

# ŚMIERTELNE INTOKSYKACJE PARAMETOKSYAMFETAMINĄ NA TERENIE WOJEWÓDZTWA POMORSKIEGO ORAZ MOŻLIWOŚĆ SZYBKIEGO I MIARODAJNEGO DIAGNOZOWANIA ZATRUĆ METODĄ MIKROEKSTRAKЦИИ DO FAZY STAŁEJ (SPME)

**Marek Wiergowski<sup>1</sup>, Krystyna Reguła<sup>1</sup>, Beata Szpiech<sup>1</sup>,  
Jacek Sein Anand<sup>2</sup>, Wojciech Waldman<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> Katedra i Zakład Medycyny Sądowej Akademii Medycznej w Gdańsku

<sup>2</sup> Klinika Chorób Wewnętrznych i Ostkich Zatruc  
Akademii Medycznej w Gdańsku

## CEL PRACY

Celem pracy było przedstawienie śmiertelnych przypadków intoksykacji parametoksyamfetaminą (PMA), które miały miejsce na terenie województwa pomorskiego w 2000 roku oraz prezentacja szybkiej i miarodajnej metody wykrywania wybranych amfetamin w materiale biologicznym osób zatrutych PMA, za pomocą mikroekstrakcji do fazy stałej (SPME).

## WSTĘP

Od ponad dziesięciu lat obserwuje się stopniowo rosnący trend do używania przez młodzież substancji psychoaktywnych (1, 3, 5, 14, 15). Szczególną popularnością cieszą się wśród nich kanabinoidy oraz amfetamina i jej pochodne (3).

Substancje amfetaminopodobne nadużywane są w kilkudziesięciu krajach świata, a liczba osób je stosujących szacuje się na ponad 6 mln. Największa częstość ich nadużywania odnotowywana jest w Hondurasie (u 7,6% populacji dorosłej), Brazylii (2%) i Australii (1,7%) (5). W badaniach Pacha i wsp. przeprowadzonych w Krakowie wśród osób uzależnionych, łączne stosowanie amfetaminy wraz z innymi narkotykami dotyczyło 20% probantów (11). W badaniach własnych potwierdzono, że w populacji studentów i uczniów szkół średnich Trójmiasta najbardziej popularnymi narkotykami były kanabinoidy oraz amfetamina (3, 4).

Do najważniejszych i najczęściej stosowanych pochodnych amfetamin należą 3,4-metylenodioksymetamfetamina (MDMA), 3,4-metylenodioksyamfetamina (MDA), 3,4-metylenodioksyetylamfetamina (MDE), metamfetamina, parametoksymetamfetamina (PMMA) i parametoksyamfetamina (PMA).

## Ostre zatrucia parametoksyamfetaminą

PMA wyróżnia się znaczną toksycznością i wchodzi w skład niektórych narkotyków rozprowadzanych zwykle jako MDMA, o popularnej nazwie „ekstaza”. Pierwsze przypadki śmiertelne spowodowane przyjmowaniem PMA pochodzą z prowincji Adelaide w Południowej Australii (2). PMA zażywana jest jako narkotyk w dawkach ok. 40–60 mg. Zdarza się jednak dość często, że parametoksyamfetamina sprzedawana jest jako „ekstazy”, której dawkowanie jest znacząco większe, ok. 80-160 mg. Godnym podkreślenia jest fakt, że PMA jest jedną z najbardziej toksycznych pochodnych amfetaminy, a zatrucia nią dość często kończą się zgonem (2, 6, 7, 8, 9, 10).

## **Przypadki zatruc parametoksyamfetaminą w województwie pomorskim w 2000 roku**

W okresie od sierpnia do grudnia 2000 r. w I Klinice Chorób Wewnętrznych i Ostrych Zatruc Akademii Medycznej w Gdańsku hospitalizowano dwóch chorych o obrazie klinicznym odpowiadającym ciężkiemu zatruciu amfetaminą. Obie hospitalizacje zakończyły się zgonem pacjentów. W tym samym czasie do Katedry i Zakładu Medycyny Sądowej AMG dostarczono zwłoki kolejnych pięciu denatów podejrzanych o zatrucie amfetaminą lub jej pochodnymi.

