræði miðtaugakerfisins eftir prófessor Þorkel Jóhannesson. Sjá nánar heimild nr. 5 í heimildaskrá.

eða kannabisplöntum. Leysiefnið er síðan látið gufa upp. Við það fæst grænleit þykkfljóttandi kvoða, sem inniheldur oft mikið magn kannabínólíða*.

Frá árinu 1969 hefur rannsóknastofa í lyfjafræði, Háskóla Íslands, annast allar rannsóknir á ávana- og fikniefnasýnum fyrir lögreglu- og dómsyfirvöld í landinu (1). Í árslok 1988 voru sýni þessi orðin 1399. Ef undan er skilið áfengi, voru flest þessara sýna kannabis. Verður hér á eftir greint frá niðurstöðum rannsókna á kannabissýnum á þessu tímabili og þeim rannsóknaraðferðum, sem notaðar voru.

EFNIVIÐUR

Á tímabilinu 1969-1988 bárust til rannsóknar samtals 404 sýni, er talin voru kannabis. Mátti flokka þau eftir útliti í köggla eða duft (290 sýni), plöntuhluta (68 sýni) og olíu eða kvoðu (18 sýni). Auk þess voru 28 sýni, sem ekki urðu þannig flokkuð, svo sem kannabisfræ og ýmsir hlutir tengdir kannabisneyslu (reykjarpípur o.fl.). Langflest sýnanna komu frá embætti lögreglustjórans í Reykjavík.

AÐFERÐIR

Fram til ársins 1973 voru kannabissýni rannsökuð með smásjárskoðun og litarprófi (fúrfúralprófi) eins og áður hefur verið lýst (2). Var þá bætt við gasgreiningu á súlu til greiningar á tetrahýdrókannabínólí, kannabínólí og kannabídíólí. Um svipað leyti var fúrfúralprófið lagt niður, en annað litarpróf með Fast Blue B salti (3,3 dímetoxí-dífenýl-4,4-bisdíazóníumklóríð) (2) leysti það af hólmi. Í árslok 1976 var síðan farið að ákvarða magn tetrahýdrókannabínólís í sýnunum með gasgreiningu á súlu. Notuð var aðferð, sem lýst var af Fairbairn og Liebmán árið 1972 (3). Hefur hún tekið allmiklum breytingum í okkar höndum frá því fyrst var farið að nota hana og þykir því rétt, að lýsa henni nánar hér á eftir. Að lokum var árið 1983 bætt við blettagreiningu á þynnu (4) til frekari sannaðslis á framangreindum kannabínólíðum. Eru þessar þrjár aðferðir, *smásjárskoðun*, *blettagreining á þynnu* og *gasgreining* nú notaðar til greiningar á

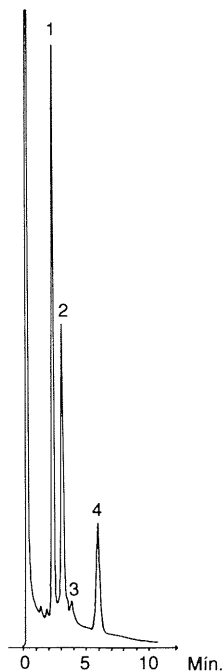
kannabisi í rannsóknastofunni. Litarprófið (með Fast Blue B salti) er ekki lengur notað sérstaklega, en hefur verið fellt inn í blettagreininguna.

