

PEMOLINE TABLETS FROM THE POLISH DRUG MARKET

Maria KAŁA, Piotr ADAMOWICZ

Institute of Forensic Research, Cracow

ABSTRACT: Clandestinely manufactured tablets containing pemoline are available on the Polish drug market. Pemoline and caffeine are major components, but acetylsalicylic acid and piracetam are also present as minor constituents. One thousand and seventy six illicit tablets with pemoline confiscated by the police in three different forensic cases were submitted to the Institute of Forensic Research in Cracow for analysis. The composition of the tablets was identified using gas chromatography/mass spectrometry and the main components were quantified by liquid chromatography/mass spectrometry. It was observed that solvents used for dissolving tablets influenced the determined quantity of pemoline.

KEY WORDS: Pemoline; Illicit tablets; Analysis; Solubility.

Problems of Forensic Sciences, vol. LIII, 2003, 38–37

Received 27 August 2003; accepted 2 October 2003

INTRODUCTION

Pemoline (2-amino-5-phenyl-2-oxazolin-4-one) is an oxazolidine compound and is structurally similar to amphetamines and methylphenidate (Figure 1).

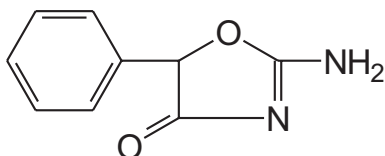


Fig. 1. Chemical structure of pemoline.

Pemoline is a central nervous system (CNS) stimulant. In many countries it is used for treating attention-deficit hyperactivity disorder (ADHD) in children over the age of six with a behavioural syndrome characterised by symptoms such as hyperactivity, emotional liability, impulsiveness and mild depression.

Pemoline was synthesised in 1913 and introduced into medical practice in 1950 [2]. Originally, it was used on older persons to improve cognitive functioning. Pemoline was approved by the Food and Drug Administration (FDA) in January 1975. Abbott Laboratories sell it under the brand name Cylert. Other brand names are Betanamin and Tradon. Pemoline is classi-

fied in Schedule IV of controlled substances by the Drug Enforcement Administration (DEA) in the United States. This substance is also controlled by law in Poland. By virtue of the Drug Addiction Counteraction Act of April 24, 1997, it is included in group IV-P on the psychotropic drug list. Pemoline is not, however, listed in the “Official List of Medications Permitted for Use in Poland”.

Pemoline has pharmacological activity similar to that of other CNS stimulants; however, it has minimal sympathomimetic effects. The mechanism and site of action is not known, but it probably acts through dopaminergic mechanisms, by blocking the reuptake mechanism in dopaminergic neurones. It also possesses some appetite suppressing properties.

Side effects from pemoline are: difficulty falling asleep, insomnia, loss of appetite, weight loss, upset stomach, nausea and diarrhoea. Other possible effects are: headache, abdominal pain, psychomotor agitation, mood changes, mild euphoria, hypotaxia, unusual movements, skin rash, drowsiness, seizures and dizziness. An overdose of pemoline causes restlessness, vomiting, tremors, muscle twitching, confusion, anxiety, depression, hallucinations, sweating, hyperthermia, convulsions and coma. It can cause psychological and physical dependence. Addiction in adults following long-term misuse of excessive oral doses of pemoline is possible. Chronic abusers may develop mania and psychosis. Using this drug may lessen ability to drive or operate machinery [4].

Pemoline is a white, tasteless, odourless powder. It is relatively insoluble (less than 1 mg/ml) in water, chloroform, ether, acetone and benzene. Its solubility in ethyl alcohol is 2.2 mg/ml and up to 1% in propylene glycol.

Pemoline is taken orally, usually once a day at a dose not greater than 112.5 mg because of its long half-life (2–19 hours). Cylert is sold as tablets containing 18.75 mg, 37.5 mg or 75 mg pemoline. Original Cylert tablets also contain fillers such as corn starch, gelatine, lactose, magnesium hydroxide, polyethylene glycol and talc.

The peak serum level of the drug occurs 2 to 4 hours after ingestion of a single dose. Following a single oral pemoline dose of 37.5, 50 or 120 mg, maximum plasma concentrations range from 0.8–6.2 µg/ml. A fatal case attributed to pemoline and methadone involved a blood pemoline concentration of 5 µg/ml [2]. Pemoline is metabolised in the liver to 5-phenyl-2,4-oxazolidinedione, pemoline glucuronide, mandelic acid and unidentified polar compounds.

Pemoline tablets produced by pharmaceutical companies find their way onto the narcotics market [7]. Pemoline is also produced in illegal laboratories – in Poland, all tablets available on the narcotics market are made in such clandestine “establishments”.

