

Massenspektrometrische Unterscheidung von LSD, LAMPA und anderen LSD-Isobaren

Folker Westphal, Thomas Junge

Landeskriminalamt Schleswig-Holstein, Mühlenweg 166, 24116 Kiel

Abstract: Lysergicacid-N,N-diethylamide (LSD), the isobaric lysergicacid-N-methyl,N-propylamide (LAMPA), and the lysergicacid-N-isobutylamide (LSB) do only differ in the substitution pattern of the amide nitrogen atom. This article describes the way of univocal mass spectrometric differentiation of LSD-isomers isobaric substituted at the amid nitrogen atom.

Zusammenfassung: Lysergsäure-N,N-diethylamid (LSD), das isobare Lysergsäure-N-methyl,N-propylamid (LAMPA) und das Lysergsäure-N-isobutylamid (LSB) unterscheiden sich nur durch das Substitutionsmuster am Amidstickstoff. Dieser Artikel beschreibt die Möglichkeiten der eindeutigen massenspektrometrischen Unterscheidung von am Amidstickstoff isobar substituierten LSD-Isomeren.

1. Einleitung

Während es vor wenigen Jahren eigentlich immer klar war, dass bei einem passenden Massenspektrum MDMA, MDE und MDA immer jeweils das 3,4-Isomer waren und beim passenden Massenspektrum auch LSD als Treffer nie angezweifelt wurde, ist dies angesichts der anhaltend virulent sich entwickelnden Designerdrogen heute oft nicht mehr so einfach. Schließlich gilt es bei der derzeitigen Einzelunterstellungspraxis des deutschen Gesetzgebers Verbindungen, die dem Betäubungsmittelgesetz unterliegen, von solchen zu unterscheiden, die (noch) nicht unterstellt sind. Designerdrogen gibt es dabei nicht nur auf dem Gebiet der Phenethylamine, Amphetamine, Cathinone und Cannabimimetika. Auch aus den Gruppen der Tryptamine, Piperazine, Opioide und sogar von LSD werden neue Substanzen designed und auf den Markt gebracht.

Lysergsäure-N-methyl,N-propylamid (LAMPA, **2**) wird aufgrund seiner isobaren Struktur, seiner Nicht-Betäubungsmittelleigenschaft und wegen der ähnlichen UV-Eigenschaften schon lange als interner Standard oder auch zur Kalibrierung bei Lysergsäure-N,N-diethylamid (LSD)-Bestimmungen eingesetzt. LAMPA unterscheidet sich von LSD (**1**) nur in der Verteilung der Kohlenstoffatome im Amidsubstitutionsmuster (Abb. 1). Denkbar wären auch noch andere isobare LSD-Isomere wie ein N-methyl,N-isopropyl-, ein N-n-butyl- oder ein N-2- oder N-3-butyl-substituiertes Lysergamid. Das N-2-Butyllysergamid (LSB) ist bekannt und hat sogar im Tierversuch in Drug-Discrimination-Assays eine stärkere Wirkung als LSD selbst: $ED_{50}(\text{LSB})$ 33 nmol/kg gegenüber $ED_{50}(\text{LSD})$ 48 nmol/kg [1].

Eine eindeutige Unterscheidung dieser Isobaren ist zur Zuordnung der Substanz und der anschließenden rechtlichen Bewertung dringend erforderlich. Es ist sicherlich möglich, diese isobaren Verbindungen mit Analyseverfahren (GC, LC) unter Verwendung von speziell darauf abgestimmten stationären Phasen, Temperaturprogrammen oder Lösungsmittelgradienten chromatographisch voneinander zu trennen. Unser Ziel ist es jedoch nicht, für jedes Isomerenproblem eine spezielle analytische Umgebung zu entwickeln, die auch nur bei Vorliegen aller Isomere auf ihre Trenneffizienz geprüft werden kann, sondern universell anwendbare massenspektrometrische Differenzierungsverfahren zu etablieren, die unabhängig von

der chromatographischen Trennung und von der Notwendigkeit des Vorliegens jedes denkbaren Isomers bei der Methodenentwicklung sind. Ein solches Verfahren ist die Produktionenspektrometrie, mit der hier eine Differenzierung der LSD-Isobaren vorgestellt werden soll. Ist die Differenzierung von isomeren Fragmentationen mithilfe der Produktionenspektrometrie nachgewiesen, lassen sich alle Verbindungen, die diese Fragmentationen bilden differenzieren, ohne dass deren Fullscan-Massenspektrum oder deren Chromatographieeigenschaften vorher bekannt sein müssen.