Magnsákvörðun á tetrahýdrókannabínólí með gasgreiningu á súlu. Maríhúanasýni og hörð og myndin hasssýni voru mulin fint í mortéli fyrir úrhlutun. Síðan voru vegin 100 mg af duftinu (50 mg fyrir hasssýni) og sett í 12 ml skilvinduglas með skrúftappa. Bætt var út í 10 ml af klóróformi og glasið látið velta í veltivél (ca. 50 snún./mín.) í 30 mínútur. Blandan var skilin í skilvindu og klóróformhlutanum hellt í 25 ml mælikolbu. Úrhlutunin var endurtekin öðru sinni með sama magni af klóróformi og klóróformhlutanum hellt í mælikolbuna eins og áður. Að lokum var kolban fyllt að mælistrikinu með klóróformi. Hassólía og hasssýni, sem voru of vaxkennd til þess að þau yrðu mulin í mortéli, sbr. að framan, voru í staðinn leyst upp í klóróformi. Klóróformlausnin var því næst þynnt þar til hún innihélt 2 mg hass/ml eða 1 mg hassólíu/ml.

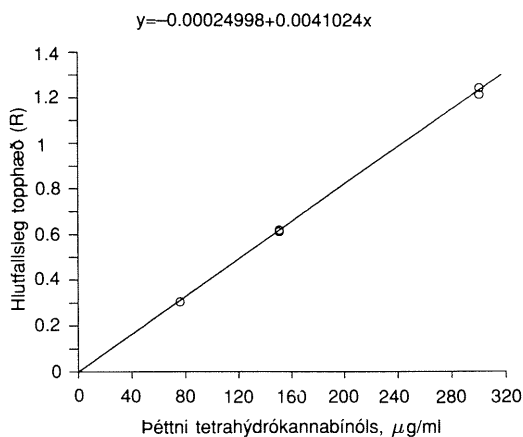
Í oddmjó skilvinduglös voru mældir nákvæmlega 0,5 ml af klóróformlausnum sýnanna. Þeir voru síðan inngufaðir í glösunum við 40-50° í köfnunarefnisstraumi. Leif eftir inngufun var leyst í nákvæmlega 0,5 ml af etanólí (Merck 983), sem innihélt 0,5 mg/ml af metýltestósteróni. Að lokum var svo 1 μ l af þessari lausn sprautað í gasgreininn. Í gasgreininn var einnig sprautað samanburðarlausnum, sem innihéldu þekkt magn af tetrahýdrókannabínólí (75, 150 og 300 μ g/ml) og metýltestósteróni. Metýltestósterón var hér notað sem viðmiðunarefni (internal standard) til þess að auka nákvæmni aðferðarinnar.

Gasgreinirinn, sem notaður var til mælinganna, er af gerðinni Beckman GC-45 með logaskynjara (flame ionization detector). Súlan í greininum var 1,2 m að lengd og 2 mm að innanmáli, fyllt með 3% OV-17 á Gas Chrom Q 100/120. Hitastig í súlu var haft 265°, en 300° í önd greinisins og logaskynjara. Burðargas var köfnunarefni (Alfax N52). Var flæði þess venjulega haft 25 ml/mín.

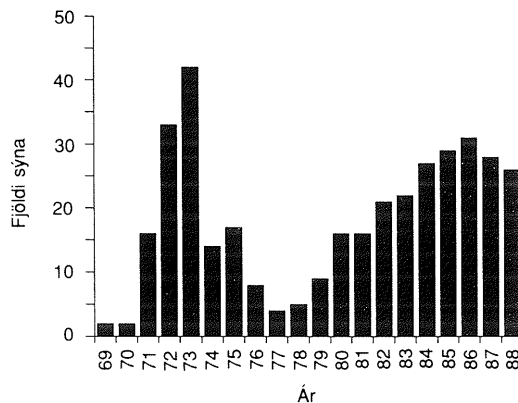
Dæmigerður gasgreiningarferill fyrir kannabissýni er sýndur á mynd 2. Til þess



Mynd 2. Gasgreiningarferill fyrir kannabissýni. Toppur nr. 1 er kannabidiól, nr. 2 tetrahýdrókannabínól, nr. 3 kannabínól og nr. 4 viðmiðunarefnið metýltestósterón. Hæð toppanna er hlutfallsleg við magn kannabínóíða í sýninu.



