

Differenzierung regioisomerer N-alkylierter Fluorcathinone durch Tochterionenspektroskopie mittels CI-GC-MS/MS

Folker Westphal¹, Peter Rösner², Thomas Junge¹

¹ Landeskriminalamt Schleswig-Holstein, Sachgebiet Betäubungsmittel/Toxikologie, Mühlenweg 166, D-24116 Kiel, Germany

² Otto-Diels-Institut für Organische Chemie, Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, Otto-Hahn-Platz 4, D-24098 Kiel, Germany

Schlüsselwörter: Regioisomere Fluorcathinone, 3-Fluormethcathinon, 4-Fluormethcathinon (Flephedron), Regioisomerendifferenzierung, Tochterionenspektroskopie, CI-GC-MS/MS

Abstract

In analogy to our previously published procedure for the differentiation of regioisomeric fluoroamphetamines a method was developed, to differentiate ring positional isomeric fluorocathinones by product ion spectrometry of ions generated by chemical ionization (CI) under GC-MS conditions using methane as reactant gas. Ortho-, meta- and para-fluorocathinones could be unequivocally differentiated by product ion spectrometry of the hydrogen fluoride loss ions $[M+H-HF]^+$ using a triple quadrupole mass spectrometer with argon as collision gas. Collision conditions were normalized with n-butylbenzene. This method enables the differentiation of regioisomeric N-alkylated fluorocathinones even in complex mixtures and low concentrations. The applicability of the method was shown by the analysis of synthesized ortho-, meta- and para-fluoroisomers of cathinone and its mono- and dialkylated derivatives. Four seized designer drug mixtures and three research chemical containing fluoromethcathinones were analyzed with this method after alkaline extraction with diethyl ether and 3-fluoro- and 4-fluoromethcathinones could be identified.

1. Einführung

Regioisomere Fluoramphetamine und Fluorcathinone gehören zu den aufkommenden illegal produzierten Betäubungsmittelanaloge (Designerdrogen). Von den drei regioisomeren Fluoramphetamine wird dieses Jahr voraussichtlich lediglich das para-Fluoramphetamine (4-Fluoramphetamine) unter die Bestimmungen des Betäubungsmittelgesetzes (BtMG) gestellt. Bei den regioisomeren Fluormethcathinonen ist das para-Fluormethcathinon (4-Fluormethcathinon, Flephedron) zur Unterstellung vorgeschlagen. Bei den regioisomeren Fluorverbindungen ist allein durch Gaschromatographie-Massenspektrometrie eine Unterscheidung der Regioisomeren weder vom Fragmentierungsmuster noch vom Retentionsindex (RI) her möglich. Da die Infrarotspektrometrie eine Analysenmethode ist, die sehr empfindlich auf Stellungsisomere reagiert, können die Fluorregioisomeren sehr gut infrarotspektrometrisch unterschieden werden. Dies gilt sowohl für die freien Basen wie auch für ihre Salze. Die Infrarotspektrometrie erfordert jedoch Mengen im Milligrammbereich von ausreichender Reinheit. Liegen komplexe Gemische vor oder Mengen im Submilligrammbereich, ist die Infrarotspektrometrie zur Differenzierung von Isomeren nicht geeignet.

In einer früheren Veröffentlichung haben wir über eine tochterionenspektroskopische Methode berichtet, die die eindeutige Differenzierung regioisomerer Fluoroamphetamine ermöglicht [1]. Die Tochterionenspektroskopie der nach Chemischer Ionisation mit Methan und Verlust von HF gewonnenen $[M+H-HF]^+$ -Fragmente ermöglichte hierbei eine eindeutige Differenzie-

rung von regioisomeren Fluoramphetaminen und ihren Mono- und Dialkylhomologen. Die Vorhersage der aromatischen Fluorposition in N-alkylierten regioisomeren Fluoramphetaminen erfolgte durch Betrachtung von Fragmentintensitätsverhältnissen geeigneter Ionen in den Tochterionenspektren, die einer allgemeinen Regel folgten. Die Methode lieferte auch in komplexer Matrix bis zu Messkonzentration von 1 µg/mL eine eindeutige Positionsbestimmung des aromatischen Fluorsubstituenten.

Ausgehend von diesen Ergebnissen wurde in dieser Arbeit die Übertragbarkeit dieser Methode zur eindeutigen Differenzierung von regioisomeren N-alkylierten Fluorcathinonen untersucht. Dazu wurden unsubstituierte regioisomere Fluorcathinone sowie zahlreiche N-mono- und N-dialkylierte regioisomere Verbindungen mikrosynthetisch hergestellt und anschließend gaschromatographisch-massenspektrometrisch mittels EI, CI und CI-MS/MS vermessen. Der vorliegende Artikel legt einen Schwerpunkt auf die Unterscheidung der regioisomeren Fluormethcathinone. Die umfangreichen Ergebnisse der gesamten Untersuchungen wurden in der Zeitschrift *Forensic Science International* zur Publikation eingereicht.

2. Material and Methoden

2.1. Chemikalien

Brom, Eisessig, Acetonitril und Diethylether wurden von der Firma Acros Organics die o-, m- und p-Fluorpropiofenone von Alfa Aesar bezogen. n-Butylbenzol stammt von der Firma Merck-Schuchardt. Ammoniak (35 % in Wasser) sowie die verwendeten Alkyl- und Dialkylamine wurden bei Acros Organics gekauft. Die sichergestellten Fluorcathinon(gemische) wurden vom LKA Baden-Württemberg, den Rechtsmedizinischen Instituten in Erlangen und Homburg sowie den Zollkriminalämtern (BWZ) in Berlin und Köln zur Untersuchung übersandt bzw. stammen aus Sicherstellungen des LKA Schleswig-Holstein.

2.2. Mikrosynthese der Fluorcathinone und ihrer N-Alkylderivate

Die Fluorcathinone wurden ausgehend von den isomeren Fluorpropiofenonen gewonnen. Durch Bromierung in α -Position wurden die isomeren α -Brompropiofenone synthetisiert, deren Umsetzung mit den entsprechenden Aminen direkt in GC-Vials bei Raumtemperatur die Fluorcathinone lieferten (Abb. 1). Auf eine ausführliche Syntheseanleitung wird hier verzichtet. Anschließend wurden die in Acetonitril gelösten Reaktionsprodukte innerhalb von wenigen Stunden gaschromatographisch-massenspektrometrisch vermessen.

2.3. Massenspektrometrie (GC-MS und GC-MS-MS)

Probenvorbereitung:

Zur Analyse wurden je 1 µL der Reaktionsprodukte in einer Konzentration von etwa 1mg/mL in das GC-MS System injiziert.

Geräte:

Die Analysen erfolgten auf einem GC-MS-System bestehend aus einem Gaschromatograph (Trace GC Ultra) der Firma Thermo Electron mit Autosampler CTC CombiPAL (CTC Analytics, Schweiz), gekoppelt mit einem TSQ7000 Triple-Quadrupol-Massenspektrometer der Firma Thermo-Finnigan.

GC-Parameter:

Die Aufgabe erfolgte splitless. Die Injektortemperatur betrug 220 °C. Trägergas war Helium (1 mL/min, constant flow). Für die Trennung wurde eine Fused Silica DB-1 Säule der Firma J&W, Länge 30 m, Innendurchmesser 0,25 mm, Filmdicke 0,25 µm verwendet. Das Temperaturprogramm startete bei 80 °C mit einer Haltezeit von 1 min und heizte anschließend mit 15 °C/min auf eine Endtemperatur von 280 °C auf, die 20 min gehalten wurde. Die Temperatur der Transferline zum Massenspektrometer betrug 280 °C.

MS-Parameter:

Es wurde ein Bereich von $m/z = 29 - 600$ Thomson mit einem Scan pro Sekunde gemessen. Zur Aufnahme der EI-MS-Spektren wurde eine Stoßenergie von 70 eV bei einer Emissionsstromstärke von 400 µA verwendet. Die Temperatur der Ionenquelle betrug 175 °C.

