

**Pharmazeutische Qualität und  
Drug-Monitoring von N,N-Dimethyltryptamin  
(DMT) im Rahmen einer klinischen Studie  
zur „Experimentellen Psychose“**

**DISSERTATION**

der Fakultät für Chemie und Pharmazie  
der Eberhard-Karls-Universität Tübingen  
zur Erlangung des Grades eines Doktors  
der Naturwissenschaften

2004

vorgelegt von

**MAJA OBRADOVIC**

Tag der mündlichen Prüfung:

11. August 2004

Dekan:

Professor Dr. H. Probst

1. Berichterstatter:

Professor Dr. K.-A. Kovar

2. Berichterstatter:

Professor Dr. H. P. T. Ammon

Berichte aus der Pharmazie

**Maja Obradović**

**Pharmazeutische Qualität und Drug-Monitoring  
von N,N-Dimethyltryptamin (DMT) im Rahmen einer  
klinischen Studie zur „Experimentellen Psychose“**

D 21 (Diss. Universität Tübingen)

Shaker Verlag  
Aachen 2004

**Bibliografische Information der Deutschen Bibliothek**

Die Deutsche Bibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <http://dnb.ddb.de> abrufbar.

Zugl.: Tübingen, Univ., Diss., 2004

Copyright Shaker Verlag 2004

Alle Rechte, auch das des auszugsweisen Nachdruckes, der auszugsweisen oder vollständigen Wiedergabe, der Speicherung in Datenverarbeitungsanlagen und der Übersetzung, vorbehalten.

Printed in Germany.

ISBN 3-8322-3499-3

ISSN 0945-0939

Shaker Verlag GmbH • Postfach 101818 • 52018 Aachen

Telefon: 02407 / 95 96 - 0 • Telefax: 02407 / 95 96 - 9

Internet: [www.shaker.de](http://www.shaker.de) • eMail: [info@shaker.de](mailto:info@shaker.de)

## **FÜR MEINE FAMILIE**

„Ich bin ein Sucher eines Weges.  
Zu allem was mehr ist als Stoffwechsel,  
Blutkreislauf, Nahrungsaufnahme, Zellenzerfall.  
Ich bin ein Sucher eines Weges, der breiter ist als ich.  
Nicht zu schmal, kein Ein-Mann-Weg.  
Aber auch keine staubige, tausendmal überlaufene Bahn.  
Ich bin ein Sucher eines Weges für mehr als mich“  
(Günter Kunert)



Die vorliegende Arbeit wurde am Pharmazeutischen Institut der Eberhard-Karls-Universität Tübingen unter der Anleitung von Herrn Prof. Dr. Karl-Artur Kovar im Zeitraum von April 2001 bis August 2004 durchgeführt.

Bei meinem Doktorvater, Herrn Prof. Dr. Karl-Artur Kovar, möchte ich mich sehr herzlich für die wertvollen Anregungen und Diskussionen sowie die freundliche Unterstützung bei der Durchführung dieser Arbeit bedanken.

Mein Dank gilt allen meinen Kollegen, Herrn Dr. Alexander von Brocke, Herrn Dr. Jochen Büchler, Frau Dr. Melanie Gaub, Herrn Reinhard Graser, Herrn Dr. Thorsten Herkert, Herrn Timo Kohles, Herrn Dr. Klaus-Peter Kreth, Frau Dr. Anja Meißel, Herrn Christoph Nimptsch, Frau Dr. Irene Rager, Frau Dr. Gudrun Roos, Herrn Dr. Ralph Schneider, Frau Dr. Sandra Trkulja, Herrn Ernst Ulmer, Frau Dr. Julia Wellsow und Frau Kim Wuthold, für die ständige Hilfsbereitschaft bei allen Fragen und Problemen und das ausgezeichnete Arbeitsklima.

Besonders bedanke ich mich bei meinen Kooperationspartnern Dr. Alexander von Brocke und Christoph Nimptsch für die erfolgreiche Zusammenarbeit, das sehr gute Arbeitsklima und die stets humorvollen Gespräche.