Mynd 3. Myndin sýnir línulegt samband milli þéttni tetrahýdrókannabínóls í mælilausnum og hlutfallslegrar topphæðar þess við metýltestósterón. Jafna ferilsins er sýnd efst á myndinni. Hlutfallsleg topphæð (R) er reiknuð þannig: $R = \text{topphæð tetrahýdrókannabínóls} / \text{topphæð metýltestósteróns}$.



Mynd 4. Myndin sýnir árlegan fjölda jákvæðra kannabissýna, sem rannsökuð voru í Rannsóknastofu í lyfjafraði á tímabilinu 1969-1988.

að ákvarða magn tetrahýdrókannabínóls í sýninu var mæld topphæð þess (toppur nr. 2) og topphæð metýltestósteróns (toppur nr. 4) á pappír ritans. Því næst var reiknuð hlutfallsleg hæð þess miðuð við topphæð metýltestósteróns. Að lokum var reiknuð aðhvarfslína fyrir sambandið milli þéttni tetrahýdrókannabínóls og hlutfallslegrar topphæðar tetrahýdrókannabínóls í samanburðarsýnunum eins og sýnt er á mynd 3. Jafna ferilsins var svo notuð til þess að reikna út magn tetrahýdrókannabínóls í sýnunum. Greiningarmörk aðferðarinnar voru um 1-2 mg af tetrahýdrókannabínóli í grammi sýnis.

NIÐURSTÖÐUR

Af þeim 404 sýnum, sem bárust til rannsóknar á tímabilinu, reyndust 368 vera jákvæð, þ.e. innihalda kannabínóíða og þar á meðal tetrahýdrókannabínól. Voru 263 þeirra flokkuð sem hass, 67 sem marihúana og 18 sem hassolía. Önnur jákvæð sýni (reykjarpípur, fræ o.fl.) voru 20. Dreifing jákvæðra sýna eftir árum er sýnd á mynd 4. Flest urðu þau 42 árið 1973, en fæst 2 árin 1969 og 1970. Niðurstöðutölur ákvarðana á tetrahýdrókannabínóli (THC) í hassi, marihúana og hassolíu, sem gerðar voru á árunum 1977-1988 eru sýndar í töflu. Eins og við var að búast var magn tetrahýdrókannabínóls að meðaltali mest í hassolíu, því næst í hassi og minnst í marihúana. Hlutfallslega mestur breytileiki

var í tetrahýdrókannabínólinnihaldi hasssýna, en minnstur í hassolíu (sjá tölur í svigum). Eins og fram kemur á mynd 5 var magn tetrahýdrókannabínóls í hass- og maríhúanasýnum talsvert breytilegt eftir árum. Varð veruleg aukning í tetrahýdrókannabínólinnihaldi hasssýna á tímabilinu, en nokkru minni í maríhúanasýnum. Í báðum tilvikum var um marktæka aukningu að ræða (línuleg aðhvarfsgreining, $p < 0,05$). Sýni af hassolíu voru færri en svo, að þau yrðu tekin með í samanburðinum.

UMRÆÐA

Eins og sjá má á mynd 4 hefur tala kannabissýna verið allbreytileg eftir árum. Á þetta ekki síst við um fyrri hluta tímabilsins. Eðlilegt virðist að álykta, að samband kunni að vera milli fjölda innsendra sýna og þess magns af kannabis, sem lagt var hald á hverju sinni. Tölur frá lögreglunni í Reykjavík (6) sýna, að jákvæð fylgni var á milli þessara þátta á tímabilinu 1979-1988. Fyrir 1979 var þessu þó öðruvísi varið, enda giltu þá aðrar reglur um, hvenær sýni skyldu send til rannsóknar en síðar varð (6).

