

*Aktuelne teme/
Current topics*

ZLOUPOTREBA JEDINJENJA
AMFETAMINSKE STRUKTURE

Correspondence to:

Doc. Dr sc. pharm. **Snežana Đorđević**,
Docent na Medicinskoj hemiji
Medicinskog fakulteta,
Univerziteta odbrane VMA
Vojnomedicinska akademija
Crnotravska 13
11000 Beograd
Tel. 011/36-09-481
Mob.tel. 060-336-70-38
E-mail: ivezicnela@yahoo.com

ABUSING OF AMPHETAMINE-TYPE
STRUCTURE COMPOUNDS

Vladimir Pikula¹, Kristina Denić², Branislava Rusić²,
Vladimir Nešić², Snežana Đorđević²

¹ Klinički centar Banja Luka; Apoteka, Banja Luka, Republika Srpsla

² Centar za kontrolu trovanja, Vojnomedicinska akademija, Beograd, Srbija

Ključne reči

amfetamini, urin, *screening*, hromatografija

Key words

amphetamines, urine, screening, chromatography

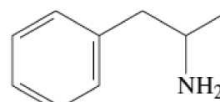
Sažetak

Od velikog broja sintetičkih jedinjenja amfetaminskog tipa koji se koriste kao sredstva zlouporabe najznačajniji su amfetamin, metamfetamin i njihovi „prsten“ supstituisani analozi, 3,4-metilendioksiamfetamin (MDA) i 3,4-metilendioksimetamfetamin (MDMA). Zbog velikog broja neželjenih efekata upotreba amfetaminskih supstanci u medicinske svrhe je brzo napuštena i danas se masovno koriste kao sredstva zlouporabe. Najčešće se uzimaju oralno u obliku tableta. Bez obzira na različite metaboličke puteve pojedinih predstavnika značajno je da se izlučuju putem urina, nepromenjeni u visokim koncentracijama, te urin predstavlja materijal izbora kada je u pitanju analitika amfetaminskih supstanci. Većina supstanci amfetaminskog tipa ispoljava stimulatívno psihomotorno dejstvo. Psihoaktivni učinak predstavlja mešavinu psihostimulativnog i halucinogenog (meskalinskog) delovanja. Analitičke metode koje se koriste za detekciju i određivanje amfetaminskih droga u biološkom materijalu dele se na *screening* metode (brza detekcija prisustva droge) i metode koje se koriste za potvrdu *screening* rezultata. Od *screening* ili preliminarnih tehnika najčešće se koristi imunohromatografija dok se za potvrdu koriste gasna ili tečna hromatografija najčešće sa masenim detektorom. Tečna hromatografija sa masenom spektrometrijom je metod koji se danas sve više koristi. Prednost ove metode u odnosu na GC/MS je u tome što se ovom metodom mogu analizirati neisparljive i termolabilne supstance i što ne zahteva prethodnu derivatizaciju ispitivanih supstanci. Toksikološke laboratorije sa brzim, pouzdanim i osetljivim analitičkim metodama za detekciju amfetamina predstavljaju značajnu kariku u borbi protiv ovog velikog problema.

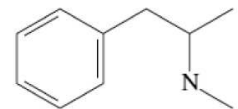
UVOD

U grupu jedinjenja amfetaminskog tipa spada veliki broj supstanci slične i relativno jednostavne hemijske strukture. Većina supstanci amfetaminskog tipa ispoljava stimulatívno psihomotorno dejstvo i predstavljaju „kontrolisane supstance“ budući da je njihova zlouporaba, pogotovo među mlađom populacijom veoma raširena. Opasnost i strah od širenja amfetaminskih supstanci kao sredstava zlouporabe je opravdana s obzirom na relativno jednostavne postupke sinteze, izvodljive u kućnim uslovima, koje ne zahtevaju specijalnu opremu i stručnost. Jedinjenja amfetaminske strukture su sintetičkog porekla. Ne izazivaju fizičku zavisnost, dok se psihička zavisnost javlja ređe i to kod onih osoba koje duži period koriste amfetaminske preparate. Nazivaju ih još i vikend droge i najčešće ih uzimaju mladi pri noćnim izlascima i provodima. Gotovo po pravilu uzimaju se peroralno u obliku tablete, često u kombinaciji sa alkoholom ili nekom drugom psihoaktivnom supstancom (1).

