

## СУДМЕДЭКСПЕРТИЗА И ТОКСИКОЛОГИЯ

# ИДЕНТИФИКАЦИЯ МЕТАБОЛИТОВ СИНТЕТИЧЕСКИХ КАННАБИМИМЕТИКОВ В МОЧЕ МЕТОДОМ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ - ГИБРИДНОЙ КВАДРУПОЛЬ- ВРЕМЯПРОЛЕТНОЙ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ.

Аналитические решения  
Markets and Applications Programs

### Авторы

А.В. Лабутин

Областное государственное  
бюджетное учреждение  
здравоохранения

“Томский областной  
наркологический диспансер”

Рассмотрена возможность идентификации метаболитов новых психоактивных веществ в моче, исходя из данных о фрагментации нативных соединений и основных закономерностях их распада.

### Введение

Проблема незаконного употребления наркотических средств как синтетического так и растительного происхождения с каждым годом приобретает все большую актуальность и социальную значимость [2]. Не менее актуальным является разработка и внедрение достоверных, простых и быстрых способов поиска наркотических средств и их метаболитов в биологических средах организма, с целью диагностики состояния опьянения. Наиболее распространенным объектом в практике химико-токсикологических лабораторий для такого анализа является моча. С одной стороны именно в моче всегда бывает достаточно высокая концентрация ксенобиотиков (к которым относятся, в том числе, наркотические средства), особенно в период их максимального выведения. С другой стороны моча - относительно простой объект для проведения пробоподготовки, так как содержит небольшое количество высокомолекулярных, а также низкополярных соединений. Проблема идентификации синтетических каннабимиметиков (СК) и иных психоактивных веществ и их метаболитов определяется малоизвестным поведением данных соединений в организме человека, а также коротким временем присутствия их на нелегальном рынке (от 1 до 2 лет). Особенности анализа метаболитов СК является низкая концентрация искомых веществ в моче, не до конца изученный метаболизм и крайне широкий спектр искомых веществ.

Учитывая высокую липофильность СК, вероятность выявления их в моче в неизменном виде крайне мала. Основными путями их выведения является окисление, проявляющееся в присоединении кислородсодержащих групп (гидрокси-, оксо-, карбокси-), либо в гидролизе амидных, либо эфирных



связей. К образовавшимся полярным группам присоединяются остатки глюкуроновой кислоты, и в таком виде вещества подвергаются выведению из организма. Как правило, участков, к которым может присоединяться кислород-содержащие группировки в молекулах синтетических каннабимиметиков несколько, это обуславливает наличие для одного соединения нескольких вариантов протекания метаболических реакций, с образованием различных изомеров по положению гидроксигрупп в молекуле, либо даже с образованием ди- и три-гидроксипроизводных, что приводит к тому что одно вещество может иметь свыше десяти различных метаболитов в виде которых оно выводится из организма. Этот факт приводит к «размыванию» и без того невысокой концентрации исходного вещества моче, по нескольким веществам - метаболитам. Исходя из вышеизложенного следует, что концентрация определяемых индивидуальных метаболитов в моче низка, и целевые вещества содержат сильнополярные группировки, осложняющие анализ методом газовой хроматографии, что наряду с очень сложной матрицей объектов исследования является прямой предпосылкой к использованию tandemной масс-спектрометрии для их анализа, сопряженной с жидкостной хроматографией, как методом, отвечающим за предварительное разделение веществ. [3]

Но все же основным преимуществом применения tandemной масс-спектрометрии является получение дополнительной структурной информации, которая позволяет доказать структурное сходство веществ определяемых в биосредах (предположительных метаболитов), с исходными веществами, при условии наличия информации об их структуре и мс(-мс)-фрагментации как самого нативного соединения, так и его основных ионов. Применение tandemной масс-спектрометрии, пожалуй, является единственным методом доказательства структуры метаболитов СК, по причине крайне незначительного количества вещества и сложной матрицы, что делает невозможным применение таких методов как ЯМР и ИК; встречный синтез, как метод доказательства структуры, также недоступен в условиях химико-токсикологических лабораторий, как по организационным так и по юридическим причинам.