Die Chemische Ionisation (CI) wurde mittels Methan als Reaktandgas bei einem Druck von 1.5 mmTorr bei sonst gleichen Ionisationsbedingungen durchgeführt. Bei den CI-Spektren wurde ein Bereich von $m/z = 50 - 600$ Thomson aufgenommen.

Zur Tochterionenspektroskopie (CI-MS/MS) wurde als Kollisionsgas Argon unter den oben beschriebenen Ionisationsbedingungen verwendet. Die Kollisionsenergie wurde mit ca. 20 eV und der Kollisionsgasdruck mit ca. 1.5 mmTorr vorgegeben. Die exakten Parameter für Kollisionsenergie und Kollisionsgasdruck wurden mithilfe von *n*-Butylbenzol über die Fragmentintensitätsverhältnisse von m/z 92/91 auf 0.2 sowie m/z 65/91 auf 0.02 eingestellt [2]. Dies gewährleistet die Reproduzierbarkeit der aufgenommenen Tochterionenspektren und die Nutzung einer Tochterionenspektren-Bibliothek zur Aufklärung der Struktur der Tochterionen [3].

Retentionsindizes (RI) sind als Kovats Indizes berechnet nach Messung einer *n*-Alkanmischung unter Verwendung des oben angegebenen Temperaturprogramms.

2.4. Infrarotspektrometrie (IR)

Die Spektren wurden aufgenommen mit einem Nicolet 380 FT-IR with Smart Golden Gate Diamond ATR der Firma Thermo. Die Wellenzahlaufösung betrug 4 cm^{-1} . Die Spektren der freien Cathinonbasen wurden durch Eindampfen eines basischen Etherextraktes auf dem ATR-Kristall erhalten.

3. Ergebnisse und Diskussion

Die regioisomeren Fluorcathinone wurden ausgehend von den entsprechenden Fluorpropio-phenonen synthetisiert (Abb. 1) und die Rohproduktlösungen nach entsprechender Verdünnung innerhalb von wenigen Stunden gaschromatographisch-massenspektrometrisch vermessen.

Fluorcathinone sind in Lösung sehr instabil und zerfallen sehr schnell. Es wurde beobachtet, dass in acetonitrilischer Lösung die Signale der Fluorcathinone bereits nach einem Tag nicht mehr vorhanden waren. Abb. 2 zeigt das Totalionenchromatogramm des Reaktionsgemisches unmittelbar nach der Synthese des 3-Fluormethcathinons. Neben dem erwarteten 3-Fluormethcathinon (RI: 1293) finden sich noch einige Nebenprodukte, u. a. das α -Hydroxyketon (RI: 1207, Abb. 3), das GC-Artefakt/Nebenprodukt 3-Fluormethcathinon -2H (RI: 1312) und das 3-Fluorisomethcathinon (RI: 1264, Abb. 4).

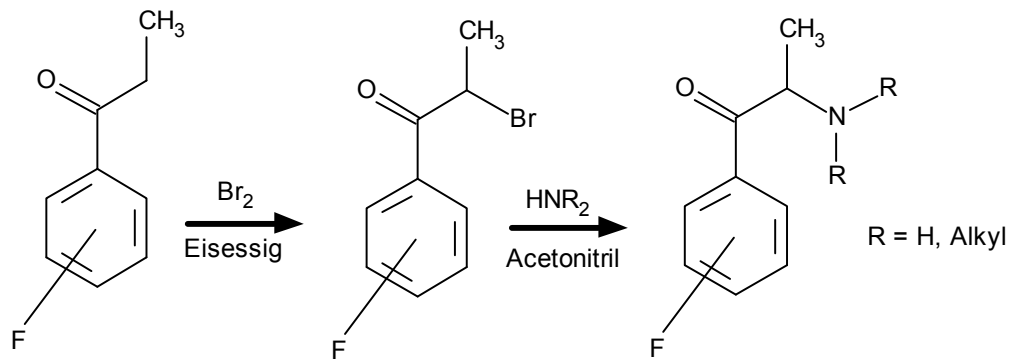


Abb. 1. In-Vial-Mikrosynthese der Fluorcathinone.

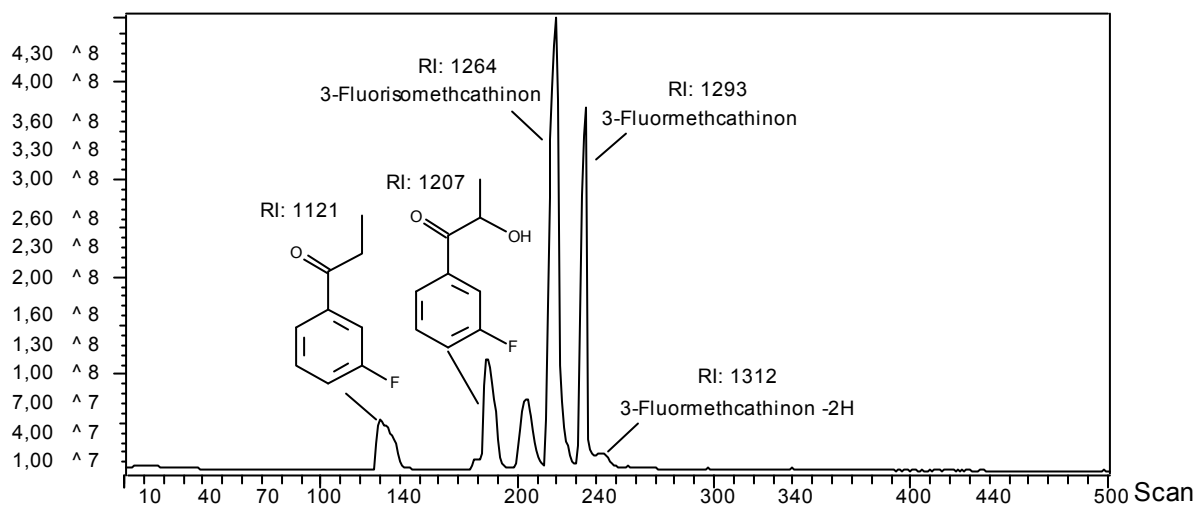


Abb. 2. Totalionenchromatogramm des Reaktionsgemisches von 3-Fluormethcathinon.

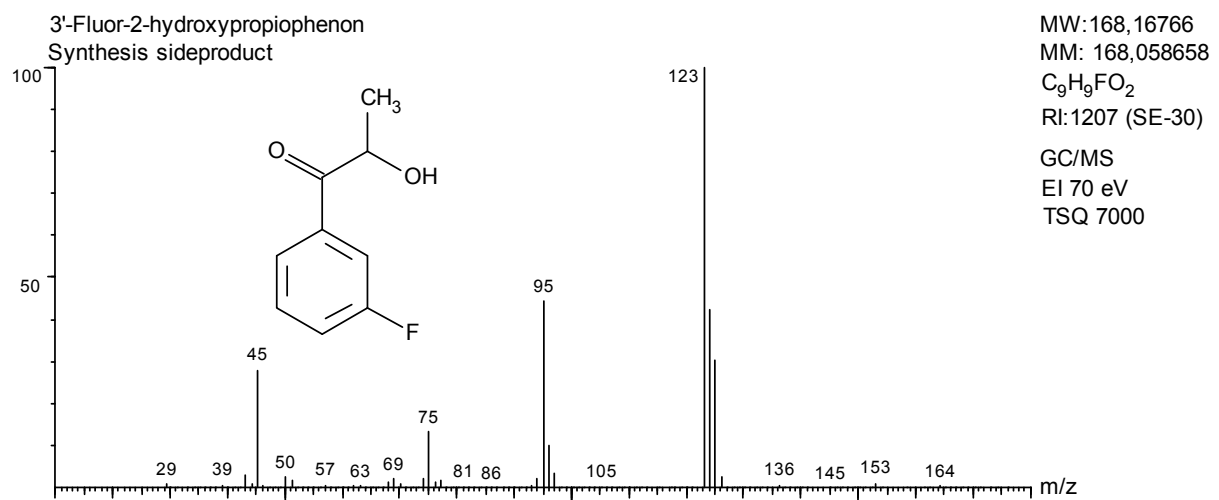


Abb. 3. EI-MS-Spektrum des 3'-Fluor-2-hydroxypropiophenons.