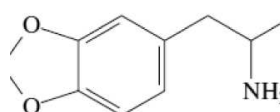
Najznačajniji predstavnici jedinjenja amfetaminskog tipa koji se zlouporabljavaju su amfetamin, metamfetamin i njihovi „prsten“ supstituisani analozi, 3,4-metilendioksiamfetamin (MDA) i 3,4-metilendioksimetamfetamin (MDMA) (1-2).



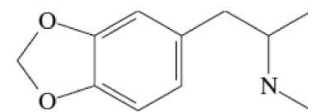
Amfetamin.



Metamfetamin.



3,4-Metilendioksiamfetamin (MDA).



4-Metilendioksimetamfetamin (MDMA).

Slika 1. Hemijske strukture najznačajnijih amfetamina

Istorijat

Amfetamin je prvi put sintetisan u Nemačkoj 1887. Njegova ozbiljna medicinska upotreba i masovna sinteza započela je dvadesetih godina prošlog veka kada je otkriveno da deluje bronhodilatatorno te se koristio u terapiji astme, polenske kijavice i prehlade. Ubrzo postaje dostupan kao OTC preparat u obliku tableta, koji se koristio u različitim indikacijama poput depresije, epilepsije, gojaznosti, narkolepsije, impotencije itd. Masovna upotreba amfetamina je zabeležena tokom Drugog svetskog rata tokom kojeg su, milionima vojnika, na različitim zaraćenim stranama, davani amfetaminski preparati kako bi se produžila budnost i povećala opšta psihomotorna izdržljivost. Zloupotreba amfetamina nastavljena je i nakon Drugog svetskog rata. Piloti, profesionalni vozači, studenti, sportisti i mnogi drugi u potrazi za dodatnim izvorom snage posežu za tabletama amfetamina, što je na kraju dovelo do pojave stotina hiljada slučajeva sa amfetaminskom psihozom. Danas se amfetamini u medicini koriste isključivo za lečenje poremećaja u koncentraciji dece (attention-deficit hyperactivity disorder) i narkolepsije. 3,4-Metilendioksimetamfetamin (MDMA) je sintetisala 1917. godine nemačka farmaceutska kompanija u pokušaju da stvori lek koji djeluje kao supresor apetita. Upotreba MDMA kao leka je brzo napuštena, a najveći medicinski i toksikološki značaj ima kao „ulična droga“ čija masovna zloupotreba započinje osamdesetih godina prošlog veka (1).

Putevi unosa i kinetika

Jedinjenja amfetaminskog tipa se najčešće primenjuju peroralno u vidu tableta, mada se mogu unositi i intravenozno ili *ušmrkivanjem* praha. Tablete se odlikuju raznolikošću boja, oblika, i veličina, često sa različitim vrstama utisnutih oznaka i simbola na površini. Raznolikost je prisutna kada je u pitanju sastav i sadržaj pojedinih aktivnih komponenti. Analize tableta pokazale su da se sadržaj aktivnih supstanci kreće od 50 mg do 150 mg, i da dolaze pojedinačno kao monokomponentne tablete ili u kombinaciji različitih supstanci amfetaminskog tipa.