Poniżej opisano okoliczności zgonu trzech z siedmiu osób śmiertelnie zatrutych parametoksyamfetaminą.

### **Przypadek 1**

*W dniu 13 sierpnia 2000 r. w domku letniskowym kobieta w towarzystwie trzech mężczyzn podczas libacji alkoholowej spożyła dodatkowo 2–3 porcje środka, zakupionego po okazjnie niskiej cenie, w jednym z gdańskich lokali jako „ekstaza”. Po kilku godzinach u kobiety pojawiła się wysoka temperatura, uczucie szybkiego bicia serca oraz jakościowe zaburzenia świadomości, po których doszło do utraty przytomności i licznych, następujących po sobie napadów drgawkowych. Pomimo rozpoczętej przez współbiesiadników akcji reanimacyjnej przybyły na miejsce lekarz Pogotowia Ratunkowego stwierdził zgon.*

### **Przypadek 2**

*W dniu 9 października 2000 r. do Głównej Izby Przyjęć AMG przywieziono 21-letniego mężczyznę z powodu nagłego zatrzymania krążenia w przebiegu ostrego zatrucia substancjami odurzającymi. Rozpoczęta w karetce i kontynuowana przez ponad dwie godziny w szpitalu akcja reanimacyjna nie powiodła się. W trakcie reanimacji stwierdzano u chorego hipertermię, liczne napady drgawek, nawracające migotanie komór, hiperkaliemię i hipoglikemię. Po ok. 30 min do Izby Przyjęć AMG zgłosił się kolega denata, który poinformował lekarzy, że podczas zabawy w dyskotecę mężczyzna przyjął 3-4 tabletki UFO. Nowy preparat był dwukrotnie tańszy niż dotychczas używane przez nich tabletki „ekstazy”.*

### **Przypadek 3**

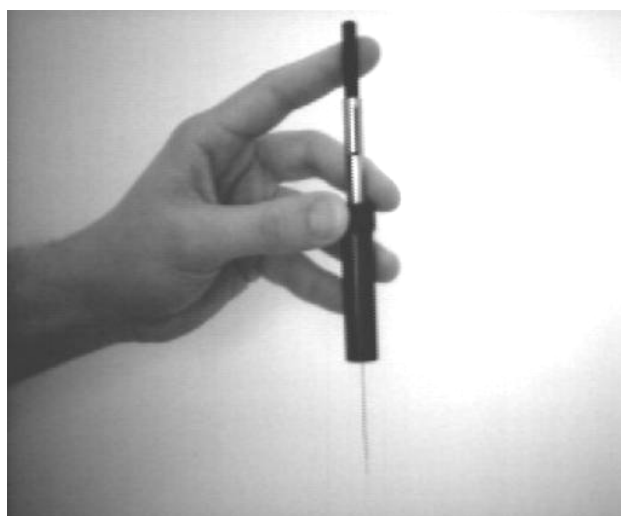
*W dniu 31 grudnia 2000 r. 26-letni mężczyzna uczestniczył w zabawie sylwestrowej w Gdyni. Po kilkunastu minutach od przyjęcia ok. 5 tabletek zakupionych po bardzo okazjnej cenie jako „ekstazy”, doszło do utraty przytomności. Mężczyzna został przewieziony do Szpitala Miejskiego w Gdyni, a następnie do I Kliniki Chorób Wewnętrznych i Ostrych Zatruc Akademii Medycznej w Gdańsku. W trakcie krótkiej obserwacji w Klinice doszło do licznych napadów drgawkowych, a następnie nagłego zatrzymania krążenia w mechanizmie asystolii. Przeprowadzona akcja reanimacyjna okazała się nieskuteczna.*

W związku z koniecznością – zarówno dla celów klinicznych, jak i orzecznich, oznaczania pochodnych amfetamin, a w szczególności parametoksyamfetaminy, w materiale biologicznym osób zatrutych zwrócono się do Katedry i Zakładu Medycyny Sądowej AMG w celu wdrożenia szybkiej i miarodajnej metody ich oznaczania.