It is obvious that many pemoline tablets, like other “street” preparations (e.g. amphetamine and its analogues), contain various additives. These additives are often classified into four different groups by the United Nations Division of Narcotic Drugs [6]. These groups are: adulterants, diluents, impurities or admixtures, and contaminants. Adulterants are various pharmacologically active substances. Diluents, also called thinners or cutting agents, are inactive or nearly inactive substances used to facilitate the creation of more manageable dosage units. Impurities and contaminants may be naturally occurring, or they may be formed, together with intermediate products, or introduced during the production process. The contaminants are generally grouped as biotic or abiotic. Some micro-organisms such as pollens, fungi, and bacteria are in the first group, whereas metals belong to the second one. Characterisation of these constituents is the basis of comparative analysis for strategic and tactical intelligence purposes, i.e. to ascertain the geographical origin, detect illegal production, trace distribution routes and identify new production processes. Binding agents, present in tablets or capsules to provide physical integrity, and dyestuffs may also be useful in identifying a particular brand.

The aim of this work was to determine the composition of tablets and quantify major constituents.

MATERIALS AND METHODS

1076 tablets were sent to the Institute of Forensic Research as evidence material, confiscated from the drug market in three different cases. Police seized them over three successive months in 2001.

24 tablets were pulverised singly and then two 10 mg samples from each tablet were weighed out. 24 samples were dissolved in 10 ml of a mixture of methanol and water (94 : 6, v/v) and the other 24 samples were dissolved in 10 ml of propylene glycol. The samples were analysed by gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS) and liquid chromatography/mass spectrometry (LC/MS).

Identification of components was carried out using a Hewlett-Packard gas chromatograph (GC) 6890 Series equipped with mass selective detector (MSD) 5973 Series and 6890 autosampler or a Varian/Finnigan Mat Magnum Series gas chromatograph/mass spectrometer with ion trap detector (ITD). Electron impact (EI) ionisation mode was applied. Separation was performed with the use of a HP-5MS fused silica capillary column (30 m × 0.25 mm id, 0.25 μm fs) and programmed temperature: 0 min – 75°C, 20 min – 275°C, 25 min – 275°C. Injection volume of the tablet solution was 1 μl.

The identification was accomplished by comparison of mass spectra of separated components with mass spectra from a library and retention time and mass spectra of standards analysed in the same conditions (Figure 2).

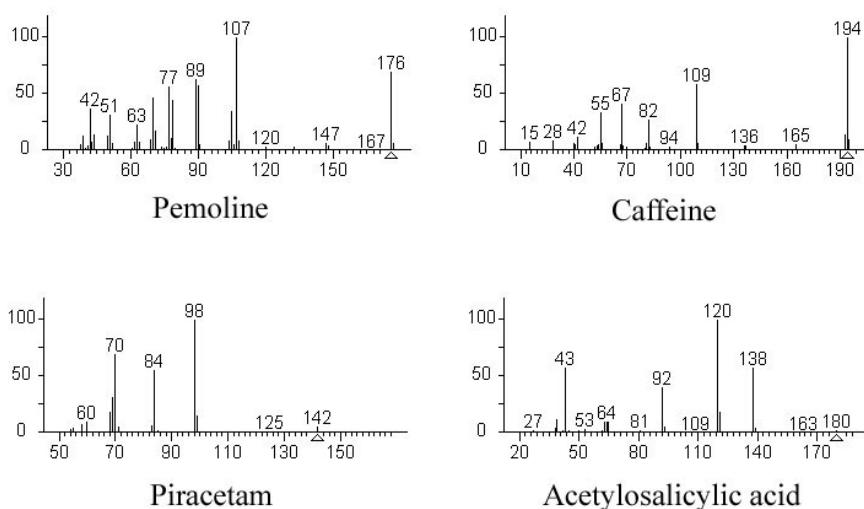


Fig. 2. GC/MS mass spectra (TIC) of tablet components.

The instrument used for quantitation of identified pemoline and caffeine was a Hewlett-Packard liquid chromatograph 1100 Series equipped with MSD (quadrupol). Atmospheric pressure chemical ionisation (APCI) was applied and positive ions were monitored. Separation was achieved on a LiChroCART (125 × 4 mm) column with Purospher RP-18e packing material, thermostated at 25°C. The mobile phase was a mixture of 0.2% (v/v) solution of glacial acetic acid in acetonitrile (AcCN) and 0.1% (v/v) solution of glacial acetic acid in water. The flow rate was 1 ml/min in the following gradient conditions: 0 min – 0% AcCN, 15 min – 40% AcCN. The injection volume of 200 times diluted sample in the mobile phase (1 : 1, v/v) was 20 µl. The detector was set in selected ion monitoring (SIM) mode. Pseudo-molecular $[M + H]^+$ ions (m/z) were monitored: 177 for pemoline and 195 for caffeine. Integration of peak heights and other calculations were performed automatically using the electronic system of data processing. The obtained results are presented in Table I and II. Examples of chromatograms are shown in Figure 3 and 4.