Описываемый далее подход идентификации и поиска метаболитов основан на том, что структура метаболитов каннабимиметиков остается такой же, как и у нативных соединений, все отличие заключается только в наличии дополнительных гидроксигрупп, а также карбоксильных групп, либо метаболиты представляют собой продукты гидролиза исходных соединений, также структурно с ними близкие.

Таким образом, как сами каннабимиметики, так и их метаболиты зачастую имеют общие фрагменты в структурных формулах, и похожие схемы распада в источнике ионизации и камере соударений масс-селективного детектора, что ведет к тому в спектре метаболитов и нативных веществ присутствуют идентичные по структуре ионы, несущие информацию о структуре исходного соединения. Критерием присутствия идентичных ионов в спектрах нативных каннабимиметиков и их метаболитов является наличие идентичных ионов во вторичных спектрах, полученных на tandemном масс-спектрометре, притом разница в атомных единицах массы не должна превышать 10ррт для ионов предшественников и 20ррт для ионов-продуктов.

Таким образом, при поиске метаболитов психоактивных соединений с помощью программного обеспечения прибора исследуются молекулярные ионы (в протонированной форме), которые могли образоваться из

метаболитов известных на настоящий момент психоактивных соединений, также осуществляется поиск общих ионов, характерных для мс-мс фрагментации как нативных соединений так и их метаболитов. Для этого хромато-масс-спектрограмма записывается в режиме «auto-ms», реализованном в программном обеспечении прибора, позволяющим видеть как первичные спектры высокого разрешения, так и вторичные (мс-мс) спектры наиболее интенсивных ионов в высоком разрешении.

Таким образом, алгоритм интерпретации данных полученных методом ВЭЖХ-МС-МС высокого разрешения состоит в следующем:

1. поиск на хромато-масс-спектрограмме образца с помощью программного обеспечения прибора осколочных ионов в мс-мс спектрах, соответствующим наиболее распространенным фрагментам известных психоактивных соединений. (таблица 1)

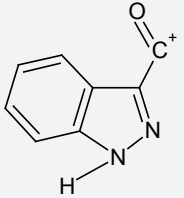
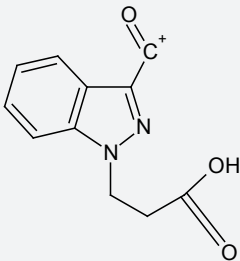
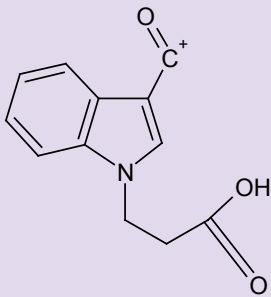
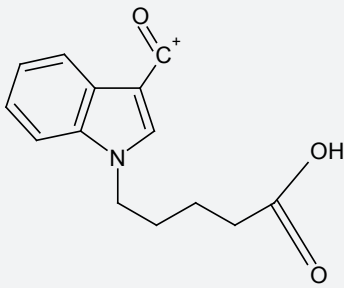
2. поиск на хромато-масс-спектрограмме образца с помощью программного обеспечения прибора ионов, которые соответствуют по массе протонированным ионам метаболитов наиболее известных (искомых) психоактивных соединений, в том числе входящих в Перечень наркотических средств. При этом молекулярная масса возможного метаболита определяется исходя из наиболее распространенных путей метаболизма, описанных в литературе, а именно (массы даны без учета протонирования мол. иона):