Slika 2. Tablete koje sadrže jedinjenja amfetaminske strukture

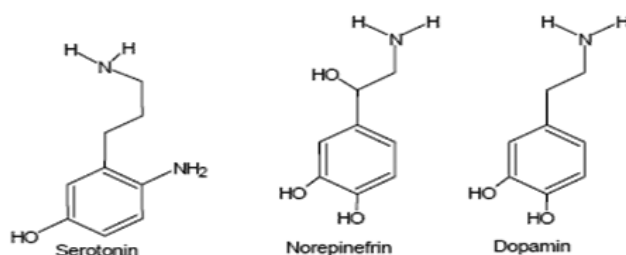
Amfetamini se brzo resorbuju iz gastrointestinalnog trakta. Nakon oralne primene maksimalne koncentracije u plazmi se postižu za 2 sata dok je poluvreme eliminacije 12-24 sata.

Razlike u hemijskoj strukturi pojedinih predstavnika amfetaminskih droga dovode i do razlika u njihovom metabolizmu.

Glavni metabolički put amfetamina se odvija u jetri, uključuje oksidativnu deaminaciju do fenilacetona koji daljom oksidacijom prelazi u benzoevu kiselinu i izlučuje se urinom u obliku konjugata hipurne i glukuronske kiseline. U manjem procentu, dolazi do aromatične hidroksilacija amfetamina, pri kojoj nastaje 4-hidroksiamfetamin (aktivni metabolit). Takođe, moguće su i N-hidroksilacija do hidroksilamin metabolita i beta hidroksilacija (3).

3,4-metilendioksimetamfetamin (MDMA) se nakon N-demetilacije pod katalitičkim uticajem enzima CYP2D6 prevodi u 3,4-metilendioksimetamfetamin (MDA) koji je aktivni metabolit i zadržava farmakološke efekte MDMA. MDMA i MDA podležu metaboličkim reakcijama O-demetilacije pri čemu nastaju odgovarajući 3,4-dihidroksiderivati koji se pod uticajem katehol-orto-metiltransferaza (COMT) prevode u 4-hidroksi-3-metoksimetamfetamin i 4-hidroksi-3-metoksi-amfetamin. Svi nastali metaboliti izlučuju se iz organizma putem urina u obliku konjugata glukuronida i sulfata (3-4).

Iako pojedini predstavnici amfetaminskih droga imaju različitu hemijsku strukturu i podležu različitim metaboličkim reakcijama, posebno je značajna činjenica, da se svi u najvećoj meri izlučuju urinom u nepromenjenom obliku. Koncentracije nepromenjenih supstanci u urinu, prema nekim literaturnim podacima su relativno visoke što je od velikog značaja sa aspekta analitičke toksikologije i omogućavaju pouzdano dokazivanje i određivanje navedenih supstanci (5).



Slika 3. Hemijska struktura neurotransmitera

Toksikodinamika

Sintetičke amfetaminske droge su po svom hemijskom sastavu i farmakološkom efektu slične prirodnim neurotransmiterima norepinefrinu, dopaminu i serotoninu. Psihoaktivni učinak predstavlja mešavinu psihostimulativnog i halucinogenog (meskalinskog) delovanja koji proizilazi iz interakcija sa različitim neurotransmitterskim strukturama i mehanizmima njihovih prirodnih analoga (2).

Predklinička i klinička ispitivanja govore da amfetaminski derivati nakon unošenja u organizam brzo dovode do oslobađanja monoaminskih neurotransmitera (serotoniona, norepinefrina i dopamina). Uticaj ovih jedinjenja na

pražnjenje pojedinih neurotransmiterskih depoa je različit i neselektivan jer u nejednakom stepenu deluju gotovo po svima. Ovakvo delovanje se manifestuje u vidu euforije, empatije, gubitka kontaktne inhibicije, povećane energetske izdržljivosti. Pored ovih željenih efekata redovno se ispoljavaju i neželjeni efekti u vidu halucinacija, depersonalizacije, agitiranosti bizarnog ponašanja i slično. Amfetaminske droge mogu razviti i druge toksične efekte kao što su: hiponatrijemija, hipertenzija, tahikardija, maligna aritmija, oštećenja jetre, edem pluća, diseminovana inravaskularna koagulacija. Toksični efekti ovih droga često dovode do letalnog ishoda. Prema literaturnim podacima i rezultatima postmortem analiza na sadržaj amfetaminskih supstanci u različitom biološkom materijalu govore da ne postoji jasna korelacija između unešene doze i smrtnog ishoda. Ovakvi rezultati se objašnjavaju prvenstveno interindividualnim razlikama u brzini metabolizma amfetaminskih droga kao i činjenici da se pomenute droge najčešće uzimaju u kombinaciji sa nekim drugim psihoaktivnim supstancama (alkohol, opijati morfinske strukture, kokain, THC i sl.) pri čemu se njihov farmakološki potencijal višestruko uvećava (4).

