

Nitrowanie jako technika derywatyzacji przy identyfikacji n-(m-chlorofenylo)piperazyny (m-cpp)

Pojawianie się na czarnym rynku coraz nowszych narkotyków syntetycznych (z grupy tzw. *designer drugs*), rozpowszechnianych zazwyczaj pod postacią tabletek, jest nie lada wyzwaniem dla chemików analityków pracujących w laboratoriach kryminalistycznych. Związki te na ogół nie figurują w komercyjnych bibliotekach widm w podczerwieni, widm masowych czy też dyfraktogramów rentgenowskich zainstalowanych na instrumentalnej aparaturze badawczej, co sprawia, że ich identyfikacja wymaga od eksperta wiedzy, doświadczenia, a nieraz również pomysłowości i intuicji. Przykładem tego typu związków może być grupa pochodnych fenylopiperazyny – stosunkowo nowych substancji psychotropowych, których właściwości zostały niedawno opisane na łamach „Problemów Kryminalistyki” [1] – wraz z jedną z najważniejszych, czyli N-(m-chlorofenylo)piperazyną (mCPP). Jest to związek, który najczęściej pojawia się w tabletkach, rzadziej w postaci proszku lub w kapsułkach. Tabletki takie mogą ponadto zawierać kombinacje różnych pochodnych piperazyny, takich jak N-(3-trifluorometylofenylo)piperazyna (TFMPP), 1-(4-metoksyfenylo)piperazyna (MeOPP) lub benzylopiperazyna (BZP). W żargonie ulicznym mCPP znana jest w różnych krajach europejskich pod nazwami „Arlequin”, „X4”, „Rolls Royce” czy „smarties” albo sprzedawana jako tabletki ekstazy. mCPP nie jest substancją kontrolowaną w państwach europejskich, w tym także w Polsce.

Zażywane dawki substancji wahają się w szerokim zakresie, a czas jej działania mieści się w granicach od 2,4 do 6,8 godziny po aplikacji dożylniej i od 2,6 do 6,1 godziny po przyjęciu doustnym. mCPP ma właściwości pobudzające i halucynogenne, porównywalne do właściwości MDMA. Wywołuje euforię, zmiany w zachowaniu i nastroju, niepokój, panikę, dysfориę i inne objawy depresji. W niektórych doniesieniach mówi się również o jego efektach uspokajających. Związek ten powoduje podwyższenie poziomu hormonów, takich jak ACTH, kortyzol czy prolaktyna, co prawdopodobnie wpływa na czułość receptorów serotoninowych i może doprowadzić do pojawienia się ww. objawów. mCPP nie podwyższa ciśnienia krwi ani nie przyspiesza akcji serca. Nie zanotowano też przypadków przestępstw lub aktów przemocy, jakich dopuszczano by się pod wpływem tego środka.

mCPP jest również metabolitem pojawiającym się we krwi pacjentów zażywających leki uspokajające

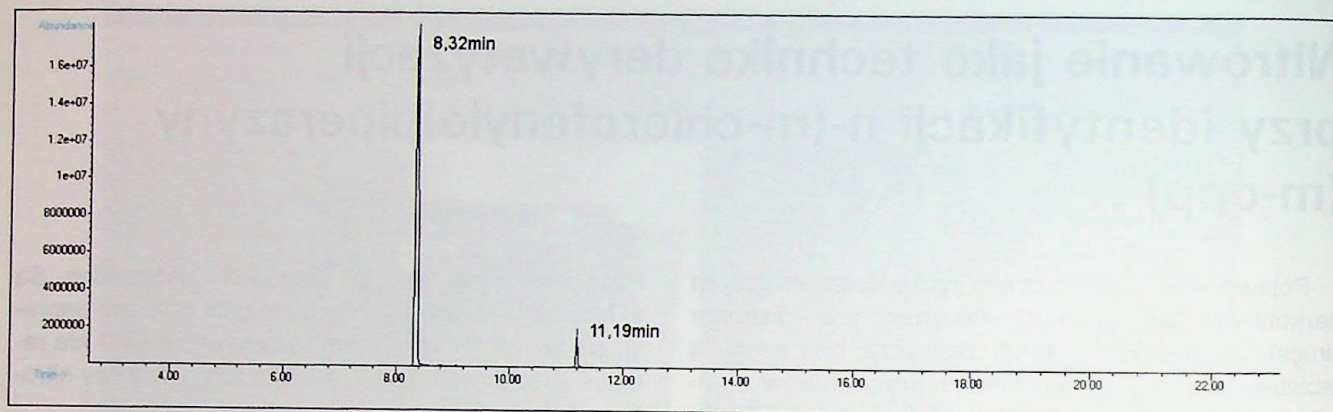
i antydepresyjne, takie jak Trazodon i Nefrazodon. Są to lekarstwa stosowane między innymi w terapii depresji, paniki, alkoholizmu i antykokainowej. mCPP nie reaguje z testami barwnymi, jak Marquis, Scott czy nitroprusydek [2–7].