## **MATERIAŁ, METODA I PROCEDURA ANALITYCZNA OZNACZANIA AMFETAMIN**

Badaniom poddano tabletkę UFO oraz krew i mocz siedmiu denatów zmarłych z powodu zatrucia PMA. Skład tabletki UFO analizowano z wykorzystaniem chromatografu gazowego z detektorem spektrometrii mas – GC/MS, po uprzednim ilościowym rozpuszczeniu tabletki w etanolu (aparatury GC/MSD HP5972 firmy Hewlett Packard, kolumna kapilarna CP-SIL 8CB LOW BLEED/MS firmy „Chrompack” – długość 30 m, średnica wew. 0,25 mm, grubość fazy 0,25 µm, temperatura

programowana od 50°C do 280°C, temperatura dozownika 240°C, gaz nośny – hel, tryb przemieszczania po jonach SCAN – od 30 do 400 u).



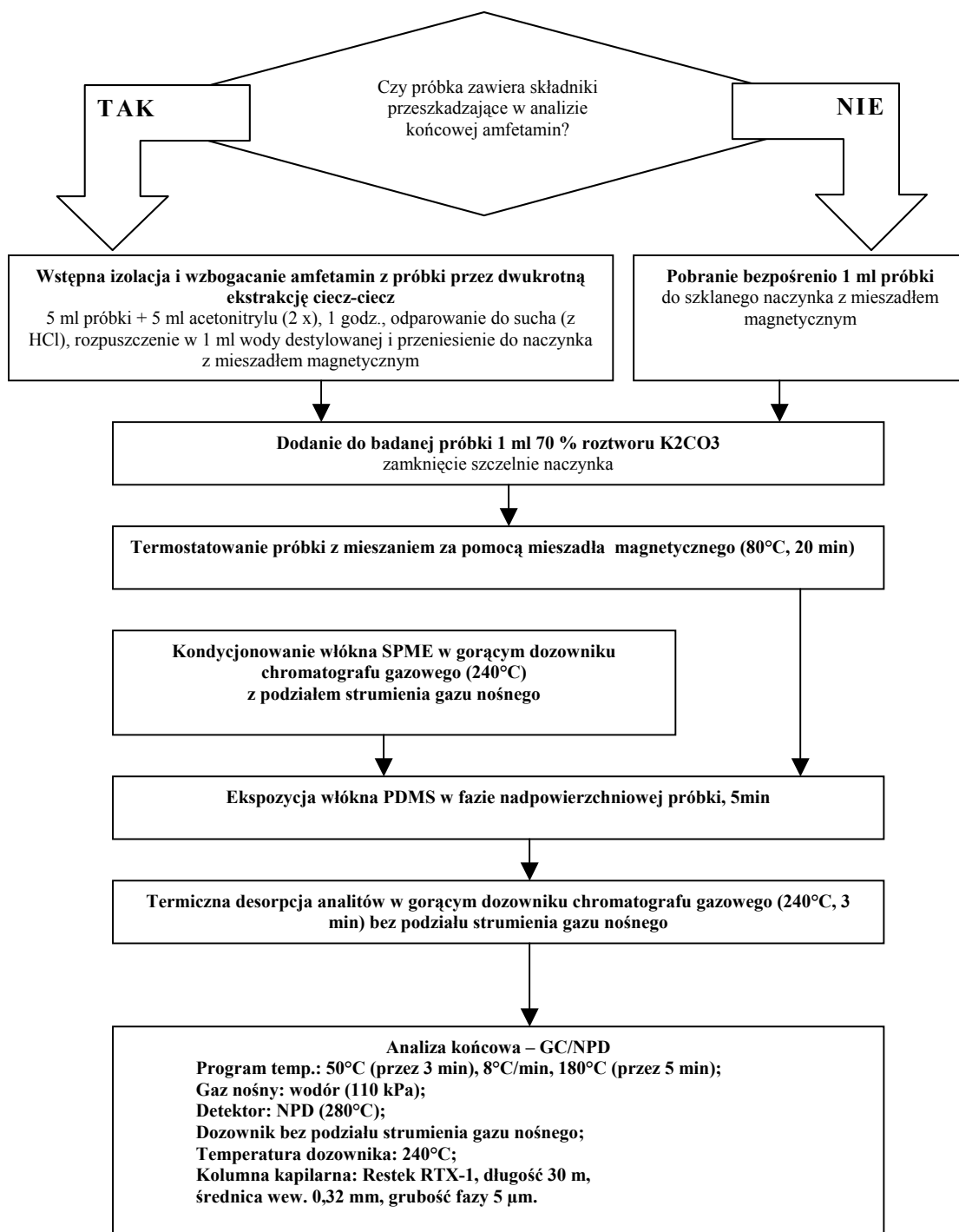
Ryc. 1. Strzykawka SPME do ręcznego nastrzykiwania z włóknem kwarcowym pokrytym fazą polidimetylosiloksanu (PDMS) o grubości 100  $\mu\text{m}$  i długości 1 cm (urządzenie firmy „Supelco”).