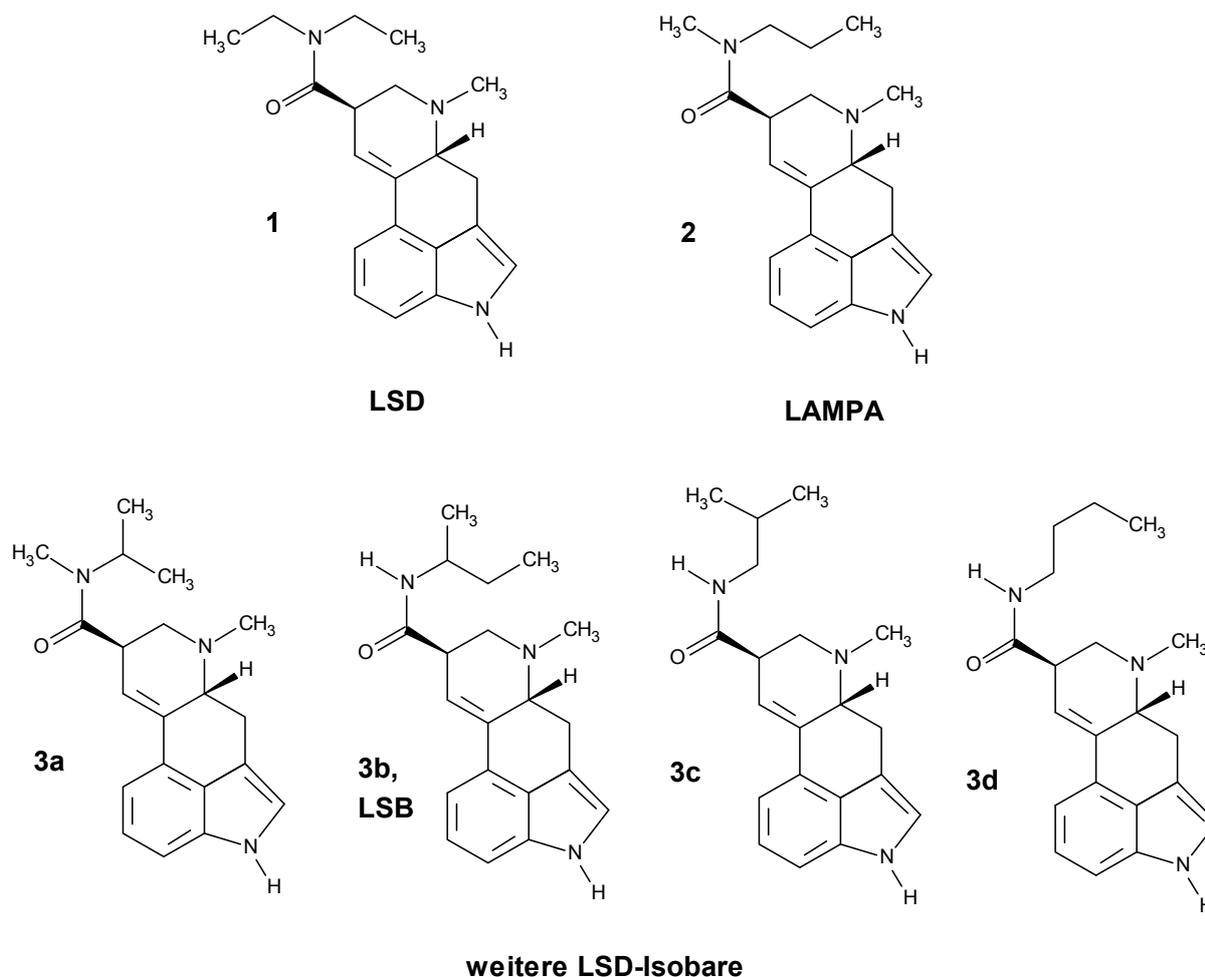


Abb.1. Am Amidstickstoff isobar substituierte LSD-Isomere.

2. Material und Methoden

2.1. Chemikalien

LSD und LAMPA wurden als zertifizierte Referenzsubstanzen bei Lipomed, Weil am Rhein, bezogen. n-Butylbenzol stammt von Merk, Darmstadt. Die benötigten Lösungsmittel hatten alle p.a.-Qualität.