TABLE I. CHARACTERISATION OF TABLETS

Case	Amount	Colour	Dimension [mm]	Weight [g]	Analysed amount
1	1	Blue-green Logo "o" and crown	11.1 × 6.2	0.56	1
2	99	Pink-violet	8.2 × 4.2	0.26	10
	3	Pink	12.0 × 7.2	0.58	3
3	973	Pink	11.1 × 6.0	0.49	10

TABLE II. THE PERCENTAGE CONTENT OF TWO MAJOR COMPONENTS OF EXAMINED TABLETS

Case (examined tablet)	Solvent	Content [%]		Proportion P : C
		Pemoline (P)	Caffeine (C)	
1 (1)	Propylene glycol	43.4	4.2	10:1
	Methanol : water	33.0	3.6	9:1
2 (6)	Propylene glycol	37.3	4.4	8:1
	Methanol : water	18.8	3.5	5:1
2 (4)	Propylene glycol	40.0	4.3	9:1
	Methanol : water	27.1	3.7	7:1
2 (3)	Propylene glycol	44.7	4.1	11:1
	Methanol : water	28.9	3.5	8:1
3 (10)	Methanol : water	34.0	5.4	6:1
	Methanol : water	34.7	5.7	6:1
	Methanol : water	33.6	5.6	6:1

RESULTS AND DISCUSSION

24 out of 1076 tablets containing pemoline manufactured in clandestine laboratories were analysed. Pemoline was not, however, the only component of examined tablets. In four kinds of tablets, it was mixed with caffeine, piracetam (both are CNS stimulants) and acetylsalicylic acid. These three substances are widely available over-the-counter, and are also frequently used as adulterants or additives in illegal street preparations. Other popu-

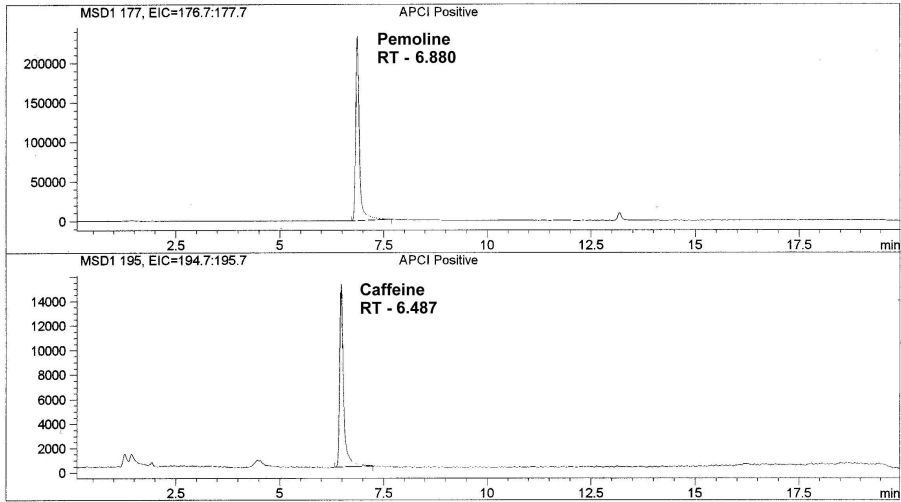


Fig. 3. SIM chromatograms of pemoline and caffeine standards by the LC/MS method.

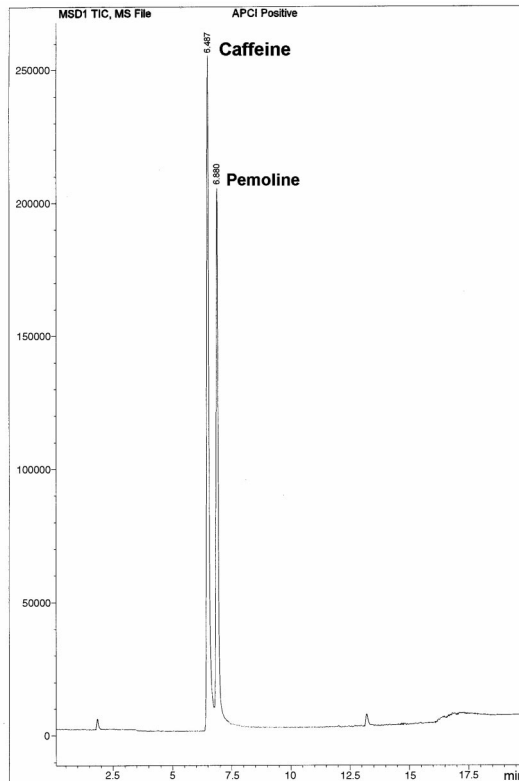


Fig. 4. TIC chromatogram of examined tablet by the LC/MS method.

lar additives, such as sugars, particularly lactose, glucose, mannitol and starch were not identified. The tablets differed in colour, weight and size (Table I).