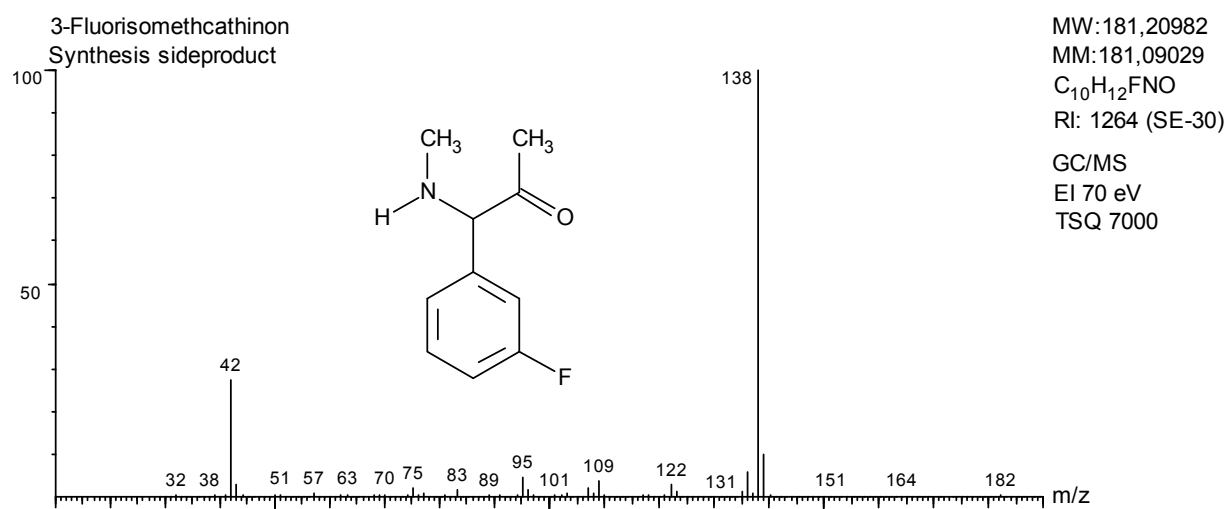
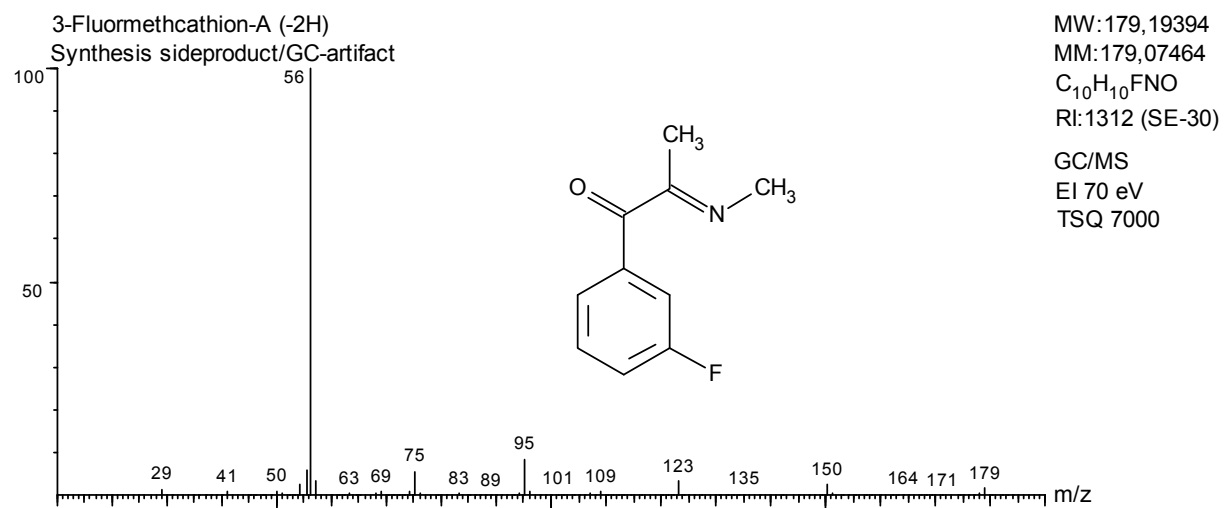


Abb. 4. EI-MS-Spektrum der dehydrierten Verbindung des 3-Fluormethcathinons (oben) und des 3-Fluorisomethcathinons (unten).

Das 3-Fluorismethcathinon wurde bereits von Archer et al. [4] beschrieben. Isocathione entstehen bei der Synthese durch eine Nebenreaktion (Abb. 5).

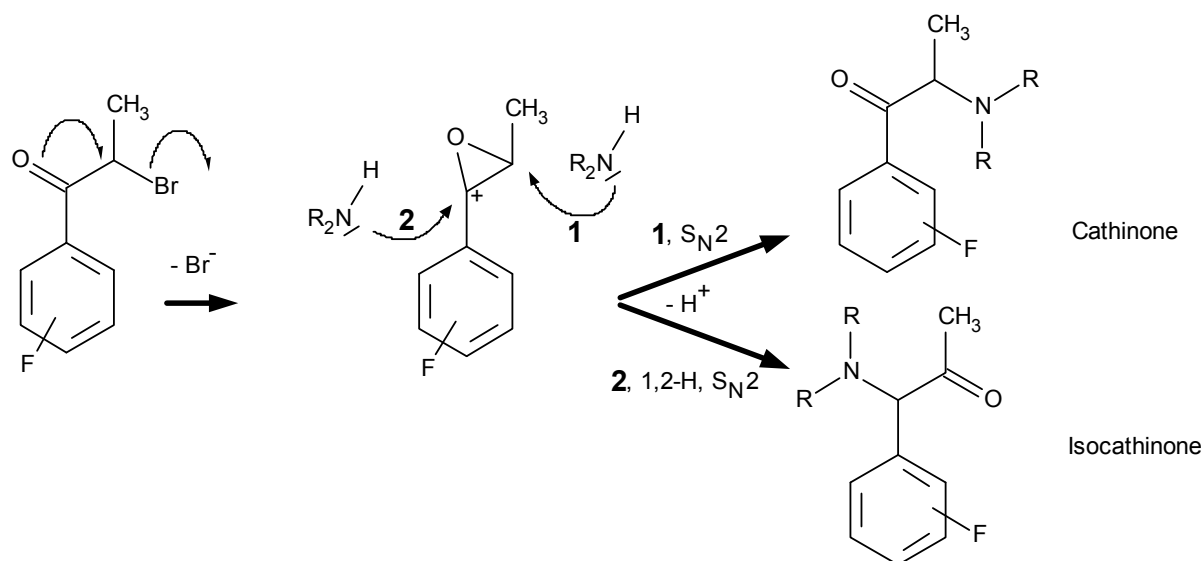


Abb. 5. Umsetzung der Bromketone mit den Aminen zu den Cathinonen und Isocathinonen.

