

## ANALYSING THE COMPOSITION OF CHINESE “HERBAL” SLIMMING AIDS

Dariusz BŁACHUT<sup>1</sup>, Agnieszka SIWIŃSKA-ZIÓŁKOWSKA<sup>2</sup>, Agnieszka KOBYLECKA<sup>2</sup>,  
Zbigniew CZARNOCKI<sup>3</sup>

<sup>1</sup> *Department of Criminalistics and Special Chemistry, Internal Security Agency, Warsaw, Poland*

<sup>2</sup> *Department of Forensic Medicine, Medical Academy, Warsaw, Poland*

<sup>3</sup> *Department of Chemistry, Warsaw University, Warsaw, Poland*

### Abstract

In the paper, the results of analysis of the qualitative and quantitative composition of three unregistered, slimming aids (so-called “Chinese medicines”) are presented. The preparations contain information on the packaging about the completely natural origin of the ingredients – claimed to be herbs - which was supposed to ensure safety of use and lack of side-effects. As a result of performed analyses, a complete inconsistency between the claimed and real composition of these preparations was ascertained, which in fact contained only synthetic amines that act on the central nervous system, inhibiting hunger (appetite). This raises justified fears that these substances, sold without required licences and taken without any sort of medical supervision, may constitute a threat to health, and maybe even to the life of persons who are convinced that using “100% natural, herbal” products is safe.

### Key words

“Chinese herbs”; Slimming; Sibutramine; Phenfluramine.

*Received 24 October 2006; accepted 27 December 2006*

### 1. Introduction

Sibutramine (chemical name: (R,S)-1-(4-chlorophenyl)-N,N-dimethyl- (2-methylpropyl)cyclobutanemethanamine) hydrochloride is a chemical compound with a structure derived from amphetamine. It was introduced onto the pharmaceutical market by Abbott Laboratories (part of Knoll Pharmaceuticals) in 1998 in the United States after obtaining the appropriate licence. Preparations containing sibutramine are used in the treatment of obesity and are currently accepted into circulation in almost 40 countries [12]. In Poland, Meridia (Abbott) and Zelixa (Biofarm) are registered in the form of capsules containing 10 or 15 mg sibutramine hydrochloride monohydrate.

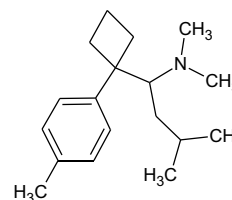


Fig. 1. Structure of sibutramine.

Sibutramine (Figure 1) and its two main metabolites (M1 – monodesmethyl sibutramine and M2 – didesmethyl sibutramine) inhibit the reuptake of noradrenaline and serotonin and also modify the reactivity of the  $\alpha$ -adrenergic receptor (down-regulation); however, the effect of the activity of the metabolites is significantly stronger than that of the parent compound [3, 8]. It has also been shown that R enantiomers of metabolites of

sibutramine have significantly stronger action than S enantiomers [6]. The medicine does not affect release of monoamines nor does it inhibit the activity of monoamine oxidase. Loss of body mass is caused by stimulation of the satiation centre (decreased appetite) and also increased thermogenesis [4, 7]. Studies into the addictive effect of sibutramine in comparison to compounds that increase the secretion of catecholamines indicate the low risk of occurrence of addiction to this medicine. On this basis, the authors exclude the possibility of use of sibutramine as a substitute for known street drugs, such as amphetamine or MDMA [1, 14].

For several years, the sale of preparations from the group of dietary supplements intended for the treatment of obesity, which contain synthetic compounds that act on the central nervous system [10, 11] has been observed on the European market, including in Poland. These preparations are mainly distributed via the internet. According to the labels on these preparations (e.g. LiDa, Meizitanc) they are based exclusively on plant components. However, performed analyses have revealed the presence of approx. 25 mg sibutramine hydrochloride in an individual capsule – exceeding the maximum permissible dose (15 mg) by about 70% in a single dose. The large dose and lack of accurate information about the medicine (sibutramine is not listed as an ingredient) may lead to overdosing of the medicine with fatal consequences, if it is considered by the person taking it as a harmless, natural dietary supplement. In Poland sibutramine is not a legally controlled substance. In the United States, it is listed, alongside pseudoephedrine, in group V on the narcotics register.

## 2. Experimental

### 2.1. Aim of the study

The aim of this paper was to identify and determine components of three preparations declared to be herbal slimming aids.

### 2.2. Materials

A sibutramine hydrochloride standard (98.8% by weight) produced by ABBOTT GmbH & Co Kg, (Ludwigshafen, Germany) was obtained from the National Institute of Public Health. Standards of amphetamine sulphate, methylamphetamine hydrochloride, phentermine hydrochloride, phenfluramine hydrochloride, 3,4-methylenedioxymetamphetamine hydrochloride (MDMA) were obtained from Sigma. Ethyl acetate, methanol, chloroform, methylene chloride, isopropa-

nol, diethyl ether, water, ammonia (2 M in ethanol), sodium cyanoborohydride, ethylamine hydrochloride, 3,4-dimethoxyphenylacetone and also auxiliary reagents (anhydrous sodium sulphate, hydrochloric acid, sodium carbonate) were purchased from well-known producers (Merck, Fluka) and were used without additional purification. The solvents used were characterised by purity for HPLC. Silica gel 70-230 Mesh for column chromatography was purchased from Aldrich (Germany). N-ethyl-3,4-dimethoxyphenylisopropylamine hydrochloride was obtained by reductive amination of 3,4-dimethoxyphenylacetone by ethylamine in methanol in the presence of sodium cyanoborohydride as the reductive agent. The crude product, free amine, was purified using vacuum distillation. Amine hydrochloride was obtained by the action of dry hydrochloride on a free amine dissolved in a diethyl isopropanol-ether system 1:1 (v/v). The structure and purity of the obtained compound was confirmed by chromatographic methods (TLC, GC) and spectroscopic methods (MS, IR,  $^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$  NMR). 4-methoxyamphetamine hydrochloride (PMA) was obtained according to a published procedure [2].

### 2.3. Methods

#### 2.3.1. Isolation of sibutramine from capsules of Meizitanc

A solid white substance (total 5.42 grams) originating from 20 capsules of Meizitanc preparation was placed in a conical flask of volume 150 ml, and next 100 ml of water was added. After filtering off the insoluble parts, a clear and colourless solution was alkalinised by sodium carbonate to pH 10. The aqueous solution was extracted with chloroform (3 × 50 ml). The combined organic layers were dried with anhydrous sodium sulphate. After evaporating off the solvent on a rotary evaporator (temperature of the water bath 40°C), 530 mg of a colourless oily liquid was obtained, which crystallised after about 12 h at a temperature of -18°C. The crude amine of sibutramine obtained in this way was additionally purified by the column chromatography method, applying silica gel as an adsorbent and the following solvent system – chloroform: methanol: 25% aqueous solution of ammonia in proportions 94:5.5:0.5 (v/v/v) as an eluent. After evaporating off the solvent, 420 mg of colourless oily liquid was obtained, which, after cooling to about -5°C quickly solidified, and its melting temperature was 49–51°C (the literature [9] defines the temperature of melting as 49–51°C). To a sample of the liquid (80 mg), 3 ml 2 N HCl in methanol was added, and the

whole was concentrated to about 1/3 of the starting volume, and then 1 ml ethyl ether was added. The entirety was cooled to  $-18^{\circ}\text{C}$ . The crystallised sibutramine hydrochloride (62 mg) was filtered off and dried at a temperature of  $40^{\circ}\text{C}$  at lowered pressure, temperature of melting  $189\text{--}191^{\circ}\text{C}$  (the literature [9] gives the temperature of melting as  $191\text{--}192^{\circ}\text{C}$ ).