Bei Frau Dr. Annette Lienau und Frau Sarah Fehr möchte ich mich sehr herzlich für die wissenschaftlichen und außeruniversitären Diskussionen sowie für das sorgfältige Korrekturlesen dieser Arbeit bedanken.

Herrn Ernst Ulmer und Frau Kim Wuthold danke ich für die kollegiale Zusammenarbeit sowie für das Korrekturlesen dieser Arbeit.

Frau Prof. Dr. Gouzoulis-Mayfrank, Herrn Dr. Karsten Heekeren und Frau Anna Timmerbeil danke ich sehr herzlich für die ausgezeichnete Zusammenarbeit im Rahmen der klinischen Studie.

Dem Arbeitskreis Albert, vor allem Marc David Grynbaum, Petra Hentschel, Dr. Manfred Krucker und Karsten Putzbach, danke ich für die freundliche Unterstützung bei der Durchführung der NMR-Experimente.

Dem Institut für Pharmazeutische Technologie, im Besonderen Martina Günther und Ronnie Grützmann, danke ich für die Unterstützung und die Bereitstellung der Geräte für die Stabilitätsprüfung.

Mein besonderer Dank gilt meiner Familie und meinen Freunden für ihre uneingeschränkte Unterstützung während des gesamten Studiums.

## **Publikationen im Rahmen dieser Arbeit :**

- Obradović M, Nimptsch CF, von Brocke A, Henschel P, Albert A und Kovar KA. Determination of impurities in N,N-dimethyltryptamine (DMT) after stress treatment. Journal of Chromatography B, in Vorbereitung.
- Obradović M, Heekeren K, Gouzoulis-Mayfrank E und Kovar KA. Determination of N,N-dimethyltryptamine (DMT) and s-ketamine blood levels following intravenous administration by RP-HPLC. Journal of Chromatography B, in Vorbereitung.
- Gouzoulis-Mayfrank E, Heekeren K, Timmerbeil A, Stoll M, Stock C, Obradović M und Kovar KA. Psychopathological effects of s-ketamine and dimethyltryptamine (DMT) in humans: a double-blind, cross-over human experimental study of the NMDA antagonist and the 5-HT<sub>2A</sub> agonist model of psychosis. Psychopharmacology, eingereicht.
- Heekeren K, Timmerbeil A, Daumann J, Stoll M, Obradović M, Kovar KA, Geyer MA und Gouzoulis-Mayfrank E. Prepulse inhibition of the startle reflex and its attentional modulation in the human s-ketamine and dimethyltryptamine (DMT) models of psychosis. Psychopharmacology, in Vorbereitung.
- Heekeren K, Timmerbeil A, Daumann J, Stoll M, Obradović M, Kovar KA, Geyer MA und Gouzoulis-Mayfrank E. Blunted inhibition of return (IOR) in the human NMDA antagonist and 5-HT<sub>2A</sub> agonist models of psychosis. Psychopharmacology, in Vorbereitung.

## **Weitere Publikationen und Präsentationen:**

- Obradović M, Ulmer E und Kovar KA. Synthese potentieller 5-HT<sub>2A</sub>-Rezeptorliganden: 2,5- und 3,5-Dimethoxyamphetamine. Posterpräsentation: DPHG-Jahrestagung. 9.-12. Oktober 2002, Berlin. Archiv der Pharmazie. 335: 93 (2002).
- Ulmer E, Obradović M und Kovar KA. Synthesis of potential 5-HT<sub>2A</sub> receptor ligands: 2,5- and 3,5-dimethoxyamphetamine derivatives. Archiv der Pharmazie, eingereicht.