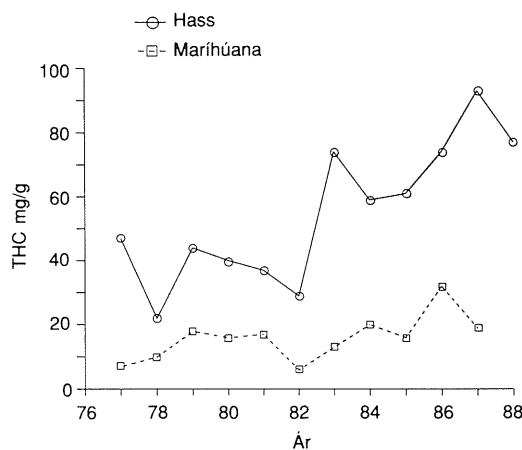
Elstu heimildir, sem við höfum fundið um ákvarðanir á tetrahýdrókannabínóli í ólöglegum kannabissýnum eru frá árinu 1969 (7). Voru það hasssýni, sem innihéldu að meðaltali 23 mg/g af tetrahýdrókannabínóli (5-53 mg/g). Er það miklu minna en í hasssýnum þeim, sem hér voru rannsökuð. Í yngri heimildum (8-10) er magn tetrahýdrókannabínóls í hasssýnum hins vegar á bilinu 10-190 mg/g. Er það í góðu samræmi við niðurstöðutölur okkar (sbr. töflu). Athyglisvert er þó, að í okkar safni voru allmörg sýni (21 talsins), sem innihéldu minna en 10 mg/g. Verða þau að teljast hafa verið lélegt hass.

Maríhúanasýnin í safni okkar innihéldu að meðaltali 18 mg/g af tetrahýdrókannabínóli (sjá töflu). Er það nánast sama meðaltal og í 2209 maríhúanasýnum, sem rannsökuð voru á vegum Drug Enforcement Administration í Bandaríkjunum á árunum 1974-1983 (11). Í því safni voru þó fáein sýni, sem innihéldu liðlega þrefalt meira tetrahýdrókannabínól en mest gerðist í safni okkar.

Í safni okkar voru 15 sýni af hassolíu,

Taflan sýnir meðaltalsgildi ákvarðana á tetrahýdrókannabínóli (THC) í 217 kannabissýnum, sem rannsökuð voru í Rannsóknastofu í lyfjafræði á árunum 1977-1988. Tölur í sviga sýna hæstu og lægstu gildi.

Tegund sýnis	Fjöldi	THC mg/g	
Hass	170	64	(1-177)
Maríhúana	32	18	(2-43)
Hassolía	15	234	(104-610)



Mynd 5. Tetrahýdrókannabínól í hass- og maríhúanasýnum, sem rannsökuð voru í Rannsóknastofu í lyfjafræði á tímabilinu 1977-1988. Punktarnir á ferlunum sýna meðaltalsgildi hvers árs um sig.

sem tetrahýdrókannabínól var ákvarðað í (sjá töflu). Magn tetrahýdrókannabínóls í sýnum þessum var að meðaltali 234 mg/g. Er það allmiklu minna en í hassolíu, sem rannsökuð hefur verið í Danmörku (10), en þar var meðalgildið 400 mg/g. Aðeins eitt okkar sýna innihélt svo mikið magn af tetrahýdrókannabínóli.

Því hefur áður verið haldið fram, að magn tetrahýdrókannabínóls í kannabis, sem hér er í umferð fari vaxandi, og megi miða við árið 1983 í því sambandi (5). Niðurstöðutölur okkar sýna, að þessi fullyrðing er að mestu rétt (sbr. mynd 5). Ekkert skal fullyrt um af hverju þetta stafar. Hugsanlegt er þó, að kannabisræktun sé nú meira stunduð í atvinnuskyni en áður var og því meira til hennar vandað. Svipaðrar aukningar varð einnig vart í tetrahýdrókannabínólinnihaldi í maríhúana,

sem hald var lagt á í Bandaríkjunum árin 1974-1983 (11). Var þar um þreföldun að ræða á tíu árum. Öfugt við niðurstöður okkar fundust þar hins vegar engar breytingar í tetrahydrokannabinólinnihaldi hasssýna á sama tímabili.