Acetylsalicylic acid was detected by the screening method previously described [3] using high performance liquid chromatography with diode array detection (HPLC-DAD).

Each of the three components – pemoline, caffeine and piracetam – gave a single peak on the total ion current (TIC) chromatogram (Figure 5), but pemoline peak-height was very low in comparison to the two others, despite the fact that its concentration in tablets was the highest. Pemoline peak-height increased significantly after warming up its methanol-water solution to 60°C, whereas the heights of piracetam and caffeine peaks remained almost constant. This indicates better solubility of pemoline in a warm methanol-water mixture. Better solubility of compounds (e.g. potassium guaiacolsulfonate) in hot methanol or ethanol is well known in analytical toxicology, but it makes identification of pemoline much more difficult and strongly influence its quantification. The homogenous duplicate samples of tablets were dissolved in propylene glycol and in methanol-water mixture (at room temperature) for pemoline quantification. Determined concentrations of pemoline in samples dissolved in methanol-water solution were between 18.8–34.7% (mean \pm SD, RSD: 30 ± 5.7 ; 19%), whereas in pro-

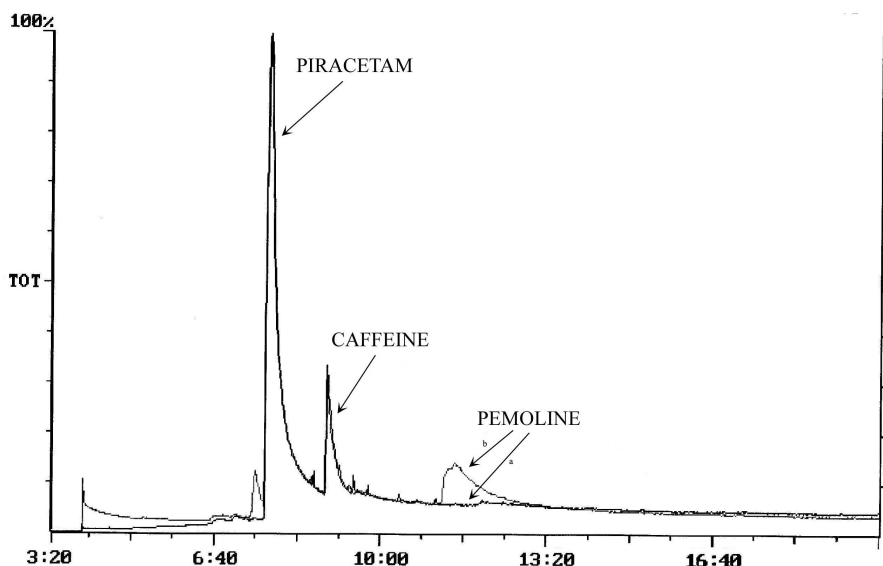


Fig. 5. TIC chromatograms of examined tablet by the GC/MS method. 10 mg of powdered tablet dissolved in a mixture of methanol-water (94:6, v/v) at: a – room temperature; b – 60°C.

propylene glycol the concentrations of pemoline ranged from 37.3–44.5% (41.4 ± 3.4 ; 8%) and were less variable. The concentrations of caffeine were also more constant after dissolving tablets in propylene glycol: range 4.1–4.3% and values 4.25 ± 0.1 ; 3%, than in methanol-water solution, where values were as follow: 3.5–5.7% (4.4 ± 1.0 ; 24%).

Standard solutions containing 100, 500, 1000, 2000 and 5000 ng/ml of pemoline and caffeine were used for calibration of the LC/MS method. Peak height responses were plotted against concentrations of the standards, and were linear with coefficient of 0.9986 for pemoline and 0.9996 for caffeine (Figure 6).

Confirmation analysis of pemoline by GC/MS seems to be simpler. In the mass spectrum of pemoline, the relative abundance of the molecular mass ($m/z = 176$) and of the diagnostic ion ($m/z = 107$) were 70% and 100% respectively, providing good sensitivity for selected ion monitoring (SIM).

