



ANALYTICAL APPROACHES USED FOR PROFILING OF ECSTASY TABLETS

Karolina CIOROCH, Dariusz ZUBA

Institute of Forensic Research, Krakow

Abstract

A phenomenon of drug abuse is one of the major concerns of the citizens of Europe, Americas, Asia and Australia and a major threat to the security and health of the society. Transnational organised crime groups are engaged in drug production and trafficking. Drugs profiling allows their origin, the routes of trafficking or the activity of illegal laboratories to be monitored, thus it is very useful tool for intelligence (strategic, tactical) and evidential purposes. Most important analytical approaches used for profiling of ecstasy tablets were reviewed. A common procedure consists of liquid-liquid extraction of organic impurities followed by the analysis by means of gas chromatography – mass spectrometry. Modern solvent-less extraction techniques such as solid-phase extraction and solid-phase microextraction were also tested for sample preparation. The analysis of organic impurities performed by high performance liquid chromatography and even thin-layer chromatography gave the promising results too. Inorganic impurities profiling can be additional source of information about ecstasy tablets based on their elemental composition. Inductively coupled plasma mass spectrometry is commonly used for this purpose, because of the lowest detection limits. The paper reviews also analytical approaches based on $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ isotopic ratio and the analysis of additives, such as fatty acids and sugars.

Key words

MDMA; Ecstasy; Profiling; Review.

Received 2 July 2007; accepted 31 July 2007

1. Introduction

Ecstasy refers to synthetic drugs that are chemically related to amphetamines but which differ to some extent in their effects. These drugs are called entactogens, a reference to their specific mood-altering effects. Sometimes they also induce hallucinogenic effects. Generally in Europe, most tablets sold as ecstasy contained 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) or another MDMA-like substances (MDEA, MDA). In the Czech Republic, Greece, Latvia, Lithuania, Hungary, the Netherlands, Slovakia, Finland, the United Kingdom and Norway, such tablets accounted for more than 95% of the total number of tablets analysed in 2004. The average content of ac-

tive substance (MDMA) per ecstasy tablet was reported to range from 30 to 82 mg [28].

According to United Nations 2007 World Drug Report [1], global ecstasy use is estimated to affect some 9 million people or 0.2% of the population aged 15–64. There are more than 3 million ecstasy users in Europe, accounting for some 36% of ecstasy users worldwide. About 90% of them are located in West and Central Europe. The annual prevalence rate of ecstasy use is estimated at 0.9% of the population aged 15–64 in West and Central Europe, exceeding the levels reported from North America (0.8%). Global ecstasy consumption remains stable or is declining slightly reflecting a significant decline in North America and stabilisation or decline in large parts of Europe and in

Asia; while significant increases in ecstasy use were reported from Oceania until 2005, first signs of stabilisation emerged in 2006.

Global ecstasy production, after strong increases in the 1990s, is now shrinking, primarily because of production falling in Europe. Production in several other parts of the world, in contrast, continues expanding. Over the 2000–2005 period, the largest numbers of ecstasy labs were dismantled in the Netherlands (111), followed by the USA (83), Canada (71) and Belgium (26). Lower numbers of uncovered labs were reported from Australia, Indonesia, China, the UK, South Africa, Hong Kong, Estonia, New Zealand, Mexico, Argentina, Egypt, India and Malaysia [1].

Although it has not affected the overall dominance of West and Central Europe in the ecstasy trade, the general trend has been towards an increase in ecstasy production, trafficking and abuse outside West and Central Europe. Of the 8.5 tonnes (weight equivalent) of ecstasy seized globally in 2004, 50% was recovered in Western and Central Europe, 23% in North America and 16% in Oceania [30]. An estimated 24 000 seizures led to the confiscation of about 28.3 million ecstasy tablets in the European Union (EU) in 2004. Up to 2003, the largest quantities of ecstasy were seized by the United Kingdom, followed by Germany, France and the Netherlands [28].

As mentioned above, the main source countries identified for ecstasy production are still the Netherlands followed by Belgium. The trade of ecstasy in Europe is becoming ever more sophisticated, characterised by increased professionalism and efficiency in production. Trends such as the participation of more specialised staff, companies and facilitators, have been identified. The subsequent distribution of ecstasy end products however, may be more ad hoc. It is thought to be undertaken by a large number of rather small drug trafficking groups of various nationalities. Ecstasy is typically purchased in the Netherlands, Belgium or other producing countries (the Baltic countries, Poland, Balkan region etc.) and then smuggled the drugs to trafficking groups' respective home countries [1].

European Union has implemented Drugs Action Plan (2005–2008) [11] that focuses on stepping up and developing law enforcement cooperation between Member States and, where appropriate, with Europol, Eurojust, third countries and international organisations, against international organised drug production and trafficking. One of the tasks is the reduction of manufacture and supply of synthetic drugs by developing a long term solution at EU level for the use of drug profiling results for law enforcement, strategic and operational purposes. The development of such a solu-

tion should be done by law enforcement agencies and forensic authorities working together and building upon experiences in this field. Another authority, the European Parliament prepared the resolution on the EU drugs strategy (2005–2012). The European Parliament recommendation to the Council on the European strategy on fighting drugs (2005–2012) [16] states that in the field of EU judicial and law enforcement drugs policy focus should be on the priorities and activities selected for inclusion in the Action Plans, among other enhancing law enforcement, criminal investigation and forensic science cooperation between EU member states, within an EU framework, that have common interests and/or face the same drug-related problems. Greater scope could be created for Member States which find themselves facing the same problem (for example, production of synthetic drugs) to join together on a project basis in search of solutions. Such policy has led to closer cooperation between institutions and forensic labs dealing with drug analysis.

The results of the cooperation are projects, which take the form of joint investigations, the setting up of exchange networks, research projects, trainings, seminars and conferences. Scientific Working Group for the Analysis of Seized Drugs (SWGDRUG) and Drugs Working Group of the European Network of Forensic Science Institutions (ENFSI) are active in this field. Drug profiling is the most promising task, because its results can give information on the origin of drug, the routes of trafficking, the activity of illegal laboratories, the methods of synthesis, the chemicals used, etc.

According to ENFSI Drugs Working Group definition, profiling is the use of methods to define the chemical and/or physical properties of a drug seizure for comparing seizures for intelligence (strategic, tactical) and evidential purposes. Many techniques can be used either alone or in combination however the profiling system needs to be fit for purpose. Thus profiling system must have a defined purpose, include an understanding of sample variation within and between batches, and must include reporting tools, systems, or mechanisms which allow the results to be reported and understood by the end user. This means that profiling is more than an analytical method, but this paper is focused only on analytical part of profiling.

The impurities are the most informative components of drug samples. Both organic and inorganic components of the tablets are useful for profiling. Their composition depends on such factors as the route of synthesis, its conditions, reagents, catalysts, method of purifying the crude product, or the chemist. Ecstasy tablets are a mixture of many substances. Psychoactive substances such as caffeine or paracetamol and the

neutral additives such as sugars or fatty acids can be added to the main component before compression into tablets. Moreover, the impurities formed during production or present in precursors, reagents, and solvents can be found in the final product. The primary impurities can also react and be transformed in each step of production. The conditions of storage, light, heat, or humidity, can lead to the formation of new impurities. Drug profiling aims at determination the similarity of the composition of a sample with that of samples seized in the past and collected in the database. The similarity is assessed by comparison of impurity profiles. The profiles are compared visually or by means of statistical methods using statistical software. Knowledge of the production process, especially the formation and stability of impurities, of the impurities characteristic of the synthetic route (markers), and of possible changes in impurity profiles enables the correct conclusions to be drawn about similarities and differences between samples. Such information can be obtained by detailed chemical analysis of samples from the known sources, when the synthetic route is known.

The objective of this paper was to review the analytical approaches used to profile ecstasy tablets.

2. Profiling of organic impurities

2.1. Introductory remarks

The procedure of organic impurity profiling consists of the following steps:

1. extraction of the impurities from sample (tablet);
2. the qualitative and/or quantitative analysis of the impurities using instrumental methods;
3. interpretation of the results, that is the comparison and the classification of impurity profiles with use of statistical algorithms (Cluster Analysis and Principal Component Analysis are commonly used for this purpose).

Up to now, several procedures of organic impurity profiling have been developed, separately for amphetamine, methamphetamine and MDMA (or ecstasy tablets). Most of them are very similar and based on isolation of impurities from sample matrix (usually using liquid-liquid extraction), followed by the analysis by means of gas chromatography coupled with mass spectrometry or with flame-ionisation detection.

The milestone in MDMA profiling was a paper of Verweij from the Netherlands Forensic Institute (NFI) [29]. The author showed suggested structures and mass spectra of precursors, intermediates and re-

action by-products present in MDMA samples prepared by three synthetic routes. Analytical data from this study can be used to determine the synthetic route used in illicit laboratories, and may also help in the discrimination of sources of origin in the comparison of illicit samples. In the following years, a number of papers were published on this topic.

2.2. Sample preparation for analysis – extraction of impurities from drug sample

Although different extraction techniques are used to isolate the impurities from ecstasy tablets, liquid-liquid extraction (LLE) is the most commonly applied. Some papers were published on the application of modern solvent-less techniques such as solid-phase extraction (SPE), solid-phase microextraction (SPME) or solid-phase microextraction/headspace (SPME/HS). Method development covered mainly optimisation of extraction conditions in order to increase its efficiency and to eliminate or, at least, to reduce the matrix effects.

In the paper by Gimeno et al. [13], the most important impurities present in MDMA samples were chosen and their mass spectra were published. Sample preparation in this study was performed as follows. The sample in an amount equivalent to 10 mg of pure MDMA·HCl was dissolved in 3 ml of distilled water followed by addition of 200 μ l of 1 M NaOH. The solution was strongly basic (pH 12.8). This was shaken for 10 min at 1800 rpm. Extraction was carried out using 3 ml of diethyl ether by shaking for 20 min. The organic layer was separated and evaporated. 500 μ l of diethyl ether were added and shaken for a few seconds. 2 μ l of the extract was subjected to analysis by gas chromatography – mass spectrometry (GC-MS). Two ionisation modes were applied. Electron ionisation (EI) was used when detection and identification of the impurities was performed, whereas the positive chemical ionisation (CI+) was used when their presence was confirmed (CH₄ was applied as a reagent gas).

The same authors presented study on optimisation of liquid-liquid extraction used in MDMA profiling [14]. The influence of pH, extracting agent and shaking time on extraction efficiency were tested. The distribution of impurities between extraction phases and storage time of the extract were also examined. The samples were analysed using GC-MS. The authors concluded on the basis of the results that the highest number of impurities is extracted from the alkaline solution of pH 11.5 using diethyl ether. The optimum ratio of the amount of the extracting agent to the amount of the buffer was 3:2 and the shaking time should be 10 min.

Gimeno et al. showed also the results of profiling of MDMA samples prepared by reductive amination [12]. The authors prepared also safrole, isosafrole, piperonal, -nitroisosafrole and these substances were used for the synthesis of 3,4-methylenedioxyphenyl-2-propanone – the precursor of MDMA. Sample preparation was conducted according to the optimised extraction procedure [14] and analysis of the impurities was performed by GC/MS.