Dieses isobare Synthesenebenprodukt unterscheidet sich in der Fragmentierung deutlich vom isomeren Fluorcathinon und wurde in unterschiedlichem Ausmaß bei jeder Fluorcathinon-synthese beobachtet. Auch in einigen sichergestellten Cathinonen wurden diese Synthesenebenprodukte bereits detektiert. Abb. 6 zeigt die EI-MS-Spektren der regioisomeren Fluormethcathinone. Das 2-Fluormethcathinon kann gegenüber den beiden anderen Fluorregioisomeren anhand des durch HF-Abspaltung gebildeten Fragmentes bei $m/z = 161$ unterschieden werden (Ortho-Reaktion). Die Orthoreaktion ist an zwei orthoständige Substituenten gebunden, von denen im vorliegenden Fall einer ein Wasserstoffatom zur Abspaltung von HF zur Verfügung stellen können muss. 3- und 4-Fluorregioisomere zeigen daher keinen Orthoeffekt.

In Abb. 6 sind auch die Retentionsindizes (RI) der Fluormethcathinon-Isomere angegeben. Sie liegen unter den verwendeten chromatographischen Bedingungen so dicht beieinander, dass die Retentionszeitdifferenzen nicht ausreichen, um die Regioisomeren zu trennen. Das 3- und 4-Fluormethcathinon (Flephedron) lässt sich auch massenspektroskopisch nicht unterscheiden.

Nach Chemischer Ionisation (CI) mit Methan als Reaktandgas zeigen die MS Spektren aller synthetisierten Fluorcathinone neben dem protonierten Molekül $[\text{M}+\text{H}]^+$ und seinen Adduktionen $[\text{M}+\text{C}_2\text{H}_5]^+$ und $[\text{M}+\text{C}_3\text{H}_5]^+$ Fragmente eines Verlustes von 18 amu ($-\text{H}_2\text{O}$), eines Verlustes von 20 amu ($-\text{HF}$) und eines Verlustes des entsprechendenamins ($-\text{31}$ im Fall von Methcathinonen) (Abb. 7 am Beispiel des ortho-Fluormethcathinons).

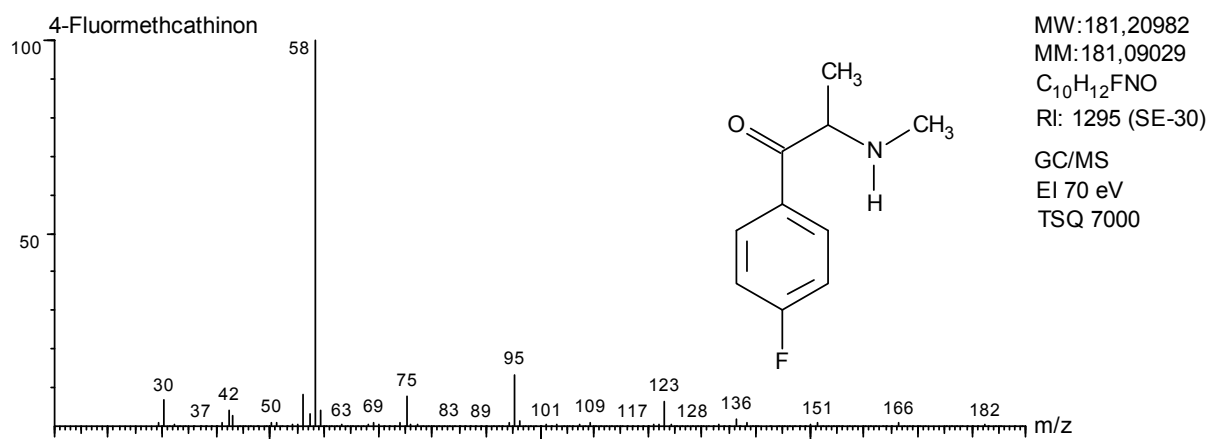
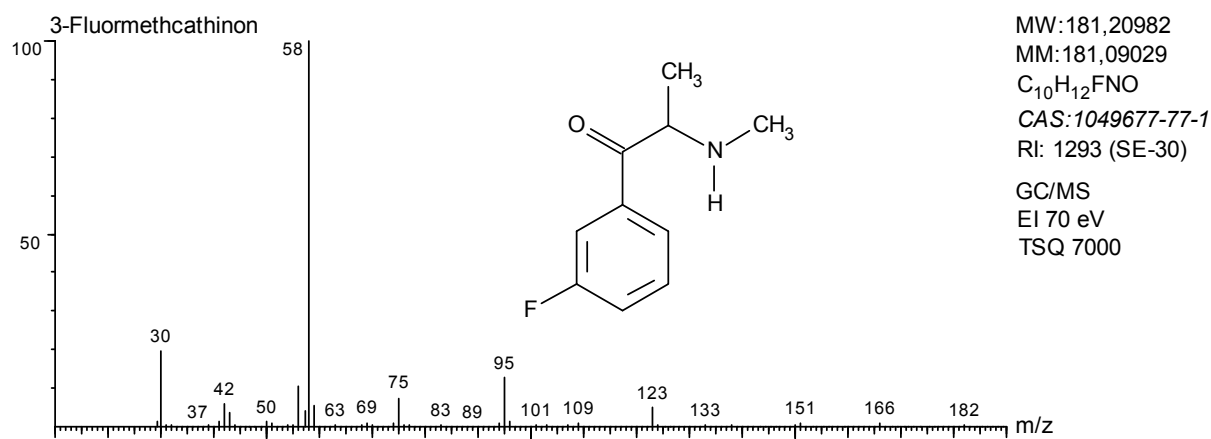
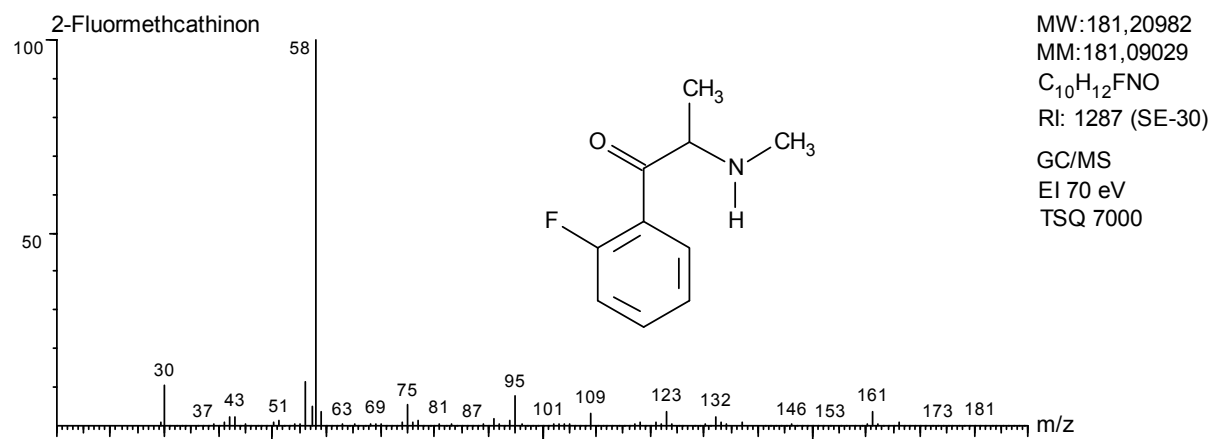


Abb. 6. EI-GC-MS-Spektren von ortho-, meta- und para-Fluormethcathinon.