---

## Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG .....</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>EINLEITUNG .....</b>	<b>3</b>
<b>2.1</b>	<b>Pharmazeutische Qualität .....</b>	<b>3</b>
<b>2.2</b>	<b>Klinische Studie.....</b>	<b>4</b>
2.2.1	Modellpsychosestudie.....	4
2.2.2	Eingesetzte Substanzen.....	5
2.2.2.1	(S)-Ketamin.....	5
2.2.2.2	DMT-Fumarat.....	7
<b>2.3</b>	<b>Problemstellung .....</b>	<b>10</b>
<b>3</b>	<b>PHARMAZEUTISCHE QUALITÄT VON DMT-FUMARAT ALS SALZ UND IN ISOTONISCHER KOCHSALZLÖSUNG .....</b>	<b>13</b>
<b>3.1</b>	<b>Vorbemerkungen.....</b>	<b>13</b>
3.1.1	Definition der Stabilität.....	13
3.1.2	Allgemeines zur Reinheitsprüfung .....	13
<b>3.2</b>	<b>DMT-Fumaratsalz .....</b>	<b>15</b>
3.2.1	Reinheitsprüfung von DMT-Fumarat .....	15
3.2.1.1	FT-Infrarotspektroskopie .....	15
3.2.1.2	Dünnschichtchromatographie .....	15
3.2.2	Gehaltsbestimmung von DMT-Fumarat .....	16
<b>3.3</b>	<b>DMT-Fumarat-Infusionslösungen .....</b>	<b>17</b>
3.3.1	Vorbemerkung .....	17
3.3.2	HPLC-Methode.....	17

---

3.3.3	Ergebnisse der Methodvalidierung .....	18
3.3.3.1	Vorbemerkung .....	18
3.3.3.2	Kalibrierung .....	18
3.3.3.3	Präzision, Richtigkeit und Robustheit.....	19
3.3.3.4	Wiederfindung.....	20
<b>3.4</b>	<b>Beschleunigter Stabilitätstest .....</b>	<b>21</b>
<b>3.5</b>	<b>Prüfung der Autoklavierbarkeit .....</b>	<b>26</b>
<b>3.6</b>	<b>Schlussfolgerungen .....</b>	<b>27</b>
<b>4</b>	<b>STRUKTURAUFKLÄRUNG DER ABBAUPRODUKTE VON DMT .....</b>	<b>29</b>
<b>4.1</b>	<b>Vorbemerkung .....</b>	<b>29</b>
<b>4.2</b>	<b>DAD/UV-Spektren .....</b>	<b>29</b>
<b>4.3</b>	<b>LC-ESI/Massenspektrometrie .....</b>	<b>31</b>
4.3.1	Grundlagen .....	31
4.3.2	Untersuchung der Abbauprodukte mittels LC-ESI/MS .....	32
<b>4.4</b>	<b>FTICR-Massenspektrometrie .....</b>	<b>36</b>
4.4.1	Grundlagen .....	36
4.4.2	Untersuchung der Abbauprodukte mittels FTICR-MS .....	37
<b>4.5</b>	<b>Kapillar-<sup>1</sup>H-NMR .....</b>	<b>39</b>
4.5.1	Allgemeines .....	39
4.5.2	Untersuchung der Abbauprodukte mittels <sup>1</sup> H-NMR.....	40
<b>4.6</b>	<b>Schlussfolgerungen .....</b>	<b>42</b>