Przesiewowej analizy próbek płynów biologicznych (krew i mocz) pobranych od denatów dokonano z wykorzystaniem szybkiej i swoistej metody immunofluorescencji w świetle spolaryzowanym – FPIA (aparat i testy TD<sub>x</sub> firmy Abbott).

Każdy dodatni wynik badania zatrucia amfetaminami potwierdzano metodą mikroekstrakcji do fazy stałej SPME w fazie nadpowierzchniowej – HS (zestaw do SPME firmy „Supelco” składający się ze strzykawki SPME, włókna sorpcyjnego pokrytego fazą polidimetylosiloksanu PDMS o grubości 100  $\mu\text{m}$  i długości 1 cm, termostatowane mieszadło magnetyczne), z końcowym oznaczeniem z wykorzystaniem chromatografu gazowego z detektorem termojonowym – GC/NPD (chromatograf gazowy GC8160 firmy „Fisons”, kolumna kapilarna firmy „Restek” RTX-1 – długość 30 m, średnica wew. 0,32 mm, grubość fazy 5  $\mu\text{m}$ , temperatura programowana od 50°C do 180°C, gaz nośny: wodór 110 kPa, temp. detektora NPD: 280°C, temperatura dozownika: 240°C).

Urządzenie do SPME ma kształt zbliżony do strzykawki. Najważniejszym jego elementem jest włókno kwarcowe pokryte fazą sorbentu. Procedura analityczna SPME obejmuje zasadniczo dwa podstawowe etapy: sorpcji i desorpcji analitów z włókna sorpcyjnego.

Procedura analityczna HS/SPME–GC/NPD oparta jest na sorpcji analitów na włóknie polidimetylosiloksanu – PDMS (100  $\mu\text{m}$ ) po dodaniu do próbek wodnego roztworu K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> i uwolnieniu analitów w temperaturze 80°C. Zastosowaną w badaniach procedurę oznaczenia amfetamin przedstawiono szczegółowo na ryc. 2.



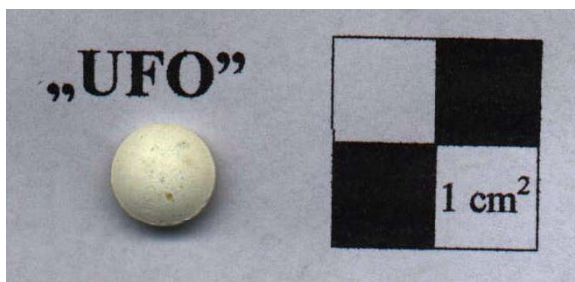
Ryc. 2. Zastosowana procedura analityczna oznaczania amfetamin metodą HS/SPME-GC/NPD.