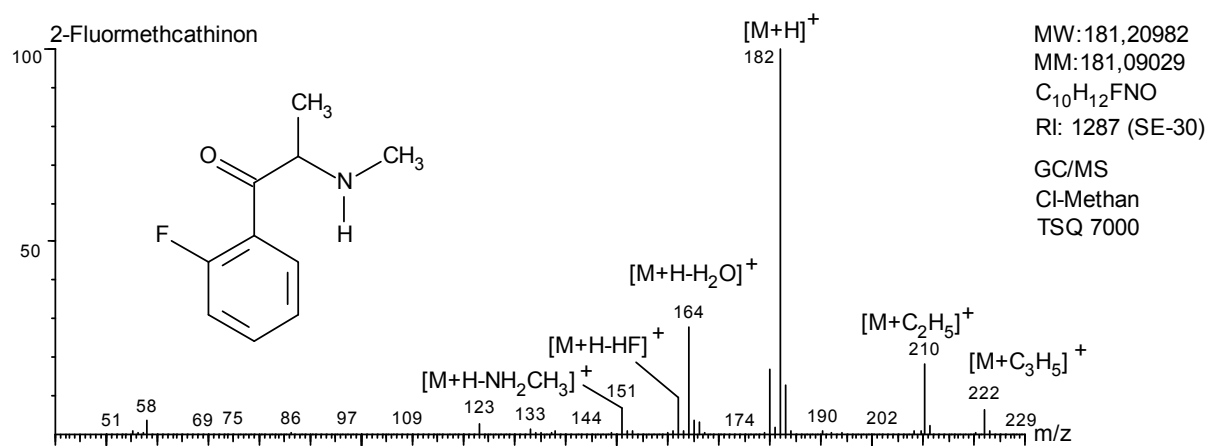


Abb. 7. CI-MS-Spektrum von ortho-Fluormethcathinon mit typischen Addukten und Fragmenten.

Zur Tochterionenspektroskopie wurde das nach Abspaltung von HF entstehende Fragment $[M+H-HF]^+$ bei m/z 162 untersucht. Abb. 8 zeigt die $[M+H-HF]^+$ -Tochterionenspektren der regioisomeren Fluormethcathinone, die eine eindeutige Differenzierung der regioisomeren Fluorverbindungen gestatten: Das ortho-Isomer zeigt kein Immoniumion bei m/z 58, wahrscheinlich aufgrund eines intramolekularen Ringschlusses unter Bildung eines Indanoniumions. Dies wurde auch bei den Fluoramphetaminen [1] als Grund für das völlig andere Fragmentierungsmuster der ortho-Verbindung im Gegensatz zu den meta- und para-Verbindungen diskutiert. Meta- und para-Verbindungen lassen sich durch das Intensitätsverhältnis der Fragmente mit $m/z = 79$ zu $m/z = 119$ unterscheiden. Das meta-Isomer zeigt stets ein Fragment bei $m/z = 79$ neben einem weniger intensiven Fragment $m/z = 119$. Beim para-Isomer ist dies genau umgekehrt. Oft wird das Fragment $m/z = 79$ beim para-Isomer nur in sehr untergeordnetem Maß gebildet. Die Regel ließ sich auf alle untersuchten alkylierten Fluorcathinone übertragen und gestattet so unabhängig von der Natur der Alkylaminogruppe eine Bestimmung der aromatischen Fluorposition. Ein Überblick über die von uns untersuchten Fluorcathinone ist in Abb. 9 dargestellt.

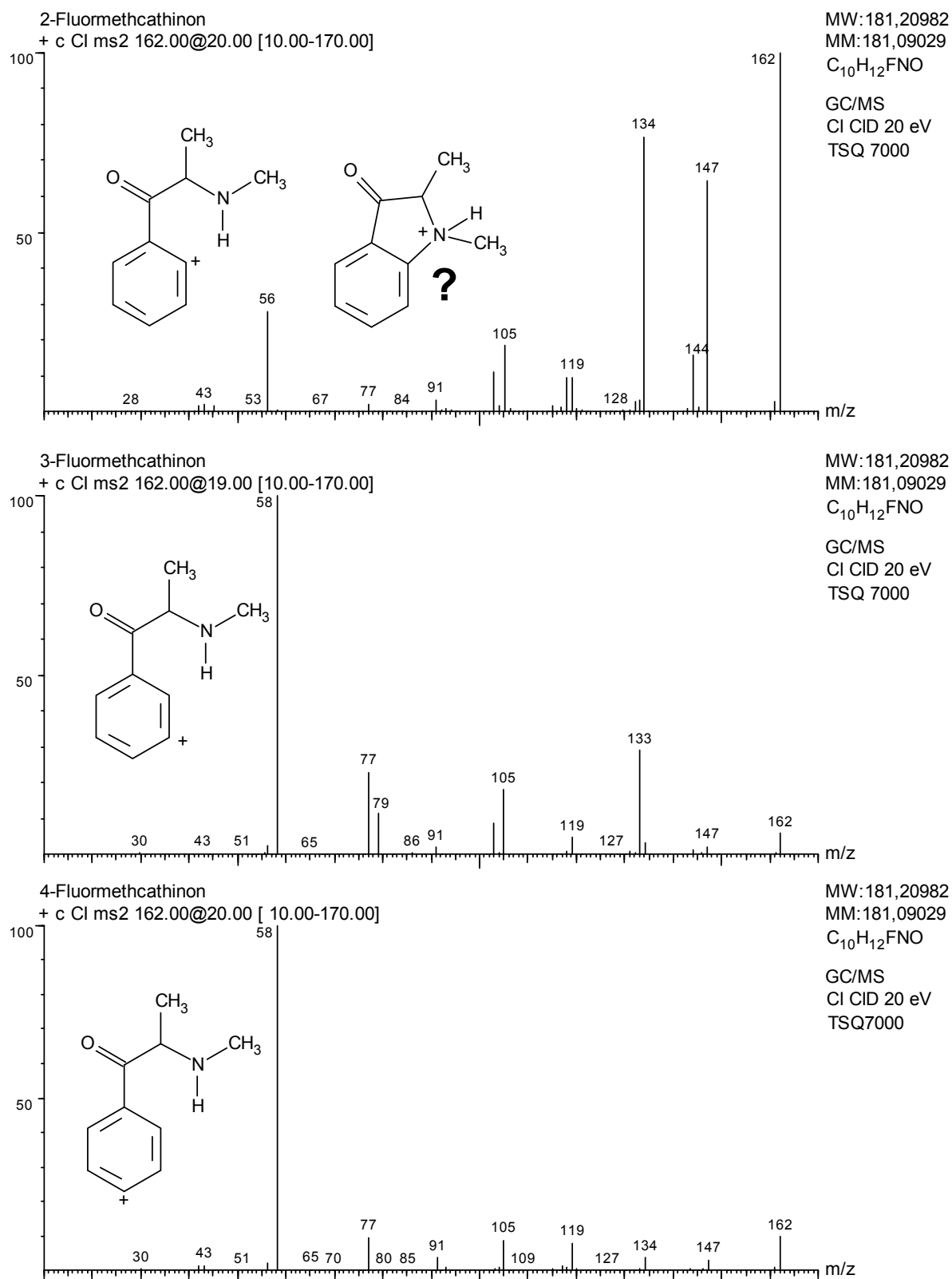


Abb. 8. Tochterionenspektren des Ions $[M+H-HF]^+$ der regioisomeren Fluormethcathinone.