### 2.3.2. Preparing material for analysis

Sibutramine hydrochloride, amphetamine sulphate, hydrochlorides of phentermine, phenfluramine, 4-methoxyamphetamine and 3,4-methylenedioxamphetamine were dissolved in water, obtaining solutions of concentration 1 mg/ml. After taking 0.5 ml aqueous solution of the appropriate compound, the solution was alkalisied, adding 0.2 ml 10%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  in water. The aqueous solution was extracted with methylene chloride (0.5 ml). After separation, the organic layer was dried with anhydrous sodium sulphate and analysed by GC-MS.

### 2.3.4. Determination of the content of sibutramine hydrochloride

Standard samples (standard solutions) were prepared by weighing out sibutramine hydrochloride, and then dissolving the weighed amount in 1 ml aqueous solution of an internal standard – N-ethyl-3.4-dimethoxyphenylisopropylamine hydrochloride at a concentration of 3 mg/ml. Four standard solutions of sibutramine hydrochloride of concentrations 1.6 mg/ml; 3.72 mg/ml; 5.65 mg/ml; 8.8 mg/ml were prepared in this way. The solutions were alkalisied, adding 0.2 ml 10%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  solution to each, and then extracted with ethyl acetate (1 ml). The organic solutions after separation were dried with anhydrous sodium sulphate and analysed by the gas chromatographic method. Analysis of each sample was carried out four times. A calibration curve was drawn up, making use of the appropriate module of programming of the chromatograph GC Chem Station Rev. A09.03. Samples for determining content of sibutramine in the studied material were prepared analogically to standard samples.

Before carrying out analyses, the following validation parameters of the method were analysed: the range of linearity, intra-day and inter-day precision and accuracy of the method. To this end, a control solution of sibutramine hydrochloride of concentration 3.88 mg/ml was prepared, containing an internal standard of concentration 3.0 mg/ml.

### 2.3.5. Apparatus

Analysis of content of sibutramine was carried out using gas chromatograph HP 6890 coupled with mass detector HP 5973. An HP-5-MS chromatographic column of length 30 m, internal diameter 0.25 mm and film thickness 0.25  $\mu\text{m}$  was applied. The course of the temperature programme: start  $110^{\circ}\text{C}$ , increase  $12^{\circ}\text{C}/\text{min}$ , end temperature  $300^{\circ}\text{C}$  maintained for 8 minutes. Remaining parameters of the apparatus: split injection – 30:1, temperature of the injection chamber  $t = 250^{\circ}\text{C}$ , carrier gas – helium, flow rate 0.6 ml/min. Spectra were recorded in the mass range 40–400 a.m.u.

A gas chromatograph Agilent 6850 Series GC equipped with a flame ionisation detector (FID) was applied to separation of the mixture of amines. A chromatographic column type Permabond SE-52 of length 6.5 m, internal diameter 0.32 mm and film thickness 1.0  $\mu\text{m}$  was used. The temperature programme was as follows: start  $75^{\circ}\text{C}$ , increase  $20^{\circ}\text{C}/\text{min}$ , end temperature  $265^{\circ}\text{C}$  maintained for 2 minutes. Remaining parameters of the apparatus: split injection – 40:1, temperature of injection chamber  $t = 250^{\circ}\text{C}$ , temperature of the detector  $t = 270^{\circ}\text{C}$ , carrier gas – helium, flow rate 1.2 ml/min. Determination was carried out on the same apparatus and column, working at a constant oven temperature  $t = 220^{\circ}\text{C}$ . The remaining parameters: temperature of the injection chamber  $t = 250^{\circ}\text{C}$ , detector  $t = 270^{\circ}\text{C}$ , split injection – 80:1, injection volume –  $V = 1 \mu\text{l}$ , carrier gas – helium, flow rate – 1 ml/min.

The above instrument and also chromatographic column type -DEX<sup>TM</sup> of length 10 m, diameter 0.32 mm and film thickness 0.25  $\mu\text{m}$  was applied to separation of enantiomers of sibutramine. The course of the temperature programme: start  $80^{\circ}\text{C}$ , increase  $3^{\circ}\text{C}/\text{min}$ , end temperature  $175^{\circ}\text{C}$  maintained for 2 minutes. Remaining parameters: injection chamber temperature  $t = 220^{\circ}\text{C}$ , detector  $t = 255^{\circ}\text{C}$ , split injection – 100:1, injection volume  $V = 0.4 \mu\text{l}$ , carrier gas – helium, flow 1 ml/min.

Measurements of IR spectra were carried out with application of an IR spectrometer with Fourier transformation produced by Bruker (Germany), model IFS 113v, with a microscope attachment. The spectra of the standard substance and studied material were measured with a resolution of  $4 \text{ cm}^{-1}$ .

Spectra of proton and carbon nuclear magnetic resonance imaging (NMR) were measured on a Varian Unity Plus instrument at a frequency of 500 MHz for proton spectra and 125 MHz for carbon spectra. Samples were dissolved in deuterated chloroform.

### 3. Results and discussion

#### 3.1. Description of the studied material

The following material was analysed in these studies:

- 1) So-called "red" Meizitanc – a white solid substance in thirty bipartite capsules of the following dimensions: length 1.9 cm, diameter 6 mm, light and dark green colour. The capsules contained a printed graphic symbol and also the number 0871-8335000 in white. The average net mass of the capsule was 276.4 mg ( $SD = 16.5$ ). The range of net masses of the capsules was from 247.2 to 301.3 mg. The capsules were in a white plastic jar with a red label attached bearing inscriptions "Meizitanc Natural Tibetan Dietetic Concentrate". The jar was packaged in a red and orange cardboard box with an image of a woman and a butterfly. On the box was the caption "MEIZITANC Natural Tibetan Dietetic Concentrate".
- 2) LiDa – a solid white substance located in thirty two capsules of dimensions and colour as described above. The average net mass of a capsule was 279.0 mg ( $SD = 5.1$ ). The range of net masses of capsules was 267.1 to 291.5 mg. The capsules were packed in so-called aluminium blisters bearing printed green blue and violet graphic symbols and also the words "Dai Dai Hua Jiao Nang". The entirety was located in a silvery-green cardboard box with an image of a woman and the words "Li Da Dai Dai Hua Jiao Nang".
- 3) So-called "green" Meizitanc – a white solid substance located in 12 capsules of the following dimensions: length 1.9 cm and diameter 6 mm, of brown and orange colour. The capsules were packaged in so-called aluminium blisters bearing green printed inscriptions in an Asian language. The entirety was located in a dark green cardboard box with an image of a woman and a butterfly and also writing in an Asian language. The average net mass of a capsule was 278.4 mg ( $SD = 6.4$ ). The net mass of capsules ranged from 254.9 to 293.4 mg.
- 4) The content of two capsules of appearance and dimensions as in points 1 and 2. Their mass is presented in Table II.