Do Wydziału Chemii CLK KGP zaczęły wpływać sprawy, w których materiałem dowodowym były tabletki różniące się wyglądem od tzw. typowych tabletek ekstazy czy powszechnie stosowanych leków. Były bowiem okrągłe i obustronnie płaskie, nie miały logo ani litery czy cyfry, jak również rowka dzielącego, który często pojawia się na tabletkach farmaceutycznych. W kremową masę tabletkową wtopiono zaś różnokolorowe wtręty przypominające posypkę do ciast (ryc. 1).

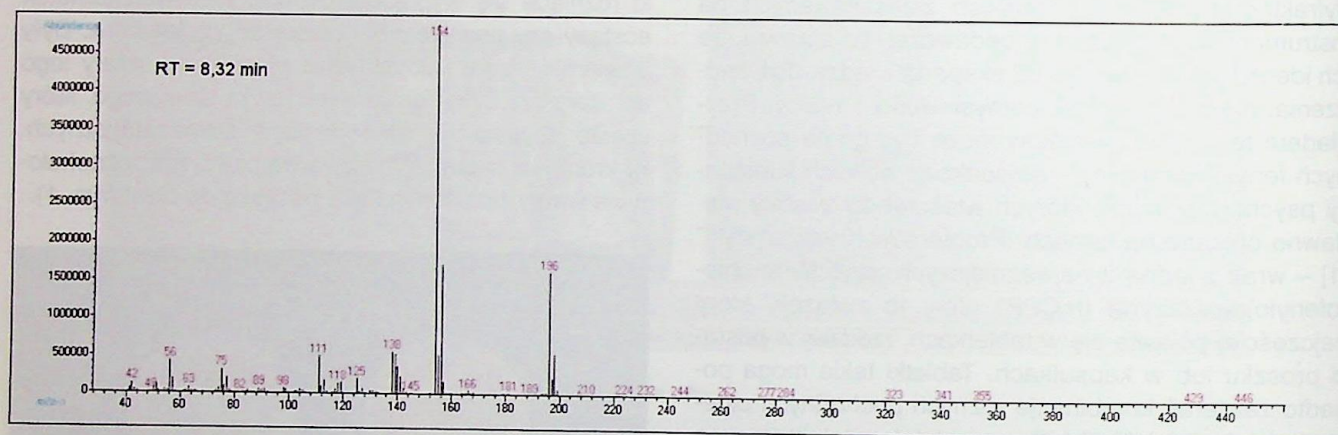


Ryc. 1. Tabletki zawierające mCPP
Fig. 1. Tablets containing mCPP

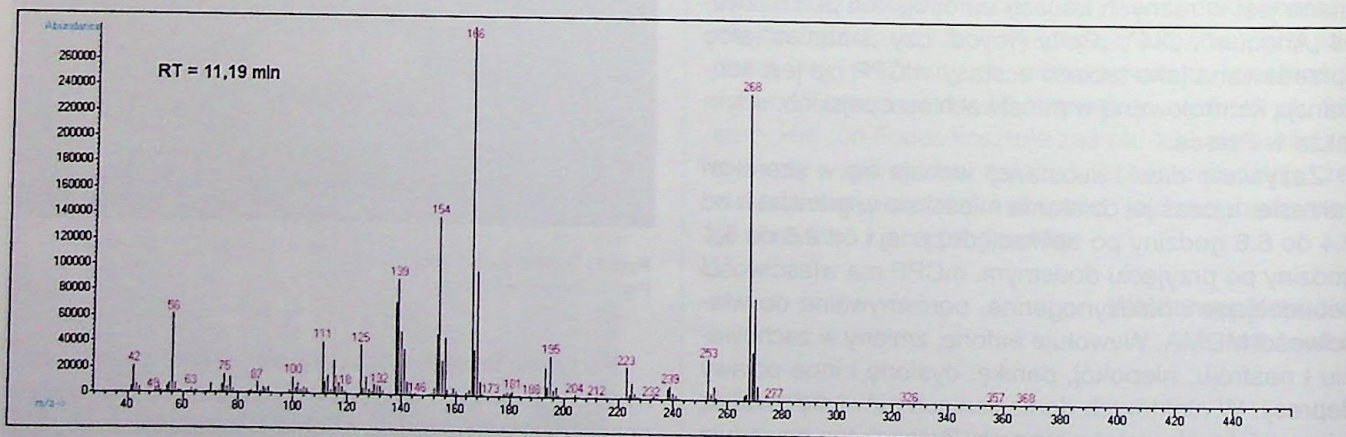
Podobne tabletki pojawiały się w sprawach z różnych części kraju. Pierwszą partię zabezpieczono przy naszej zachodniej granicy. Tabletki rozprzestrzeniły się następnie w innych rejonach Polski, docierając nawet do jej południowo-wschodnich krańców. Zgodnie ze stosowaną praktyką, poddano je analizie metodą chromatografii gazowej ze spektrometrią mas (GCMS) z użyciem aparatu HP-6890/MSD-5973 firmy Hewlett Packard. Zastosowano typową procedurę alkalizacji próbki wodnym roztworem wodorotlenku sodu, a następnie ekstrakcji chloroformem. Uzyskano niespotykany do tej pory wynik – zarejestrowany chromatogram oraz widma masowe dwóch ujawnionych skład-



Ryc. 2. Chromatogram próbki zawierającej CPP
Fig. 2. Chromatogram of sample containing CPP



Ryc. 3. Widmo masowe zarejestrowane przy czasie retencji 8,32 min (CPP)
Fig. 3. Mass spectrum at retention time 8,32 min. (CPP)



Ryc. 4. Widmo masowe zarejestrowane przy czasie retencji 11,19 min
Fig. 4. Mass spectrum at retention time 8,32 min. (CPP)

ników próbki (RT = 8,32 i 11,19 min) – przedstawiają ryciny 2–4.

Przeszukanie biblioteki widm masowych NIST 98 pokazało zgodność zarejestrowanego widma podstawowego składnika (RT = 8,32 min) z widmem N-(p-chlorofenilo)piperazyny. Okazało się jednak, że