It is worth adding that, in practice, clandestinely manufactured tablets sometimes contain no psychoactive substance at all. For this reason, representative sampling of tablets for analysis is very important. This can be done by various methods, e.g. the square root method (recommended by the United Nations Division of Narcotic Drugs) [5], the hypergeometric probability distribution (recommended by the European Network of Forensic Sci-

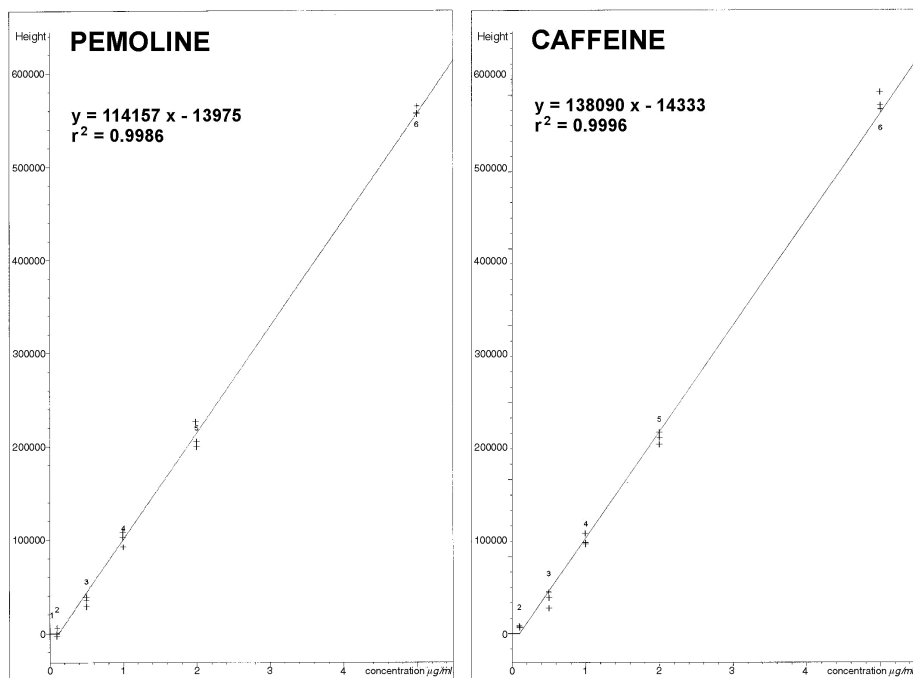


Fig. 6. Calibration curves for pemoline and caffeine.

ence Institutes, ENFSI) and in accordance with the Bayesian theory [1]. The most simple and popular is the square root method, which can only be applied in the case of packages containing identical tablets. When one wrapping contains: less than 10 tablets – all tablets should be analysed; in the range of 10–100 items – randomly select 10; in the case of more than 100 tablets – randomly select a number of tablets equal to the square root of the total number of tablets.

CONCLUSIONS

- Pemoline in clandestinely manufactured tablets can be easily detected by GC/MS and quantified by LC/MS methods;
- the most important stage of pemoline analysis is its dissolving. Warming the pemoline methanol-water solution up to 60°C or the use of propylene glycol as a solvent should also be taken into consideration;
- representative sampling is very important when analysing pemoline tablets originating from the narcotics market.

References:

1. Aitken C. G. G., Sampling – how big a sample?, *Journal of Forensic Science* 1999, vol. 42, pp. 750–760.
2. Baselt R. C., Disposition of toxic drugs and chemicals in man, Biomedical Publications, Foster City 2002.
3. Kała M., Lechowicz W., Stanaszek R., Typowe dla polskiego narkomana zatrucie wieloma lekami. Opracowanie kazuistyczne, *Archiwum medycyny sądowej i kryminologii* 1997, t. 47, s. 55–62.
4. Polchert S. E., Morse R. M., Pemoline abuse, *Journal of the American Medical Association* 1985, vol. 254, pp. 946–947.
5. Recommended methods for testing cannabis. Manual for the use by national narcotics laboratories. Division of Narcotic Drugs Vienna, United Nations, New York 1987, p. 18.
6. Van Der Slooten E. P. J., Van Der Heil H. J., Analysis of heroin in relation to illicit drug traffic, *Journal of Forensic Sciences* 1975, vol. 20, pp. 83–86.
7. WHO Expert Committee on Drug Dependence, WHO, Geneva 1985.

TABLETKI PEMOLINY POCHODZĄCE Z POLSKIEGO RYNKU NARKOTYKOWEGO

Maria KAŁA, Piotr ADAMOWICZ

WSTĘP

Pemolina (2-amino-5-fenilo-2-oksazolino-4-on) jest związkami z grupy oksalolidyn o strukturalnym podobieństwie do amfetamin i metylfenidatu (rycina 1).

Pemolina oddziałuje na ośrodkowy układ nerwowy (OUN). W wielu krajach jest stosowana w leczeniu zespołu deficytu uwagi i nadpobudliwości (ang. attention-deficit hyperactivity disorder, ADHD) u dzieci w wieku powyżej 6 lat, u których stwierdzono syndrom charakteryzujący się takimi symptomami, jak nadpobudliwość, zmienność emocjonalna, impulsywność i łagodna depresja.