Procedura szybkiej analizy amfetamin SPME wymaga niemal zawsze kondycjonowania włókna sorpcyjnego w gorącym dozowniku chromatografu gazowego (lub w specjalnych piecach z nadmuchem gazu obojętnego) przez czas konieczny do oczyszczenia włókna, czyli w praktyce od pół godziny do nawet kilku godzin (oczyszczanie włókna najlepiej więc przeprowadzać okresowo w zależności od liczby wykonywanych analiz). Dopiero po tym etapie można przystąpić do przygotowania próbki moczu i krwi do analizy końcowej. Procedura analityczna oznaczania uwzględnia możliwość usunięcia substancji przeszkadzających z matrycy biologicznej krwi przez dwukrotną ekstrakcję ciecz–ciecz acetonitrylem.

Wykorzystane w badaniach odczynniki chemiczne posiadały czystość wymaganą do analizy chemicznej (producent – firma „Merck”), natomiast wzorce analityczne amfetamin przygotowane w metanolu o stężeniu 1 mg/ml (amfetamina, metamfetamina, MDMA oraz chlorowodorek PMA) były wyprodukowane przez firmę RADIAN (dystrybucja – „Promochem”).

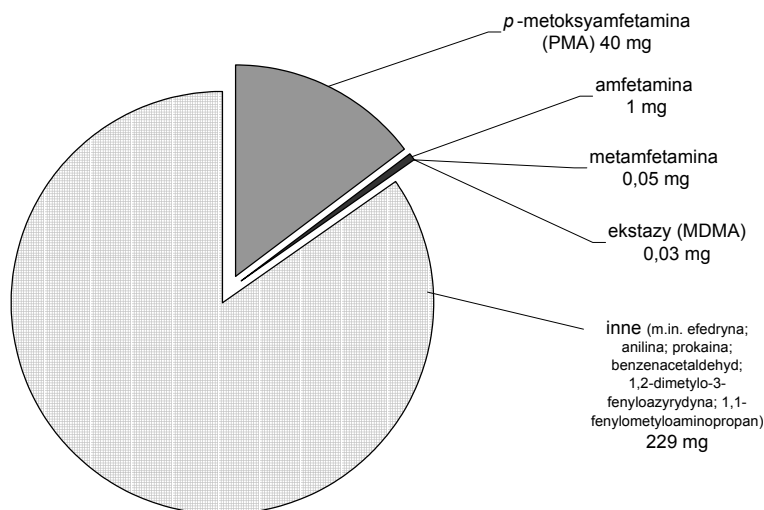
### WYNIKI

Na ryc. 3 przedstawiono tabletkę UFO koloru biało-żółtego z szarymi wtrąceniami, zawierającą głównie PMA, która była sprzedawana w Trójmieście w 2000 roku.