2.2. Gaschromatographie-Massenspektrometrie (GC-MS)

Probenvorbereitung: Referenzsubstanzen und LSD-haltige Trips wurden in Methanol gelöst bzw. eine halbe Stunde in Methanol im Ultraschallbad extrahiert. Zuckerwürfel mit LSD

wurden eine halbe Stunde im Ultraschallbad mit Chloroform extrahiert und die Lösung danach mikrofiltriert. 1 μL dieser Extrakte wurde in das GC-MS-System injiziert.

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

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

MS-Parameter: Es wurde ein Massenbereich von $m/z = 29 - 600$ mit einem Scan pro Sekunde gemessen. Zur Aufnahme der Elektronenstoß-Ionisations (EI)-Massenspektren wurde eine Ionisationsenergie von 70 eV bei einer Emissionsstromstärke von 200 μA verwendet. Die Temperatur der Ionenquelle betrug 175 °C.

MS-MS-Parameter: Bei der Tochterionenspektroskopie (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 [2]. Dies gewährleistet die Reproduzierbarkeit der aufgenommenen Tochterionenspektren und die Nutzung einer Tochterionenspektren-Bibliothek zur Identifizierung der Struktur der Tochterionen [3].

Retentionsindizes (RI) sind als Kovats Indizes berechnet nach Messung einer n-Alkanmischung mithilfe des oben angegebenen Temperaturprogramms.

3. Ergebnisse und Diskussion

Die GC-EI-MS-Spektren von LSD und LAMPA sind sehr ähnlich (Abb. 2). Die Retentionsindizes (LSD: 3131, LAMPA: 3176) unterscheiden sich zwar deutlich, jedoch ist LSD auf Trips oder auf Würfelzucker nur in sehr geringer Menge vorhanden und zeigt bei der Gaschromatographie wegen der schlechten Chromatographierbarkeit in underivatisiertem Zustand oft nur breite Peaks, bei denen der Retentionsindex möglicherweise nicht immer zur Differenzierung ausreicht und gegebenenfalls ein Zuspitzen einer der beiden Komponenten nötig wäre. In der Regel lässt sich jedoch auch ohne Derivatisierung (gegebenenfalls nach Aufkonzentrierung) ein EI-Massenspektrum bei der Analyse von LSD-Trips und LSD-getränkten Zuckerwürfeln erhalten, das für eine eindeutige Identifizierung ausreichend ist.

Bei der Datenbanksuche wird bei Vorliegen von LSD oft ein besserer Datenbankhit für LAMPA gefunden als für LSD, da in den Suchroutinen die höheren Massenfragmente höher gewichtet werden als die niedrigen. Finden die Messungen immer auf dem gleichen Gerät unter gleichen Bedingungen statt, lassen sich jedoch auch im EI-Massenspektrum reproduzierbar kleine Unterschiede erkennen: Beim LSD ist stets das Fragment m/z 44 höher als m/z 43, während beim LAMPA das Verhältnis umgekehrt ist. Weiterhin ist im Verhältnis zum Fragment m/z 72 das Fragment m/z 58 im LSD wesentlich niedriger als beim LAMPA. Die Unterschiede sind klein, jedoch reproduzierbar und sind bei gleich bleibenden Bedingungen durchaus zur Differenzierung von LSD und LAMPA geeignet, sofern der Peak so intensiv ist, das ein vollständiges Massenspektrum vorliegt.