#### 3.2. Analysis by the GC-MS method

The retention values of the chemical compound isolated from Meizitanc were compared with values obtained for the standard, carrying out chromatographic separation on two capillary columns of different parameters. In the system with FID detection a short

column (6.5 m) with a very thick film (1.0  $\mu$ m) was used. However, in the GC-MS system a capillary column with parameters typical of columns routinely applied in criminalistic screening analysis (HP-5MS) was installed. Identical values of retention times for the studied compound and the sibutramine standard were obtained on both columns. Furthermore, retention times of sibutramine were recorded in a mixture with other compounds applied to lower appetite (phentermine, phenfluramine) and also several psychotropic substances from the amphetamines group (amphetamine, methamphetamine, PMA and MDMA). Excellent separation of components was achieved in the case of both columns. Use of a short column with a very thick film may in some applications be an alternative to a traditional column of length 30 m, since it considerably shortens the time of analysis, without significantly influencing separation of components. Column SE-52 enabled separation of seven components in a time shorter than 5 min (Figure 2). By comparison, analysis by the GC-MS method required over 10 min.

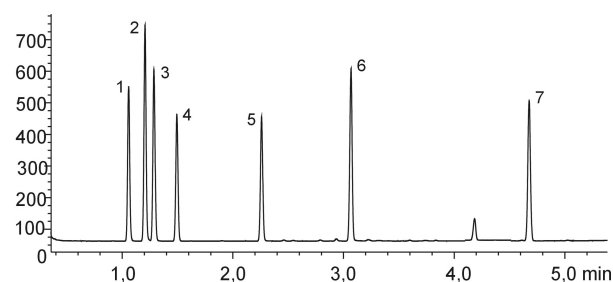


Fig. 2. Chromatogram of a mixture of amphetamine class compounds (GC/FID, column SE-52). 1 – amphetamine, 2 – phentermine, 3 – methamphetamine, 4 – phenfluramine, 5 – PMA, 6 – MDMA, 7 – sibutramine.

The MS spectrum of the studied compound showed complete consistency with the spectrum recorded for the sibutramine standard (Figure 3). A proposed method of fragmentation of sibutramine is presented below (Figure 4).

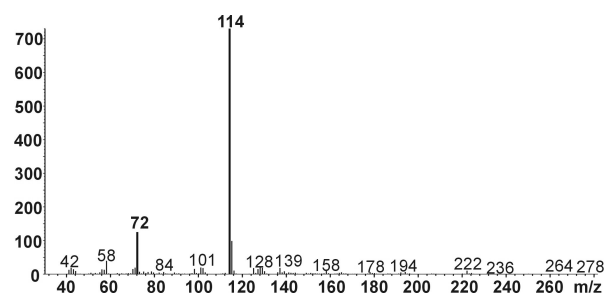


Fig. 3. Mass spectrum of sibutramine.

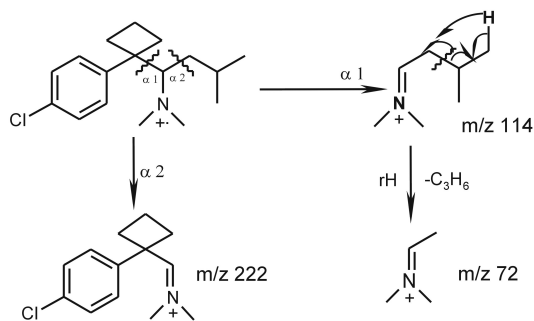


Fig. 4. Proposed way of fragmentation of sibutramine (EI = 70 eV).

In terms of structure, this compound can be treated as 4-chloro-*N,N*-dimethylamphetamine with a modified side chain. As a consequence, close analogies can be observed between the way of fragmentation of sibutramine and amphetamine derivatives. decomposition of the benzyl bond, which is typical for amphetamine analogs, leads to an imine cation of *m/z* 114 constituting the main peak of the spectrum. In decomposition occurring with dissociation of the bond between the methyldene and methylene atom of carbon, a cation of *m/z* 222 is formed. However, a peak was not observed that could be the result of homolysis of the benzyl bond and transfer of charge from the nitrogen atom to the aromatic ring. Such a direction of decomposition is observed in the case of amphetamines and is responsible for the presence of e.g. the peak of *m/z* 91 in the spectrum of amphetamine and *m/z* 135 in the spectrum of MDMA. After re-arrangement of the hydrogen atom, the cation of *m/z* 114 loses a  $C_3H_6$  particle and a cation of *m/z* 72 is formed.

### 3.3. Infrared spectroscopy

Figure 5 presents IR spectra of a component of Meizitanc measured directly in the matrix of the sample (Figure 5 B) and also after isolation in the form of a base (Figure 5 A). In both cases full consistency of the measured spectra with spectra recorded for the sibutramine hydrochloride standard and also sibutramine transformed into the form of a base was ascertained. A significant feature of spectra is the broad and fairly intensive band in the range of wave numbers from about 2700 to about 2600  $cm^{-1}$ , which is characteristic for hydrochlorides of tertiary amines. The presence of methyl groups substituted for the nitrogen atom is indicated by a band at about 2870  $cm^{-1}$ . Crystallizing water of hydrochloride is revealed in the form of a broad band visible in the range 3400–3200  $cm^{-1}$ .

A strong band at 829  $cm^{-1}$  is confirmation of the presence in the studied compound of a 1,4-disubstituted aromatic ring.

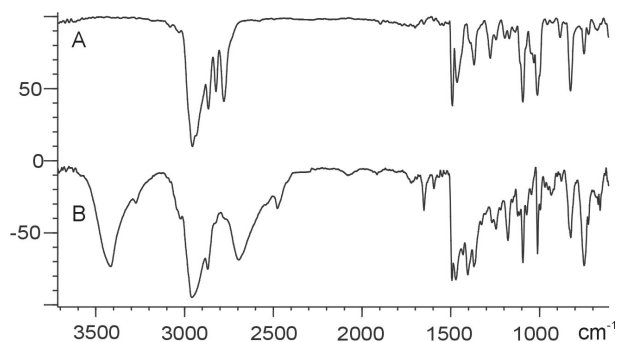


Fig. 5. A comparison of IR spectra of Meizitanc after isolation of the active component in the form of a base (A) and directly in the matrix of the capsules (B).

### 3.4. Nuclear magnetic resonance spectroscopy

Conclusive evidence of the structural identity of the compound isolated from the capsules and the sibutramine standard was obtained on the basis of comparison of the proton spectrum ( $^1H$  NMR) and the carbon spectrum ( $^{13}C$  NMR) of magnetic resonance obtained for both samples.

Spectra  $^1H$  NMR and  $^{13}C$  NMR measured for the isolated component are presented on Figure 6 A.