Í kannabisplöntum í vexti er tetrahydrokannabinól að mestu eða öllu leyti í formi tetrahydrokannabinól-2-karboxýlsýru, en einnig að hluta í formi tetrahydrokannabinól-4-karboxýlsýru (sbr. mynd 1) (12-14). Sýrur þessar eru mjög næmar fyrir hita og klofna þá í tetrahydrokannabinól. Þetta gerist að einhverju leyti við uppskeru, þurrkun og geymslu, svo og í meltingarvegi eftir inntöku (15). Við reykingar klofna sýrurnar hins vegar að fullu og öllu og frítt tetrahydrokannabinól myndast, sem menn anda að sér með reyknum. Hið sama gerist við gasgreiningu á kannabissýnum fyrir áhrif hitans í önd gasgreinisins. Niðurstöðutölur mælinganna sýna því í raun fremur það magn tetrahydrokannabinóls, er gæti myndast við reykingar en það magn, sem þar er áður en í gasgreininum kemur. Í réttarefnafræðilegum skilningi eru sýrur þessar taldar jafngildi tetrahydrokannabinóls, þar eð þær breytast í tetrahydrokannabinól við venjulega neyslu á kannabis. Af þeirri ástæðu er því mælt með því, að tetrahydrokannabinól sé ákvarðað í kannabissýnum með gasgreiningu á súlu (16, 17).

Við réttarefnafræðilegar rannsóknir á kannabissýnum eru niðurstöður ekki taldar tryggar nema notaðar séu að minnsta kosti tvær óháðar greiningaraðferðir (9). Hefur þessa ætíð verið gætt í Rannsóknastofu í lyfjafræði (sjá aðferðir). Smásjárskoðunin gefur í flestum tilvikum nokkuð örugga vísbendingu um, hvort einhverjir hlutar kannabisplöntunnar séu í sýninu. Sjást þá venjulega sérkennileg, fjölrufu kirtilhár og einrfu þekjuhár, sem geta innihaldið kristalla (2, 9). Oft sést einnig urmull af frjókornum. Innihaldsefni plöntunnar eru oftast greind með blettagreiningu á þynnu og gasgreiningu á súlu (9, 15). Blettagreiningarkerfið, sem hér var notað, greinir auðveldlega milli tetrahydrokannabinóls og annarra kannabínóíða. Hið sama gildir um gasgreiningarkerfið (sjá mynd 2). Til samans

gefa þessar aðferðir því örugga vísbendingu um, hvort sýnið inniheldur tetrahydrokanna bínól eða ekki.

Nýlega var tekinn í notkun í Rannsóknastofunni gasgreinir fyrir mjósúlur (capillary columns). Hefur hann undanfarið verið notaður til greiningar á kannabissýnum. Mjósúlur hafa margfalda greiningarhæfni á við venjulegar fylltar súlur og bæta því verulega ákvarðanir á tetrahydrokannabinóli. Í undirbúningi er ennfremur að nota massagreini við frekari sannkennsl á kannabínóíðum.

Kannabisneysla mun hafa hafist hér á landi árið 1967 (5). Enda þótt trúverðugar tölur um kannabisneyslu og breytingar á henni skorti að verulegu leyti, er augljóst, að neysla þessa vísmugjafa er orðin ærið föst í sessi hér á landi. Í Rannsóknastofu í lyfjafræði var því hafist handa fyrir nokkrum árum að ákvarða magn kannabínóíða í blóði og þvagi. Var það gert bæði miðað við þarfir meðferðarstofnana og lögregluyfirvalda. Með tilkomu massagreinis má ætla, að þessar ákvarðanir geti orðið bæði mjög öruggar og auðgerðar. Verður skýrt frá þessum rannsóknum síðar.