In the paper by Rashed, Anderson and King, the usefulness of LLE and SPE for the analysis of ecstasy tablets was compared [23]. In LLE, the sample was prepared by dissolution of 50 mg powder (MDMA) in 1 ml of phosphate buffer of pH 9. The obtained solution was mixed on a rolling extractor for 30 min. Then, 1 ml of ethyl acetate was added and it was mixed for another 30 min. The solution was centrifuged for 5 min at 3000 rpm. After centrifugation, the organic layer was separated and its volume was reduced in a nitrogen stream to 100 μ l. Another 100 μ l of triethylamine used as an internal standard was added and 1 μ l was used for the analysis. In SPE, Varian Bond Elut C18 column was conditioned using 10 ml of deionised water, 10 ml of methanol and another 10 ml of deionised water. A sample (50 mg) was dissolved in 1 ml of phosphate buffer of pH 9. The suspension was mixed on a rolling extractor for 30 min, centrifuged and the supernatant was taken off. The sample solution in the buffer was introduced onto the column with the flow rate of 1 ml/min. Then, the column was washed with 10 ml of deionised water and dried under maximum vacuum for 5 min. The impurities were eluted with 700 μ l of isopropanol and 1 ml of the mixture of ethyl acetate and 2% ammonia. The fractions were joined and evaporated to 100 μ l, followed by the addition of another 100 μ l of internal standard. The authors compared these procedures and concluded that the efficiency of SPE is higher than LLE. On the other hand, different chemicals and their amounts were used in the tested procedures (LLE: 1 ml of ethyl acetate, SPE: 700 μ l of isopropanol and 1 ml of the mixture of ethyl acetate and 2% ammonia), and this could have influenced the final results.

The studies on profiling of amphetamine-type stimulants have been conducted in Poland since the late 1990's. A national project called "Development of analytical and chemometrical model of ecstasy profiling for the needs of drug database" was realised by Institute of Forensic Research, in cooperation with Jagiellonian University and Central Forensic Laboratory of the Police. The contractors presented their results in several papers [25, 26]. MDMA was prepared by five different synthetic routes in several batches, and then

the samples were classified on the basis of the analysis of organic impurities to the groups corresponding to the synthesis method. Sample preparation was performed as follows. 200 mg of MDMA·HCl were dissolved in 2 ml of carbonate buffer of a pH = 10 and the solution was vigorously shaken for 25 min. Extraction was performed using 200 μ l of n-heptane containing diphenylamine as an internal standard (35 mg/l). The mixture was shaken for another 25 min and an organic layer was subjected to analysis by GC-MS.

In another study of this group [27], 3,4-methylenedioxyphenyl-2-propanone (3,4-MDP-2-P) was prepared by two synthetic routes. Then, it was used for the synthesis of MDMA by reductive amination, with use of NaBH₄. This is the most commonly used method in illegal laboratories in Poland. The most important markers for this route were established. The same sample preparation procedure and GC-MS instrument conditions were applied.

EU project called "A Collaborative Harmonisation of Methods for Profiling of Amphetamine Type Stimulants (CHAMP)" was implemented in 2004–2006. One of the tasks was to develop a procedure of impurities extraction and it was decided to use LLE for this purpose [20]. The procedure consisted in dissolution of 200 mg of a powder in 4 ml of phosphate buffer of pH 7.0, vortexed and then sonicated for 10 min and centrifugation for 8 min at 4500 rpm. The solution was filtered in order to prevent from formation of an emulsion, which could make separation and collection of the organic layer impossible. Then, 400 μ l of toluene containing internal standard – eicosane 0.02 mg/ml) was added and the mixture was shaken for 20 min and centrifuged for 3 min at 3500 rpm. The toluene layer was separated and taken for analysis.

The same LLE procedure was shown in a paper of van Deursen, Lock and Poortman-van der Meer [10]. The authors compared buffers used for sample dissolution. The buffers of a pH 1.0, 5.0 and 7.0 were tested and it was concluded that extraction efficiency is the highest when using neutral pH. The alkaline buffers were not tested in the study, because MDMA is co-extracted in such conditions. The authors focused their attention on an additional step – filtration, which prevents formation of an emulsion. This can be formed, because of the presence of diluents (e.g. fatty acids) in ecstasy tablets.

Impurity profiling of ecstasy tablets by means of GC-MS was also performed in Hong Kong by Cheng et al. [8]. The authors analysed 89 seized samples. Extraction efficiency using different extracting agents, such as dichloromethane, diethyl ether, ethyl acetate and the mixture of diethyl ether:ethyl acetate (50:50,

v/v), was tested. Finally, diethyl ether was chosen. The sample preparation consisted in dissolution of 30 mg of a powder in 1 ml of phosphate buffer of pH = 11.5 and shaking for 5 min. Extraction was carried out using 1.5 ml of the extracting agent containing diphenylamine as an internal standard (0.40 mg/l). The solution was roller mixed for another 30 min and the organic layer was transferred into a vial and evaporated to dryness under a stream of nitrogen at room temperature. 500 μ l of diethyl ether were added and it was subjected to GC-MS analysis. The obtained chromatograms were compared by means of hierarchical cluster analysis (HCA), and the tested tablets were classified into the groups corresponding to the synthetic route.

LLE was also used for profiling of ecstasy tablets by Palhol et al. [21]. The impurities were isolated under basic conditions with the use of methylene chloride. Tablets (MDMA) were crushed, 150 mg of homogenous powder were collected and 1 ml of a carbonate buffer of pH 10 was added. The suspension was mixed for 5 min. Extraction was carried out by addition of 1 ml of the extracting agent and shaking for 5 min. The organic layer was filtered, reduced to 100 μ l under dry air, and analysed by means of GC-MS and GC-FID methods. Classification of samples was performed by cluster analysis (CA).

As it is shown above, the liquid-liquid extraction methods used for profiling of ecstasy tablets differ in many parameters, such as: pH, the used buffer, the extracting agent, the duration of shaking and centrifugation, the substance used as an internal standard. The particular extraction procedures were summarised in Table I.

In recent years, preliminary studies on application of SPME in profiling of synthetic drugs have been performed. The profiling of confiscated ecstasy and amphetamine samples was performed using headspace solid-phase microextraction and capillary gas chromatography [18]. Because ecstasy tablets contain also ad-

ditional substances beside MDMA, mainly adhesives such as stearic or palmitic acid and their salts, direct SPME cannot be applied. The additives do not dissolve in a buffer, and can adsorb on a surface of a fibre after its immersion into a solution. It leads to fast degradation of the fibre. SPME procedure started from dissolution of 10 mg of a sample in 5 ml of 0.1 M acetate buffer of pH 5. The solution was ultrasonicated for 10 min. Then, it was heated up to 90°C and SPME fibre was introduced into gaseous phase of the vial. The solution was intensively mixed (200 rpm) for 30 min. Two fibre coatings were tested, polydimethylsiloxane (PDMS) and polydimethylsiloxane/divinylbenzene (PDMS/DVB). Higher efficiencies, both for amphetamine and ecstasy, were obtained using PDMS/DVB coating. The authors compared these methods with LLE. The comparison of impurity profiles allows to conclude that the extraction efficiencies by SPME were higher for piperonal, iso-safrole and N-formyl-MDMA, whereas lower for MDP-2-P and 3,4-methylenedioxyphenyl-2-propanol. The great advantage of SPME in comparison to LLE is almost complete elimination of the use of organic solvents. But it is possible that the impurities of a relatively high molecular masses are not volatile enough to be extracted by means of headspace SPME.

2.3. Instrumental methods used in the analysis of the impurities of ecstasy tablets

Recently, most of the analytical approaches of organic impurity profiling of ecstasy tablets have utilised gas chromatography coupled with mass spectrometry (GC-MS) or with flame-ionisation detector (FID). GC-MS allows simultaneous separation of the impurities and their identification on the basis of mass spectra. The parameters of GC-MS and GC-FID methods used in ecstasy profiling are presented in Table II.

TABLE I. SUMMARY OF LLE CONDITIONS USED FOR PROFILING OF ECSTASY TABLETS

pH (buffer)	Extracting agent	Shaking time	Internal standard	References
7.0 (phosphate)	Toluene	10 min + centrifugation	Eicosane (C20)	[10], [20]
9.0 (phosphate)	Ethyl acetate	30 min	Triethylamine	[23]
10.0 (carbonate)	n-Heptane	25 min	Diphenylamine	[25], [26], [27]
10.0 (carbonate)	Methylene chloride	5 min	n.a.	[21]
11.5	Diethyl ether	10 min	n-Decane	[12], [14]
11.5	Diethyl ether	30 min	Diphenylamine	[8]
12.8	Diethyl ether	20 min	n.a.	[13]

n.a. – data not available.

TABLE II. CONDITIONS OF GC-MS (GC-FID) ANALYSIS OF IMPURITIES PRESENT IN ECSTASY TABLETS

	I	II	III	IV	V	VI	VII
References	[12], [13], [14]	[25], [26], [27]	[10]	[8]	[7]	[23]	[21]
Method	GC-MS	GC-MS	GC-MS	GC-MS	GC-MS	GC-FID	GC/FID
Gas chromatograph	Thermo-Finnigan GC trace 200	Hewlett-Packard 6890 series	Agilent 6890 series	Thermo-Finnigan trace GC	Hewlett-Packard 6890 series	Hewlett-Packard 6890 series	Varian CP-3800
Mass spectrometer	Polaris	Hewlett-Packard 5984B	MSD 5973 series	Thermo-Finnigan trace DSQ Quadrupole MS	MSD 5972 series	–	–
Ionisation technique	Electron ionisation (EI) and positive chemical ionisation (CI+) – source temp.: 200°C	Electron ionisation (EI); Ion source temp.: 230°C; Quadrupole temp.: 150°C	Electron ionisation (EI); Ion source temp.: 230°C	Electron ionisation (EI); Ion source temp.: 200°C; Ionisation energy: 70eV	Electrospray ionisation	–	Electron ionisation (EI)
Detector	Ion trap	Quadrupole	Quadrupole	Quadrupole	Quadrupole	–	–
Column	PTA5 capillary column cross-linked poly 5% diphenyl/95% dimethylsiloxane	HP5-MS fused silica capillary column	DB-1MS J&W column + deactivated fused silica pre-column	DB5-MS capillary column cross-linked 5% phenyl, 95% methylsiloxane	HP-1MS cross-linked phenyl/methylsiloxane capillary column	HP5 fused silica capillary column	Fused silica capillary column RTX-5MS
Column dimensions (length internal diameter film thickness) [m mm m]	30 0.32 0.5	30 0.25 0.25	25 0.2 0.33 + pre-column 2 m 250 m	30 0.25 0.25	30 0.25 0.25	30 0.32 0.25	30 0.25 0.25
Carrier gas	Helium	Helium	Helium	Helium	Helium	n.a.	Hydrogen
Flow rate [ml/min]	1.0	1.0	0.5	1.0	1.0	n.a.	n.a.

TABLE II (cont.)

