

Studium des Chiralmetabolismus von Methamphetamin beim Menschen mittels CZE (Pilotstudie)

B. Smysl¹, J. Sevcik², Z. Andarova², K. Lemr², D. Jirovsky³

¹Institut für Gerichtsmedizin, ²Institut für Analytische Chemie, ³Zentrum der molekularen Strukturen, Palacky Universität, Olomouc, Tschechische Republik

Einleitung

Bedingt durch seine starken psychostimulatorischen Wirkungen auf das ZNS und seine verhältnismäßig einfache Herstellung selbst unter Amateurbedingungen ist Methamphetamin das häufigste in der Tschechischen Republik mißbrauchte Betäubungsmittel. Aus diesem Grunde steht dessen Metabolismus im Vordergrund des Interesses von Toxikologen. Methamphetamin wird überwiegend in der Leber nach dem in Abb. 1 dargestellten Schema metabolisiert.

Unter Berücksichtigung der Tatsache, daß der Grenzwert, der als positiver Nachweis von Methamphetamin in Urin gilt, 200 ng/ml beträgt, ist für toxikologische Zwecke nur eine hinreichend empfindliche Methode brauchbar. Außer den angewandten GC und HPLC Verfahren wurde für die Separation von Methamphetamin und dessen Metaboliten die Methode der Kapillar-Zonenelektrophorese (CZE) entwickelt.

Experimenteller Teil

Die Trennung von Methamphetamin und dessen Metaboliten wurde auf dem Gerät P/ACE System 5510 der Firma Beckman, ausgestattet mit einem P/ACE-Diodenarraydetector durchgeführt. Zur Messung wurde eine unbeschichtete Quarzkapillare (innerer Durchmesser 50 µm, Gesamtlänge 47 cm und Länge zum Detektor 40 cm) verwendet. Als Grundelektrolyt diente 100 mM TRIS-Phosphat, pH 2.5. Der Chiralselektor Hydroxypropyl-beta-cyclodextrin (30 nM) war nur in der Kapillare anwesend. Das Potentialgefälle betrug 320 V/cm. Das System war auf 20°C thermostatisiert.

Die Modellmischung enthielt die Racemate von Methamphetamin (MA), p-Hydroxymethamphetamin (HMA), Amphetamin (A), p-Hydroxyamphetamin (HA), Norephedrin (NE), p-Hydroxynorephedrin (HNE) und Phenylethylamin (PEA) als inneren Standard. Reale Urinproben von gesunden Freiwilligen und Toxikomanen wurden 6, 12, 24 bzw. 48 Stunden nach der Exposition abge-

nommen. Zur Isolation von untersuchten Substanzen wurde eine flüssig/flüssig-Extraktion vor und nach enzymatischer Hydrolyse wie folgt durchgeführt:

Der Urin wurde nach Zugabe einer definierten Menge des inneren Standards (wäßrige Lösung von PEA HCl, 10^{-3} M) auf pH 9-10 alkalisiert und mit Dichlormethan extrahiert. Die organische Phase wurde danach mittels 0.1 M HCl ausgeschüttelt und die dabei erhaltene wäßrige Phase erneut nach Einstellung des pH-Wertes 9-10 mit Dichlormethan reextrahiert. Der Dichlormethanextrakt wurde nach Zugabe von 0.1 M HCl in iso-Propylalkohol in einem Stickstoffstrom bis zur Trockne eingedampft.