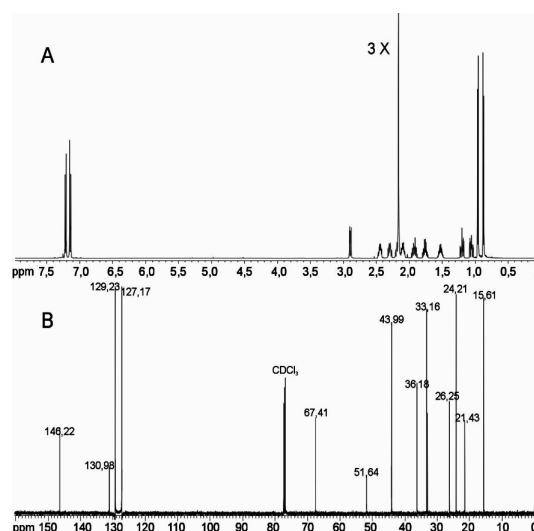


Fig. 6. NMR spectra of the isolated active ingredient from Meizitanc. A  $^1H$  NMR, B  $^{13}C$  NMR

Two dublets in the range from 0.85 to 0.95 ppm are a result of the presence of diastereotopic methyl groups, whose protons are coupled with the methin proton of the isopropyl system. Two multiplets ob-

TABLE II. RESULTS OF DETERMINATION OF CONTENT OF SIBUTRAMINE HYDROCHLORIDE MONOHYDRATE

Material	Mean net mass of a capsule [mg] ( <i>SD</i> )	Range of net masses [mg]	Determined content of sibutramine		
			<i>X</i> [mg] "a"	<i>SD</i>	confidence interval "b"
So-called "red" Meizitanc (light and dark green capsules)	276.4 (16.5)	247.2 301.3	24.9	0.18	0.57
Lida capsules (light and dark green capsules)	279.0 (5.1)	267.1 291.5	24.7	0.99	3.14
So-called "green" Meizitanc (brown-red capsules)	278.4 (6.4)	254.9 293.4	25.3	0.54	1.71
Two light and dark green capsules	279.6 and 295.0		26.1	0.85	2.70

"a" – mean content of sibutramine hydrochloride monohydrate expressed in mg per capsule; "b" – value of the Student function for  $n = 4$  and 95% probability is  $t = 3.18$ .

served at approx 1.0 and 1.2 ppm are signals of two protons of the methylene group neighbouring protons of two methylenic groups  $\text{HC-N}(\text{CH}_3)_2$  and also  $\text{HC}(\text{CH}_3)_2$ . This is a spin system of the type ABXX'. In the range from 1.7 to approx 2.5 ppm, six multiplets can be observed, whose source are protons of the cyclobutane ring. The singlet at 2.16 ppm is a proton signal of two methyl groups located on the nitrogen atom. The characteristic multiplet was observed in the range from 7.16 to 7.23 ppm is typical for the symmetrically substituted aromatic system. For non-equivalent substitutes, such a system is defined as AA'XX'. In the spectrum  $^{13}\text{C}$  NMR (Figure 6 B), four signals observed in the range from about 127 to about 147 ppm are an additional confirmation of the presence of a *para*-substituted aromatic ring.

### 3.5. Chiral gas chromatography

Sibutramine possesses one stereogenic centre, so it may occur in the form of a pair of enantiomers. In the literature of the subject, there is a description of the separation of enantiomers by the liquid chromatography technique [13]. An attempt was made to separate enantiomers of the compound, applying the gas chromatographic method. Attempts were made to analyse the thickness of the stationary phase and also its type (phases -, - and -cyclodextrin) with application of several chiral capillary columns differing in length. The best result was obtained for a column with a -cyclodextrin phase; however, even in this case, full separation of enantiomers was not achieved. Nonetheless, the obtained results (Figure 7) unambiguously indicate that sibutramine identified in studied preparations is a mixture of enantiomers in equal proportions, and is thus in the form of a racemate.

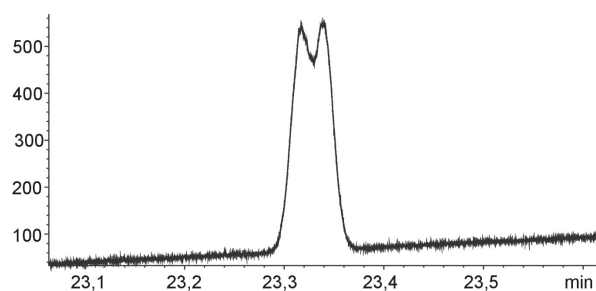


Fig. 7. Chromatogram of sibutramine enantiomers – from "red" Meizitanc (GC/FID, column -Dex)

### 3.6. Quantitative analysis

Determination of sibutramine hydrochloride content was carried out by the gas chromatography method. Before carrying out analysis, the reliability of the developed method was verified, measuring selected validation parameters. The precision and accuracy of the method was measured in series within one day (four measurements) and also the inter-group precision between four successive days. The control sample was sibutramine hydrochloride solution at a concentration of 3.88 mg/ml. The results of the test are presented in Table I. In Table II, results of determination of sibutramine hydrochloride in the studied capsules are presented.

Results of determination indicate that content of the active substance – sibutramine hydrochloride monohydrate – is in each case about 10 mg (about 70%) greater than the highest permitted 24 hour dose of this medicine. Application of sibutramine even in permitted doses is linked with the possibility of occurrence of a broad spectrum of unwanted side-effects. In patients,

dryness in the mouth, headaches, increase in arterial blood pressure, tachycardia, excessive stimulation and insomnia were observed. In extreme cases, there may be disturbances that are a threat to life, such as disturbances of the rhythm of the heart, a rapid rise in blood pressure [5, 15, 16].

TABLE I. SELECTED VALIDATION PARAMETERS OF THE METHOD OF DETERMINATION OF SIBUTRAMINE HYDROCHLORIDE

Parameters of the calibration curve			
$y = 1.444x + 0.0059; r^2 = 0.99997$			
Repeatability within one day ( $n = 4$ ) "a"			
Day	$X$ ( $SD$ )	$RSD\%$	$D\%$
1	3.89 (0.007)	0.18	0.2
2	3.85 (0.028)	0.47	0.8
3	3.84 (0.009)	0.23	1.0
4	3.81 (0.010)	0.26	1.8
Repeatability of series between days ( $n = 4, m = 4$ ) "b"			
	3.85	0.78	0.8

"a":  $X$  – mean value ( $X = 3.88$  mg);  $SD$  – standard deviation,  $RSD\%$  – relative coefficient of variability calculated according to the expression  $RSD = (SD/X) \cdot 100\%$ ,  $D\%$  – accuracy calculated according to the expression  $D = [(XD - X)/X] \cdot 100\%$ ; "b":  $n$  – number of samples within one day,  $m$  – number of measurement series on successive days.

#### 4. Summary

The performed studies of the composition of three preparations claiming to be of herbal composition allow us to draw the following conclusions:

- so-called "red" and "green" Meizitanc and also LiDa contain sibutramine hydrochloride in amounts exceeding the highest permitted 24 hour dose by about 10 mg (i.e. 70%);
- none of the preparations contains any compounds that could be of plant origin;
- information on the packaging listing ingredients is completely inconsistent with the real content and misleads the purchaser;
- sibutramine preparations are taken without awareness of their real composition with confidence that they are harmless and that they are highly effective in reducing body mass; they may be the cause of health complications, including a threat to life (hy-

pertension, disturbance of the rhythm of the heart, damage to liver and kidneys).