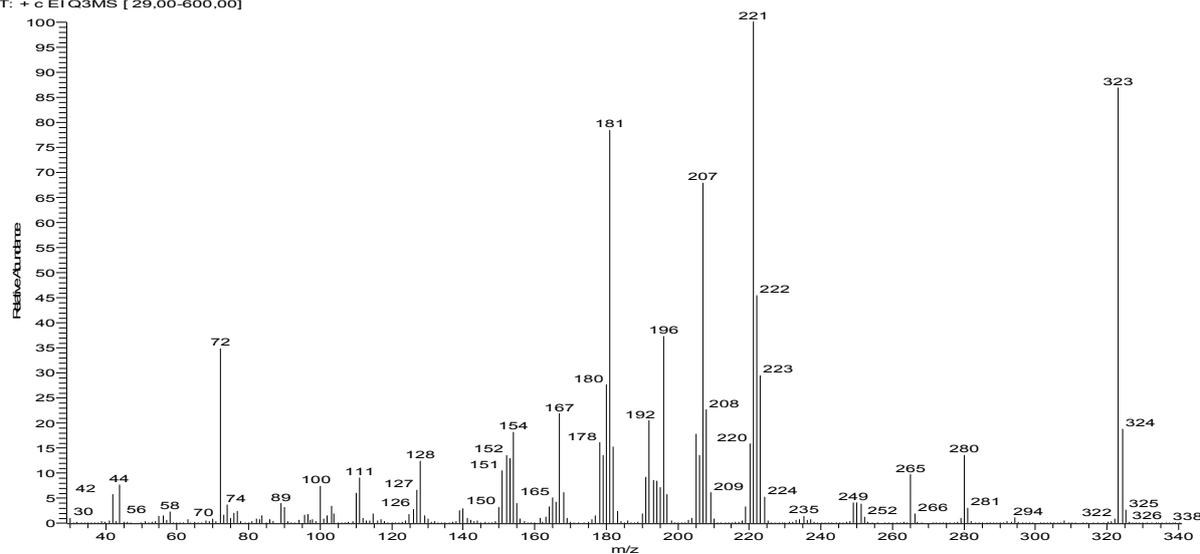
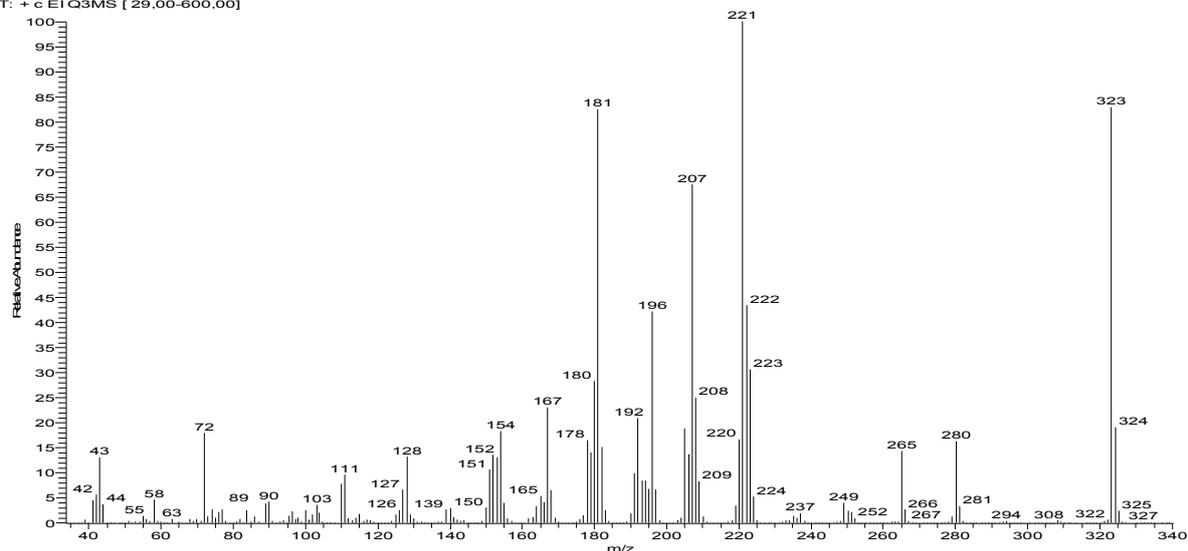
LSD #1181 RT: 23,41 AV: 1 SB: 2 19,69 ,25,15 NL: 2,68E7
T: + c EI Q3MS [29,00-600,00]LAMPA #1251 RT: 24,59 AV: 1 SB: 2 20,37 ,26,44 NL: 5,13E7
T: + c EI Q3MS [29,00-600,00]

Abb.2. EI-Massenspektren von LSD (oben) und LAMPA (unten).

Sämtliche LSD-Isomeren mit isobarer Kohlenstoffkonfiguration am Amidstickstoff können leicht mithilfe der Produktionenspektrometrie unterschieden werden. Dazu wird das Immoniumion mit m/z 72 produktionspektrometrisch untersucht. Es entsteht nach Ionisierung am Amidstickstoff nach radikalisch induzierter Alphaspaltung unter 1,2-H-Wanderung (Abb. 3) oder nach Ionisierung am Amidsauerstoff und Alphaspaltung aus dem dann resultierenden Ion m/z 100 nach anschließender CO-Abspaltung unter 1,2-H-Wanderung.