Analitika

Analitičke metode koje se koriste za detekciju i određivanje amfetaminskih droga u biološkom materijalu mogu se podeliti na *screening* metode (brza detekcija prisustva droge) i metode koje se koriste kada je neophodna pouzdanija potvrda *screening* rezultata. Od *screening* ili preliminarnih tehnika u analitici amfetaminskih jedinjenja uglavnom se koristi imunohromatografija (*multi drug* test trake) dok se za pouzdaniju potvrdu koriste gasna ili tečna hromatografija najčešće sa masenim detektorom (6-7).

Urin je materijal izbora kada je u pitanju analitika amfetaminskih supstanci. Kako se amfetaminski derivati brzo izlučuju iz organizma u nepromenjenom obliku nije potrebna bilo kakva hidroliza konjugata i u tu svrhu predpriprema materijala. Izolacija supstanci je efikasna jednostavnim alkalnom ekstrakcijom pomoću hloroforma ili metodom čvrsto-fazne ekstrakcije (SPE) (4,6-7).

Imunohromatografija. Kao skrining testovi često se primjenjuju test trake za detekciju sredstava zloupotrebe, koji se zasnivaju na imunohromatografiji. Ovi imunotestovi se najčešće primjenjuju u analizi uzoraka urina na prisustvo različitih grupa sredstava zloupotrebe kao što su amfetamini, kanabinoidi, opijati morfinske strukture, kokain, benzodiazepini (tzv. multi-trake). Prednost ovog testa je u tome što nema prethodne pripreme uzorka, a sama analiza traje relativno kratko. Takođe, mali je broj jedinjenja koja mogu interferirati i dovesti do lažno pozitivnih rezultata (6-7).

S obzirom na visoke koncentracije amfetamina u urinu oni se mogu detektovati i odrediti metodom HPLC sa PDA detektorom, koja je takođe *screening* metoda. K. Denić i saradnici za određivanje MDMA i MDA preporučuju razdvajanje na C8 koloni uz korišćenje mobilne faze acetonitril: fosfatni pufer pH 3,6 (15:85) i kompjuterske biblioteke UV spektara za identifikaciju analita (4).

Đorđević i sar. su prikazali metodu višekolonske tečne hromatografije sa UV detektorom kao *screening* metodu za određivanje MDMA i njegovih metabolita (MDA i HMMA) (8).

Za svaki pozitivan rezultat nakon neke od primenjenih *screening* metoda, neophodna je maseno-spektrometrijska potvrda pogotovo ukoliko se radi o sudsko-medicinskim veštačenjima.

Gasna hromatografija sa maseno-spektrometrijskim detektorom (GC-MS), po mnogim autorima je metod izbora za potvrdu prisustva i kvantifikaciju supstanci amfetaminskog tipa u različitom biološkom materijalu. Kao i druge hromatografske tehnike, separacija uzoraka vrši se na osnovu različite raspodele između gasa (mobilne faze) i stacionarne faze smještene u koloni (9-11).