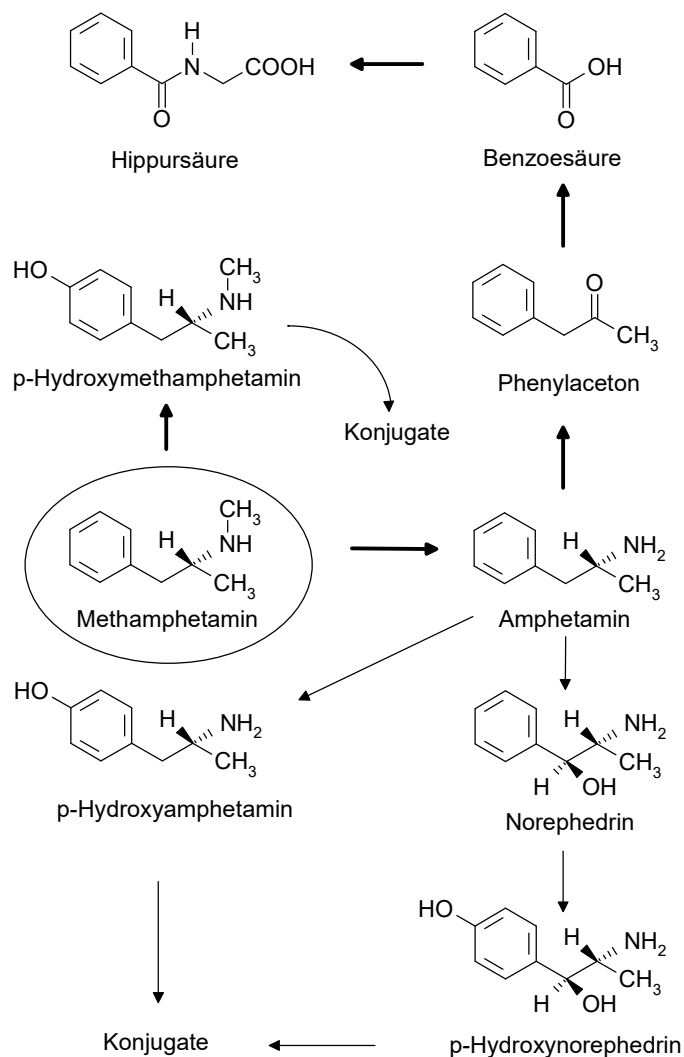


Abb. 1: Metabolismus von Methamphetamin

Die enzymatische Hydrolyse wurde durchgeführt, indem die Urinprobe nach Einstellung des pH auf 7 mittels einer Mischung von beta-Glukuronidase /Arylsulphatase (Firma Merck) 24 Stunden bei 37°C hydrolysiert wurde.

Ergebnisse

Zur Trennung von Methamphetamin und dessen Metaboliten wurde als Chiralselektor 30 nM Hydroxypropyl-beta-cyclodextrin verwendet, mit Hilfe dessen alle Enantiomere (außer NE) erfolgreich separiert wurden (Abb. 2).