w bibliotece brak jest widm izomerów orto oraz meta tego związku. Jest rzeczą wiadomą, że odróżnienie izomerów orto, meta i para techniką spektrometrii mas sprawia trudności, zatem na podstawie uzyskanego wyniku nie można było stwierdzić, z którym izomerem tak naprawdę miano do czynienia.

Najprostszym rozwiązaniem tego typu problemów jest porównanie czasu retencji analizowanego związku z czasem retencji wzorca. Niestety CLK KGP nie miało wzorcowych próbek N-(chlorofenylo)piperazyn. Analiza techniką spektrofotometrii w podczerwieni, z powodu braku odpowiednich widm bibliotecznych, również nie dała rozwiązania. Wydawało się, że jedyną pomocną techniką mogłaby być spektroskopia magnetycznego rezonansu jądowego (NMR). Metoda ta nie jest jednak dostępna w polskich laboratoriach kryminalistycznych.

Poszukując odpowiedzi na pytanie, czy w wodowej próbce znajduje się mCPP, rozważono możliwość wykorzystania technik derywatyzacji. Pojęcie „derywatyzacja”, spotykane głównie w opisie różnych zastosowań chromatografii gazowej, dotyczy wszelkich przekształceń chemicznych analizowanego związku, dających jako produkt pochodne o właściwościach fizykochemicznych bardziej odpowiadających wymaganiom danej techniki analitycznej. Typowym przykładem jest przeprowadzanie amin, alkoholi i kwasów karboksylowych w pochodne trimetylosililowe, charakteryzujące się wyższą lotnością i większą odpornością termiczną niż związki wyjściowe, a przez to lepiej dostosowane do warunków chromatografii gazowej. W bardziej zaawansowanych badaniach derywatyżacja może być także pomocna w określaniu struktury nieznanego związku chemicznego.

W trakcie rozważań na temat izomerów N-(chlorofenylo)piperazyny wywnioskowano, że ich odróżnienie powinno być możliwe z wykorzystaniem reakcji nitrowania. Zanim jednak przejdziemy do opisu założeń tej metody, przypomnijmy kilka podstawowych wiadomości z zakresu teorii nitrowania związków aromatycznych.