#### References

1. Arfken C. L., Schuster C. R., Johanson C. E., Post-marketing surveillance of abuse liability of sibutramine, *Drug and Alcohol Dependence* 2003, 69, 169–173.
2. Błachut D., Wojtasiewicz K., Czarnocki Z., Identification and synthesis of some contaminants present in 4-methoxyamphetamine (PMA) prepared by the Leuckart method, *Forensic Science International* 2002, 127, 45–62.
3. Buckett W. R., Hopcroft R. H., Luscombe G. P. [et al.], BTS 54525, a monoamine uptake inhibitor exhibiting potent actions in models predictive of potential antidepressant activity, *British Journal of Pharmacology* 1987, 90, 94.
4. Connolly I. P., Liu Y. L., Frost I. [et al.], Thermogenic effects of sibutramine and its metabolites, *British Journal of Pharmacology* 1999, 126, 1487–1495.
5. Deitel M., Sibutramine warning: hypertension and cardiac arrhythmias reported, *Obesity Surgery* 2002, 12, 422.
6. Glick S. D., Haskew R. E., Maissoneuve I. M. [et al.], Enantioselective behavioral effects of sibutramine metabolites, *European Journal of Pharmacology* 2000, 397, 93–102.
7. Hansen D. L., Toubro S., Stock M. J. [et al.], Thermogenic effects of sibutramine in humans, *American Journal of Clinical Nutrition* 1998, 68, 1180–1186.
8. Jackson H. C., Bearham M. C., Hutchins L. J. [et al.], Investigation of the mechanisms underlying the hypophagic effects of the 5-HT and noradrenaline reuptake inhibitor sibutramine in the rat, *British Journal of Pharmacology* 1997, 121, 1613–1618.
9. Jeffery J. E., Kerrigan F., Miller T. K. [et al.], Synthesis of sibutramine, a novel cyclobutylalkylamine useful in the treatment of obesity, and its human metabolites, *Journal of the Chemical Society* 1996, 21, 2583–2589.
10. Jung J., Hermanns-Clausen M., Weinmann W., Anorectic sibutramine detected in a Chinese herbal drug for weight loss: a case report Klein-Schwartz W., Toxicity of diet drugs, *Toxalert* 1998, 15, 3.
11. Ku Y. R., Chang Y. S., Wen K. C. [et al.], Analysis and confirmation of synthetic anorexics in adulterated traditional Chinese medicines by high-performance capillary electrophoresis, *Journal of Chromatography A* 1999, 848, 537–543.
12. Luque C. A., Rey J. A., The discovery and status of sibutramine as an anti-obesity drug, *European Journal of Pharmacology* 2002, 440, 119–128.
13. Radhakrishna T., Lakshmi Narayana C., Sreenivas Rao D. [et al.], LC method for the determination of assay and purity of sibutramine hydrochloride and its enantiomers by chiral chromatography, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 2000, 22, 627–639.

14. Schuh L. M., Schuster C. R., Hopper J. A. [et al.], Abuse liability assessment of sibutramine, a novel weight control agent, *Psychopharmacology* 2000, 147, 339–346.
15. Sayin T., Güldal M., Sibutramine: possible cause of a reversible cardiomyopathy, *International Journal of Cardiology* 2005, 99, 481–482.
16. Wooltorton E., Obesity drug sibutramine (Meridia): hypertension and cardiac arrhythmias, *Canadian Medical Association Journal* 2002, 166, 1307–1308.

---

**Corresponding author**

Agnieszka Siwińska-Ziółkowska  
Zakład Medycyny Sądowej Akademii Medycznej  
ul. Oczki 1  
PL 02-007 Warszawa  
e-mail: agasiwa@gmail.com

---



## BADANIA SKŁADU CHIŃSKICH „ZIOŁOWYCH” PREPARATÓW WSPOMAGAJĄCYCH ODCHUDZANIE

### 1. Wstęp

Chlorowodorek sibutraminy (nazwa chemiczna: chlorowodorek (R,S)-1-(4-chlorofenylo)-N,N-dimetylo-(2-metylopropylo)cyklobutanometanaminy) jest związkiem chemicznym o strukturze wywodzącej się z amfetaminy. Na rynek farmaceutyczny został wprowadzony przez firmę Abbott Laboratories (oddział Knoll Pharmaceuticals) w 1998 r. w Stanach Zjednoczonych po uzyskaniu odpowiedniej akceptacji. Preparaty zawierające sibutraminę stosowane są w leczeniu otyłości i są dopuszczone aktualnie do obrotu w blisko czterdziestu krajach [12]. W Polsce zarejestrowane są Meridia (Abbott) i Zelix (Biofarm) w postaci kapsułek zawierających 10 lub 15 mg chlorowodoru monowodzianu sibutraminy.

Sibutramina (rycina 1) i jej dwa główne metabolity (M1 – demetylsibutramina i M2 – didemetylsibutramina) hamują zwrotny wychwyt noradrenaliny i serotoniny oraz modyfikują reaktywność receptora  $\alpha$ -adrenergicznego (down-regulacja), przy czym efekt działania metabolitów jest znacznie silniejszy niż związku macierzystego [3, 8]. Wykazano także, że enancjomery R metabolitów sibutraminy mają znacznie silniejsze działanie niż enancjomery S [6]. Lek nie wpływa na uwalnianie monoamin ani nie hamuje aktywności monoaminooksydazy. Utrata masy ciała powodowana jest pobudzeniem ośrodkowego układu nerwowego (zmniejszone łaknienie) oraz zwiększoną termogenezą [4, 7]. Badania nad uzależniającym działaniem sibutraminy w porównaniu do związków zwiększających wydzielanie amin katecholowych wskazują na niskie ryzyko wystąpienia uzależnienia od tego leku. Autorzy wykluczają na tej podstawie możliwość użycia sibutraminy jako substytutu znanych narkotyków ulicznych, takich jak amfetamina czy MDMA [1, 14].

Od kilku lat na rynku europejskim, a także w Polsce, obserwuje się sprzedaż preparatów z grupy suplementów diety przeznaczonych do stosowania w leczeniu otyłości, które zawierają syntetyczne związki o działaniu ośrodkowym [10, 11]. Dystrybucja tych preparatów odbywa się przede wszystkim poprzez Internet. Według specyfikacji podanej na opakowaniach preparaty (np. LiDa, Meizitanc) są oparte wyłącznie na komponentach roślinnych. Wykonane badania wykazały jednak obecność w pojedynczej kapsułce chlorowodoru sibutraminy w ilości ok. 25 mg, a więc w dawce jednorazowej przekraczającej o ok. 70% najwyższą dawkę dopuszczalną (15 mg). Duża dawka, brak prawdziwej informacji o leku (sibutramina nie jest ujawniona w jego składzie) może prowadzić do jego przedawkowania z fatalnymi skutkami, jeśli uważany jest on przez osobę przyjmującą

za niegroźny, naturalny suplement diety. W Polsce sibutramina nie figuruje w wykazie substancji kontrolowanych. W Stanach Zjednoczonych wymieniona jest, obok pseudoefedryny, w wykazie narkotyków w grupie V.

### 2. Część eksperymentalna

#### 2.1. Cel pracy

Celem niniejszej pracy była identyfikacja i oznaczenie składników trzech preparatów deklarowanych jako ziołowe środki wspomagające odchudzanie.