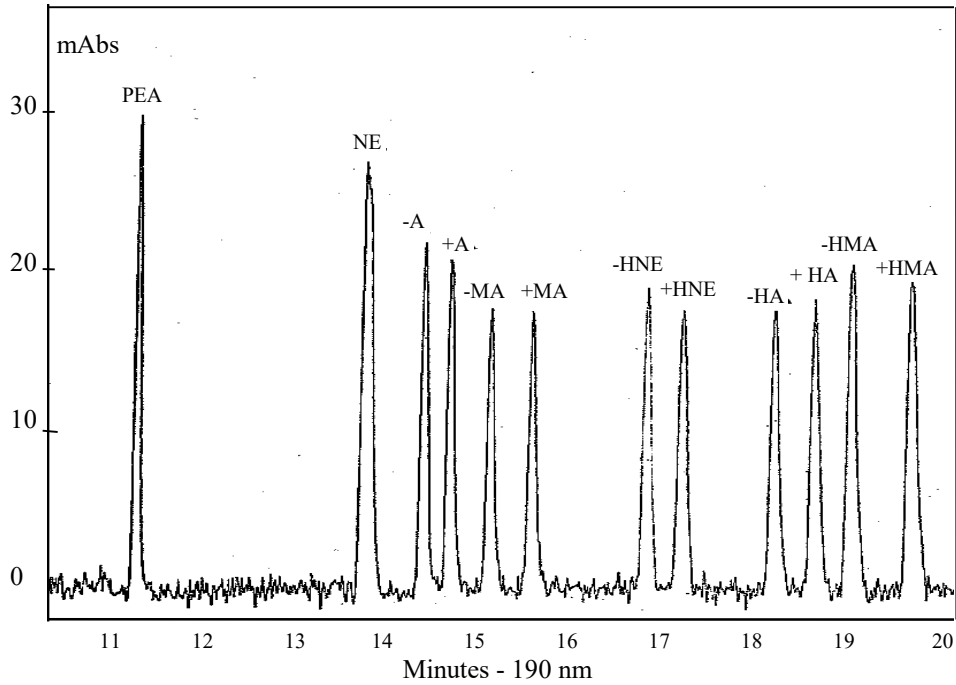


Abb. 2: Trennung der Modellmischung mittels CZE

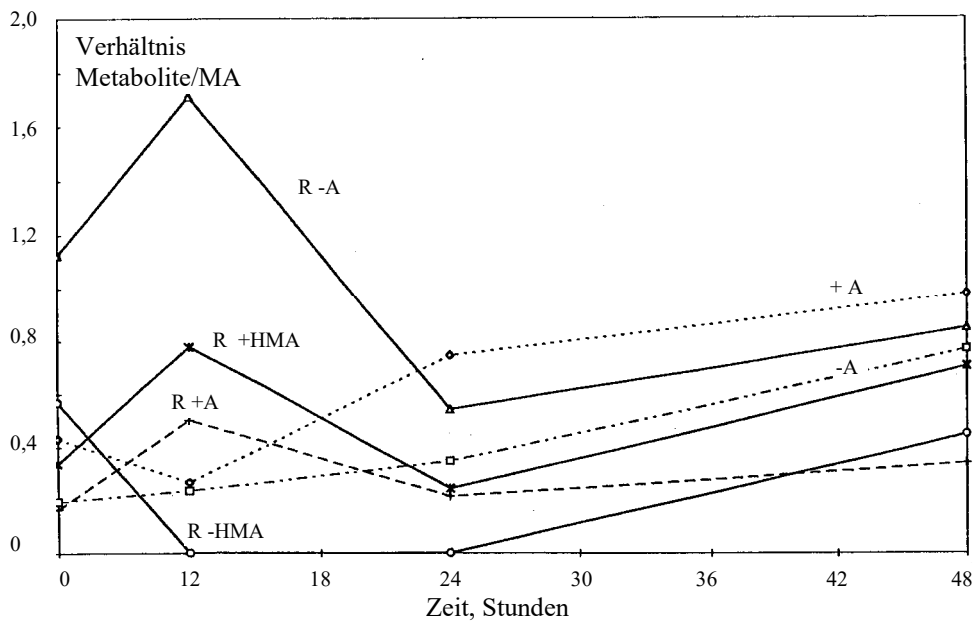
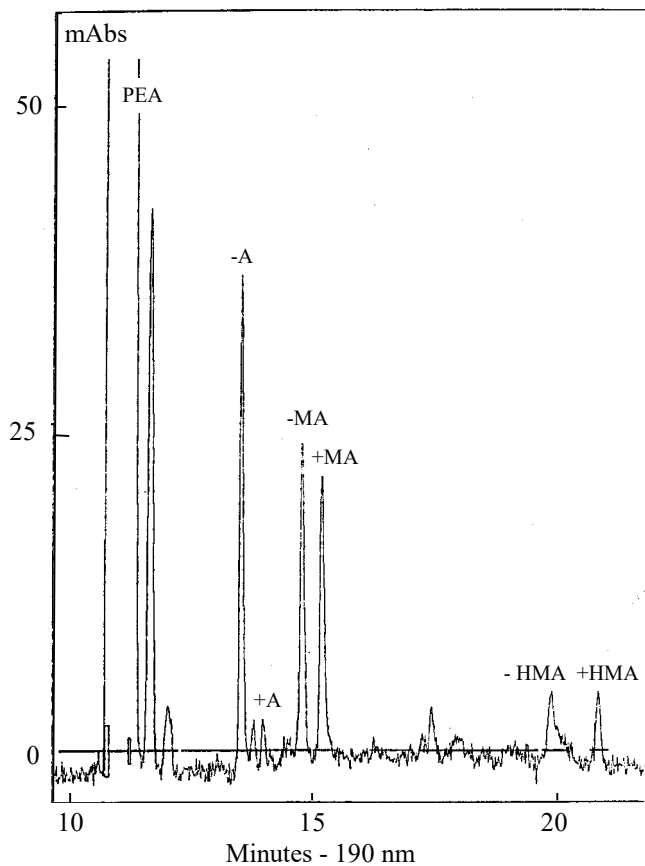


Abb. 3: Zeitabhängigkeit ausgeschiedener Metaboliten bei gesunden Freiwilligen (nach der Hydrolyse)



Für das Studium von realen Urinproben wurden gesunden Freiwilligen (+)- und (-)- Enantiomer sowie das Racemat von Methamphetamin in einer Dosis von 20 mg p. o. verabreicht. Es wurde eine unterschiedliche Zeitabhängigkeit der Ausscheidung bei der (+)- und der (-)-Form sowie des Racemates von Methamphetaminmetaboliten beobachtet (Abb. 3-4). Daher wurde die Hypothese aufgestellt, daß es zu einer verschiedenen Geschwindigkeit des Katabolismus einzelner Methamphetaminenantiomere kommt.

Abb. 4: Trennung einer realen Urinprobe (nach 6 Std.) eines gesunden Freiwilligen (nach der Hydrolyse)