Reakcja nitrowania związków aromatycznych jest szczególną odmianą reakcji substytucji elektrofilowej, w której cząstka z deficytem elektronów (elektrofil) zastępuje atom wodoru pierścienia związku aromatycznego. W przypadku nitrowania cząstką tą jest zwykle kation nitroniowy NO_2^+ . W praktyce proces nitrowania realizuje się, stosując środki nitrujące (mieszaniny nitrujące) o zróżnicowanej mocy, poczynając od wodnych roztworów kwasu azotowego, a na solach nitroniowych kończąc. Najpopularniejszym środkiem stosowanym często np. w przemyśle materiałów wybuchowych są mieszaniny kwasu azotowego z kwasem siarkowym.

Bardzo ważnym zagadnieniem jest kwestia wpływu podstawników obecnych przy pierścieniu aromatycznym na przebieg reakcji nitrowania. Ów wpływ jest wypadkową efektów indukcyjnego i mezomerycznego, może polegać na zwiększeniu lub zmniejszeniu reaktywności związku, a także na kierowaniu grupy nitrowej w pewne uprzywilejowane położenie względem danego podstawnika (tabela).

Jak widać, wprowadzenie każdej kolejnej grupy nitrowej do pierścienia zmniejsza podatność związku na

Tabela

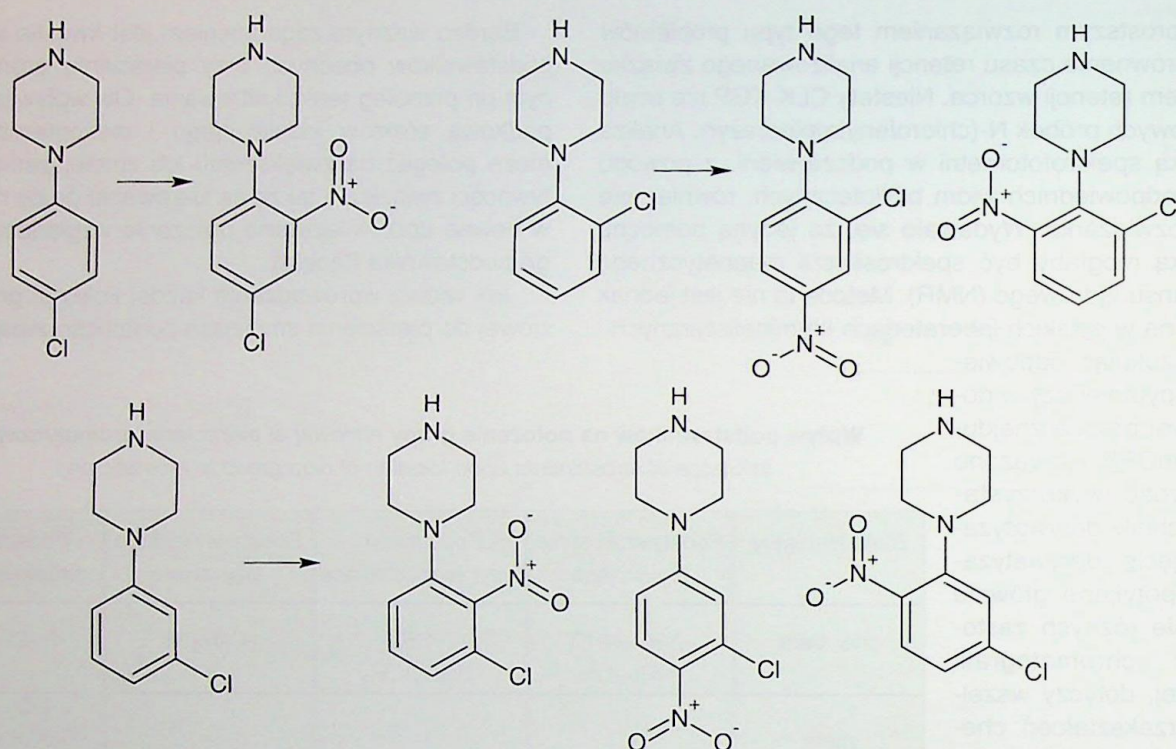
Wpływ podstawników na położenie grupy nitrowej w pierścieniu aromatycznym
Influence of substituents upon location of nitro group in aromatic ring