#### 2.2. Materiały

Wzorec chlorowodoru sibutraminy (98,8% wag.) produkcji ABBOTT GmbH & Co Kg, (Ludwigshafen, Niemcy) otrzymano od Narodowego Instytutu Zdrowia Publicznego. Wzorce siarczanu amfetaminy, chlorowodoru metyloamfetaminy, chlorowodoru fenterminy, chlorowodoru fenfluraminy, chlorowodoru 3,4-metylenodioksymetamfetaminy (MDMA) pochodziły z firmy Sigma. Octan etylu, metanol, chloroform, chlorek metylenowy, izopropanol, eter dietylowy, woda, amoniak (2 M w EtOH), cyjanoborowodorek sodu, chlorowodorek etyloaminy, 3,4-dimetoksyfenyloaceton oraz odczynniki pomocnicze (bezwodny siarczan sodu, kwas solny, węgiel sodu) pochodziły od renomowanych producentów (Merck, Fluka) i używane były bez dodatkowego oczyszczania. Użyte rozpuszczalniki charakteryzowały się czystością do HPLC. Żel krzemionkowy 70-230 Mesh do chromatografii kolumnowej zakupiono w firmie Aldrich (Niemcy). Chlorowodorek N-etylo-3,4-dimetoksyfenyloizopropylaminy otrzymano w reakcji redukcyjnego aminowania 3,4-dimetoksyfenyloacetonu etyloaminą w metanolu w obecności cyjanoborowodoru sodu jako czynnika redukującego. Surowy produkt, wolną aminę, oczyszczano drogą destylacji próżniowej. Chlorowodorek aminy otrzymano, działając suchym chlorowodorem na wolną aminę rozpuszczoną w układzie izopropanol-eter dietylowy 1:1 (v/v). Strukturę i czystość otrzymanego związku potwierdzono metodami chromatograficznymi (TLC, GC) oraz spektroskopowymi (MS, IR,  $^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$  NMR). Chlorowodorek 4-metoksyamfetaminy (PMA) otrzymano według opublikowanej procedury [2].

## 2.3. Metody

### 2.3.1. Izolacja sibutraminy z kapsułek preparatu Meizitanc

Substancję stałą koloru białego (łącznie 5,42 grama) pochodzącą z dwudziestu kapsułek preparatu Meizitanc umieszczono w kolbie stożkowej o pojemności 150 ml, a następnie zadano 100 ml wody. Po odsączeniu części nierozpuszczalnych, klarowny i bezbarwny roztwór zakalizowano węglanem sodu do pH 10. Roztwór wodny ekstrahowano chloroformem (3 50 ml). Połączone warstwy organiczne suszono bezwodnym siarczanem sodu. Po odparowaniu rozpuszczalnika na wyparce obrotowej (temperatura łaźni wodnej 40°C) otrzymano 530 mg bezbarwnej oleistej cieczy, która krystalizowała po ok. 12 h w temperaturze -18°C. Otrzymaną w ten sposób surową aminę sibutraminy oczyszczano dodatkowo metodą chromatografii kolumnowej, stosując żel krzemionkowy jako adsorbent i układ rozpuszczalnikowy chloroform:metanol:25% roztwór wodny amoniaku w proporcjach 94:5,5:0,5 (v/v/v) jako eluent. Po odparowaniu rozpuszczalnika otrzymano 420 mg bezbarwnej oleistej cieczy, która po ochłodzeniu do ok. -5°C szybko się zestalała, a jej temperatura topnienia wynosiła 49 51°C (literatura [9] określa temperaturę topnienia na 49 51°C). Do próbki cieczy (80 mg) dodano 3 ml 2 N HCl w metanolu, całość zateżono do ok. 1/3 wyjściowej objętości, a następnie dodano 1 ml eteru etylowego. Całość ochłodzono do -18°C. Wykryształowany chlorowoderek sibutraminy (62 mg) odsączono i suszono w temperaturze 40°C pod obniżonym ciśnieniem, temperatura topnienia 189–191°C (lit. [9] podaje temperaturę topnienia 191–192°C).

### 2.3.2. Przygotowanie materiału do analizy

Chlorowoderek sibutraminy, siarczan amfetaminy, chlorowodorki fenterminy, fenfluraminy, 4-metoksylamfetaminy, 3,4-metylenodioksylamfetaminy rozpuszczono w wodzie, otrzymując roztwory o stężeniu 1 mg/ml. Po pobraniu 0,5 ml roztworu wodnego odpowiedniego związku roztwór alkalizowano, dodając 0,2 ml 10% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> w wodzie. Roztwór wodny ekstrahowano chlorkiem metylenu (0,5 ml). Po oddzieleniu, warstwę organiczną suszono bezwodnym siarczanem sodu i analizowano metodą chromatografii gazowej ze spektrometrią mas (GC-MS).

### 2.3.4. Oznaczenie zawartości chlorowodoru sibutraminy

Próby wzorcowe (roztwory wzorcowe) przygotowano poprzez odważenie chlorowodoru sibutraminy, a następnie rozpuszczenie naważki w 1 ml roztworu wodnego standardu wewnętrznego – chlorowodoru N-etylo-

3,4-dimetoksyfenyloizopropylaminy o stężeniu 3 mg/ml. Przygotowano w ten sposób cztery roztwory wzorcowe chlorowodoru sibutraminy o stężeniach 1,6 mg/ml; 3,72 mg/ml; 5,65 mg/ml; 8,8 mg/ml. Roztwory alkalizowano, dodając do każdego po 0,2 ml 10% roztworu Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, a następnie ekstrahowano octanem etylu (1 ml). Roztwory organiczne po oddzieleniu suszono bezwodnym siarczanem sodu i analizowano metodą chromatografii gazowej. Analizę każdej próbki przeprowadzono czterokrotnie. Prostą kalibracyjną sporządzono, korzystając z odpowiedniego modułu oprogramowania chromatografu GC Chem Station Rev. A09.03. Próbkę do oznaczenia zawartości sibutraminy w materiale badanym przygotowano analogicznie jak próbki wzorcowe.

Przed wykonaniem analiz zbadano następujące parametry walidacyjne metody: zakres liniowości, precyzję i dokładność metody w ciągu jednego dnia i pomiędzy dniami. W tym celu przygotowano roztwór kontrolny chlorowodoru sibutraminy o stężeniu 3,88 mg/ml zawierający standard wewnętrzny o stężeniu 3,0 mg/ml.

### 2.3.5. Aparatura

Analizę zawartości sibutraminy wykonano przy użyciu chromatografu gazowego HP 6890 sprzężonego z detektorem mas HP 5973. Zastosowano kolumnę chromatograficzną typu HP-5-MS o długości 30 m, średnicy wewnętrznej 0,25 mm i grubości fazy 0,25 μm. Przebieg programu temperaturowego: start 110°C, przyrost 12°C/min, temperatura końcowa 300°C utrzymywana przez 8 minut. Pozostałe parametry aparatu: nastrzyk z podziałem strumienia 30:1, temperatura komory nastrzykowej  $t = 250^{\circ}\text{C}$ , gaz nośny hel o przepływie 0,6 ml/min. Widma rejestrowano w zakresie mas 40 400 a.j.m.