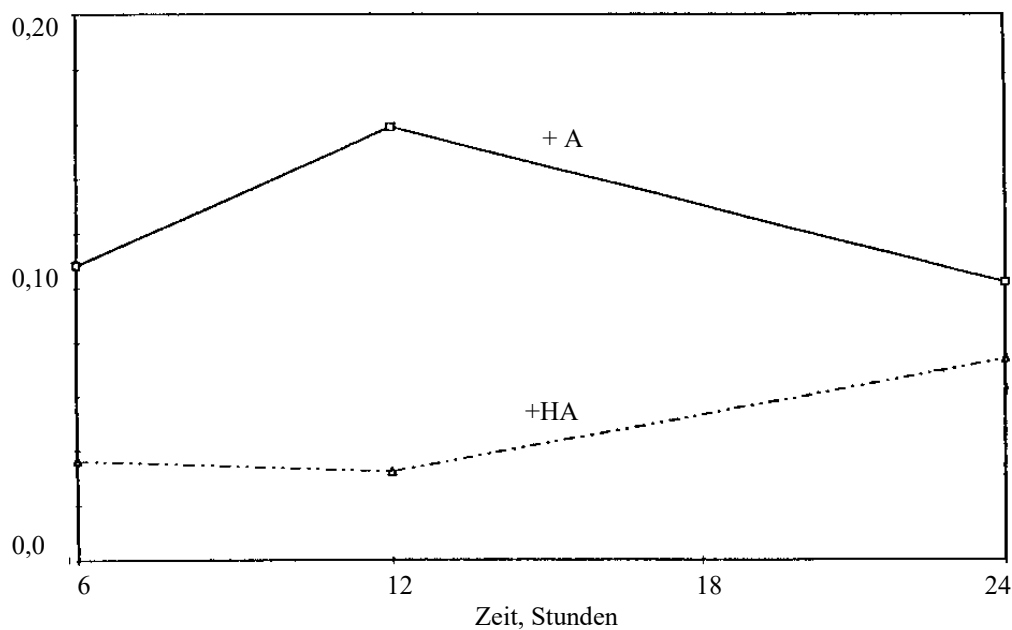


Abb. 5: Zeitabhängigkeit ausgeschiedener Metabolite bei einem Toxikomanen (nach Hydrolyse).

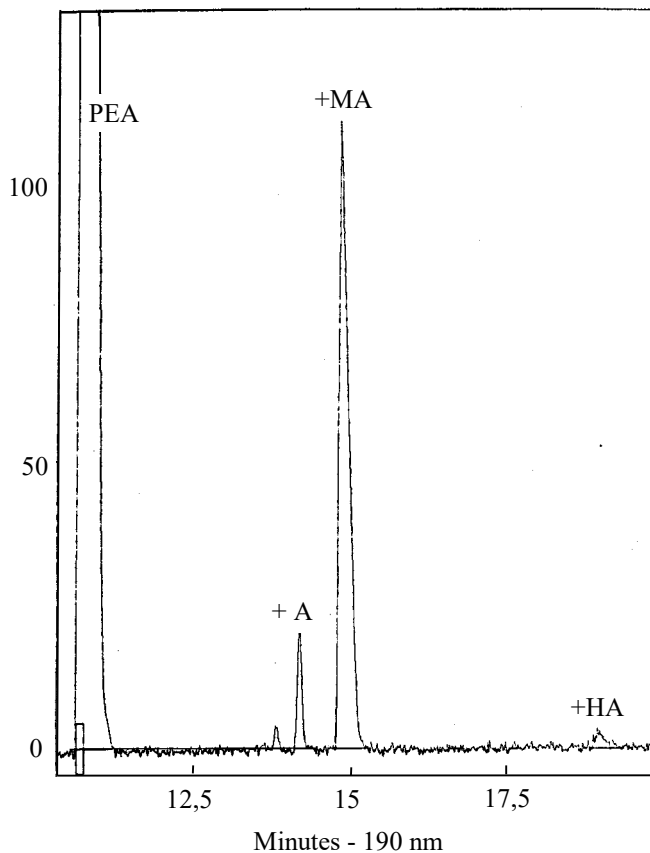


Abb. 6:
Separation einer realen Urinprobe
(nach 6 Std.) bei einem Toxikomanen
(nach der Hydrolyse).

Die Urinprobe eines Toxikomanen zeigte einen etwas unterschiedlichen Metabolismus. Nach Applikation von (+)-Methamphetamin, das in vorwiegend unveränderter Form ausgeschieden wurde, wurde außer (+)-Amphetamin auch (+)-para-Hydroxyamphetamin festgestellt (Abb. 5-6). Zum Nachweis von hydroxylierten Methamphetaminmetaboliten ist eine Hydrolyse erforderlich.

Literaturverzeichnis

- [1] B.Smysl: Illegale Drogenherstellung in der Tschechischen Republik. Beiträge des Symposiums der GTFCh, Verlag Dr. Dieter Helm, Heppenheim 1995, S. 49-52.
- [2] F. Sadeghipour, E. Varesio, C. Giroud, J. L. Veuthey: Chiral and achiral analysis of amphetamines by HPLC and CE Application to drug seizures. 34th TIAFT Meeting, Interlaken, August 11-15,1996. Abstracts p. 104
- [3] B. Smysl, J. Sevcik, K. Lemr, Z. Strnsky, D. Jirovsky, Z. Andarova : A study of enantiomeric methamphetamine metabolites. Item p. 108

Dr. Bretislav Smysl
Institut für Gerichtsmedizin
der Palacky-Universität
Hnevovska 3
CZ-77509 Olomouc
Tschechische Republik