Pemolinę zsyntetyzowano w 1913 roku, a wprowadzono do leczenia w 1950 roku [2]. Początkowo stosowano ją u osób starszych w celu poprawy funkcjonowania procesów poznawczych. Pemolina została dopuszczona do obrotu przez Urząd Żywności i Leków (Food and Drug Administration, FDA) w styczniu 1975 roku. Sprzedawana była przez Laboratoria Abbotta pod nazwą handlową Cylert. Inne jej nazwy handlowe to Betanamin oraz Tradon. Federalna Administracja do spraw Walki z Narkotykami (Drug Enforcement Administration, DEA) zakwalifikowała pemolinę do IV klasy substancji objętych kontrolą prawną w Stanach Zjednoczonych. W Polsce, zgodnie z ustawą o przeciwdziałaniu narkomanii z dnia 24 kwietnia 1997 roku, zaliczono ją do substancji psychotropowych grupy IV-P. Pemolina nie znajduje się natomiast w „Urzędowym wykazie środków farmaceutycznych i materiałów medycznych dopuszczonych do obrotu w Polsce”.

Aktywność farmakologiczna pemoliny jest zbliżona do tej, jaką posiadają inne stymulanty OUN, jakkolwiek charakteryzuje się niewielkimi efektami sympatykomimetycznymi. Mechanizm oraz miejsce jej oddziaływania nie jest znane, ale prawdopodobnie poprzez mechanizmy dopaminergiczne blokuje wychwyt zwrotny w neuronach dopaminergicznych. Posiada również właściwości znoszące łaknienie.

Do efektów ubocznych działania pemoliny należy zaliczyć trudności w zasypianiu, bezsenność, brak apetytu, utratę wagi, zaburzenia żołądkowe, nudności oraz biegunkę. Możliwe są bóle głowy, bóle brzucha, pobudzenie psychoruchowe, zmiany nastroju, słaba euforia, upośledzenie koordynacji ruchów, nietypowe odruchy, wysypki skórne, senność, drgawki i oszołomienie. Przedawkowanie pemoliny wywołuje niepokój, wymioty, drżenie i skurcze mięśni, zmieszanie, lęki, depresje, halucynacje, podwyższenie temperatury ciała, konwulsje oraz śpiączkę. Pemolina może wytworzyć zależność psychiczną i fizyczną u osób dorosłych, wielokrotnie przyjmujących duże doustne dawki tej substancji. U takich osób mogą powstawać manie i psychozy. Użycie tego leku może obniżyć zdolność prowadzenia samochodu lub obsługiwanie urządzeń mechanicznych [4].

Pemolina jest białym proszkiem bez smaku i zapachu. Jest słabo rozpuszczalna (poniżej 1 mg/ml) w wodzie, chloroformie, eterze, acetonie i benzenie. Rozpuszczalność w alkoholu etylowym wynosi 2,2 mg/ml, a w glikolu propylenowym do 1%.

Pemolina jest przyjmowana drogą doustną, zwykle raz dziennie, w dawce nie większej niż 112,5 mg z powodu długiego okresu półtrwania (2–19 godzin). Cylert sprzedawany jest w tabletkach zawierających 18,75 mg, 37,5 mg lub 75 mg pemoliny. Oryginalne tabletki Cylert zawierają również nieaktywne składniki (wypełniacze), takie jak skrobia kukurydziana, żelatyna, laktoza, wodorotlenek magnezu, glikol polietylenowy i talk.

Maksymalne stężenie leku w surowicy osiągane jest pomiędzy 2 a 4 godziną po przyjęciu pojedynczej dawki. Po jednorazowej doustnej dawce 37,5, 50 lub 120 mg pemoliny maksymalne stężenie tej substancji w osoczu mieści się w granicach 0,8–6,2 µg/ml. W przypadku śmiertelnego zatrucia po przyjęciu pemoliny i metadonu jej stężenie we krwi wynosiło 5 µg/ml [2]. Pemolina jest metabolizowana w wątrobie do 5-fenyl-2-oksazolidyno-4-dionu, glukuronidu pemoliny, kwasu migdałowego i niezidentyfikowanych związków polarnych.

Tabletki pemoliny wytwarzane przez firmy farmaceutyczne trafiają na rynek narkotykowy [7]. Wytwarzana jest ona także w nielegalnych laboratoriach. W Polsce na rynku narkotykowym dostępne są tabletki pemoliny wyprodukowane właśnie w takich laboratoriach.