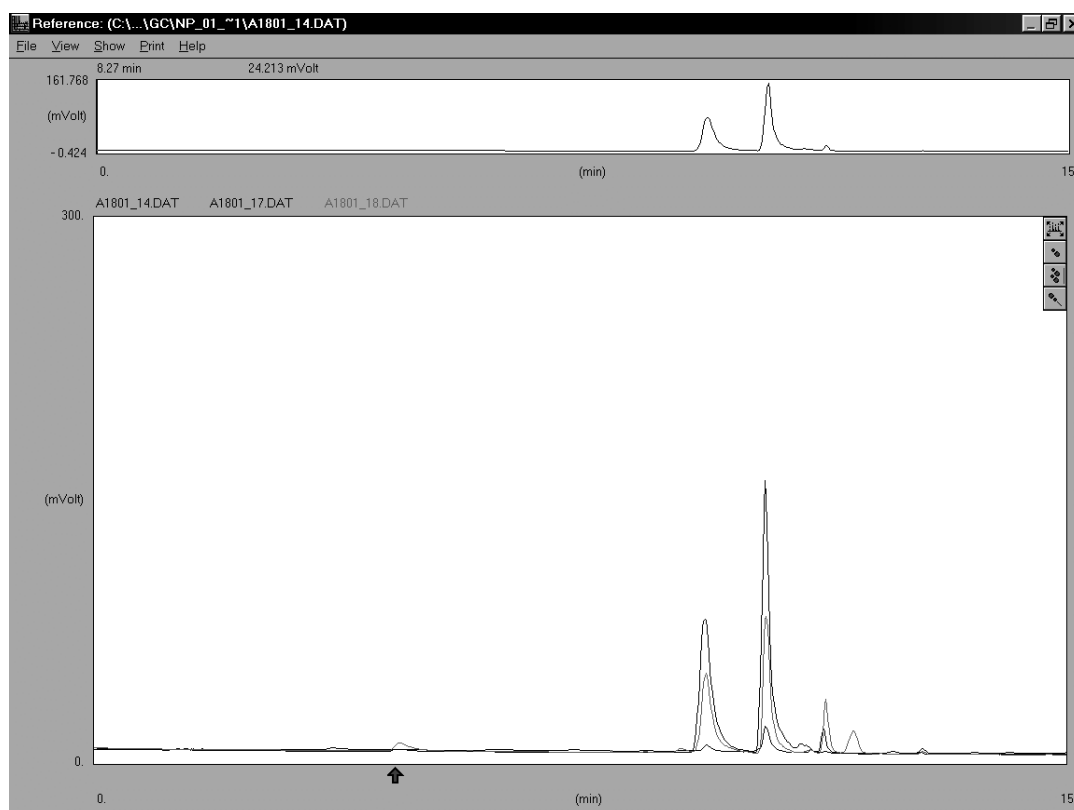


Ryc. 3. Tabletkę „UFO” sprzedawana w Gdańsku w 2000 roku.

Na ryc. 4 przedstawiono wyniki analizy chromatograficznej GC/MSD ekstraktu tabletki UFO zabezpieczonej w Gdańsku w 2000 roku, w której oprócz silnie toksycznej p-metoksyamfetaminy wykryto także efedrynę, ekstazę, amfetaminę, prokainę oraz anilinę. Skład ilościowy amfetamin określono i potwierdzono metodą HS/SPME-GC/NPD. Przeprowadzone badania wykazały, że jedna tabletkę UFO zawierała w swoim składzie 40 mg parametoksyamfetaminy, 1,0 mg amfetaminy, 0,05 mg metamfetaminy, 0,03 mg 3,4-metylenodioksyamfetaminy.



Ryc. 4. Skład chemiczny tabletki „UFO” (masa ok. 270 mg).



Ryc. 5. Porównanie analizy chromatograficznej HS/SPME–GC/NPD próbki krwi i moczu pochodzących od 20-letniego mężczyzny śmiertelnie zatrutego UFO w dniu 27.08.2000 r. z próbką ekstraktu tabletki „UFO”.

Bezpośrednia analiza próbek krwi i moczu w większości przypadków dawała odzysk analitów w granicach 70–80% (tylko niekiedy wystąpiła konieczność zastosowania ekstrakcji ciecz-ciecz przed analizą HS/SPME-GC/NPD). Liniowość pomiarów wyrażona współczynnikiem  $R^2$  wynosiła 0,94–0,98 dla badanych amfetamin (amfetamina, metamfetamina, PMA i MDMA) w zakresie stężeń od 0,5  $\mu\text{g/ml}$  do 10  $\mu\text{g/ml}$ .