	I	II	III	IV	V	VI	VII
Oven temperature [°C]	50°C – 1 min (5°C/min) 150°C – 12 min (15°C/min) 300°C – 10 min	50°C – 1 min (10°C/min) 150°C – 5,5 min (10°C/min) 280°C – 10 min	90°C – 1 min (8°C/min) 300°C – 10 min	50°C – 1 min (5°C/min) 100°C – 10 min (5°C/min) 150°C – 10 min (15°C/min) 300°C – 10 min	70°C – 1 min (30°C/min) 180°C (7°C/min) 300°C – 10 min	80°C – 1 min (35°C/min) 180°C – 18 min (50°C/min) 300°C – 2 min	80°C (8°C/min) 210°C (25°C/min) 300°C – 5 min
Injector temperature [°C]	280°C	n.a.	n.a.	230°C	260°C	270°C	270°C

n.a. – data not available.

The impurity profiles can also be obtained by means of high performance liquid chromatography (HPLC) [6] and thin-layer chromatography (TLC) [17, 24].

Byrska and Zuba published a paper on application of HPLC for profiling of MDMA samples [6]. A weakly alkaline buffer solution (pH 8.5) enabled extraction of key impurities of MDMA. SPE was used to concentrate the impurities and dispose of the relatively large amounts of MDMA hydrochloride. Baker spe-12G system with a KNF Laboport vacuum pump was used. The system enables simultaneous extraction of up to 10 samples. Analysis of the isolated impurities was carried out on La Chrom D-7200 System (Merck–Hitachi) liquid chromatograph equipped with an L-7455 diode-array detector (DAD). Compounds were separated on a Chromolith Performance RP-18e monolithic column (100 × 4.6 mm, 2 μm). Water with addition of 100 μl 85% phosphoric acid per litre (A) and acetonitrile (B) were the eluents. The flow rate was 1 ml/min. The following optimised gradient program of mobile phase composition was used: 0 min – 100%A, 0%B; 21.3 min – 59.5%A, 40.5%B; 33 min – 0%A, 100%B; 34 min – 100%A, 0%B. Spectra were collected in a range from 200 to 400 nm, and the wavelength monitored was 205 nm. The column was thermostatted at 30°C. The conditions used for chromatographic analyses were controlled by addition of an internal standard (diphenylamine) to each sample. Use of a monolithic column in combination with a mobile phase optimised by use of the simplex method enabled good resolution of the impurities present in MDMA samples. This method of sample comparison, and grouping on the basis of the areas of 33 selected peaks corresponding to MDMA impurities, gave the correct classification for all the samples tested. They were divided into clusters corresponding to the synthetic route. According to the authors, the strength of this method is comparable with gas chromatography with flame-ionisation detection. When diode-array detection is replaced by mass spectrometry, liquid chromatography can be a supplementary method to GC-MS, or even an alternative method for MDMA profiling.

Profiling of impurities in 1-(3,4-methylenedioxyphenyl)-2-nitropropene, an intermediate in 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) synthesis, was performed by means of SPE-TLC [17]. The chromatographic separation of the extracts was carried out on aluminium plates covered with silica gel containing fluorescent indicator for an excitation wavelength 254 nm, in a horizontal developing chamber. Spots of the separated impurities were observed under UV light

($\lambda_{exc} = 254$ and 366 nm). The best quality of the profiles was obtained using a mixture of acetonitrile and chloroform (2:8) as an eluent.

3. Profiling of inorganic impurities

Apart from profiling of organic impurities, the attempts were made to profile inorganic impurities of ecstasy samples. The inorganic impurities can be introduced into a drug sample during the synthesis as the reagents (its components), catalysts, etc. Elemental composition of drug samples is examined using inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS), inductively coupled plasma atomic emission spectrometry (ICP-AES), or inductively coupled plasma atomic absorption spectrometry (ICP-AAS).

Analysis of elemental composition of seized ecstasy tablets by means of ICP-MS and ICP-AES was performed by Comment et al. [9]. The objective of the study was to compare the usefulness of these methods for drug profiling. Additionally, two sample preparation methods were tested:

1. 5 ml of concentrated HNO_3 and 1 ml H_2O_2 were poured into 200 mg of a sample, and the solution was placed in microwave oven for 50 min;
2. 25 ml of diluted solution of HNO_3 (5%) were poured into 200 mg of a sample, then the solution was shaken and sonicated for 10 min.

Results for the samples from the same synthetic route differed to a large extent (mean *RSD* for ICP-AES was 20% and 25% for ICP-MS). When comparing two sample preparation methods, it turned out that the mean concentrations of selected elements were higher for the procedure with the use of microwave oven.

The concentrations of Ca, Na and Mg were the highest in each of the analysed tablets. Moreover, Fe, B, Si, Cr, Cu, Ti, Al and K were detected in most of the samples, but these elements were also present in reference samples, which did not contain an active substance. During the analysis of five white tablets with the same logo, different inorganic profiles were obtained (the contents of the elements were diverse). In another case, the examination of five tablets of identical features, both physical (colour and logo) and chemical (MDMA concentration), resulted in very similar inorganic profiles, whereas in some cases very similar inorganic impurity profiles were obtained although their organic profiles differed significantly. Additional analysis of the content of fatty acids was performed and it turned out that their concentrations were three times higher in one of two examined sam-

ples. This indicated that the samples came from different batches.

The examination of elemental composition of MDMA samples (in form of powders and tablets) by means of ICP-MS and ICP-AES was also performed by Koper et al. [19]. The authors focused their attention on ecstasy tablets and MDMA samples prepared by reductive amination using three reducing agents: platinum (Pt), sodium borohydride (NaBH_4) and aluminium amalgam Al(Hg). The synthetic samples were prepared in different laboratories. In the first step, five elements were selected as potential markers of the synthetic route (Al, Hg, Pt, B, Na). Moreover, the analysis of MDMA additives such as cellulose, talc, sugars or magnesium stearate was performed and the presence of aluminium and sodium was revealed. Therefore, three elements – mercury (Hg), platinum (Pt) and boron (B) – were chosen as the markers of synthetic route. In the study, the presence of Pt and an absence of Hg and B was revealed when platinum was used as a reducing agent, whereas in case of synthesis with Al(Hg), mercury was present, but Pt and B were not detected. For the route with NaBH_4 , only 15 from 18 examined samples contained boron alone. The concentrations of the analysed elements differed in a broad range: 6–2182 ppm for Pt, 0.2–290 ppm for Hg and 6–48120 ppm for B. Moreover, the samples contained also other elements in trace amounts (< 5 ppm), e.g. Cr, Mn, Cu, Sn, Pb, Sc, Ni, Zn, Ga, Rb, Sr. The authors determined the synthetic route on the basis of the content of Pt, Hg and B for 89 of 97 examined samples. Cr, Mn, S and Sr were also detected in 80% of analysed samples. Hierarchical cluster analysis (HCA) using Pearson coefficient was applied for classification of samples.

It can be concluded on the basis of the above-discussed studies that the profiling of inorganic impurities can be additional source of information about ecstasy tablets. A knowledge of their elemental composition can also simplify interpretation of results of the analysis of organic impurities. The greatest problem in inorganic impurity profiling is repeatability, but it can be limited by appropriate preparation of samples, and particularly their precise homogenisation. Moreover, there is a significant input into an inorganic profile from substances mixed with an active drug after its synthesis, such as diluents and adhesives for ecstasy tablets. Among the methods used for inorganic profiling, ICP-MS is characterised by the lowest detection limits and therefore it is applied commonly for this purpose.

4. Other methods used for the analysis of ecstasy tablets

Because ecstasy tablets also contain other chemicals, such as diluents and adhesives, beside active substance, the attempts aimed at comparison of their composition were made. Spectroscopic methods, isotopic analysis and gas chromatography coupled to mass spectrometry were used for this purpose.

Bear, Gurny and Margot performed analysis of cellulose and lactose by means of near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) [2]. The objective of the study was to determine the chemical forms of cellulose and lactose present in samples and to distinguish their origin (producer). Great advantage of the applied method was short analysis time (below 1 min) and simple sample preparation. The authors tested 25 samples of cellulose and 23 samples of lactose, both in a form of powders and tablets. Some of them were used as the standards, which were afterwards mixed with amphetamine of a three different purities. Moreover, ecstasy tablets were analysed after their homogenisation in a mortar. Principal component analysis (PCA) was used for classification of different chemical forms of the tested sugars. Satisfactory results were obtained both for the standards of cellulose and lactose and the prepared mixtures of amphetamines with sugars, whereas it was difficult to match the obtained spectra to the spectra of the analysed standards of cellulose and lactose for ecstasy tablets, which contained higher number of additives.

Analysis of sugars and fatty acids present in ecstasy tablets was performed by Bear and Margot [3]. Sample preparation for sugars analysis was as follows. 2 mg of homogenous powder were dissolved in 1 ml of pyridine, then hexamethyldisilazone (HMDS) and trimethylchlorosilane (TMCS) were added and the obtained mixture was vortexed for 30 s. After 5 min, the solution was subjected to the analysis. For fatty acids analysis, about 25 mg of a powder was mixed with 1.5 ml of 14% solution of boron trifluoride in methanol and 1.5 ml of hexane, and then quickly flushed with nitrogen. The tightly-closed vial was placed into an oven for 1 h at 100°C. The hexanic layer was transferred into another vial and evaporated under the nitrogen stream. Then, 200 μ l of hexane containing internal standard (eicosane) was added and it was subjected to the analysis. The samples were analysed by means of GC-MS equipped with a DB-1MS column (30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μ m). Helium was used as a carrier gas. Mass spectra were obtained in the range from 50 to 550 amu. Two different temperature programs were used. For sugars analysis, the program started at 175°C and finished

at 270°C; three ramps were used. For fatty acids analysis, the program started at 140°C and finished at 230°C; one ramp (5°C/min) was used. Other additives of ecstasy tablets, such as mannitol, sorbitol, lactose, lauric acid (C12), myristic acid (C14), pentadecanoic acid (C15), palmitic acid (C16), margaric acid (C17), oleic acid (C18_1), linoleic acid (C18_2), stearic acid (C18) and arachidic acid (C20) were also analysed. The authors classified the tested ecstasy tablets using chemometrical methods, according to the content of above-mentioned substances.

The composition of ecstasy tablets was also investigated by means of Raman spectroscopy [4, 5]. Many vibrations were observed in the obtained oscillation spectra. The vibrations came both from MDMA and from the additives. The objective of the study was to determine the ratio of the content of active substance to the content of additive (that is MDMA/sorbitol, MDMA/cellulose, MDMA/glucose) and the degree of hydration of tested tablets. The tablets analysed came from eight different bags (eight seizures). It was confirmed by means of GC-MS that each sample contained MDMA as an active substance. Spectrometric analysis revealed that the spectra of five tablets contained a sorbitol band at 880 cm^{-1} , two tablets contained a cellulose band at 1124 cm^{-1} , whereas the spectrum of the last tablet – a band at 896 cm^{-1} , indicating a presence of glucose in the examined sample. Moreover, all samples contained the bands corresponding to MDMA: 716, 771 and 810 cm^{-1} . The authors emphasised short analysis time in comparison to GC-MS, the most common analytical method used for drug profiling.