---

<b>5</b>	<b>METHODENENTWICKLUNG ZUR QUANTIFIZIERUNG VON DMT UND (S)-KETAMIN AUS HUMAN-PLASMA .....</b>	<b>45</b>
<b>5.1</b>	<b>Vorbemerkungen.....</b>	<b>45</b>
<b>5.2</b>	<b>Extraktion .....</b>	<b>45</b>
5.2.1	Flüssig-Flüssig-Extraktion .....	45
5.2.1.1	Allgemeines .....	45
5.2.1.2	Extraktion von DMT .....	47
5.2.1.3	Extraktion von (S)-Ketamin .....	48
5.2.2	Festphasenextraktion .....	48
5.2.2.1	Allgemeines .....	48
5.2.2.2	Extraktion von DMT .....	48
<b>5.3</b>	<b>Interner Standard .....</b>	<b>50</b>
<b>5.4</b>	<b>Chromatographische Trennung und Detektion .....</b>	<b>53</b>
5.4.1	Hochleistungs-Flüssigchromatographie (HPLC) .....	53
5.4.2	Detektionsmethoden .....	54
5.4.3	Bestimmung von DMT mittels HPLC-DAD-FL.....	55
5.4.4	Bestimmung von (S)-Ketamin mittels HPLC-UV .....	58
<b>5.5</b>	<b>Ergebnisse der Methodvalidierung .....</b>	<b>60</b>
5.5.1	Kalibrierung .....	60
5.5.2	Präzision, Richtigkeit und Robustheit.....	61
5.5.3	Wiederfindung.....	63
<b>5.6</b>	<b>Schlussfolgerungen.....</b>	<b>64</b>
<b>6</b>	<b>BLUTSPIEGELBESTIMMUNGEN IM RAHMEN DER KLINISCHEN STUDIE .....</b>	<b>69</b>
<b>6.1</b>	<b>Design der klinischen Studie und Probennahme.....</b>	<b>69</b>
<b>6.2</b>	<b>DMT-Versuche .....</b>	<b>70</b>
6.2.1	Plasmakonzentrationen .....	70
6.2.2	Pharmakokinetische Parameter für DMT .....	74

---

<b>6.3</b>	<b>(S)-Ketamin-Versuche .....</b>	<b>76</b>
6.3.1	Plasmakonzentrationen .....	76
6.3.2	Pharmakokinetische Parameter für (S)-Ketamin .....	80
<b>6.4</b>	<b>Schlussfolgerungen.....</b>	<b>81</b>
<b>7</b>	<b>KORRELATION DER ERGEBNISSE MIT DEN KLINISCHEN PARAMETERN .....</b>	<b>83</b>
<b>7.1</b>	<b>Konzeption der klinischen Studie .....</b>	<b>83</b>
<b>7.2</b>	<b>Korrelationen mit der Psychopathologie .....</b>	<b>84</b>
7.2.1	Vorbemerkung .....	84
7.2.2	Ergebnisse.....	85
7.2.3	Schlussfolgerungen.....	87
<b>8</b>	<b>EXPERIMENTELLER TEIL.....</b>	<b>89</b>
<b>8.1</b>	<b>Materialien .....</b>	<b>89</b>
8.1.1	Chemikalien und Reagenzien.....	89
8.1.2	HPLC-Säulen .....	89
8.1.3	Extraktionssäulen .....	90
8.1.4	Dünnschichtplatten .....	90
<b>8.2</b>	<b>Geräte .....</b>	<b>90</b>
8.2.1	Schmelzpunktbestimmung .....	90
8.2.2	UV/VIS-Spektroskopie.....	90
8.2.3	FT-IR-Spektroskopie .....	91
8.2.4	LC-ESI/MS .....	91
8.2.5	FTICR-MS .....	91
8.2.6	Kapillar- <sup>1</sup> H-NMR .....	92
8.2.7	Gefriertrocknung .....	93
8.2.8	Waage.....	93

---

8.2.9	pH-Meter .....	93
8.2.10	Zentrifuge .....	93
8.2.11	Festphasenextraktion .....	93
8.2.12	HPLC-Anlage .....	93
<b>8.3</b>	<b>Herstellungsvorschriften .....</b>	<b>94</b>
8.3.1	Herstellung von DMT-Fumarat .....	94
8.3.2	Herstellung der DMT-Fumarat-Infusionslösung .....	95
<b>8.4</b>	<b>Chromatographie und Spektroskopie .....</b>	<b>95</b>
8.4.1	DC-Reinheitsprüfung .....	95
8.4.1.1	Untersuchungs- und Referenzlösungen .....	95
8.4.1.2	Chromatographische Bedingung .....	96
8.4.2	FT-IR-Spektren .....	97
8.4.2.1	Fumarsäure .....	97
8.4.2.2	DMT Base .....	98
8.4.2.3	DMT-Fumarat .....	99
8.4.3	<sup>1</sup> H-NMR-Spektren .....	100
<b>8.5</b>	<b>Extraktions- und Quantifizierungsmethoden .....</b>	<b>101</b>
8.5.1	Standard-, Untersuchungs- und Arbeitslösungen ...	101
8.5.1.1	Reinheitsprüfung DMT .....	101
8.5.1.2	Gehaltsbestimmung DMT .....	102
8.5.1.3	Blutspiegelbestimmung DMT .....	103
8.5.1.4	Blutspiegelbestimmung (S)-Ketamin .....	103
8.5.2	Flüssig-Flüssig-Extraktion .....	103
8.5.2.1	Probenvorbereitung .....	103
8.5.2.2	DMT .....	104
8.5.2.3	(S)-Ketamin .....	105
8.5.3	Festphasenextraktion .....	105