Efekt kierujący	Podstawniki silnie aktywujące	Podstawniki średnio aktywujące	Podstawniki słabo aktywujące	Podstawniki dezaktywujące
orto, para	$-\text{NH}_2$ $-\text{NHR}$ $-\text{NR}_2$ $-\text{OH}$	$-\text{OR}$ $-\text{NHCOCH}_3$	$-\text{C}_6\text{H}_5$ $-\text{R}$	$-\text{F}$ $-\text{Cl}$ $-\text{Br}$ $-\text{I}$
meta	—	—	—	$-\text{NO}_2$ $-\text{CN}$ $-\text{COOH}$ $-\text{SO}_3\text{H}$ $-\text{CHO}$ $-\text{COR}$

dalsze nitrowanie. Więcej szczegółów dotyczących reakcji nitrowania Czytelnik znajdzie w specjalistycznej literaturze [8–11].

Analizując przypadki izomerów N-(chlorofenylo)piperazyny, można zauważyć, że cząsteczki tych związków zawierają silnie aktywującą grupę piperazynową (aminową), kierującą grupy nitrowe w pozycje orto i para. Ponieważ moc kierująca podstawnika maleje równolegle do spadku jego zdolności aktywującej, w obecności silnie działającej grupy aminowej chlor można potraktować jako podstawnik obojętny. Podsumowując, podstawowymi produktami reakcji mononitrowania powinny być, w przypadku N-(o-chlorofenylo)piperazyny: N-(2-chloro-4-nitrofenylo)piperazyna i N-(2-chloro-6-nitrofenylo)piperazyna, w przypadku N-(p-chlorofenylo)piperazyny: N-(4-chloro-2-nitrofenylo)piperazyna, zaś w przypadku mCPP: N-(3-chloro-2-nitrofenylo)piperazyna, N-(3-chloro-4-nitrofenylo)piperazyna oraz N-(3-chloro-6-nitrofenylo)piperazyna (ryc. 5). Tym samym rodzaj izomeru może zostać określony przez liczbę powstających mononitropochodnych.

Zastosowanie teorii wymagało ostrożnego postępowania. Należało bowiem dobrać odpowiedni czynnik nitrujący i stworzyć warunki zapewniające prawidłowy przebieg reakcji. Nie można było dopuścić do powstania pochodnych wielonitrowych (nie chodziło o przekształcenie środka psychotropowego w materiał wybuchowy) ani też do utlenienia wyjściowej aminy wskutek zbyt gwałtownej reakcji. Wykorzystano więc następują-

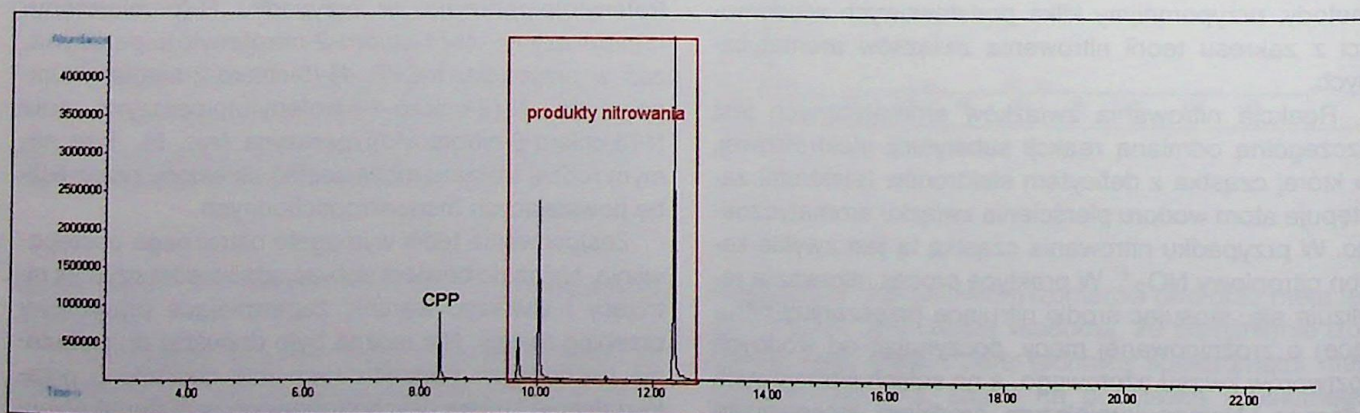


Ryc. 5. Główne produkty nitrowania poszczególnych chlorofenylopiperazyn
Fig. 5. Main products of nitration of individual chloropiperazines