Links between seized ecstasy tablets were also investigated by means of isotopic analysis. Attempts to indicate the same synthesis method and the same source (illegal laboratory) were made. Palhol *et al.* [22] studied $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ isotopic ratio of MDMA extracted from ecstasy tablets by means of gas chromatography-combustion-isotope ratio mass spectrometry (GC-C-IRMS). Sample preparation consisted in crushing of ecstasy tablets in a mortar, collection of 250 mg of the powder and dissolution in 2 ml of carbonate buffer of pH 10. The solution was mixed for 10 min, then 2 ml of dichloromethane was added and it was shaken for another 10 min. The organic layer was separated, filtered and subjected to the analysis. After chromatographic separation, particular components were introduced into combustion chamber, where H_2O , CO_2 and NO_x were obtained. Nitrogen oxides were reduced into N_2 and the obtained spectra were analysed according to $m/z = 28, 29, 30$. The chromatographic separation was done on RTx-5MS fused silica capillary

column (30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μ m). Helium was used as a carrier gas. Injection was performed in split mode and the injector temperature was 260°C. The following temperature program was used: 60°C (1 min), then an increase at a rate of 17°C/min to 260°C (6 min). The authors grouped samples into clusters depending on the range of ^{15}N coefficient, which depended on precursor used and MDMA synthetic method. Analysis was performed using chemometrical methods: principal component analysis (PCA) and hierarchical cluster analysis (HCA). The authors summarised that creation of a database containing beside mass, MDMA content and the tablet's logo also ^{15}N coefficient could facilitate comparison of ecstasy tablets.

5. Summary

Organic impurity profiling of ecstasy tablets is performed commonly by liquid-liquid extraction followed by analysis by means of gas chromatography coupled with mass spectrometry (or with flame-ionisation detection). Comparison of published procedures leads to surprising conclusions. They differ in many parameters, including pH of the buffer used for dissolution of sample and the extracting agent. It cannot be excluded that profiling using different procedures could lead to distinct linking of samples and therefore to distinct conclusions. Therefore there is a need to perform a comprehensive study to compare the presented approaches. The strength of high-performance liquid chromatography for ecstasy profiling is comparable with gas chromatography with flame-ionisation detection. When diode-array detection is replaced by mass spectrometry, liquid chromatography can be a supplementary method to GC-MS, or even an alternative method for ecstasy profiling.

Of the methods used for elemental analysis, inductively coupled plasma mass spectrometry is the most common. Inorganic impurity profiling can be additional source of information about the samples. Moreover, it can simplify the interpretation of the results of the analysis of organic impurities. The problems are repeatability of results and the influence of chemicals added to active substance after its synthesis.

Results of the analysis of $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ isotopic ratio of MDMA extracted from ecstasy tablets by means of gas chromatography-combustion-isotope ratio mass spectrometry were promising. This method enables detection of synthetic route and comparison of samples and therefore can also be supplementary method to GC-MS.

Near infrared reflectance spectroscopy and Raman spectroscopy have some advantages over the methods

presented above, but possibilities of their application in routine procedures of profiling of ecstasy tablets seems to be limited.

References

1. 2007 World Drug Report, United Nations Publications 2007, ISBN 978-92-1-148222-5.
2. Baer I., Gurny R., Margot P., NIR analysis of cellulose and lactose – Application to ecstasy tablet analysis, *Forensic Science International* 2007, 167, 234–241.
3. Baer I., Margot P., Sugar and fatty acid analysis in ecstasy tablets, *Forensic Science International* 2007, 167, 229–233.
4. Bell S., Barrett L., Dennis A. [et al.], Tracking the distribution of “ecstasy” tablets by Raman composition profiling: a large scale feasibility study, *Analyst* 2003, 128, 1331–1335.
5. Bell S., Burns D., Dennis A. [et al.], Composition profiling of seized ecstasy tablets by Raman spectroscopy, *Analyst* 2000, 125, 1811–1815.
6. Byrska B., Zuba D., Profiling of 3,4-methylenedioxy-methamphetamine by means of high-performance liquid chromatography, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, in print, DOI: 10.1007/s00216-007-1709-x.
7. Cheng C., Poon L. N., Chan M. F., Chemical profiling of 3,4-methylenedioxy-methamphetamine (MDMA) tablets seized in Hong Kong, *Journal of Forensic Science* 2003, 48, 1249–1259.
8. Cheng J., Chan M., Chan T. [et al.], Impurity profiling of ecstasy tablets seized in Hong Kong by gas chromatography-mass spectrometry, *Forensic Science International* 2006, 162, 87–94.
9. Comment S., Lock E., Zingg C. [et al.], The analysis of ecstasy tablets by ICP/MS and ICP/AES, *Problems of Forensic Sciences* 2001, 46, 131–146.
10. Deursen M. van, Lock E., Poortman-van der Meere A., Organic impurity profiling of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) tablets seized in the Netherlands, *Science & Justice* 2006, 46, 135–152.
11. EU Drugs Action Plan (2005–2008), 2005/C 168, *Official Journal of the European Union*, 8.7.2005.
12. Gimeno P., Besacier F., Bottex M. [et al.], A study of impurities in intermediates and 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) samples produced via reductive amination routes, *Forensic Science International* 2005, 155, 141–157.
13. Gimeno P., Besacier F., Chaudron-Thozet H. [et al.], A contribution to the chemical profiling of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) tablets, *Forensic Science International* 2002, 127, 1–44.
14. Gimeno P., Besacier F., Chaudron-Thozet H., Optimization of extraction parameters for the chemical profiling of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) tablets, *Forensic Science International* 2003, 132, 182–194.

15. http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/site/en/oj/2005/c_168/c_16820050708en00010018.pdf.
16. <http://www.emcdda.europa.eu/?fuseaction=public.Content&nnodeid=6790&sLanguageiso=EN&LayoutForma t=print>.
17. Kochana J., Wilamowski J., Parczewski A., SPE-TLC profiling of impurities in 1-(3,4-methylenedioxyphenyl)-2-nitropropene, an intermediate in 3,4-methylenedioxy-methamphetamine (MDMA) synthesis, *Chromatographia* 2004, 60, 481–484.
18. Kongshaug K. E., Pedersen-Bjergaard S., Rasmussen K. E. [et al.], Solid-phase microextraction/capillary gas chromatography for the profiling of confiscated ecstasy and amphetamine, *Chromatographia* 1999, 50, 247–252.
19. Koper C., van den Boom C., Wiarda W. [et al.], Elemental analysis of 3,4-methylenedioxy-methamphetamine (MDMA): A tool to determine the synthesis method and trace links, *Forensic Science International* 2007, 171, 171–179.
20. Lock E., Aalberg L., Kohtamaki E. [et al.], Impurity profiling of MDMA: The use of the same method in different laboratories, Book of abstracts, The 4th European Academy of Forensic Science Conference – EAFS 2006, Helsinki, Finland.
21. Palhol F., Boyer S., Naulet N. [et al.], Impurity profiling of seized MDMA tablets by capillary gas chromatography, *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 2002, 374, 274–281.
22. Palhol F., Lamoureux C., Chabrilat M. [et al.], $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ isotopic ratio and statistical analysis: an efficient way of linking seized Ecstasy tablets, *Analytica Chimica Acta* 2004, 510, 1–8.
23. Rashed A. M., Anderson R. A., King L. A., Solid-phase extraction for profiling of ecstasy tablets, *Journal of Forensic Science* 2000, 45, 413–417.
24. Renton R. J., Cowie J. S., Oon M. C. H., A study of the precursors, intermediates and reaction by-products in the synthesis of 3,4-methylenedioxy-methamphetamine and its application to forensic drug analysis, *Forensic Science International* 1993, 60, 189–202.
25. Świst M., Wilamowski J., Parczewski A., Basic and neutral route specific impurities in MDMA prepared by different synthesis methods. Comparison of impurity profiles, *Forensic Science International* 2005, 155, 100–111.
26. Świst M., Wilamowski J., Parczewski A., Determination of synthesis method of ecstasy based on the basic impurities, *Forensic Science International* 2005, 152, 175–184.
27. Świst M., Wilanowski J., Zuba D. [et al.], Determination of synthesis route of 1-(3,4-methylenedioxyphenyl)-2-propanone (MDP-2-P) based on impurity profiles of MDMA, *Forensic Science International* 2005, 149, 181–192.
28. The state of the drugs problem in Europe. Annual report 2006. European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction (EMCDDA), 2007 <http://ar2006.emcdda.europa.eu/en/page008-en.html>
29. Verweij A.M.A., Impurities in illicit drug preparations: 3,4-(methylenedioxy)amphetamine and 3,4-(methylenedioxy)methamphetamine, *Forensic Science Review* 1992, 4, 138–146.
30. World drug situation with regard to drug trafficking: Report of the Secretariat, Commission on Narcotic Drugs, United Nations Economic and Social Council, Vienna, 2006 www.unodc.org/world_drug_report.html.

Corresponding author

Dariusz Zuba
Instytut Ekspertyz Sądowych
ul. Westerplatte 9
PL 31-033 Kraków
e-mail: dzuba@ies.krakow.pl

PROCEDURY ANALITYCZNE STOSOWANE W PROFILOWANIU TABLETEK *ECSTASY*

1. Wstęp

Nazwa *ecstasy* odnosi się do narkotyków syntetycznych o budowie chemicznej zbliżonej do amfetaminy, ale różniących się w pewnym stopniu efektem działania. Narkotyki te nazywane są entaktogenami ze względu na ich specyficzne efekty powodujące zmienność nastroju. Czasami wywołują również halucynacje. Ogólnie w Europie, większość tabletek sprzedawanych jako *ecstasy* zawierała 3,4-metylenodioksymetamfetaminę (MDMA) lub podobne związki (MDEA, MDA). W Czechach, Grecji, na Łotwie, Litwie, Węgrzech, w Holandii, Słowacji, Finlandii, Wielkiej Brytanii i Norwegii tabletki te stanowiły ponad 95% całkowitej liczby tabletek analizowanych w 2004 roku. Okazało się, że średnia zawartość substancji aktywnej (MDMA) w tabletkach *ecstasy* mieściła się w zakresie od 30–82 mg [28].

Na podstawie Raportu Organizacji Narodów Zjednoczonych z 2007 roku dotyczącego sytuacji narkotykowej na świecie [1] szacuje się, że około 9 milionów ludzi, czyli 0,2% populacji w wieku 15–64, zażyło *ecstasy* co najmniej raz w ciągu ostatniego roku. W Europie 3 miliony osób zażywa *ecstasy*, co stanowi około 36% użytkowników na świecie. Około 90% z nich mieszka w Europie zachodniej i centralnej. Szacuje się, że ogólna liczba użytkowników w Europie zachodniej i centralnej wynosi rocznie 0,9% populacji w wieku 15–64, co przekracza poziom obserwowany w Ameryce Północnej (0,8%). Całkowity poziom konsumpcji *ecstasy* pozostaje stały lub nieznacznie spada, co wynika ze znacznego spadku spożycia w Ameryce Północnej, oraz stabilizacji lub spadku w znacznej części Europy i Azji. Natomiast w Oceanii do 2005 roku zanotowano znaczny wzrost spożycia *ecstasy*, a pierwsze symptomy stabilizacji pojawiły się dopiero w 2006 roku.