Do rozdziału mieszaniny amin zastosowano chromatograf gazowy Agilent 6850 Series GC wyposażony w detektor płomieniowo-jonizacyjny (FID). Użyto kolumny chromatograficznej typu Permabond SE-52 o długości 6,5 m, średnicy wewnętrznej 0,32 mm i grubości fazy 1,0 μm. Przebieg programu komputerowego: start 75°C, przyrost 20°C/min, temperatura końcowa 265°C utrzymywana przez 2 minuty. Pozostałe parametry aparatu: nastrzyk z podziałem strumienia – 40:1, temperatura komory nastrzykowej  $t = 250^{\circ}\text{C}$ , temperatura detektora  $t = 270^{\circ}\text{C}$ , gaz nośny hel o przepływie 1,2 ml/min. Oznaczenie wykonano na tym samym aparacie i kolumnie, pracując w stałej temperaturze pieca  $t = 220^{\circ}\text{C}$ . Pozostałe parametry: temperatura komory nastrzykowej  $t = 250^{\circ}\text{C}$ , detektora  $t = 270^{\circ}\text{C}$ , nastrzyk z podziałem strumienia – 80:1, objętość nastrzyku  $V = 1 \mu\text{l}$ , gaz nośny hel, przepływ 1 ml/min.

Do rozdziału enancjomerów sibutraminy użyto powyższego instrumentu oraz kolumny chromatograficznej typu -DEX<sup>TM</sup> o długości 10 m, średnicy 0,32 mm i gru-

bości fazy 0,25 m. Przebieg programu temperaturowego: start 80°C, przyrost 3°C/min, temperatura końcowa 175°C utrzymywana przez 2 minuty. Pozostałe parametry: temperatura komory nastrzykowej  $t = 220^\circ\text{C}$ , detektora  $t = 255^\circ\text{C}$ , nastrzyk z podziałem strumienia – 100:1, objętość nastrzyku  $V = 0,4$  l, gaz nośny hel, przepływ 1 ml/min.

Pomiary widm IR przeprowadzono z zastosowaniem spektrometru w podczerwieni z transformacją Fouriera firmy Bruker (Niemcy), model IFS 113v, z przystawką mikroskopową. Substancję wzorcową i materiał badany nakładano na lustro i mierzono widmo z rozdzielczością  $4\text{ cm}^{-1}$ .

Widma protonowego i węglowego jądrowego rezonansu magnetycznego (NMR) mierzono na instrumencie Varian Unity Plus przy częstotliwości 500 MHz dla widm protonowych i 125 MHz dla widm węglowych. Próbkę rozpuszczono w deuterowanym chloroformie.

### 3. Wyniki i dyskusja

#### 3.1. Opis badanego materiału

W ramach niniejszych badań poddano analizie następujący materiał:

- 1) Meizitanc, tzw. „czerwony” substancję stałą koloru białego znajdującą się w trzydziestu dwudzielnym kapsułkach o wymiarach: długość 1,9 cm, średnica 6 mm, koloru jasno- i ciemnozielonego. Kapsułki posiadały nadrukowany znak graficzny oraz numer 0871-8335000 w kolorze białym. Średnia masa netto kapsułki wynosiła 276,4 mg ( $SD = 16,5$ ). Zakres mas netto kapsułek wynosił od 247,2 do 301,3 mg. Znajdowały się one w plastikowym słoiku koloru białego z przytwierdzoną kartką koloru czerwonego, zawierającą napisy o treści „Meizitanc Natural Tibetan Dietetic Concentrate”. Słoik opakowany był w pudełko kartonowe koloru czerwonego i pomarańczowego z wizerunkiem kobiety i motyla. Na pudełku umieszczono napis o treści „MEIZITANC Natural Tibetan Dietetic Concentrate”.
- 2) LiDa substancję stałą koloru białego, znajdującą się w trzydziestu dwóch kapsułkach o wymiarach i kolorze jak opisano powyżej. Średnia masa netto kapsułek wynosiła 279,0 mg ( $SD = 5,1$ ). Zakres mas netto kapsułek wynosił od 267,1 do 291,5 mg. Kapsułki opakowane były w tzw. „blistry” aluminiowe noszące nadrukowane znaki graficzne w kolorze zielonym, niebieskim i fioletowym oraz napis o treści „Dai Dai Hua Jiao Nang”. Całość znajdowała się w pudełku kartonowym koloru srebrzysto-zielonego z wizerunkiem kobiety i napisem o treści „Li Da Dai Dai Hua Jiao Nang”.

- 3) Meizitanc, tzw. „zielony” substancję stałą koloru białego znajdującą się w dwunastu kapsułkach o wymiarach: długość 1,9 cm i średnica 6 mm, koloru brązowego i pomarańczowego. Kapsułki opakowane były w tzw. „blistry” aluminiowe noszące nadrukowane napisy koloru zielonego wykonane w jednym z języków azjatyckich. Całość znajdowała się w pudełku kartonowym koloru ciemnozielonego z wizerunkiem kobiety i motyla oraz napisami wyłącznie w jednym z języków azjatyckich. Średnia masa netto kapsułki wynosiła 278,4 mg ( $SD = 6,4$ ). Zakres mas netto kapsułek wynosił od 254,9 do 293,4 mg.
- 4) Zawartość dwóch kapsułek o wyglądzie i wymiarach jak w punktach 1 i 2. Ich masę podano w tabeli II.

#### 3.2. Analiza metodą GC-MS

Wartości retencji związku chemicznego wyizolowanego z preparatu Meizitanc porównywano z wartościami otrzymanymi dla wzorca, wykonując rozdział chromatograficzny na dwóch kolumnach kapilarnych o różnych parametrach. W układzie z detekcją FID użyto kolumny krótkiej (6,5 m) o dużej grubości filmu fazy ciekłej (1,0 m). Natomiast w systemie GC-MS zainstalowana była kolumna kapilarna o parametrach typowych dla kolumn rutynowo stosowanych w skryningowej analizie kryminalistycznej (HP-5MS). Na obu kolumnach uzyskano identyczne wartości czasów retencji dla związku badanego i wzorca sibutraminy. Ponadto czasy retencji sibutraminy rejestrowano w mieszaninie z innymi związkami stosowanymi do obniżenia łaknienia (fentermina, fenfluramina) oraz kilkoma substancjami psychotropowymi z grupy amfetaminy (amfetamina, metamfetamina, PMA i MDMA). W przypadku obu kolumn osiągnięto doskonałą separację składników. Zastosowanie krótkiej kolumny o dużej grubości filmu fazy ciekłej może w niektórych aplikacjach być alternatywą dla tradycyjnej kolumny o długości 30 m, gdyż wydatnie skraca czas analizy, nie wpływając znacząco na rozdział składników. Kolumna SE-52 umożliwiła rozdział siedmiu składników w czasie krótszym niż 5 min (rycina 2). Dla porównania, analiza metodą GC-MS wymagała ponad 10 min.

Widmo MS badanego związku wykazało całkowitą zgodność z widmem zarejestrowanym dla wzorca sibutraminy (rycina 3). Poniżej zaprezentowano proponowany sposób fragmentacji sibutraminy (rycina 4).