Jest rzeczą naturalną, że tabletki pemoliny, jak inne „uliczne” preparaty, np. amfetamina i jej analogi, zawierają różne dodatki. Dodatki te są zwykle zaliczane przez Wydział ds. Narkotyków Organizacji Narodów Zjednoczonych do czterech różnych grup [6]. Są to dodatki fałszujące, rozcieńczacze, domieszki i zanieczyszczenia. Dodatki fałszujące są różnymi farmakologicznie aktywnymi substancjami. Rozcieńczacze, określane czasem jako składniki obniżające (zawartość substancji czynnej), są nieaktywnymi lub słabo aktywnymi substancjami stosowanymi w celu zwiększenia objętości i ułatwienia porcjowania. Dwie z ostatnich wymienionych grup są naturalnymi i powstałymi lub wprowadzonymi w procesie produkcji zanieczyszczeniami. Można je podzielić na biotyczne (żywe) lub abiotyczne (nieożywione). Do pierwszej grupy zalicza się niektóre mikroorganizmy, jak pyłki, grzyby i bakterie, podczas gdy drugą grupę stanowią metale. Scharakteryzowanie tych składników jest podstawą analizy porównawczej prowadzonej dla celów poznawczych i taktyczno-zwiadowczych, tj. do określenia regionu świata, z jakiego dany narkotyk pochodzi, wykrywania jego nielegalnego wytwarzania, śledzenia szlaków przemytu i ustalenia technologii produkcji. Obecne w tabletkach lub kapsułkach związki wiążące i barwniki mogą być także użyteczne w ustaleniu wytwórcy.

Celem niniejszej pracy było określenie składu tabletek i analiza ilościowa głównych składników tych tabletek.

MATERIAŁ I METODY

Do Instytutu Ekspertyz Sądowych nadesłano 1076 tabletek, które stanowiły dowody rzeczowe w trzech odrębnych sprawach. Policja zabezpieczyła je w ciągu trzech kolejnych miesięcy 2001 roku.

24 tabletki zostały rozdrobnione, a następnie z każdej z nich odważono dwie naważki po 10 mg każda. 24 próbki rozpuszczono w 10 ml mieszaniny metanolu

i wody (94 : 6, v/v), a kolejne 24 naważki rozpuszczono w 10 ml glikolu propylenowego. Próbki analizowano metodą chromatografii gazowej połączonej ze spektrometrią mas (GC/MS) oraz chromatografii cieczowej połączonej ze spektrometrią mas (LC/MS).

Do identyfikacji składników stosowano chromatograf gazowy (GC) serii 6890 wyposażony w selektywny detektor mas (MSD) serii 5973 i automatyczny podajnik próbek (autosampler) serii 6890 firmy Hewlett-Packard lub chromatograf gazowy firm Varian/Finnigan Mat w wersji Magnum wyposażony w detektor w postaci pułapki jonowej (ITD). Zastosowano elektronowy rodzaj jonizacji (EI). Rozdział prowadzono na kolumnie kapilarnej (30 m × 0,25 mm × 0,25 μm) w temperaturze zaprogramowanej w następujący sposób: 0 min – 75°C, 20 min – 275°C, 25 min – 275°C. Objętość nastrzyku wynosiła 1 μl.

Identyfikację prowadzono przez porównanie widm rozdzielonych składników z widmami masowymi znajdującymi się w bibliotekach oraz czasami retencji i widmami masowymi wzorcowych substancji analizowanych w tych samych warunkach (rycina 2).

Oznaczenie zidentyfikowanej pemoliny i kofeiny prowadzono przy użyciu chromatografu cieczowego połączonego z detektorem w postaci kwadrupola serii 1100, firmy Hewlett-Packard. Zastosowano chemiczną jonizację pod ciśnieniem atmosferycznym (APCI) i monitorowano jony dodatnie. Rozdział prowadzono na kolumnie LiChroCART (125 × 4 mm) z wypełnieniem Purospher RP-18e termostatowanej w temperaturze 25°C. Fazę ruchomą stanowiła mieszanina 0,2% (v/v) roztworu kwasu octowego w acetonitrylu (AcCN) i 0,1% (v/v) roztworu kwasu octowego w wodzie. Przepływ fazy wynosił 1 ml/min i odbywał się w następująco zaprogramowanym gradiencie składu: 0 min – 0% AcCN, 15 min – 40% AcCN. Objętość nastrzyku próbki rozcieńczonej 200-krotnie w fazie ruchomej (1 : 1, v/v) wynosiła 20 μl. Detektor pracował w trybie monitorowania wybranych jonów (SIM). Monitorowano następujące jony pseudomolekularne $[M + H]^+$ (m/z): 177 dla pemoliny oraz 195 dla kofeiny. Integracja wysokości pików oraz inne obliczenia wykonywane były automatycznie przez program obsługujący chromatograf. Otrzymane wyniki zamieszczono w tabelach I i II. Ryciny 3 i 4 przedstawiają przykładowe chromatogramy oraz widma masowe.

WYNIKI I Dyskusja wyników

Przeanalizowano 24 z 1076 tabletek zawierających pemolinę, a wyprodukowanych w nielegalnych laboratoriach. Pemolina nie była jedynym składnikiem badanych tabletek. W czterech ich rodzajach była zmieszana z kofeiną, piracetamem (oba związki są stymulantami OUN) oraz kwasem acetylosalicylowym. Te trzy substancje są łatwo dostępne w sprzedaży bez recepty i często używane jako dodatki do wytwarzanych nielegalnie środków. Inne popularne dodatki, jak cukry, a głównie laktoza i glukoza, mannitol i skrobia, nie były identyfikowane. Tabletki różniły się kolorem, masą i rozmiarem (tabela I).