Ogólnie produkcja *ecstasy*, po silnym wzroście w latach 90. dwudziestego wieku, obecnie maleje, głównie z powodu spadającej produkcji w Europie. Z drugiej strony, produkcja w kilku innych częściach świata ciągle wzrasta. Na przestrzeni lat 2000–2005 została zlikwidowana ogromna liczba nielegalnych laboratoriów *ecstasy*, głównie w Holandii (111), w Stanach Zjednoczonych (83), Kanadzie (71) i Belgii (26). Mniej laboratoriów zlikwidowano w Australii, Indonezji, Chinach, Wielkiej Brytanii, Republice Południowej Afryki, Hong Kongu, Estonii, Nowej Zelandii, Meksyku, Argentynie, Egipcie, Indiach i Malesji [1].

Chociaż dominacja Europy zachodniej i centralnej w handlu *ecstasy* nie podlega dyskusji, ogólne trendy wskazują na wzrost produkcji, przemytu i nadużycia *ecs-*

tasy poza tym obszarem. Spośród 8,5 ton *ecstasy* (wyróżonej jako ekwiwalent masy) skonfiskowanej w 2004 roku, 50% przechwycono w Europie zachodniej i centralnej, 23% w Ameryce Północnej i 16% w Oceanii [30]. Szacunkowo 24 000 konfiskat doprowadziło do przejścia około 28,3 milionów tabletek *ecstasy* w obrębie państw Unii Europejskiej w 2004 roku. Do 2003 roku ogromne ilości *ecstasy* przechwycono na terenie Wielkiej Brytanii, a następnie Niemiec, Francji i Holandii [28].

Jak podano powyżej, głównymi krajami zajmującymi się produkcją *ecstasy* są nadal Holandia i Belgia. Handel tabletkami *ecstasy* w Europie staje się coraz bardziej zaawansowany i charakteryzuje się wzrostem profesjonalizmu i wydajności produkcji. Obserwuje się trendy polegające na udziale bardziej wyspecjalizowanych osób i zespołów. Jednakże dalsza dystrybucja końcowych produktów *ecstasy* może być prowadzona bardziej doraźnie. Może być ona podejmowana przez dużą liczbę małych grup o różnej narodowości, zajmujących się przemysłem narkotyków. *Ecstasy* jest najczęściej nabywana w Holandii, Belgii i innych krajach zajmujących się jej produkcją (kraje nadbałtyckie, Polska, region Bałkanów itd.) i następnie przemycana do innych krajów [1].

Unia Europejska wprowadziła „Plan działania w zakresie narkotyków (2005–2008)” [11], który skupiał się na zwiększeniu i rozwoju współpracy między państwami członkowskimi w zakresie ścigania oraz tam, gdzie to właściwe, współpracy z Europolem lub Eurojust, krajami trzecimi i organizacjami międzynarodowymi w dziedzinie zwalczania międzynarodowej zorganizowanej produkcji narkotyków oraz handlu narkotykami. Jednym z celów jest ograniczenie produkcji oraz podaży narkotyków syntetycznych poprzez opracowanie długoterminowego rozwiązania na szczeblu UE w zakresie wykorzystania profilu sądowego dla narkotyków syntetycznych do strategicznych i operacyjnych celów ścigania. Opracowania takiego rozwiązania powinny dokonać organy ścigania oraz organy sądowe, pracując wspólnie i opierając się na dotychczasowych doświadczeniach w tej dziedzinie. Inna instytucja, Parlament Europejski, przygotował rezolucję w sprawie strategii UE w zakresie narkotyków (2005–2012) [16]. W propozycji zaleceń Parlamentu Europejskiego dla Rady UE na temat europejskiej strategii antynarkotykowej (2005–2012) [16] stwierdzono, że w dziedzinie egzekwowania prawa i wymiaru sądowego, polityka antynarkotykowa powinna skupiać się na priorytetach i odpowiednio wybranych działaniach, między innymi wzmocnieniu, w ramach struktur UE, współpracy w zakresie egzekwowania prawa, dochodzeń karnych i nauk sądowych pomiędzy pań-

stwami członkowskimi UE, które mają wspólne interesy i (lub) stają wobec tych samych problemów związanych z narkotykami. Większy zakres współpracy mógłby zostać stworzony dla państw członkowskich, które stoją wobec tych samych problemów (na przykład produkcja narkotyków syntetycznych) i mogłyby współpracować przy poszukiwaniu rozwiązań w ramach projektów. Takie podejście doprowadziło do ścisłej współpracy między instytucjami i laboratoriami sądowymi prowadzącymi badania narkotyków.

Wynikiem współpracy są projekty, które przybierają formę wspólnych dochodzeń, wymiany doświadczeń, projektów naukowych, szkoleń, seminariów lub konferencji. Na tym polu szczególnie aktywne są: Naukowa Grupa Robocza z zakresu Analizy Skonfiskowanych Narkotyków (SWGDRUG) oraz Grupa Robocza ds. Narkotyków Europejskiej Sieci Instytutów Nauk Sądowych (ENFSI). Profilowanie narkotyków jest najbardziej obiecującym zagadnieniem, ponieważ jego wyniki mogą dawać informacje na temat pochodzenia narkotyku, tras jego przemytu, aktywności nielegalnych laboratoriów, metod syntezy, użytych substancji chemicznych itp.

Według definicji Grupy Roboczej ds. Narkotyków ENFSI, profilowanie jest użyciem metod do określenia własności chemicznych i (lub) fizycznych skonfiskowanych narkotyków, aby dokonać ich porównania w celach wywiadowczych (strategicznych, taktycznych) i dowodowych. Stosowanych może być wiele technik, zarówno oddzielnie, jak i w połączeniu, jednakże system profilowania musi być dostosowany do potrzeb. Taki system musi mieć zdefiniowany cel, ujmować zmienność próbek wewnątrz i między partiami oraz zawierać narzędzia raportujące, systemy lub mechanizmy, które pozwalają na interpretację wyników, by były one zrozumiałe dla użytkownika. Oznacza to, że profilowanie jest więcej niż tylko metodą analityczną, jednakże niniejszy artykuł skupia się tylko na części analitycznej profilowania.

Zanieczyszczenia są tymi elementami narkotyków, które dostarczają najwięcej informacji. Zarówno składniki organiczne, jak i nieorganiczne tabletek są użyteczne do celów profilowania. Ich skład zależy od takich czynników, jak droga syntezy, jej warunki, użyte odczynniki, katalizatory, metody oczyszczania surowego produktu lub wytwórcy. Tabletki *ecstasy* są mieszaniną wielu substancji. Substancje psychoaktywne takie jak kofeina lub paracetamol i neutralne dodatki, takie jak cukry lub kwasy tłuszczowe, mogą być dodawane do głównego składnika przed tabletkowaniem. Ponadto zanieczyszczenia powstałe podczas produkcji lub obecne w prekursorach, odczynniki i rozpuszczalnikach, mogą znajdować się w końcowym produkcie. Pierwotne zanieczyszczenia mogą też reagować i być przekształcane na każdym etapie produkcji. Warunki przechowywania, światło, ciepło lub wilgoć mogą prowadzić do tworzenia nowych zanieczyszczeń. Celem profilowania narkotyków jest okreś-

lenie podobieństwa składu próbek z próbkami uzyskanymi wcześniej i zebranie wyników w bazie danych. Podobieństwo jest szacowane przez porównanie profili zanieczyszczeń. Profile są oceniane wizualnie lub przy użyciu metod statystycznych z zastosowaniem oprogramowania statystycznego. Wiedza na temat procesu produkcji, szczególnie tworzenia i stabilności zanieczyszczeń, zanieczyszczeń charakterystycznych dla metody syntezy (markerów) i możliwych zmian w profilach zanieczyszczeń, umożliwia wyciągnięcie poprawnych wniosków na temat podobieństw i różnic między próbkami. Taka informacja może być osiągana poprzez szczegółową analizę chemiczną próbek ze znanych źródeł, kiedy przebieg reakcji jest znany.

Celem tego artykułu jest przegląd podejść analitycznych wykorzystywanych do profilowania tabletek *ecstasy*.

2. Profilowanie zanieczyszczeń organicznych

2.1. Wprowadzenie

Procedura profilowania zanieczyszczeń organicznych składa się z następujących etapów:

1. ekstrakcja zanieczyszczeń z próbki (tabletki);
2. jakościowa lub (i) ilościowa analiza zanieczyszczeń za pomocą metod analitycznych;
3. interpretacja wyników, czyli porównanie oraz klasyfikacja profili zanieczyszczeń z użyciem algorytmów statystycznych (w tym celu najczęściej stosowana jest analiza skupień oraz analiza głównych składowych).

Do tej pory zostało opracowanych kilka metod profilowania zanieczyszczeń organicznych wykorzystywanych osobno dla amfetaminy, metamfetaminy czy MDMA (lub tabletek *ecstasy*). Większość z nich jest do siebie podobna i bazuje na ekstrakcji ciecz-ciecz zanieczyszczeń z matrycy narkotyku oraz analizie za pomocą chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrią mas lub z detektorem płomieniowo-jonizacyjnym.

Przełomem w profilowaniu MDMA była praca Verweij z Holenderskiego Instytutu Nauk Sądowych (NFI) [29]. Autor przedstawił sugerowane wzory strukturalne oraz widma masowe prekursorów, produktów pośrednich oraz ubocznych obecnych w próbkach MDMA przygotowanych trzema metodami syntezy. Te dane analityczne mogły zostać użyte do określenia sposobu syntezy stosowanego w nielegalnym laboratorium oraz pomóc w określeniu pochodzenia próbek poprzez ich porównanie. W następnych latach zaczęto szerzej zajmować się tym problemem.

2.2. Przygotowanie próbek do analizy – ekstrakcja zanieczyszczeń z próbki

Spośród różnych technik ekstrakcji stosowanych do izolacji zanieczyszczeń z tabletek *ecstasy*, najczęściej stosowaną jest ekstrakcja ciecz-ciecz. W niektórych publikacjach przedstawiono zastosowanie bardziej nowoczesnych technik, takich jak ekstrakcja do fazy stałej SPE (*solid phase extraction*), mikroekstrakcja do fazy stałej SPME (*solid phase microextraction*) czy mikroekstrakcja do fazy stałej z fazy nadpowierzchniowej SPME/HS (*solid phase microextraction/headspace*). Rozwój metod opierał się głównie na optymalizacji warunków ekstrakcji w celu zwiększenia wydajności procesu, lub przynajmniej, redukcji efektu matrycowego.