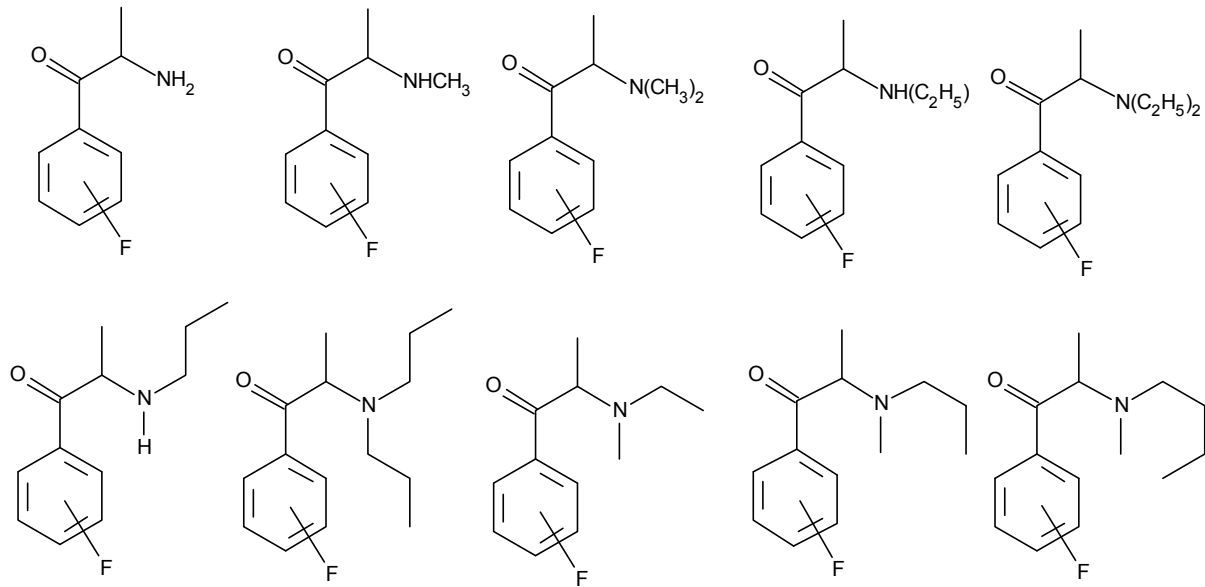


Abb. 9. Synthetisierte und tochterionenspektroskopisch vermessene Fluorcathinone.

Die Abbildung 10 zeigt die tochterionenspektroskopische Bestätigung von 3-Fluormethcathinon (meta-Fluormethcathinon) in sichergestellten Substanzgemischen.

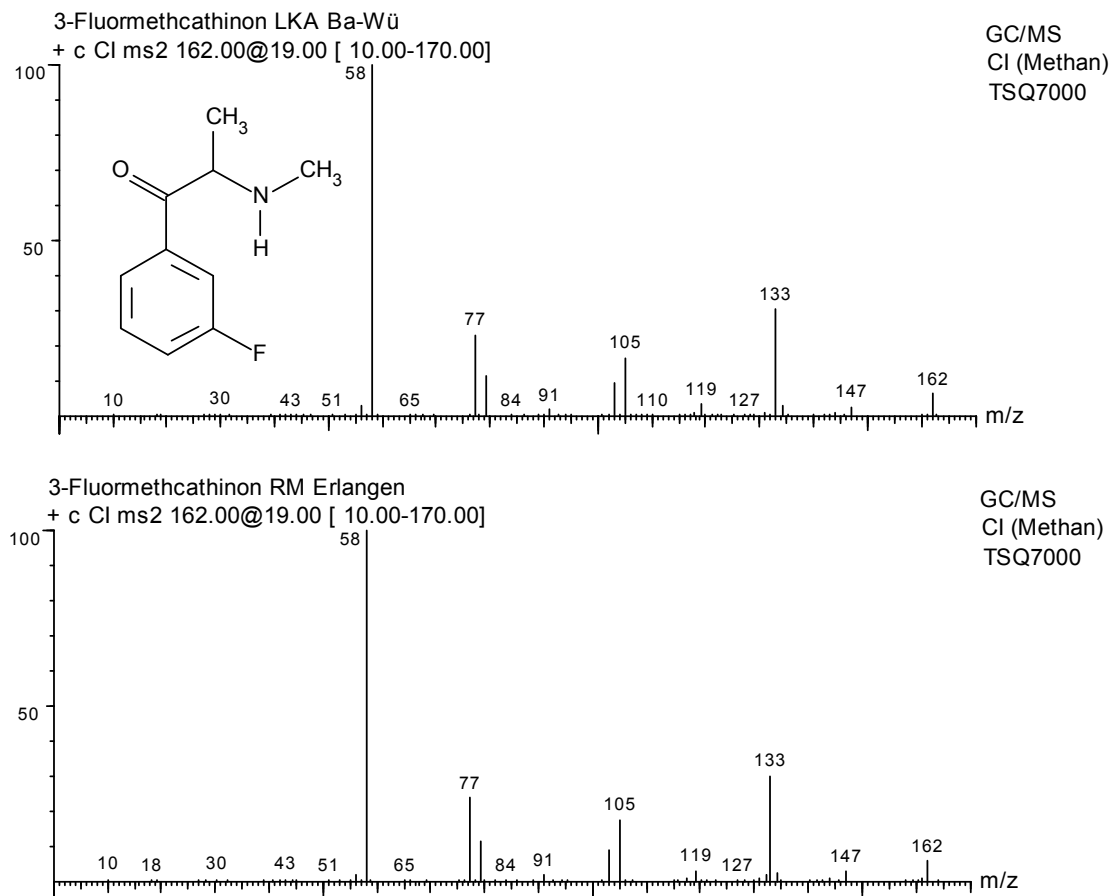


Abb. 10. Tochterionenspektren des Ions $[M+H-HF]^+$ sichergestellter 3-Fluormethcathinone.

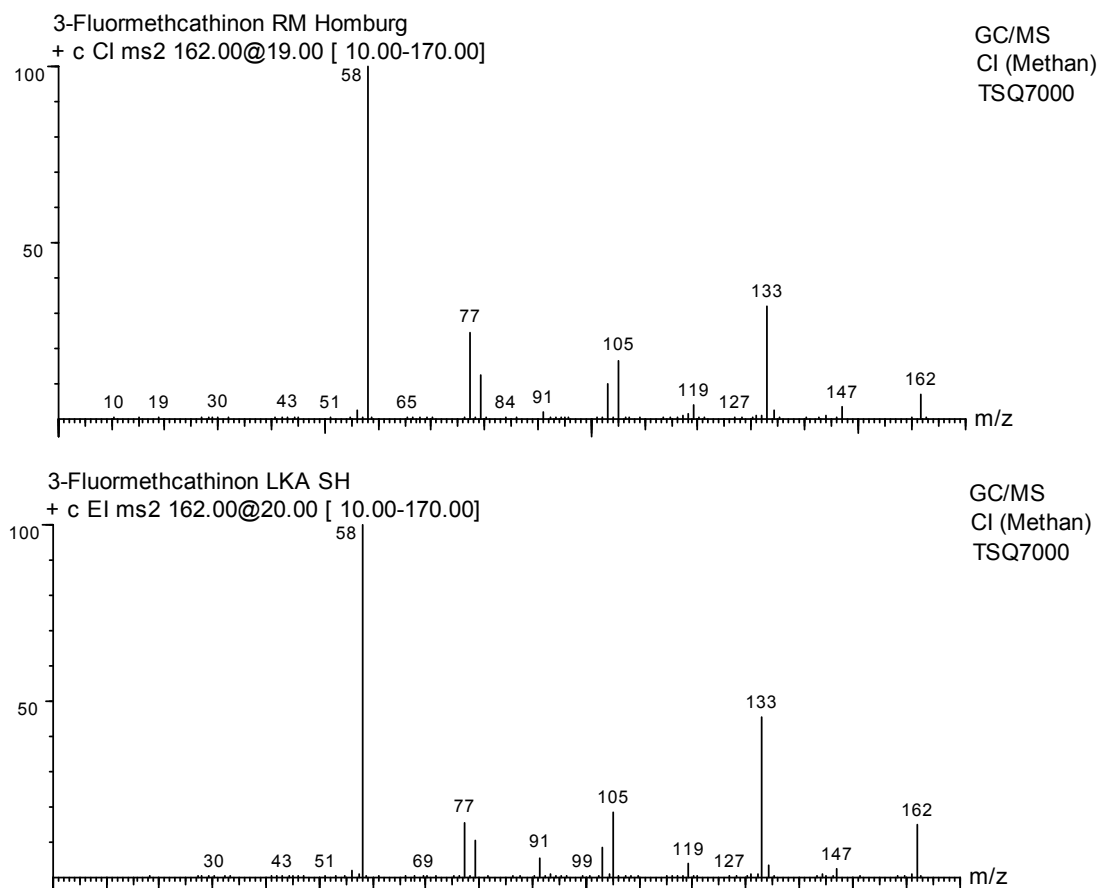


Abb. 10 (Fortsetzung). 3-Fluormethcathinon in sicher gestellten Substanzgemischen.