Przeprowadzone analizy chromatograficzne HS/SPME–GC/NPD ekstraktu tabletki UFO umożliwiły prawidłową identyfikację zatrucia tym środkiem w próbkach krwi i moczu w opisywanych przypadkach, przy czym oznaczone stężenie PMA we krwi denatów wynosiło od 0,68 do 10,0 (średnio 3,2)  $\mu\text{g/ml}$ , a w moczu od 16 do 64 (średnio 35)  $\mu\text{g/ml}$ . Przykładową analizę próbek krwi i moczu w przypadku zatrucia PMA przedstawiono na ryc. 5.

## OMÓWIENIE

Analiza chemiczno-toksykologiczna amfetamin z próbek płynów i wycinków biologicznych nie należy do najłatwiejszych. Dotychczas opracowane procedury analityczne są pracochłonne oraz wymagają długiego czasu badania. Metoda mikroekstrakcji do fazy stałej SPME (ang.: *Solid Phase Microextraction*), opracowana w ostatnich latach przez Pawliszyna, została już wykorzystana do izolacji i wzbogacania różnych analitów w wielu pracach badawczych (12, 13). Stało się tak dzięki zaletom metody SPME, takim jak szybkość, prostota analizy oraz zadowalająca precyzja i dokładność. Opracowana i wykorzystana w badaniach procedura oznaczania amfetamin metodą HS/SPME–GC/NPD oparta jest na doświadczeniach zespołu Yashiki (17) oraz badaniach własnych autorów (16). Zastosowanie dwukrotnej ekstrakcji ciecz-ciecz próbek krwi acetonitrylem przed analizą HS/SPME–GC/NPD oraz rozszerzenie badań o analizę czterech wybranych amfetamin (amfetamina, metamfetamina, MDMA i PMA) stanowi modyfikację procedury analitycznej autorów w stosunku do procedur opisanych w wyżej wymienionych pracach badawczych (16, 17).

## WNIOSKI

1. Duża liczba śmiertelnych przypadków zatruc parametoksyamfetaminą w województwie pomorskim mogła być związana z jednej strony z traktowaniem toksycznej PMA jako względnie bezpiecznej MDMA, z drugiej zaś z dwukrotnie niższą ceną jednej tabletki w porównaniu z tabletką „ekstazy”. Oba te fakty sprzyjały przekraczaniu bezpiecznej dawki parametoksyamfetaminy.

2. Metoda mikroekstrakcji do fazy stałej połączona z chromatografią gazową HS/SPME–GC/NPD daje możliwość szybkiej i miarodajnej analizy amfetamin, co jest szczególnie cenne w przeprowadzeniu triage'u toksykologicznego oraz ocenie chemiczno–toksykologicznej. SPME charakteryzuje się krótkim czasem analizy, prostotą oraz zadowalającą dokładnością.

## STRESZCZENIE

W okresie od sierpnia do grudnia 2000 r. na terenie województwa pomorskiego (głównie w okolicy Gdańska) stwierdzono 7 nagłych zgonów spowodowanych ostrym zatruciem tabletkami popularnie zwanymi „UFO”. Wśród osób zatrutych było pięciu mężczyzn i dwie kobiety w wieku od 20 do 29 (średnio 24) lat. Przeprowadzone badania analityczne wykazały, że jedna tabletką „UFO” zawierała w swoim składzie 40 mg parametoksyamfetaminy, 1,0 mg amfetaminy, 0,05 mg metamfetaminy, 0,03 mg 3,4-metylenodioksymetamfetaminy. Stężenia parametoksyamfetaminy oznaczone metodą chromatografii gazowej wynosiły we krwi denatów od 0,68 do 10,0 (średnio 3,2) µg/ml, w moczu od 16 do 64 (średnio 35) µg/ml. Metoda analizy amfetamin – mikroekstrakcja do fazy stałej w fazie nadpowierzchniowej z końcowym oznaczeniem z wykorzystaniem chromatografii gazowej i detekcji termojonowej (HS/SPME–GC/NPD) okazała się szybką i miarodajną metodą diagnozowania zatruc amfetaminą i jej pochodnymi.