Karačić i saradnici opisuju uslove za određivanje amfetaminskih droga GC-MS metodom. Razdvajanje amfetamina od komponenti matriksa vršeno je na DB-5 kapilarnoj koloni uz korišćenje helijuma kao mobilne faze. Limit detekcije za amfetaminske supstance ovom metodom bio je sledeći: amfetamin 10 ng/mL, metamfetamin 3 ng/mL, MDMA 8 ng/mL, MDA 4 ng/mL. Postupak određivanja amfetaminskih derivata metodom gasne hromatografije sa masenom detekcijom zahteva prethodnu derivatizaciju analiziranih supstanci čime se prevode u isparljiva jedinjenja. Za derivatizaciju amfetaminskih droga najčešće se koriste anhidrid heptafluorobuterne kiseline (HFBA), anhidrid trifluorsirćetne kiseline (TFA) i anhidrid pentafluoropropionske kiseline (PFPA) (9).

Tečna hromatografija sa masenom spektrometrijom je metod koji se danas sve više koristi. Prednost ove pouzdane i osetljive metode u odnosu na GC/MS je u tome što se ovom metodom mogu analizirati neisparljive i termolabilne supstance i što ne zahteva prethodnu derivatizaciju ispitivanih supstanci. Poslednjih godina razvijen je veliki broj rutinskih metoda za brzu i jednostavnu analizu amfetaminskih supstanci primenom tečne hromatografije sa maseno-spektrometrijskim detektorom (12-14). Primenom tečne hromatografije sa jonizacijom pod atmosferskim pritiskom i tandem maseno-spektrometrijskim detektorom (LC-APCI-MS/MS), kako predlažu autori Matis i sar. moguće je efikasno i brzo odrediti različite predstavnike amfetaminskih supstanci. Uzorci su analizirani LC-APCI-MS/MS sistemom na C18 koloni, gradijentnim protokom mobilne faze (A: H₂O + 2mM amonijumacetat, B: MeOH + 2mM amonijumacetat) od 0,3 mL/min. U toku analize za detekciju pojedinih amfetamina praćeni su sledeći molekularni i fragmentni joni (multiple-reaction monitoring mode): amfetamin m/z 136, 91 i 65; metamfetamin m/z 150, 91 i 115; MDMA m/z 194, 163 i 105; MDA m/z 180, 135 i 133; Ukupno vreme trajanja analize je 8 minuta. Limit detekcije za amfetaminske supstance ovom metodom bili su: za amfetamin 39,1 ng/mL, metamfetamin 4,9 ng/mL, MDMA 4,9 ng/mL, MDA 39,1 ng/mL (12).

Zaključak

Zloupotreba droga amfetaminskog tipa kao relativno „jeftinog” izvora zabave predstavlja veliki problem savremenog društva. Opasnost od širenja zloupotrebe je utoliko veća s obzirom na jednostavnu sintezu i laku dostupnost. Zbog sve češće zloupotrebe ovih jedinjenja, koja se neretko završavaju sa letalnim ishodom, toksikološke laboratorije sa brzim, pouzdanim i osetljivim analitičkim metodama za njihovu detekciju predstavljaju značajnu kariku u borbi protiv ovog, sve većeg problema.

Abstract

Among large number of synthetic amphetamine-type compounds that are used as a drugs of abuse the most significant are amphetamine, methamphetamine and their „ring” substituted analogues, 3,4-methylenedioxyamphetamine (MDA) and 3,4-methylenedioxyamphetamine (MDMA). Due to the large number of side effects the usage of amphetamine-type substances in medical purposes was abandoned, and nowadays they are widely used as drugs of abuse. They are most commonly taken orally in a form of a tablet. Despite of the different metabolic pathways of individual representatives it is important that all of them are excreted in urine, unchanged and at high concentrations. This makes urine the material of choice when it comes to analytics of amphetamine-type substances. The most of the amphetamine-type substances have psychomotor stimulant effect. Psychoactive effects are a mixture of psycho stimulating and hallucinogenic (mescaline) activity. Analytical methods for the detection and determination of amphetamines in biological material are divided into *screening* methods (rapid detection of the presence of drugs), and methods that are used for confirmation *screening* results. Commonly used *screening* (preliminary) technique is the immunochromatography, whereas confirmation techniques are gas or liquid chromatography, most frequently coupled with mass detector. Liquid chromatography-mass spectrometry is a method that nowadays is being used increasingly. The advantage of this method compared to GC/MS is that this method can analyze volatile and thermo labile substances and does not require previous derivatization of the analyte. Toxicology laboratories with fast, reliable and sensitive analytical methods for the detection of amphetamines represent an important link in the fight against this major problem.