W pracy autorstwa Gimeno i in. [13] wybrano najczęstsze zanieczyszczenia obecne w próbkach MDMA oraz opublikowano ich widma masowe. Przygotowanie próbek prowadzono w następujący sposób: ilość próbki równoważną 10 mg czystego MDMA·HCl rozpuszczono w 3 ml wody destylowanej i następnie dodano 200 µl 1 M NaOH. Otrzymano mocno zasadowy roztwór (pH 12,8) mieszano przez 10 minut (1800 obr/min). Ekstrakcję prowadzono przy użyciu 3 ml eteru dietylowego i wytrząsano przez 20 min. Oddzieloną fazę organiczną odparowano do sucha. Dodano 500 µl eteru dietylowego i mieszano przez kilka sekund. Do badania pobrano 2 µl ekstraktu. Analiza prowadzona była za pomocą metody GC-MS. Zastosowano 2 typy jonizacji – jonizację elektronami (EI) podczas detekcji i identyfikacji oraz dodatnią jonizację chemiczną (CI+) przy potwierdzeniu obecności każdego zanieczyszczenia (jako gaz reagentowy użyto CH₄).

Ci sami autorzy przedstawili pracę poświęconą optymalizacji procesu ekstrakcji ciecz-ciecz stosowanej w profilowaniu MDMA [14]. Sprawdzono wpływ pH, odczynnika ekstrahującego oraz czasu wytrząsania próbek na wydajność ekstrakcji. Zbadano także rozkład zanieczyszczeń pomiędzy dwie fazy oraz maksymalny czas przechowywania ekstraktu. Analizę próbek MDMA przeprowadzono, korzystając z chromatografu gazowego sprzężonego ze spektrometrem mas. Na podstawie otrzymanych wyników autorzy wywnioskowali, że najczęściej zanieczyszczeń ekstrahuje się z roztworu o pH 11,5 przy użyciu eteru dietylowego jako ekstrahenta. Stwierdzili także, że najlepszy stosunek ilości odczynnika ekstrahującego do ilości buforu wynosi 3:2, a czas wytrząsania powinien wynosić 10 minut.

Gimeno i in. przedstawili także wyniki profilowania próbek MDMA przygotowanej metodą redukcyjnego aminowania [12]. Autorzy otrzymali również safrol, izosafrol, piperonal, -nitrozosafrol i z tych substancji przeprowadzili syntezę 3,4-metylenodioksyfenilo-2-propanonu – prekursora MDMA. Przygotowanie próbek przebiegało według zoptymalizowanej procedury ekstrakcji

[14], natomiast analizę zanieczyszczeń prowadzono za pomocą metody GC-MS.

W pracy Rasheda, Andersona i Kinga oceniono użyteczność ekstrakcji typu ciecz-ciecz (LLE) oraz ekstrakcji do fazy stałej (SPE) do analizy tabletek *ecstasy* [23]. W przypadku ekstrakcji ciecz-ciecz przygotowanie próbek polegało na rozpuszczeniu 50 mg proszku (MDMA) w 1 ml buforu fosforanowego o pH 9. Otrzymany roztwór mieszano na wytrząsarce przez 30 minut. Następnie dodano 1 ml octanu etylu i wytrząsano przez kolejne 30 minut. Roztwór wirowano przez 5 minut (3000 obr/min). Po odwirowaniu oddzielono warstwę organiczną i zredukowano w strumieniu azotu do 100 µl. Dodano 100 µl trietyloaminy jako wzorca wewnętrznego i pobrano 1 µl do analizy. Podczas ekstrakcji do fazy stałej kolumnienkę Varian Bond Elut C18 kondycjonowano przy użyciu 10 ml wody dejonizowanej, 10 ml metanolu i kolejnych 10 ml wody dejonizowanej. Następnie rozpuszczono 50 mg próbki w 1 ml buforu fosforanowego o pH 9. Zawiesinę wytrząsano przez 30 minut, odwirowano i zdekantowano roztwór z nad osadu. Roztwór próbki w buforze wprowadzono na kolumnienkę (prędkość przepływu 1 ml/min). Następnie kolumnienkę przepłukano 10 ml destylowanej wody i osuszono, stosując maksymalną próżnię przez 5 minut. Zanieczyszczenia wypłukano, stosując 700 µl izopropanolu, 1 ml mieszaniny octanu etylu i 2% amoniaku. Frakcje połączono i odparowano do 100 µl, a następnie dodano 100 µl roztworu wzorca wewnętrznego. Autorzy porównali te dwie metody i doszli do wniosku, że ekstrakcję do fazy stałej charakteryzuje lepsza wydajność. Jednakże w porównywanych metodach zastosowano inne odczynniki w różnych ilościach (LLE: 1 ml octanu etylu, SPE: 700 µl izopropanolu + 1 ml mieszaniny octanu etylu i 2% amoniaku), co mogło mieć wpływ na wynik przeprowadzonych badań.

Badania dotyczące profilowania stymulantów z grupy amfetamin były od końca lat dziewięćdziesiątych prowadzone także w Polsce. Projekt o nazwie „Opracowanie analitycznego i chemometrycznego modelu profilowania *ecstasy* dla potrzeb bazy danych narkotyków” realizowany był w Instytucie Ekspertyz Sądowych przy współpracy z Uniwersytetem Jagiellońskim i Centralnym Laboratorium Kryminalistycznym Komendy Głównej Policji. Wykonawcy projektu przedstawili wyniki w kilku pracach [25, 26]. MDMA uzyskano pięcioma sposobami syntezy w kilku partiach, a następnie zaklasyfikowano próbki na podstawie analizy zanieczyszczeń organicznych do grup odpowiadających metodzie syntezy. Przygotowanie próbek przeprowadzono w następujący sposób: 200 mg MDMA·HCl rozpuszczono w 2 ml buforu węglanowego o pH 10 i następnie energicznie wytrząsano roztwór przez 25 minut. Ekstrakcję prowadzono przy użyciu 200 µl *n*-heptanu zawierającego difenylaminę jako wzorzec wewnętrzny (35 mg/l). Roztwór wy-

trząsano przez kolejne 25 minut i poddano analizie za pomocą metody GC-MS.

W kolejnej pracy opisano otrzymanie dwoma różnymi metodami 3,4-metylenodioksyfenylo-2-propanonu (3,4-MDP-2-P). Następnie prekursor użyto do syntezy MDMA metodą redukcyjnego aminowania z NaBH_4 . Jest to metoda najczęściej stosowana w nielegalnych laboratoriach w Polsce. Ustalono najważniejsze markery tej metody syntezy. Wykorzystano ten sam sposób do przygotowania próbek, stosując takie same parametry metody GC-MS.

Projekt Unii Europejskiej zatytułowany „Wspólna harmonizacja metod profilowania stymulantów z grupy amfetamin” był wdrażany w latach 2004–2006. Jednym z zadań projektu było opracowanie procedury ekstrakcji zanieczyszczeń. W tym celu zdecydowano się zastosować ekstrakcję ciecz-ciecz [20]. Polegała ona na rozpuszczeniu 200 mg proszku w 4 ml buforu fosforanowego o pH 7,0, a następnie wytrząsaniu przez 10 minut, umieszczeniu w łaźni ultradźwiękowej i wirowaniu przez 8 minut (4500 obr/min). Roztwór przefiltrowano w celu zapobiegnięcia tworzeniu się emulsji, które uniemożliwiłyby oddzielenie i pobranie warstwy organicznej. Następnie dodano 400 μl toluenu (zawierającego wzorzec wewnętrzny – eikozan 0,02 mg/ml) i mieszano przez 20 minut oraz wirowano przez 3 minuty (3500 obr/min). Oddzielono warstwę toluenową i pobrano do analizy.

Ta sama procedura ekstrakcji ciecz-ciecz została przedstawiona w pracy van Deursena, Locka i Poortman-van der Meer [10]. Autorzy porównali buforu stosowane do rozpuszczenia próbki. Przetestowano trzy wartości pH buforu: 1,0, 5,0 oraz 7,0, a największą wydajność ekstrakcji uzyskano, stosując obojętne pH. W pracy nie wykorzystano buforu o pH zasadowym, ponieważ w tych warunkach ekstrahuje się także MDMA. Autorzy zwrócili również uwagę na dodatkowy etap – filtrację, która ma zapobiegać tworzeniu emulsji. Proces ten może być spowodowany obecnością dodatków (np. kwasów tłuszczowych) w tabletkach *ecstasy*.

Zagadnieniem profilowania zanieczyszczeń w tabletkach *ecstasy* za pomocą GC-MS zajęli się także w Hong Kongu Cheng i in. [8]. Autorzy przeprowadzili analizę 89 skonfiskowanych tabletek. Sprawdzono wydajność procesu ekstrakcji z wykorzystaniem kilku odczynników ekstrahujących: dichlorometanu, eteru dietylowego, octanu etylu i mieszaniny eter dietylowy-octan etylu w stosunku objętościowym 50:50. Ostatecznie wybrano eter dietylowy. Przygotowanie próbek polegało na rozpuszczeniu 30 mg proszku w 1 ml buforu fosforanowego o pH 11,5, a następnie mieszaniu przez 5 minut. Ekstrakcję prowadzono przy użyciu 1,5 ml ekstahenta zawierającego difenyloaminę jako wzorzec wewnętrzny (0,40 mg/l). Roztwór wytrząsano przez kolejne 30 minut, a następnie pobraną warstwę organiczną przeniesiono do fiolki, odparowano do sucha w strumieniu azotu w tem-

peraturze pokojowej. Dodano 500 μl eteru dietylowego i poddano analizie metodą GC-MS. Otrzymane chromatogramy porównano za pomocą hierarchicznej analizy skupień (HCA), a badane tabletki zaklasyfikowano do grup odpowiadających danej metodzie syntezy.

Ekstrakcja typu ciecz-ciecz została również wykorzystana do profilowania tabletek *ecstasy* przez Palhola i in. [21]. Zanieczyszczenia wyizolowane były w warunkach zasadowych z wykorzystaniem chlorku metylenu. Tabletki (MDMA) rozdrobniono i pobrano 150 mg homogenicznego proszku, po czym dodano 1 ml buforu węglanowego o pH 10. Zawiesinę mieszano przez 5 minut. Ekstrakcję prowadzono przy użyciu 1 ml odczynnika ekstrahującego i wytrząsano przez 5 minut. Warstwę organiczną przefiltrowano, zredukowano do 100 μl w strumieniu suchego powietrza i poddano analizie za pomocą metody GC-MS oraz GC-FID. Klasyfikację próbek przeprowadzono, stosując analizę skupień (CA).

Jak przedstawiono powyżej, sposoby ekstrakcji ciecz-ciecz stosowanej w profilowaniu tabletek *ecstasy*, różnią się kilkoma parametrami, takimi jak pH, rodzaj użytego buforu oraz odczynnika ekstrahującego, czas wytrząsania i wirowania, a także stosowany wzorzec wewnętrzny. W tabeli I zestawiono poszczególne warunki procedury ekstrakcji.