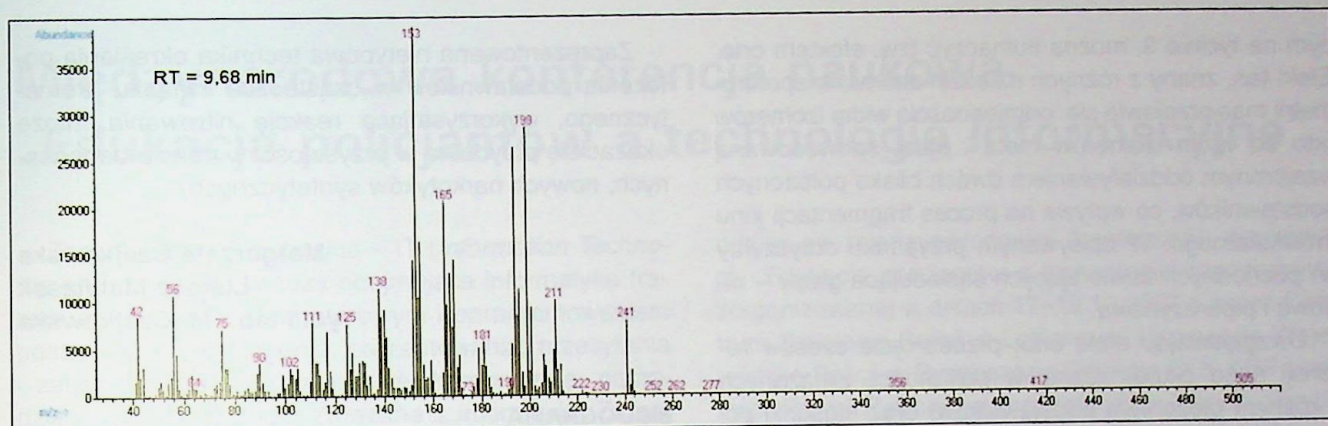
cą procedurę: chloroformowy ekstrakt z alkalicznego roztworu dowodowej próbki odparowano do sucha w próbówce, uzyskując kilka miligramów bezbarwnej stałej substancji. Następnie do próbówki chłodzonej na łaźni z lodem wprowadzono 1 ml 65% kwasu azotowego, schłodzonego uprzednio do temperatury ok. 0°C. Uzyskany jasnożółty roztwór po kilku minutach zalkalizowano, dodając ostrożnie 25% roztwór amoniaku, a następnie ekstrahowano 2 ml chloroformu. W trakcie alkalizacji powstało jasnopomarańczowe zabarwienie

mieszaniny reakcyjnej, które przeniosło się na fazę chloroformową podczas ekstrakcji. Ekstrakt, który powstał w wyniku przeprowadzenia procedury derywatyzacji, poddano analizie techniką GCMS. Otrzymany chromatogram oraz widma masowe produktów reakcji przedstawiono na rycinach 6–9.

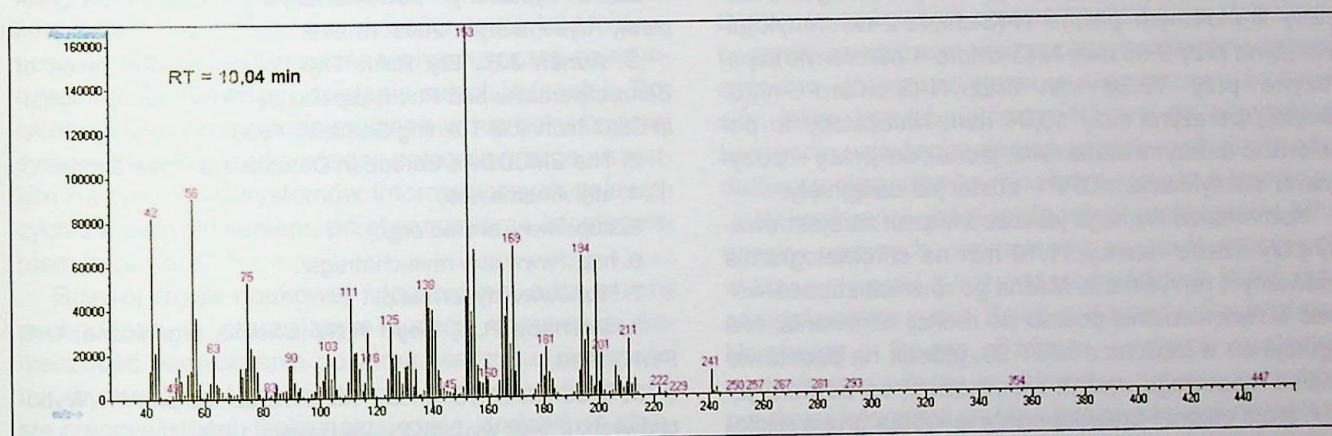
Jak można zauważyć, derywatyzacja próbki doprowadziła do powstania trzech nowych związków uwidocznionych w postaci pików przy czasach retencji RT = 9,68, 10,04 i 12,38 minuty. Widoczny jest także