Im ersten Gemisch (Abb. 10 oben) sichergestellt im LKA Baden-Württemberg wurde das 3-Fluormethcathinon nach Isolierung NMR-spektroskopisch abgesichert [5]. Das Ergebnis ließ sich jetzt auch tochterionenspektroskopisch im Gemisch bestätigen. Eine aufwendige Trennung ist bei Verwendung unseres Verfahrens daher nicht mehr erforderlich. Bei allen Spektren in Abb. 10 ist das Verhältnis der Intensitäten der Fragmente 79/119 größer als 1 und belegt daher die meta-Position des Fluoratoms im Ring. Bisher enthielten alle sichergestellten Gemische (oft mit Coffein, Lidocain und/oder Butylon) das meta-Fluormethcathinon und nicht das para-Fluormethcathinon (Flephedron).

Das para-Fluormethcathinon ist als „Research Chemical“ im Internet zu kaufen und wurde Anfang 2011 auch schon zweimal als Reinsubstanz von Zollbehörden sichergestellt. Abb. 11 zeigt die tochterionenspektroskopische Absicherung des 4-Fluormethcathinons (Flephedron) in diesen Fällen. Bei allen Verbindungen in Abb. 11 ist das Verhältnis der Intensitäten der Fragmente 79/119 kleiner als 1 und belegt damit die para-Position des Fluorsubstituenten. Die „Research Chemical“ des Institutes für Rechtsmedizin Freiburg wurde dort zusätzlich durch NMR-Spektroskopie abgesichert.

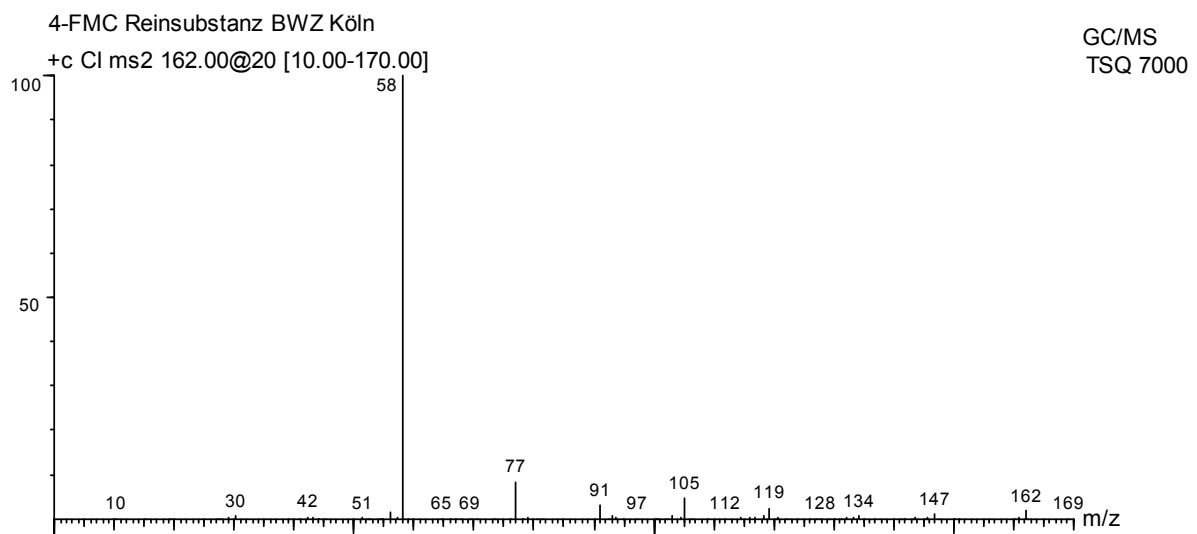
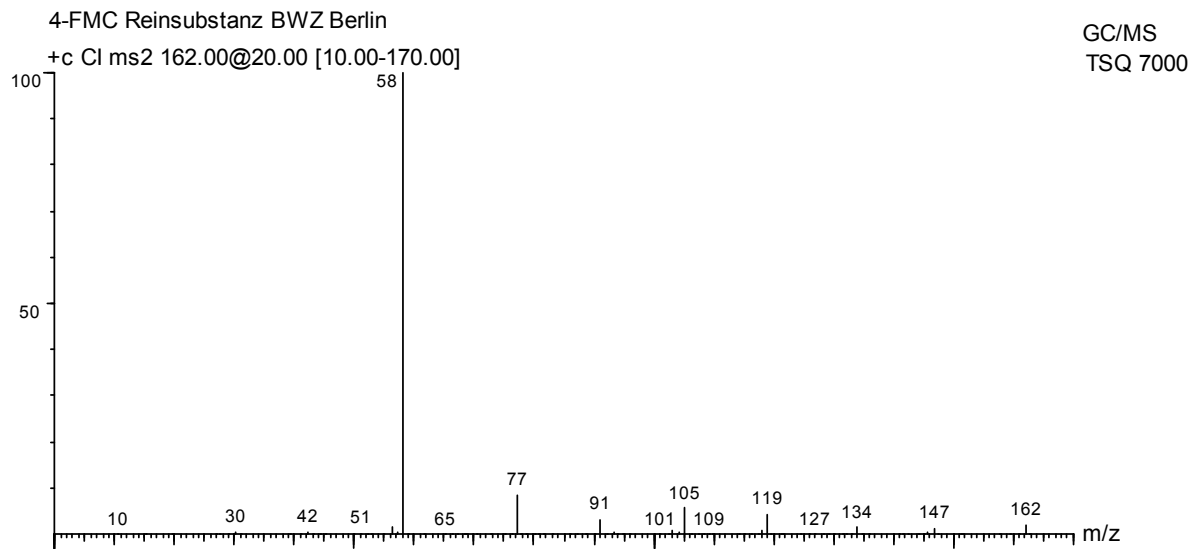
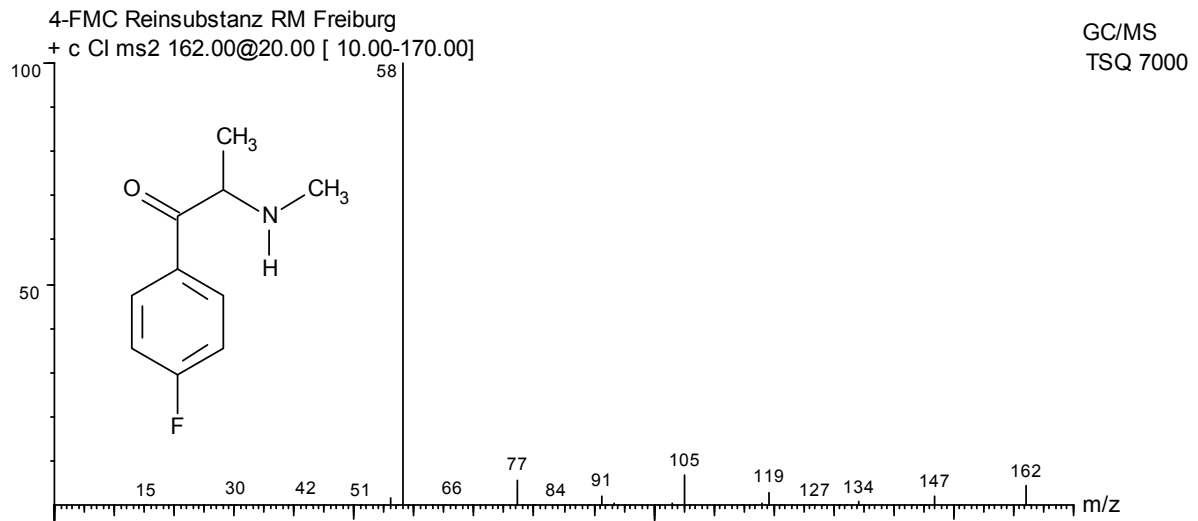


Abb. 11. Tochterionenspektren des Ions $[M+H-HF]^+$ sichergestellter 4-Fluormethcathinone.