W ostatnich latach przeprowadzono wstępne badania dotyczące zastosowania metody SPME w profilowaniu narkotyków syntetycznych. Profilowanie skonfiskowanych tabletek *ecstasy* oraz próbek amfetaminy prowadzone było za pomocą metody SPME z fazy nadpowierzchniowej oraz kapilarnej chromatografii gazowej [18]. Ze względu na występujące w tabletkach *ecstasy* substancje dodatkowe – głównie lepiszcza masy tabletkowej, takie jak kwas stearynowy lub palmitynowy i ich sole, nie można było zastosować bezpośredniej techniki SPME. Dodatki te nie rozpuszczają się w buforze i po zanurzeniu włókna w roztworze adsorbują się na nim, powodując jego szybką degradację. Procedura ekstrakcji SPME rozpoczęła się od rozpuszczenia 10 mg próbki w 5 ml 0,1 M buforu octanowego o pH 5,0. Następnie roztwór próbki poddano działaniu ultradźwięków przez 10 minut. Po ogrzaniu roztworu do temperatury 90°C włókno SPME wprowadzono do warstwy gazowej nad roztworem. Roztwór intensywnie mieszano (200 obr/min) przez 30 minut. Do ekstrakcji SPME wykorzystano dwa rodzaje włókien: polidimetylosiloksanowe (PDMS) i polidimetylosiloksanowo-diwinylbenzenowe (PDMS/DVB). Lepszą wydajność zarówno w przypadku amfetaminy, jak i *ecstasy*, osiągnięto, stosując włókno PDMS/DVB. Autorzy przedstawili również ekstrakcję ciecz-ciecz zanieczyszczeń i porównali obie metody. Z porównania profili zanieczyszczeń wynika, że w przypadku metody SPME wydajność ekstrakcji piperonalu, izosafrolu i *N*-formylo-MDMA jest większa, natomiast wydajność ekstrakcji MDP-2-P i 3,4-metylenodioksyfenylo-2-propanolu jest

niejsza. Dużą zaletą SPME w stosunku do LLE jest niemal zupełne wyeliminowanie użycia rozpuszczalników organicznych. Istnieje jednak obawa, że zanieczyszczenia o względnie dużych masach cząsteczkowych nie są wystarczająco lotne, aby można je było ekstrahować metodą SPME/HS.

2.3. Metody analizy instrumentalnej stosowane do badania zanieczyszczeń z tabletek *ecstasy*

Obecnie większość procedur analitycznych stosowanych w profilowaniu zanieczyszczeń tabletek *ecstasy* bazuje na chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrią mas (GC-MS) lub z detekcją płomieniowo-jonizacyjną (GC-FID). Technika GC-MS pozwala jednocześnie na rozdział składników analizowanej próbki *ecstasy* oraz identyfikację substancji na podstawie otrzymanego widma masowego. W tabeli II zebrano parametry metod GC-MS oraz GC-FID stosowanych w profilowaniu zanieczyszczeń z tabletek *ecstasy*.

Profile zanieczyszczeń można uzyskać także metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) [6] oraz metodą chromatografii cienkowarstwowej (TLC) [17, 24].

Byrska i Zuba opublikowali pracę dotyczącą zastosowania metody HPLC w profilowaniu próbek MDMA [6]. Słabo zasadowy roztwór buforowy (pH 8,5) umożliwił ekstrakcję najważniejszych zanieczyszczeń MDMA. Zastosowano ekstrakcję do fazy stałej w celu zagęszczenia zanieczyszczeń i pozbycia się stosunkowo znacznych ilości chlorowodoru MDMA. Do ekstrakcji użyto zestawu Baker spe-12G System z pompą próżniową typu KNF Laboport. Zestaw umożliwia jednocześnie ekstrakcję 10 próbek. Analiza wyizolowanych zanieczyszczeń prowadzona była za pomocą chromatografu cieczowego La Chrom D-7200 System firmy Merck-Hitachi wyposażonego w detektor matrycy diod (DAD), model L-7455. Rozdział związków prowadzono na kolumnie monolitycznej Chromolith Performance RP-18e (100 – 4,6 mm, 2 m). Jako eluenta użyto wody z dodatkiem 100 l 85% kwasu fosforowego na litr wody (A) oraz acetonitryl (B). Przepływ fazy ruchomej ustalono na 1 ml/min. Zastosowano następujący zoptymalizowany program gradientowy składu fazy ruchomej: 0 min – 100%A, 0%B; 21,3 min – 59,5%A, 40,5%B; 33 min – 0%A, 100%B; 34 min – 100%A, 0%B. Widma zbierane były w zakresie 200–400 nm, natomiast długość fali monitorowania wynosiła 205 nm. Kolumnę termostatowano w temperaturze 30°C. Warunki stosowane w analizie chromatograficznej kontrolowane były przez dodanie wzorca wewnętrznego (difenylamina) do każdej próbki. Zastosowanie kolumny monolitycznej w połączeniu z fazą ruchomą zoptymalizowaną przy użyciu metody simpleksów umożliwiło rozdział zanieczyszczeń obecnych w próbkach MDMA. Otrzymano prawidłową klasyfikację ba-

danych próbek, stosując metodę porównywania i grupowania na podstawie pola powierzchni 33 pików pochodzących od zanieczyszczeń MDMA. Próbki podzielono na klasy odpowiadające metodzie syntezy. Według autorów, użyteczność metody HPLC jest porównywalna z chromatografią gazową z detektorem płomieniowo-jonizacyjnym. W przypadku zastąpienia detektora matrycy diod przez spektrometr masowy, chromatografia cieczowa może być metodą komplementarną w stosunku do GC-MS lub nawet metodą alternatywną stosowaną w profilowaniu MDMA.

Profilowanie zanieczyszczeń 1-(3,4-metylenodioksyfenylo)-2-nitropropenu, produktu pośredniego syntezy 3,4-metylenodioksymetamfetaminy (MDMA), prowadzone było za pomocą techniki SPE-TLC [17]. Chromatograficzny rozdział ekstraktów prowadzono na płytkach aluminiowych pokrytych żelem krzemionkowym wzbogaconym o czynnik fluoryzujący przy długości fali światła wzbudzającego 254 nm, w poziomej komorze chromatograficznej. Plamki pochodzące od rozdzielonych zanieczyszczeń obserwowano w świetle UV ($\lambda_{wzb} = 254$ i 366 nm). Najlepszą jakość profili otrzymano, stosując jako eluent mieszaninę acetonitryl:chloroform (2:8).

3. Profilowanie zanieczyszczeń nieorganicznych

Oprócz profilowania zanieczyszczeń organicznych podjęto również próby profilowania zanieczyszczeń nieorganicznych tabletek *ecstasy*. Zanieczyszczenia nieorganiczne mogą zostać wprowadzane podczas syntezy narkotyku jako reagenty, regulatory środowiska, katalizatory itp. Badano skład pierwiastkowy próbek narkotyków przy użyciu spektrometrii mas z jonizacją w plazmie indukcyjnie sprzężonej (ICP-MS), atomowej spektrometrii emisyjnej ze wzbudzeniem plazmowym (ICP-AES) oraz atomowej spektrometrii absorpcyjnej ze wzbudzeniem plazmowym (ICP-AAS).

Comment i in. przeprowadzili analizę składu pierwiastkowego tabletek *ecstasy* za pomocą metod ICP-MS oraz ICP-AES [9]. Celem badań było porównanie przydatności tych dwóch metod w profilowaniu narkotyków. Dodatkowo przetestowano dwa sposoby przygotowania próbek:

1. Do 200 mg próbki dodano 5 ml stężonego HNO_3 i 1 ml H_2O_2 , a następnie umieszczano roztwór w piecu mikrofalowym na 50 min;
2. Do 200 mg próbki dodano 25 ml rozcieńczonego HNO_3 (5%), otrzymany roztwór wytrząsano i umieszczono w łaźni ultradźwiękowej na 10 min.

Otrzymane wyniki dla próbek pochodzących z jednej partii syntezy różniły się w znacznym stopniu (średnie RSD równe 20% dla ICP/AES i 25% dla ICP/MS). Podczas porównywania dwóch sposobów przygotowania próbek okazało się, że wyznaczone średnie stężenia wy-

branych pierwiastków były większe, gdy próbki przygotowywane były metodą z użyciem pieca mikrofalowego.

W każdej analizowanej tabletkie największe były stężenia Ca, Na i Mg. Poza tym w większości próbek wykryto: Fe, B, Si, Cr, Cu, Ti, Al oraz K, jednak pierwiastki te występowały również w próbkach referencyjnych, które nie zawierały substancji aktywnej. Podczas analizy pięciu białych tabletek z takim samym logo otrzymano różne profile nieorganiczne (zróżnicowane zawartości pierwiastków wchodzących w skład tabletek). W innym przypadku badanie pięciu tabletek o takich samych cechach fizycznych (kolor i logo) oraz chemicznych (taka sama zawartość MDMA) zakończyło się uzyskaniem bardzo podobnych profili nieorganicznych, podczas gdy w innych przypadkach uzyskiwano bardzo podobne profile zanieczyszczeń nieorganicznych i równocześnie różne profile organiczne. Przeprowadzono dodatkowo analizę tabletek na zawartość kwasów tłuszczowych i stwierdzono, że jedna z dwóch badanych próbek zawierała ich trzy razy więcej. Potwierdziło to, że tabletki nie pochodziły z jednej wyprodukowanej partii.

Badanie składu pierwiastkowego próbek MDMA (w postaci proszków i tabletek) przeprowadzili także Koper i in., stosując metody ICP-MS oraz ICP-AES [19]. Autorzy skupili swą uwagę na tabletkach *ecstasy* oraz próbkach MDMA otrzymanych metodą reducyjnego aminowania z wykorzystaniem trzech reduktorów: platyny (Pt), borowodoru sodu (NaBH_4) i amalgamatu glinu Al(Hg) . Próbkę syntetyczną otrzymaną w różnych laboratoriach. Początkowo wybrano pięć pierwiastków będących potencjalnymi markerami metody syntezy (Al, Hg, Pt, B, Na). Przeprowadzono analizę substancji często dodawanych do MDMA, takich jak celuloza, talk, cukry czy stearynian magnezu i stwierdzono w nich obecność glinu i sodu. W związku z tym jako znaczniki syntezy wybrano trzy pierwiastki: rtęć (Hg), platynę (Pt) i bor (B). Po przeprowadzeniu badań stwierdzono w przypadku syntezy z wykorzystaniem platyny jako reduktora obecność Pt oraz brak Hg i B, w przypadku syntezy z użyciem Al(Hg) obecność Hg oraz brak Pt i B. Natomiast w przypadku syntezy z użyciem NaBH_4 jedynie 15 z 18 badanych próbek zawierało tylko bor. Stężenia analizowanych pierwiastków mieściły się w dość szerokim zakresie: 6–2182 ppm dla Pt, 0,2–290 pmm dla Hg i 6–48120 ppm dla B. Ponadto badane próbki zawierały także inne pierwiastki w śladowych ilościach (< 5 ppm), np. Cr, Mn, Cu, Sn, Pb, Sc, Ni, Zn, Ga, Rb, Sr. Autorom udało się określić na podstawie zawartości Pt, Hg i B, metodą syntezy 89 z 97 badanych tabletek. Dodatkowo w przypadku 80% analizowanych tabletek wykryto Cr, Mn, S i Sr. Do klasyfikacji próbek użyto hierarchicznej analizy skupień (HCA) z wykorzystaniem współczynnika Pearsona.