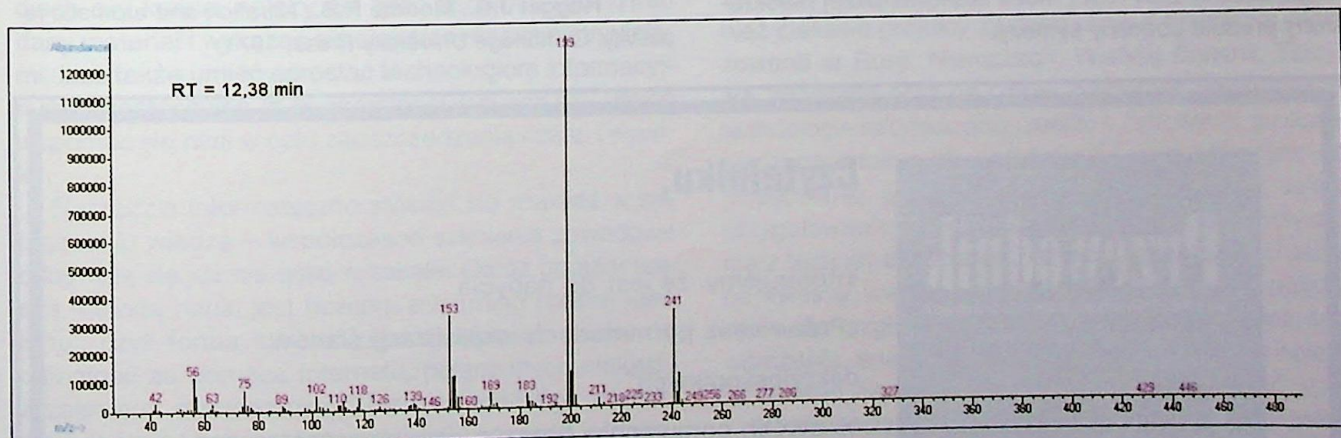
Ryc. 6. Chromatogram mieszaniny związków po nitrowaniu próbki
Fig. 6. Chromatogram of mixture of compounds upon nitration of sample



Ryc. 7. Widmo masowe zarejestrowane dla związku przy RT = 9,68 min
Fig. 7. Mass spectrum for a compound at RT = 9,68 min.



Ryc. 8. Widmo masowe zarejestrowane dla związku przy RT = 10,04 min
Fig. 8. Mass spectrum for a compound at ET = 10,04



Ryc. 9. Widmo masowe zarejestrowane dla związku przy RT = 12,38 min
Fig. 9. Mass spectrum for a compound at RT = 12,38 min.

pik pochodzący od pozostałości nieprzereagowanej N-(chlorofenylo)piperazyny. Na wszystkich trzech widmach widać klastry pików w zakresie m/z 241–244, z rozkładem charakterystycznym dla efektu izotopowego, wywołanego obecnością jednego atomu chloru w cząsteczce. Najwyraźniej pochodzą one od izotopowych jonów molekularnych. Pamiętając, że nominalna

masa cząsteczkowa N-(chloronitrofenylo)piperazyny wynosi 241 i dostrzegając podobieństwa między widmami, możemy uznać, że mamy do czynienia z jej izomerami. Z kolei ich liczba (3) dowodzi, że wyjściowym związkiem w próbce była mCPP.