Pod względem strukturalnym, związek ten można traktować jako zmodyfikowaną na łańcuchu bocznym 4-chloro-N,N-dimetyloamfetaminę. W konsekwencji obserwuje się bliskie analogie w sposobie fragmentacji sibutraminy i pochodnych amfetaminy. Rozpad typu 1 wiązania benzyłowego, który jest typowy dla analogów amfetaminy, prowadzi do kationu iminiowego o  $m/z$  114 stanowiącego pik główny widma. W rozpadzie 2 przebiegającym z dysocjacją wiązania pomiędzy metylideno-

wym i metylenowym atomem węgla, powstaje kation o  $m/z$  222. Nie zaobserwowano natomiast pików, który mógłby być rezultatem homolizy wiązania benzyloвого i transferu ładunku z atomu azotu na pierścień aromatyczny. Taki kierunek rozpadu jest obserwowany w przypadku amfetamin i odpowiada za obecność np. pików o  $m/z$  91 w widmie amfetaminy i o  $m/z$  135 w widmie MDMA. Po przegrupowaniu atomu wodoru kation o  $m/z$  114 traci cząsteczkę  $C_3H_6$  i powstaje kation o  $m/z$  72.

### 3.3. Spektroskopia w podczerwieni

Rycina 5 przedstawia widma IR składnika preparatu Meizitanc zmierzone bezpośrednio w matrycy próbki (rycina 5 B) oraz po izolacji w postaci zasady (rycina 5 A). W obu przypadkach stwierdzono pełną zgodność zmierzonych widm z widmami zarejestrowanymi dla wzorca chlorowodoru sibutraminy oraz sibutraminy przekształconej do postaci zasady. Istotną cechą widm jest szerokie i dość intensywne pasmo w zakresie liczb falowych od ok. 2700 do ok. 2600  $cm^{-1}$ , które jest charakterystyczne dla chlorowodorów amin trzeciorzędowych. Obecność grup metylowych podstawionych do atomu azotu unaocznia pasmo przy ok. 2870  $cm^{-1}$ . Woda krystalizacyjna chlorowodoru uwidoczniła jest w postaci szerokiego pasma widocznego w zakresie 3400–3200  $cm^{-1}$ . Silne pasmo przy 829  $cm^{-1}$  jest potwierdzeniem obecności w badanym związku 1,4-dipodstawionego pierścienia aromatycznego.

### 3.4. Spektroskopia jądrowego rezonansu magnetycznego

Ostateczny dowód na tożsamość strukturalną związku izolowanego z kapsulek i wzorca sibutraminy otrzymano na podstawie porównania widm protonowego ( $^1H$  NMR) i węglowego ( $^{13}C$  NMR) rezonansu magnetycznego otrzymanych dla obu próbek.

Widma  $^1H$  NMR i  $^{13}C$  NMR zmierzone dla składnika izolowanego przedstawiono na rycinie 6 A.

Dwa dublety w zakresie od 0,85 do 0,95 ppm są wynikiem obecności diasterotopowych grup metylowych, których protony sprzęgają się z protonem metinowym układu izopropylowego. Dwa multiplety obserwowane przy ok. 1,0 i 1,2 ppm to sygnały dwóch protonów grupy metylenowej sąsiadujących z protonami dwóch grup metylenowych  $HC-N-(CH_3)_2$  oraz  $HC(CH_3)_2$ . Jest to układ spinowy typu ABXX'. W zakresie od 1,7 do ok. 2,5 ppm obserwuje się sześć multipletów, których źródłem są protony pierścienia cyklobutanowego. Singlet przy 2,16 ppm jest sygnałem protonów dwóch grup metylowych zlokalizowanych na atomie azotu. Charakterystyczny multiplet obserwowany w przedziale od 7,16 do 7,23 ppm jest typowy dla symetrycznie podstawionego układu aromatycznego. Dla nierównocennych podstawników układ

taki określa się jako AA'XX'. W widmie  $^{13}C$  NMR (rycina 6 B) cztery sygnały obserwowane w zakresie od ok. 127 do ok. 147 ppm są dodatkowym potwierdzeniem obecności para-podstawionego pierścienia aromatycznego.

### 3.5. Chiralna chromatografia gazowa

Sibutramina posiada jedno centrum stereogenne, może więc występować w postaci pary enancjomerów. W literaturze przedmiotu spotkano opis rozdzielania enancjomerów techniką chromatografii cieczowej [13]. Wykonano próbę rozdzielania enancjomerów związku, stosując metodę chromatografii gazowej. Wykonano próby analizy z zastosowaniem kilku chiralnych kolumn kapilarnych różniących się długością, grubością fazy stacjonarnej oraz jej rodzajem (fazy -, - i -cyklodekstrynowe). Najlepszy rezultat uzyskano dla kolumny z fazą -cyklodekstrynową, jednakże nawet w tym przypadku nie osiągnięto pełnego rozdzielania enancjomerów. Niemniej otrzymane wyniki (rycina 7) jednoznacznie wskazują, że sibutramina zidentyfikowana w badanych preparatach to mieszanina enancjomerów w równych proporcjach, a więc znajdująca się w postaci racematu.

### 3.6. Analiza ilościowa

Oznaczenie zawartości chlorowodoru sibutraminy przeprowadzono metodą chromatografii gazowej. Przed wykonaniem analizy weryfikowano poprawność opracowanej metody, dokonując pomiaru wybranych parametrów walidacyjnych. Zmierzono precyzję i dokładność metody w serii w obrębie jednego dnia (cztery pomiary) oraz dokładność międzygrupową między czterema kolejnymi dniami. Próbką kontrolną był roztwór chlorowodoru sibutraminy o stężeniu 3,88 mg/ml. Wyniki testu zestawiono w tabeli I. W tabeli II zestawiono wyniki oznaczenia chlorowodoru sibutraminy w badanych kapsułkach.

Wyniki oznaczenia wskazują, że zawartość substancji czynnej – monohydratu chlorowodoru sibutraminy jest w każdym przypadku o ok. 10 mg (ok. 70%) większa o najwyższej dopuszczalnej dawki dobowej tego leku. Stosowanie sibutraminy nawet w dopuszczalnych dawkach wiąże się z możliwością wystąpienia szerokiego spektrum działań niepożądanych. U pacjentów obserwowano suchotę w ustach, bóle głowy, wzrost ciśnienia tętniczego krwi, tachykardię, nadmierne pobudzenie, bezsenność. W skrajnych przypadkach może dochodzić do zaburzeń groźnych dla życia, takich jak zaburzenia rytmu serca, gwałtowny wzrost ciśnienia [5, 15, 16].

#### 4. Podsumowanie

Wykonane badania składu trzech preparatów o deklarowanym składzie ziołowym pozwalają na sformułowanie następujących wniosków:

- preparaty Meizitanc tzw. „czerwony” i „zielony” oraz LiDa zawierają chlorowodrek sibutraminy w ilości o około 10 mg (tj. 70%) przewyższającej najwyższą dopuszczalną dawkę dobową;
- żaden z preparatów nie zawiera jakichkolwiek związków, które mogłyby mieć pochodzenie roślinne;
- informacja na opakowaniu podająca składniki jest całkowicie niezgodna z rzeczywistą zawartością i wprowadza nabywcę w błąd;
- preparaty sibutraminy przyjmowane bez świadomości ich rzeczywistego składu z przeświadczeniem o nieszkodliwości, a jednocześnie wysokiej skuteczności w redukowaniu masy ciała, mogą być przyczyną komplikacji zdrowotnych włącznie z zagrożeniem życia (nadciśnienie, zaburzenia rytmu serca, uszkodzenie wątroby i nerek).