P. Rösner et al. haben schon 1996 gezeigt, dass sämtliche Immoniumionen m/z 72 mit der Summenformel $C_4H_{10}N^+$ mithilfe der Produktionenspektrometrie unter normierten Bedingungen eindeutig unterschieden werden können [4]. Damit eröffnet sich eine universelle Methode, auch sämtliche Amidstickstoff-Isobaren von LSD unterscheiden zu können, ohne dass deren EI-Massenspektren und deren chromatographisches Verhalten jeweils bekannt und die Substanzen zum Vergleich im Labor vorhanden sein müssen. Dies gilt natürlich auch für alle anderen Verbindungen die ein Immoniumion m/z 72 bilden.

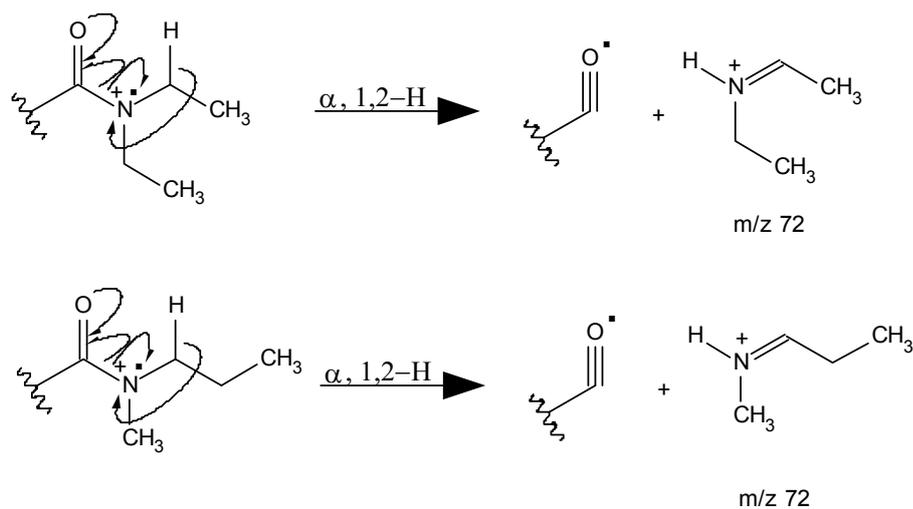


Abb. 3. Bildung der Immoniumionen m/z 72 aus den Amidsubstituenten von LSD (oben) und LAMPA (unten).

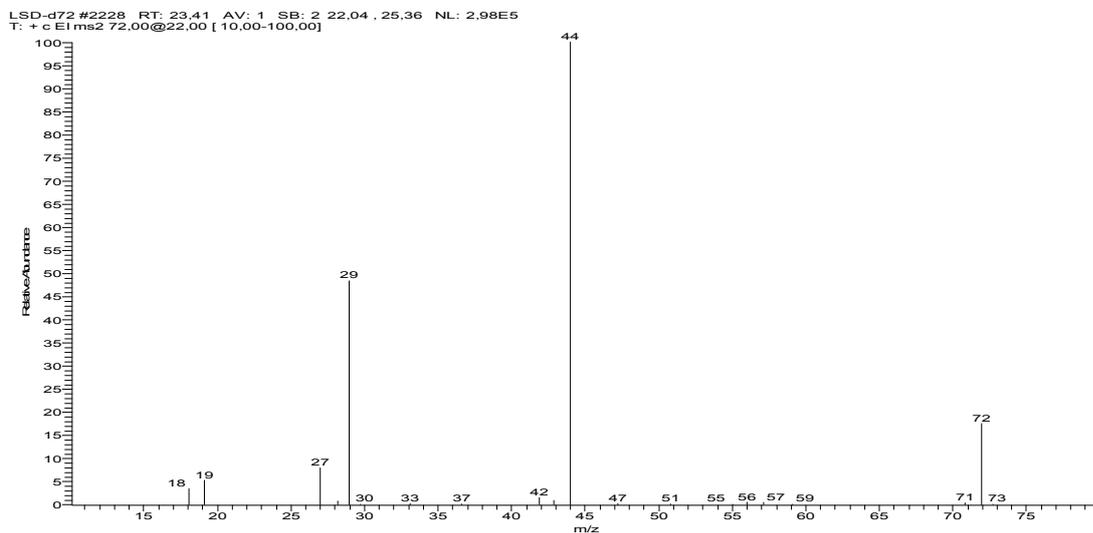


Abb. 4. Produktionspektrum m/z 72 von LSD.