Różnice widoczne między pierwszymi dwoma widmami ukazanyymi na rycinach 7 i 8 a ostatnim, widocz-

nym na rycinie 9, można tłumaczyć tzw. efektem orto. Efekt ten, znany z różnych dziedzin chemii, w spektrometrii mas przejawia się odmiennością widm izomerów orto od widm izomerów meta i para, spowodowaną wzajemnym oddziaływaniem dwóch blisko położonych podstawników, co wpływa na proces fragmentacji jonu molekularnego. W opisywanym przypadku dotyczyłby on pochodnych zawierających sąsiadujące grupy – nitrową i piperazynową.

Uwzględniając efekt orto, przesunięcia czasów retencji (jako skutek różnic w polarności, związanych z różnym ułożeniem podstawników) oraz stosunki pól powierzchni pików (jako skutek wpływu czynników przestrzennych na wydajność syntezy poszczególnych nitropochodnych), można przypisać poszczególne izomery konkretnym pikom: N-(3-chloro-2-nitrofenylo)piperazyna przy 9,68 min, N-(3-chloro-4-nitrofenylo)piperazyna przy 12,38 min oraz N-(3-chloro-6-nitrofenylo)piperazyna przy 10,04 min. Należałoby to potwierdzić dalszymi badaniami, jednak cel pracy – pozytywna identyfikacja mCPP – został już osiągnięty.

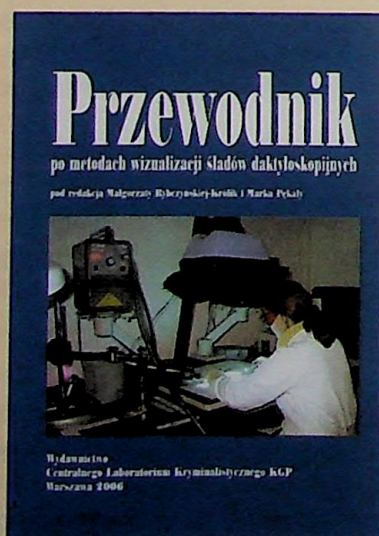
Komentarza wymaga jeszcze związek zarejestrowany przy czasie retencji 11,19 min na chromatogramie widocznym na rycinie 2. Można go również zaobserwować w niezmienionej postaci po reakcji nitrowania. Nie figuruje on w bibliotece NIST 98, jednak na podstawie widma masowego można wnioskować, że zawiera jeden atom chloru i prawdopodobnie krótką grupę alkilową, zaś jego masa cząsteczkowa wynosi 268. Związek ten, wykryty we wszystkich próbkach mCPP badanych dotychczas w CLK KGP, może stanowić bliżej nieokreślony produkt uboczny syntezy.

Zaprezentowana nietypowa technika określania położenia podstawników w cząsteczce związku aromatycznego, wykorzystująca reakcję nitrowania, może okazać się przydatna w przyszłości w trakcie badań innych, nowych narkotyków syntetycznych.

Małgorzata Czajkowska
Łukasz Matyjasek
ryc. i tab.: M. Czajkowska

BIBLIOGRAFIA

1. Szukalski B.: Pochodne piperazyny, pirolidyny, benzimidazolu i tryptaminy – nowe narkotyki zmodyfikowane, „Problemy Kryminalistyki” 2005, nr 249.
2. Aunan J.E., Ely R.A.: The Forensic Examination of Benzylpiperazine and Phenylpiperazine Homologs, 9th Annual CLIC Technical Training Seminar, 1999.
3. The EMCDDA's European Database on New Drugs.
4. <http://mdma.net/>.
5. <http://www.erowid.org/>.
6. <http://www.eve-rave.ch/drugs/>.
7. <http://www.hyperreal.pl/>.
8. Morrison R.T., Boyd R.N.: Chemia organiczna, t. 1, PWN, 1990.
9. Urbański T.: Chemia i Technologia Materiałów Wybuchowych, t. 1–3, wyd. MON, Warszawa 1954.
10. Urbański T.: Chemistry and Technology of Explosive, t. 4, Pergamon Press, 1984.
11. Hogget J.G., Moddie R.B.: Nitration and aromatic reactivity, Cambridge University Press, 1971.



Czytelniku,

informujemy, że jest do nabycia

„Przewodnik po metodach wizualizacji śladów daktyloskopijnych”

w dwóch oprawach – broszurowej i segregatorowej, obie wersje w tej samej cenie – 54 zł.

Zamówienia można składać na adres:

Biuro Logistyki Policji KGP

ul. Domaniewska 36/38, 02-672 Warszawa

tel. (022) 60-129-45; faks (022) 60-130-59