Podsumowując wyniki powyższych badań, należy stwierdzić, że profilowanie zanieczyszczeń nieorganicz-

nych może stanowić dodatkowe źródło informacji o tabletkach *ecstasy*. Znajomość ich składu pierwiastkowego ułatwia interpretację wyników analizy zanieczyszczeń organicznych. Największy problem w profilowaniu takich zanieczyszczeń stanowi powtarzalność wyników, jednak można go zminimalizować poprzez odpowiednie przygotowanie próbki, a szczególnie jej dokładne ujednorodnienie. Poza tym największą część składników nieorganicznych stanowią substancje mieszane ze składnikiem aktywnym już po jego syntezie – w przypadku tabletek *ecstasy* są to głównie domieszki i lepiszcza. Spośród metod stosowanych w profilowaniu zanieczyszczeń nieorganicznych technika ICP-MS wyróżnia się najniższą granicą wykrywalności i jest ona w tym celu najczęściej stosowana.

4. Inne metody stosowane do analizy tabletek *ecstasy*

W związku z tym, że w tabletkach *ecstasy* oprócz substancji aktywnej występują również inne dodatki, takie jak domieszki i lepiszcza, podjęto próby badania ich składu. W tym celu najczęściej wykorzystywane były metody spektroskopowe, analiza izotopowa oraz chromatografia gazowa sprzężona ze spektrometrią mas.

Baer, Gurny i Margot przeprowadzili analizę celulozy i laktozy z wykorzystaniem spektroskopii w zakresie bliskiej podczerwieni z techniką odbiciową (NIRS) [2]. Celem badań było określenie różnych form chemicznych celulozy i laktozy, a także rozróżnienie ich źródła pochodzenia (producenta). Dużą zaletą stosowanej metody był krótki czas analizy (poniżej 1 minuty) oraz łatwe przygotowanie próbek. Autorzy przebadali 25 próbek celulozy oraz 23 próbki laktozy, zarówno w postaci proszków, jak i tabletek. Część z nich posłużyła jako wzorce, które następnie mieszano z amfetaminą o trzech różnych stopniach czystości. Ponadto poddano analizie tabletki *ecstasy*, które przed badaniem ujednorodniono w moździerzu. Do klasyfikacji różnych form chemicznych badanych cukrów wykorzystano analizę głównych składowych (PCA). Zarówno dla próbek wzorcowych celulozy i laktozy, jak i sporządzonych mieszanin amfetaminy z cukrami uzyskano zadowalające wyniki, natomiast w przypadku tabletek *ecstasy*, które zawierały większą liczbę domieszek, trudno było dopasować otrzymane widma do widm analizowanych wzorców laktozy i celulozy.

Analizę cukrów i kwasów tłuszczowych występujących w tabletkach *ecstasy* przeprowadzili w innej pracy Baer i Margot [3]. W przypadku analizy cukrów przygotowanie próbek przeprowadzono w następujący sposób: 2 mg jednorodnego proszku rozpuszczono w 1 ml pirydyny, następnie dodano heksametylodisilazan (HMDS) oraz chlorotrimetylosilan (TMCS) i otrzymaną mieszaninę wytrząsano przez 30 sekund. Po 5 minutach roztwór

poddawano analizie. W przypadku analizy kwasów tłuszczowych około 25 mg proszku mieszano z 1,5 ml 14% roztworu fluorku boru w metanolu i 1,5 ml heksanu, a następnie przepuszczono przez strumień azotu. Szczelnie zamkniętą fiolkę umieszczono w piecu na 1 godzinę w temperaturze 100°C. Warstwę heksanową przeniesiono do nowej fiolki i odparowano w strumieniu azotu. Następnie dodawano 200 µl heksanu zawierającego wzorzec wewnętrzny (eikozan) i poddano analizie. Próbkę badaną była za pomocą metody GC-MS z wykorzystaniem kolumny DB 1MS o wymiarach 30 m 0,25 mm 0,25 m. Jako gazu nośnego użyto helu. Widma masowe rejestrowano w zakresie 50–550 amu. Zastosowano różne programy temperaturowe. W przypadku analizy cukrów program rozpoczynał się od 175°C, a kończył na 270°C; wykorzystano trójstopniowy przyrost temperatury. W przypadku analizy kwasów tłuszczowych program rozpoczynał się od 140°C, a kończył na 230°C z jedno-stopniowym gradientem temperatury (5°C/min). Przedmiotem analizy były różne dodatki występujące w tabletkach *ecstasy*, takie jak mannitol, sorbitol, laktoza, kwas laurynowy (C12), mirystynowy (C14), pentadekanowy (C15), palmitynowy (C16), margarynowy (C17), oleinowy (C18_1), linolowy (C18_2), stearynowy (C18) oraz arachidowy (C20). Autorzy przeprowadzili klasyfikację badanych tabletek *ecstasy* ze względu na zawartość powyższych związków, wykorzystując w tym celu metody chemometryczne.

Skład tabletek *ecstasy* był również badany z wykorzystaniem spektroskopii Ramana [4, 5]. Otrzymano widma oscylacyjne bogate w drgania, pochodzące zarówno od MDMA, jak i od dodatków. Celem badań było określenie stosunku zawartości składnika aktywnego do zawartości dodatku (tzn. MDMA:sorbitol, MDMA:celuloza, MDMA:glukoza) oraz stopnia uwodnienia badanych tabletek. Przeprowadzono analizę tabletek pochodzących z ośmiu różnych woreczków (ośmiu konfiskat). Za pomocą metody GC-MS potwierdzono, że wszystkie tabletki zawierały jako substancję aktywną MDMA. Natomiast po analizie próbek za pomocą spektrometru okazało się, że widma pięciu tabletek zawierały pasma przy 880 cm⁻¹ pochodzące od sorbitolu, widma dwóch tabletek posiadały pasma przy 1124 cm⁻¹ pochodzące od celulozy, natomiast widmo ostatniej tabletki posiadało pasmo przy 896 cm⁻¹, wskazujące na obecność glukozy w badanej próbce. Ponadto wszystkie próbki zawierały pasma odpowiadające MDMA: 716, 771 i 810 cm⁻¹. Autorzy zwrócili także uwagę na szybki czas analizy w porównaniu do stosowanej najczęściej w procesie profilowania chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrią mas.

Do określenia stopnia powiązania skonfiskowanych tabletek *ecstasy* zastosowano także analizę izotopową. Celem badań było wskazanie, które z nich zostały otrzymane tą samą metodą syntezy albo pochodzą z tego sa-

mego nielegalnego laboratorium. Palhol i in. [22] zbadali stosunek izotopów ¹⁵N/¹⁴N w MDMA wyekstrahowanej z tabletek *ecstasy* za pomocą chromatografu gazowego sprzężonego z komorą spalania oraz spektrometrem masowym (GC-C-IRMS). Przygotowanie próbek polegało na rozdrobieniu w moździerzu tabletek *ecstasy*, pobraniu 250 mg proszku i rozpuszczeniu go w 2 ml buforu węglanowego o pH 10. Roztwór mieszano przez 10 minut, następnie dodano 2 ml dichlorometanu i znowu wytrząsano przez 10 minut. Oddzieloną warstwę organiczną przefiltrowano i poddano analizie. Po rozdzielu chromatograficznym poszczególne składniki wprowadzane były do komory spalania i tam otrzymywano H₂O, CO₂ i NO_x. Tlenki azotu zredukowane były do N₂, a otrzymane widma azotu analizowane przy m/z = 28, 29, 30. Rozdział chromatograficzny prowadzono na kwarcowej kolumnie kapilarnej RTX-5MS (30 m 0,25 mm 0,25 m). Jako gazu nośnego użyto helu. Dozowanie próbki odbywało się w trybie z dzieleniem strumienia gazu nośnego (ang. split injection), a temperatura dozownika wynosiła 260°C. Zastosowano następujący program temperaturowy: 60°C (1 min), przyrost 17°C/min do 260°C (6 min). Autorzy pogrupowali badane próbki w klasy odpowiadające danemu zakresowi współczynnika ¹⁵N, którego wartość zależała od użytego prekursora oraz zastosowanej metody syntezy MDMA. Podział próbek przeprowadzono, wykorzystując metody chemometryczne: analizę głównych składowych (PCA) oraz hierarchiczną analizę skupień (HCA). Autorzy zwrócili także uwagę na fakt, iż stworzenie bazy uwzględniającej oprócz takich parametrów, jak masa, zawartość MDMA i logo, także współczynnik ¹⁵N, ułatwiłoby porównywanie tabletek *ecstasy*.

5. Podsumowanie

Profilowanie zanieczyszczeń organicznych, które znajdują się w tabletkach *ecstasy*, prowadzone jest głównie z wykorzystaniem ekstrakcji ciecz-ciecz oraz analizy za pomocą chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrią mas (lub detektorem płomieniowo-jonizacyjnym). Porównanie opublikowanych procedur prowadzi do zaskakujących wniosków. Metody te różnią się kilkoma parametrami, takimi jak pH, rodzaj użytego buforu oraz odczynnika ekstrahującego. Nie można wykluczyć, że profilowanie z wykorzystaniem różnych procedur może prowadzić do niejednoznacznej klasyfikacji próbek i w konsekwencji do różnych wniosków. Istnieje więc potrzeba przeprowadzenia ogólnych badań mających na celu ocenę przedstawionych procedur. Użyteczność metody HPLC jest porównywalna z chromatografią gazową z detektorem płomieniowo-jonizacyjnym. W przypadku zastąpienia detektora matrycy diod przez spektrometr masowy, chromatografia cieczowa może być metodą

komplementarną w stosunku do GC-MS lub nawet metodą alternatywną stosowaną w profilowaniu MDMA.

Spośród technik stosowanych do analizy pierwiastkowej, zwykle używana jest spektrometria mas z jonizacją w plazmie indukcyjnie sprzężonej. Profilowanie zanieczyszczeń nieorganicznych może stanowić dodatkowe źródło informacji o tabletkach *ecstasy*. Ponadto może ono ułatwić interpretację wyników analizy zanieczyszczeń organicznych. Problemem jest jednak powtarzalność wyników oraz wpływ substancji mieszanych ze składnikiem aktywnym już po jego syntezie.

Uzyskano obiecujące wyniki analizy opartej na stosunku izotopów $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ w MDMA wyekstrahowanej z tabletek *ecstasy* za pomocą chromatografu gazowego sprzężonego z komorą spalania oraz spektrometrem masowym. Metoda ta umożliwia rozpoznanie sposobu syntezy oraz porównanie próbek i dlatego może być uważana za metodę komplementarną w stosunku do GC-MS.

Spektroskopia w zakresie bliskiej podczerwieni z techniką odbiciową oraz spektroskopia Ramana posiadają szereg zalet w odniesieniu do metod przedstawionych powyżej, ale możliwość ich zastosowania w rutynowych procedurach profilowania tabletek *ecstasy* wydaje się ograniczona.