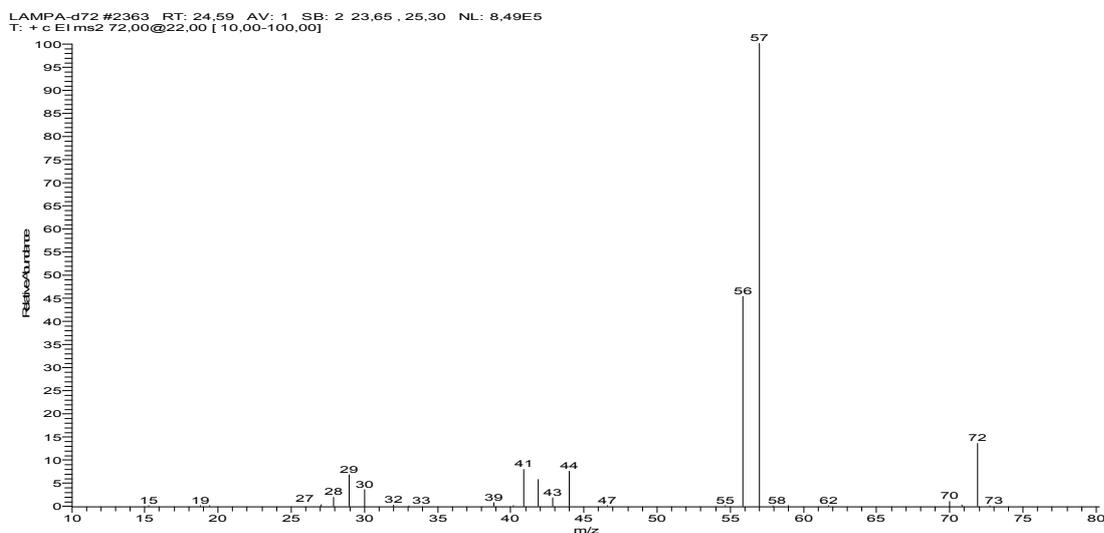


Abb. 5. Produktionspektrum m/z 72 von LAMPA.

Abb. 4 zeigt das Produktionenspektrum des Fragments m/z 72 von LSD, Abb. 5 das entsprechende Produktionenspektrum von LAMPA. Die Spektren unterscheiden sich aufgrund der verschiedenen Immoniumion-Strukturen erheblich: So bildet das Immoniumion von LSD (Abb. 4) beim weiteren Zerfall durch Olefinabspaltung offensichtlich ein intensives Fragment m/z 44, was das Immoniumion von LAMPA nicht tut. Dies mag der Grund dafür sein, dass in EI-Massenspektren von LSD das Fragment m/z 44 immer größer als das Fragment m/z 43 ist, während das bei LAMPA nicht der Fall ist (siehe Abb. 3). Auch das bereits bekannte LSB ließe sich durch Produktionenspektrometrie eindeutig von LSD und LAMPA unterscheiden, da das Produktionenspektrum m/z 72 des Immoniumions aus der N-sec-Butylamid-Struktur ebenfalls charakteristisch von den anderen Isomeren zu unterscheiden ist (Abb. 6).

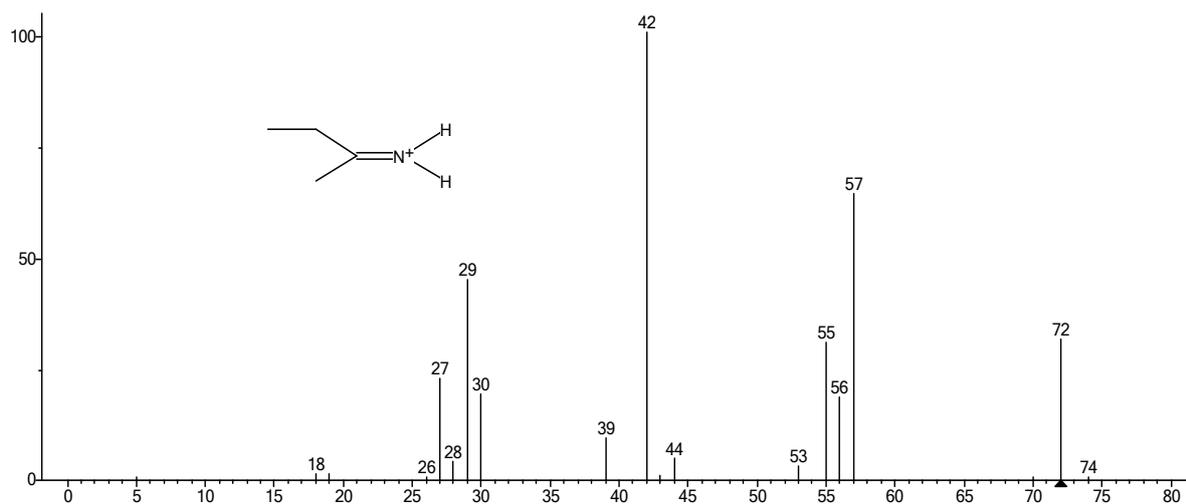


Abb. 6. Produktionenspektrum m/z 72 aus einer N-sec.-Butylamin-Struktur.