LITERATURA

1. S. Karch, A Historical Review of MDMA, Berkeley, California 94705, USA
2. Ž. Maličević, M. Ninković, I. Vasiljević, V. Selaković, M. Jovanović, N-metil 3,4-metilendioksi-amfetamin, „ekstazi“ – biohemijski, farmakološkii toksički efekti, Vojnosanit. Pregl. 2005; 62(6): 467-475
3. Kalant H, The pharmacology and toxicology of “ecstasy” (MDMA) and related drugs, CMAJ, 2001,165,917-928
4. K. Denić, B. Rusić, S. Đorđević, N. Krstić, D. Rančić, V. Kilibarda, N. Vukčević-Perković, J. Jović-Stošić, Trovanje amfetaminima: postoji li specifična toksična koncentracija? Prikaz dva slučaja intoksikacije amfetaminom i „ecstasy“-ijem, Med.Data Rev. 2012; 4(3):329-334
- 5 A. Schwaninger, M. Meyer, A. Barnes, E. Kolbrich-Spargo, D. Gorelick, R Goodwin, M. Huestis, H Maurer, Urinary excretion kinetics of 3,4-methylenedioxyamphetamine (MDMA, ecstasy) and its phase I and phase II metabolites in humans following controlled MDMA administration, Clin Chem, 2011;57(12):1748-56.
6. United Nations, Office of Drugs and Crime, Recommended methods for the identification and analysis of Amphetamine, metamphetamine and their ring-substituted analogues in seized materials
7. Michael D. Cole, The Analysis of Controlled Substances, ISBNs: 0-471-49252-3 (HB); 0-471-49253-1 (PB)
8. S Đorđević, G. Tomašević, Trovanje tabletama ekstazija sa smrtnim ishodom, Vojnosanit. pregl. 2007 64(9): 635-638
9. V.Karačić, Lj.Skender, Analysis of drug of abuse in urine by gas chromatography/mass spectrometry: experience and application, Arh Hig Rada Toksikol 2000;51:389-400
10. V. Maresová, J. Chadt, L. Prikryl, Simultaneous determination of amphetamines and amphetamine-derived designer drugs in human urine by GC-MS, Neuro. Endocrinol. Lett, 2006;27 Suppl 2:121-4
11. K. Klette, M. Jamerson, C. Morris-Kukoski, A. Kettle, J Snyder, Rapid simultaneous determination of amphetamine, methamphetamine, 3,4-methylenedioxyamphetamine, 3,4-methylenedioxyamphetamine, and 3,4-methylenedioxyethylamphetamine in urine by fast gas chromatography-mass spectrometry, J. Anal. Toxicol. 2005;29(7):669-74
12. C. Matthys, A. Verstraete, A rapid and sensitive liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for the determination of amphetamine and related designer drugs in urine, Ann Toxicol Anal 2005, 17, 65-70
13. M. Nieddu, G. Boatto, M. Pirisi, E. Azara, M. Marchetti, LC-MS analysis of trimethoxyamphetamine designer drugs (TMA series) from urine samples, J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Sci. Life, 2008;867(1):126-30
14. N. Schaefer, B. Peters, P. Schmidt, A. Ewald, Development and validation of two LC-MS/MS methods for the detection and quantification of amphetamines, designer amphetamines, benzoylcegonine, benzodiazepines, opiates, and opioids in urine using turbulent flow chromatography, Anal. Bioanal. Chem. 2013;405(1):247-58