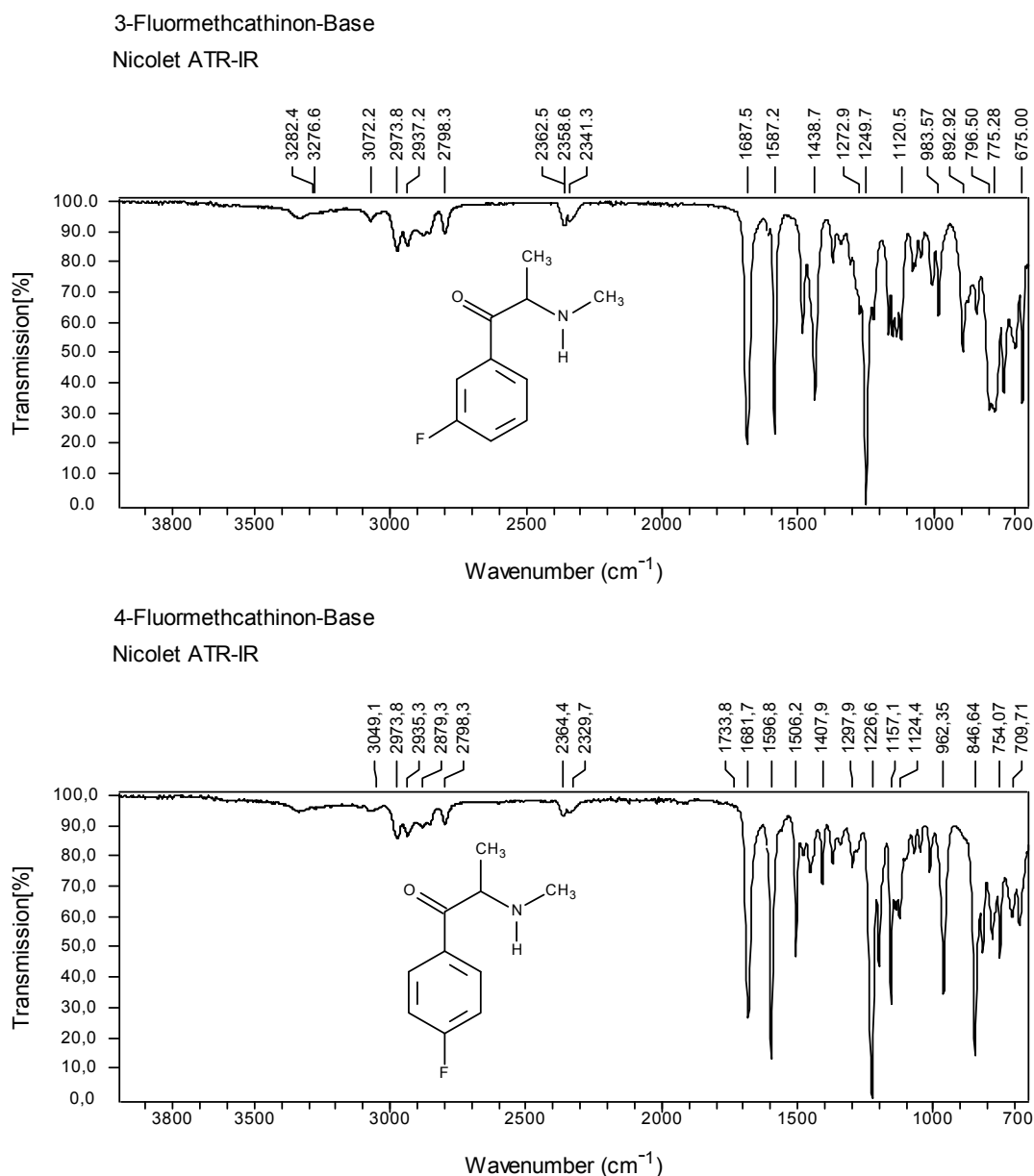


Abb. 12. ATR-IR-Spektren der freien Basen von meta- und para-Fluormethcathinon [6].

Meta- und para-Fluormethcathinon lassen sich natürlich auch gut IR-spektrometrisch unterscheiden (Abb. 12). Dazu müssen jedoch ausreichende Mengen vorliegen und die Signale dürfen nicht durch das Vorliegen komplexer Gemische gestört sein.

4. Zusammenfassung und Ausblick

Die von uns entwickelte tochterionenspektroskopische Methode zur Differenzierung von regioisomeren Fluoramphetaminen wurde auf die Differenzierung regioisomerer N-alkylierter Fluorcathinone übertragen. Die ortho-, meta- und para-Fluorcathinone konnten durch Tochterionenspektroskopie der nach Chemischer Ionisation mit Methan und Verlust von HF erhaltenen $[M+H-HF]^+$ -Fragmente eindeutig unterschieden werden. Die praktische Anwendbarkeit der Methode wurde durch die Analyse verschiedener sichergestellter 3-Fluor- und 4-

Fluormethcathinonproben demonstriert und durch unabhängige NMR-spektroskopische Untersuchungen bestätigt.

Die Differenzierung von regioisomeren Fluorcathinonen ist – mit Ausnahme einiger ortho-Fluorcathinone, die eine Orthoreaktion zeigen – mit EI-GC-MS allein nicht möglich. Die Spektren sind vom Fragmentierungsmuster identisch und unterscheiden sich auch im Retentionsindex zu wenig, um eine eindeutige Identifizierung zu ermöglichen. Hierzu sind zusätzliche Untersuchungen mithilfe der Tochterionenspektroskopie, der IR-Spektroskopie oder der NMR-Spektroskopie unerlässlich. Dies wird insbesondere dann entscheidende Konsequenzen haben, wenn nicht alle regioisomere Fluorcathinone unter die Bestimmungen des BtMG gestellt werden und anhand der Analysen eine Entscheidung zu treffen ist, ob ein Betäubungsmittel im Sinne des BtMG vorliegt. Die hier vorgestellte tochterionenspektroskopische Methode bietet auch bei Vorliegen von geringen Konzentrationen und komplexen Mischungen eine elegante Methode zur Beantwortung dieser Frage.

5. Literatur

- [1] Westphal F, Rösner P, Junge Th. Differentiation of regioisomeric ring-substituted fluorophenethylamines with product ion spectrometry. *Forensic Sci. Int.* 2010;194:53-59.
- [2] Dawson PH, Sun WF. A round robin on the reproducibility of standard operating conditions for the acquisition of library MS/MS spectra using triple quadrupols. *Int. J. Mass Spectrom. Ion Proc.* 1984;55:155-170.
- [3] Junge Th, Rösner P, Westphal F. Product ion mass spectra of important organic ions, eine kostenlose Printversion der Datenbank kann bei den Autoren angefordert werden.
- [4] Davies S, Button J, Archer R, Ramsey J, Holt DW. Methcathinon derivatives: findings from test purchases of capsules and powders from the Internet *Ann. Toxicol. Anal.* 2009:S1-61 in Verbindung mit Davies S, Ramsey J, Archer R. Analytical profiles of methcathinone related compounds.
LTG-Webseite: <http://www.ltg.uk.net/admin/files/Methcathinones.pdf> (Mai 2010)
- [5] Westphal F, Junge Th, Girreser U, Jacobsen-Bauer A, Rösner P. „Badesalz“ für die Nase – Fluormethcathinon neu auf dem Drogenmarkt. *Toxichem Krimtech* 2010;77/2:84-94.
- [6] Alle Formeln und Spektren wurden generiert und bearbeitet mit der Software Chemograph Plus, P. Rösner, DigiLab Software GmbH, www.chemograph.de