Die Leistungsfähigkeit des Verfahrens zeigt sich auch an der Analyse eines LSD-getränkten Zuckerwürfels (Abb. 7). Im Full-MS ergibt das LSD im TIC neben dem Lösungsmittelsignal, Oleamid aus der Spritze und dem Spritzenfilter sowie einigen Säulenmaterialpeaks nur einen kleinen Peak bei 22,89 min (Abb. 7a), immerhin mit einem noch passablen EI-Fullscan-Massenspektrum (Abb. 7b). Selbst aus diesem schwachen Signal lässt sich noch ein hervorragendes Produktionenspektrum erzeugen, das vollkommen identisch ist mit der dem N,N-Diethylamid entsprechenden Immoniumionenstruktur (Abb. 7c, Abb. 4).

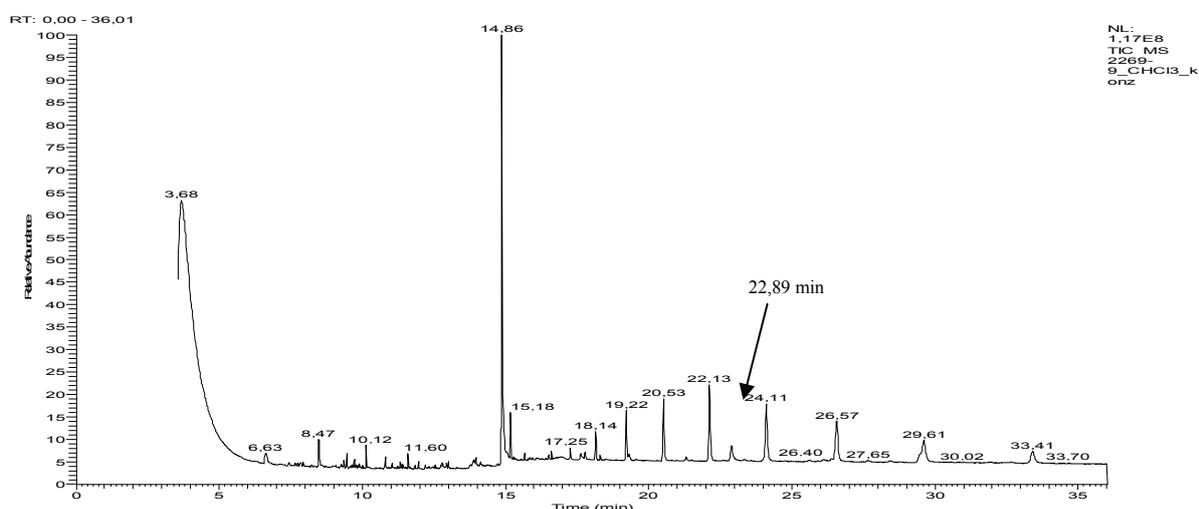


Abb. 7a. TIC eines Chloroformextraktes eines Zuckerwürfels.