SUMMARY

During the period 1969-1988 a total of 404 samples of alleged cannabis were subjected to forensic chemical analysis in the Department of Pharmacology, University of Iceland. Three hundred sixty eight samples were positive, i.e. did contain tetrahydrocannabinol and other cannabinoids. Of the positive samples 263 were classified as hashish, 67 as marihuana and 18 as cannabis oil. Other positive samples (pipes, cannabis seeds etc.) were 20. The number of positive samples varied considerably during the period (fig. 4). This was especially true for the years 1969-1978. From 1979 and onwards the number of samples submitted to analysis did correlate reasonably well with the amount of cannabis confiscated by Icelandic police authorities.

The mean tetrahydrocannabinol contents of the hashish and the marihuana samples analysed 1977-1988 (table) were similar to those reported in the literature (ref. 8-11). From 1977 the overall amounts of tetrahydrocannabinol in marihuana and

hashish confiscated by the Icelandic police have been on the increase (fig. 5).

HEIMILDIR

1. Jóhannesson Þ. Lyfjafræði og eiturefnafræði í læknaeild, fyrr, nú og í framtíð (sérrprentun). Reykjavík: Rannsóknastofa í lyfjafræði, 1986: 3.
2. Stefánsson H. Kannabis, yfirlit og athuganir. Tímarit um lyfjafræði 1971; 6(2): 6-17.
3. Fairbairn JW, Liebmann JA. The extraction and estimation of the cannabinoids in Cannabis sativa L. and its products. J Pharm Pharmacol 1973; 25: 150-5.
4. Sobol SP, Moore RS. Analytical manual. Washington: Bureau of Narcotics and Dangerous Drugs, 1974: 165-8.
5. Jóhannesson Þ. Lyfjafræði miðtaugakerfisins. Reykjavík: Menntamálaráðuneytið/Háskóli Íslands, 1984: 99-113.
6. Sigurjónsson H. Tæknideild lögreglunnar í Reykjavík. Persónulegar upplýsingar, 1988.
7. Machata G. Analytischer Nachweis und Bewertung von Haschisch. Arch Toxikol 1969; 25: 19-26.
8. Baker PB, Taylor BJ, Gough TA. The tetrahydrocannabinol and tetrahydrocannabinolic acid content of cannabis products. J Pharm Pharmacol 1981; 33: 369-72.
9. Recommended methods for testing cannabis. Manual for use by national narcotics laboratories. New York: United Nations, 1987: 1-38.
10. Kaa E. Narkotika, retskemiske aspekter. Aarhus: Retskemisk afdeling, Aarhus Universitet, 1989: 11-6.
11. ElSohly MA, Holley JH, Turner CE. Constituents of Cannabis sativa L. XXVI. The delta-9-tetrahydrocannabinol content of confiscated marijuana 1974-1983. In: Harvey DJ, Paton W, Nahas GG, eds. Marijuana '84. Proceedings of the Oxford Symposium on Cannabis. Press Ltd. 1985: 37-42.
12. Doorenbos NJ, Felterman PS, Quimby MW, Turner CE. Cultivation, Extraction and analysis of Cannabis Sativa L. Ann NY Acad Sci 1971; 191: 3-12.
13. Turner CE, ElSholy MA, Boeren EG. Constituents of Cannabis sativa L. XVII. Review of the natural constituents. J Nat Prod 1980; 43: 169-234.
14. Turner JC, Mahlberg PG. Simple high-performance liquid chromatographic method for separating acidic and neutral cannabinoids in Cannabis sativa L. J Chromatog 1982; 253: 295-303.
15. Mechoulam R, McCallum KN, Burstein S. Recent advances in chemistry and biochemistry of Cannabis. Chem Rev 1976; 76: 75-112.
16. Maehly A, Strömberg L. Chemical Criminalistics. Berlin, Heidelberg, New York: Springer-Verlag 1981; 35-9.
17. Vollner L. Review of analytical methods for identification and quantification of cannabis products. Regulatory Pharmacol Toxicol 1986; 6: 348-58.