**Słowa kluczowe:** parametoksyamfetamina, zatrucia śmiertelne, metoda mikroekstrakcji do fazy stałej (SPME)

## PÍSMIENICTWO

1. Baldwin D. C. Jr, Hughes P. H., Conard S. E., Storr C.L., Sheehan D.V.: *Substance use among senior medical students. A survey of 23 medical schools.* JAMA 1991, 265, 2074–2078
2. Byard R.W., Gilbert J., James R., Lokan R.J.: *Amphetamine derivative fatalities in South Australia-is „Ecstasy” the culprit?* Am. J. Forensic Med. Pathol. 1998, 19, 261-265
3. Chodorowski Z., Sein Anand J., Salamon M., Waldman W., Wnuk K., Ciechanowicz R., Świątek-Brzeziński K.: *Ocena używania środków uzależniających przez studentów wyższych uczelni Gdańska.* Przegl. Lek. 2001, 58, 267-271
4. Chodorowski Z., Sein Anand J., Sein Anand I., Salamon M.: *Ocena używania środków uzależniających przez młodzież wybranych szkół średnich i studentów Akademii Medycznej w Gdańsku.* Przegl. Lek. 2000, 57, 549-552
5. Chruściel T.L.: *Narkomania w 1997 roku w Polsce.* Przegl. Lek. 1997, 54, 379-383
6. DalCason T.A.: *A re-examination of the mono-methoxy positional ring isomers of amphetamine, methamphetamine and phenyl-2-propanone.* Forensic Sci. Int. 2001, 119, 168-194
7. Felgate H.E., Felgate P.D., James R.A., Sims D.N., Vozzo D.C.: *Recent paramethoxyamphetamine deaths.* J. Anal. Toxicol. 1998, 22, 169-172
8. James R.A., Dinan A.: *Hyperpyrexia associated with fatal paramethoxyamphetamine (PMA) abuse.* Med. Sci. Law. 1998, 38, 83-85
9. Ling L.H., Marchant C., Buckley N.A., Prior M., Irvine R.J.: *Poisoning with the recreational drug paramethoxyamphetamine („death”).* Med. J. Austr. 2001, 174, 453-455
10. Martin T.L.: *Three cases of fatal paramethoxyamphetamine overdose.* J. Anal. Toxicol. 2001, 25, 649-651
11. Pach J., Gawlikowski T., Motyka E., Szkolnicka B., Hydzik P.: *Ostre zatrucia środkami psychoaktywnymi wśród uzależnionych dorosłych mieszkańców Krakowa.* Przegl. Lek. 1997, 54, 392-398
12. Pawliszyn J., *Application of Solid Phase Microextraction.* The Royal Society of Chemistry, Cambridge, 1999.
13. Pawliszyn J.: *Solid Phase Microextraction. Theory and practice.* Wiley-VCHC.L., Toronto 1997

14. Webb E., Ashton Ch., Kelly P., Kamali F.: *Alcohol and drug use in UK university students*. Lancet 1996, 348, 922-925
15. Webb E., Ashton Ch., Kelly P., Kamali F.: *An update on British medical students' lifestyles*. Med. Educ. 1998, 32, 325-331
16. Wiergowski M., Reguła K., Szpiech B.: *Szybka analiza amfetaminy w ludzkim materiale biologicznym z wykorzystaniem metody mikroekstrakcji do fazy stacjonarnej w fazie nadpowierzchniowej*. Arch. Med. Sąd. Krym. 2000, 50, supl. 1, 145-152
17. Yashiki M.T., Koyima T., Miyazaki N., Nagasawa Y., Iwasaki K., Hara K.: *Fast, accurate detection of amphetamines in urine, using solid phase microextraction / capillary GC*. Forensic Sci. Int., 1995, 76, 169-177.