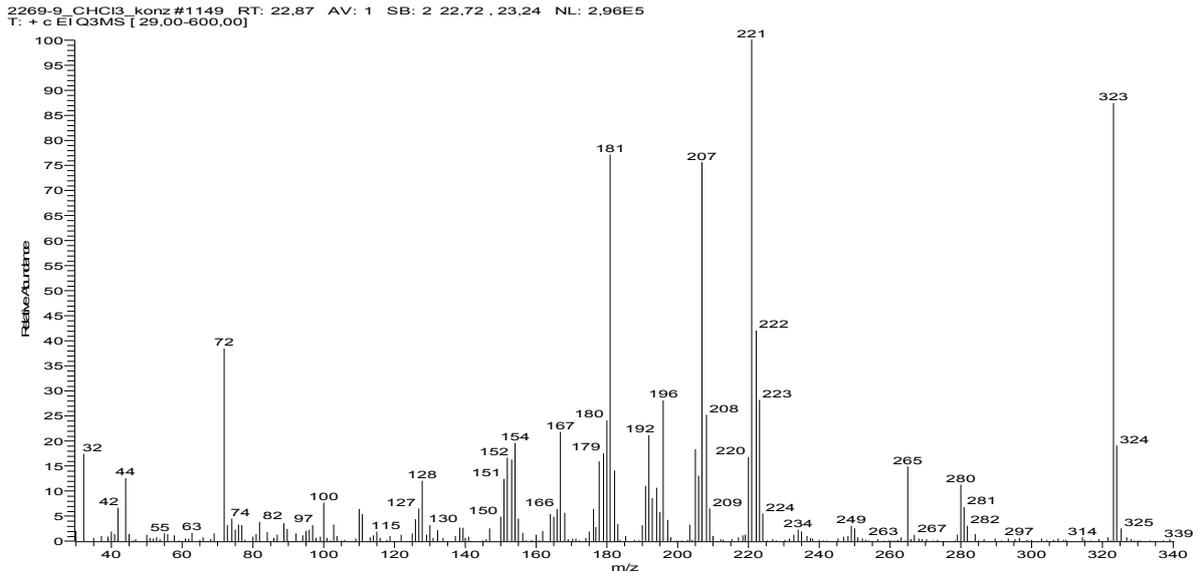


Abb. 7b. EI-Full-MS bei 22,89 min.

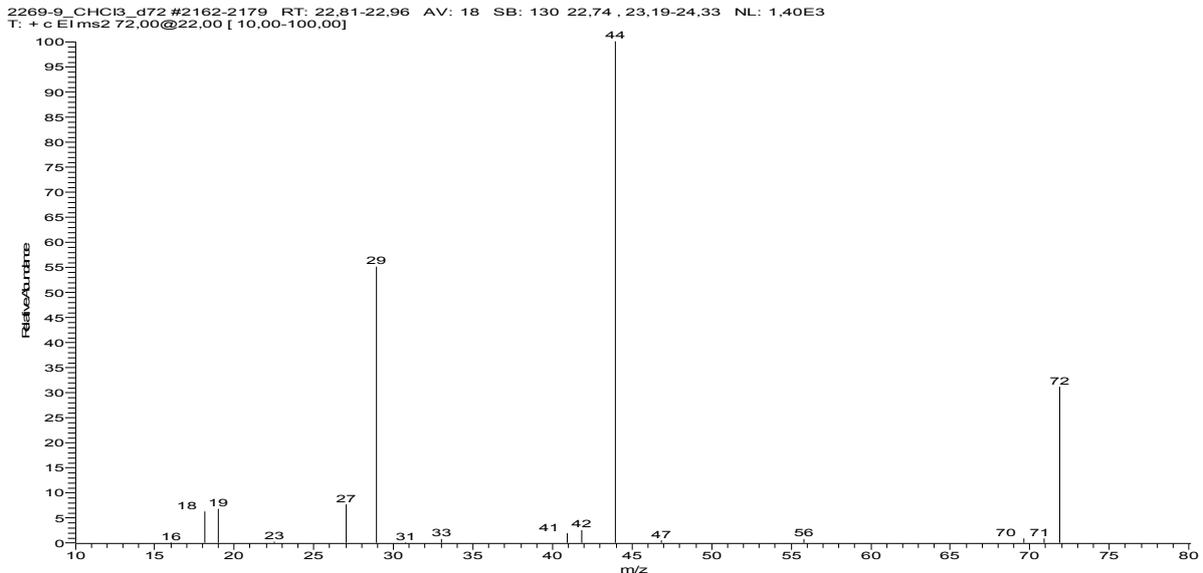


Abb. 7c. Produktionenspektrum m/z 72.

4. Literatur

- [1] Oberlender R, Pfaff RC, Johnson MP, Huang XM, Nichols DE. Stereoselective LSD-like activity in d-lysergic acid amides of (R)- and (S)-2-aminobutane. *J Med Chem* 1992 35(2):201-211.
- [2] 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.
- [3] Junge T, Rösner P, Westphal F. Daughter ion mass spectra of important organic ions, eine kostenlose Printversion kann von den Autoren angefordert werden.
- [4] Rösner P, Junge T. Investigation of the alkylamino group of aliphatic and arylaliphatic amines by collision-induced dissociation mass spectra of $C_4H_{10}N^+$ immonium ions. *J Mass Spectrom* 1996;31:1047-1053.