Kwas acetylosalicylowy był zidentyfikowany wcześniej opisaną techniką [3] wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detekcją diodową (HPLC-DAD).

Każdy z trzech składników – pemolina, kofeina i piracetam, dawał pojedynczy pik na chromatogramie całkowitego prądu jonowego (rycina 5), ale pik pochodzący od pemoliny był bardzo mały w porównaniu z pikami pozostałych składników, pomimo

że jej stężenie w tabletkach było największe. Pík pochodzący od pemoliny powiększał się znacznie po podgrzaniu roztworu metanolu i wody do 60°C, podczas gdy wysokość pików pochodzących od piracetamu i kofeiny pozostawała prawie taka sama. Świadczy to o lepszej rozpuszczalności pemoliny w cieplej mieszaninie metanolu i wody. Lepsza rozpuszczalność substancji (np. gwajakolosulfonianu potasu) w gorącym metanolu lub etanolu jest znana w analityce toksykologicznej, ale sprawia, że identyfikacja pemoliny jest trudniejsza i znacząco wpływa na jej analizę ilościową. W celu oznaczenia pemoliny, po dwie homogenne próbki tabletek rozpuszczono w glikolu propylenowym oraz mieszaninie metanolu i wody (w temperaturze pokojowej). Wyznaczone stężenia pemoliny w próbkach rozpuszczonych w mieszaninie metanolu i wody mieściły się w zakresie 18,8–34,7% (średnia \pm SD, RSD: 30 \pm 5,7; 19%) podczas gdy wartości te w próbkach rozpuszczonych w glikolu propylenowym były mniej zmienne i wynosiły 37,3–44,5% (41,4 \pm 3,4; 8%). Stężenia kofeiny były również bardziej stałe w tabletkach rozpuszczonych w glikolu propylenowym (zakres 4,1–4,3% i wartości 4,25 \pm 0,1, 3%) niż w mieszaninie metanolu i wody; wówczas wynosiły one odpowiednio: 3,5–5,7% (4,4 \pm 1,0; 24%).

Stosując metodę LC/MS, sporządzono krzywe kalibracji składające się z punktów odpowiadającym określonymu stężeniu pemoliny i kofeiny wynoszącym kolejno: 100, 500, 1000, 2000 i 5000 ng/ml. Wykreślono krzywe zależności wysokości pików od stężenia standardu, które były liniowe i charakteryzowały się współczynnikami korelacji 0,9986 i 0,9996, odpowiednio dla pemoliny i kofeiny (rycina 6).

Analiza metodą GC/MS, potwierdzająca obecność pemoliny, wydaje się łatwiejsza. W widmie masowym pemoliny relatywna intensywność jonu molekularnego ($m/z = 176$) i jonu podstawowego ($m/z = 107$) wynosiła odpowiednio 70% i 100%, zapewniając dobrą czułość dla monitorowania wybranych jonów (SIM).

Warto również dodać, że nielegalnie wytworzone tabletki czasem nie zawierają żadnych składników psychoaktywnych. Dlatego też bardzo ważne jest pobieranie reprezentatywnej liczby tabletek do dalszej analizy. Można to być przeprowadzone różnymi metodami, np. metodą pierwiastka kwadratowego (zalecana przez Wydział ds. Narkotyków Organizacji Narodów Zjednoczonych) [5], metodą hipergeometrycznego rozkładu prawdopodobieństwa (zalecana przez ENFSI) i zgodnie z teorią Bayesa [1]. Najprostsza i najpopularniejsza jest metoda pierwiastka kwadratowego, którą można zastosować tylko w przypadku opakowań zawierających identyczne tabletki. Kiedy w jednym opakowaniu jest: mniej niż 10 tabletek – wszystkie powinny być analizowane, w granicach 10–100 sztuk – losowo wybiera się 10, a w przypadku większej liczby niż 100 tabletek – liczba losowo wybranych tabletek powinna równać się pierwiastkowi kwadratowemu z całkowitej ich liczby.

WNIOSKI

- Pemolina, będąca składnikiem nielegalnie wytwarzanych tabletek, może być łatwo zidentyfikowana metodą GC/MS i oznaczona metodą LC/MS;
- najistotniejszym etapem analizy pemoliny jest jej rozpuszczenie. Powinno być także brane pod uwagę podgrzanie wodno-metanolowego roztworu do 60°C lub zastosowanie glikolu propylenowego jako rozpuszczalnika;
- przy analizie tabletek pemoliny pochodzących z rynku narkotykowego bardzo ważne jest pobranie reprezentatywnej próbki.