---

8.5.4	HPLC-Methoden .....	107
8.5.4.1	Pharmazeutische Qualität von DMT .....	107
8.5.4.2	Blutspiegelbestimmung von DMT .....	107
8.5.4.3	Blutspiegelbestimmung von (S)-Ketamin .....	107
8.5.5	Validierung der HPLC-Methoden.....	108
8.5.5.1	Validierung .....	108
8.5.5.2	Festlegung der Arbeitsbereiche .....	108
8.5.5.3	Prüfung auf Linearität .....	109
8.5.5.4	Weitere Kalibrierkenndaten.....	111
8.5.5.5	Verfahrensstandardabweichung .....	112
8.5.5.6	Theoretische Nachweis- und Bestimmungsgrenze .....	113
8.5.5.7	Prüfung auf Normalverteilung.....	114
8.5.5.8	Ausreißertest .....	114
8.5.5.9	Trendtest.....	115
8.5.5.10	Präzision .....	116
8.5.5.11	Richtigkeit .....	117
8.5.5.12	Robustheit .....	118
8.5.5.13	Wiederfindung.....	119
<b>9</b>	<b>LITERATUR.....</b>	<b>121</b>



## Abkürzungsverzeichnis

AUC	Area under the curve
$C_{\max}$	Maximale Plasmakonzentration
COVAT	Covert orienting of attention Test
D	Dublett
DAD	Dioden Array Detektor
DC	Dünnschichtchromatographie
DHNK	Dehydronorketamin
DMMDPEA	N,N-Dimethyl-(3,4-methylenedioxyphenyl)ethanamin
DMT	N,N-Dimethyltryptamin
ESI	Elektrosprayionisation
FL	Fluoreszenz
FTICR	Fourier Transform Ionencyclotronresonanz
FT-IR	Fourier Transform Infrarot
6-HIAA	6-Hydroxyessigsäure
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
5-HT	5-Hydroxytryptamin (= Serotonin)
i.m.	intramuskulär
I.S.	Interner Standard
i.v.	intravenös
ICH	International Conference of Harmonization
KG	Körpergewicht
5-MeOT	5-Methoxytryptamin
MMN	Mismatch-Negativität
MS	Massenspektrometrie
N-iPr-MDBA	N-Isopropyl-(3,4-methylenedioxyphenyl)methanamin

---

NK	Norketamin
NMDA	N-Methyl-D-aspartat
NMR	Nuclear Magnetic Resonance
NMT	N-Methyltryptamin
PPI	Präpulsinhibition
$R^2$	Korrelationskoeffizient
$R_f$	Retentionsfaktor
RP	Reversed Phase
RT	Raumtemperatur
S	Singulett
s	Standardabweichung
SPE	Solid Phase Extraction
$s_{rel}$	Relative Standardabweichung
T	Triplett
TIC	Totalionenchromatogramm
$t_{max}$	Zeitpunkt der maximalen Plasmakonzentration
$t_R$	Retentionszeit
Upm	Umdrehungen pro Minute
UV	Ultraviolett
VK	Verteilungskoeffizient
$V_k$	Variationskoeffizient
XB	Theoretische Bestimmungsgrenze
XN	Theoretische Nachweisgrenze
$\delta$	Deformationsschwingung
v	Valenzschwingung