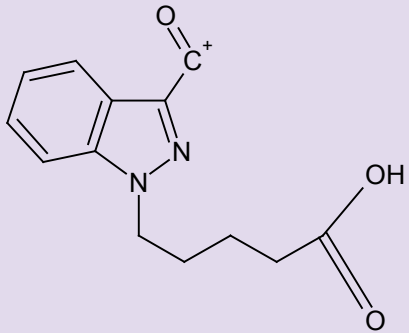
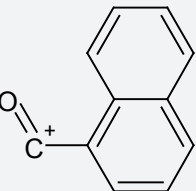
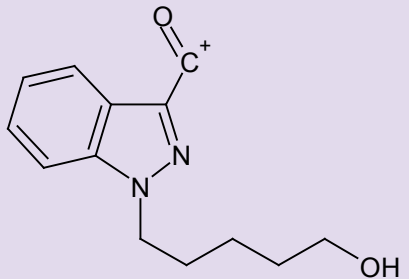
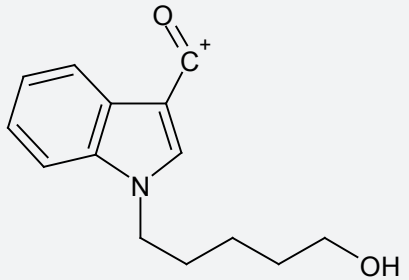
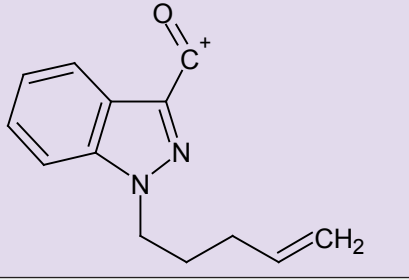
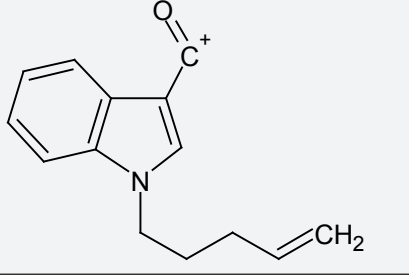
- моногидроксилирование (изменение массы на 15.9949 а.е.м),
- дигидроксилирование (изменение массы на 31.9898 а.е.м),
- замещение фтора на гидроксил (изменение массы на 1.9957 а.е.м),
- карбоксилирование (изменение массы на 29.9741 а.е.м, и 11.9835 а.е.м для фторалкилированных психоактивных веществ),
- карбоксилирование с укорочением углеродной цепи на 2 атома углерода (изменение массы на 1.9429 а.е.м, и 16.0477 а.е.м для фторалкилированных психоактивных веществ).
- деметилирование (изменение массы на 14.0156 а.е.м)
- гидролиз сложноэфирной связи и гидролиз терминальных амидных групп (молекулярная масса метаболита определяется исходя из структуры соединения, находящегося в незаконном обороте, метаболиты которого требуется определить в биосредах).
- комбинации указанных метаболитических превращений, приводящие к соответствующим продуктам, отличающимся на определенную величину массы а.е.м от первоначального вещества.

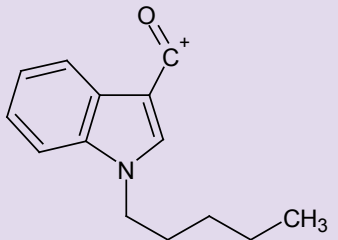
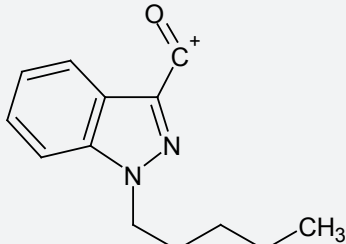
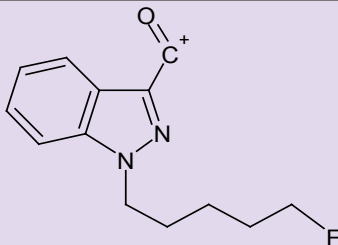
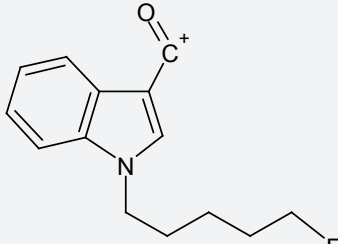
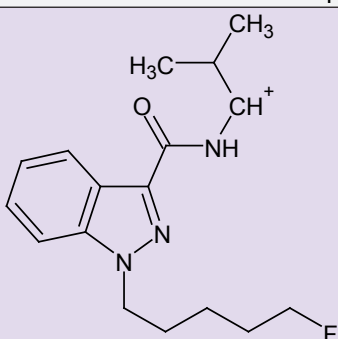
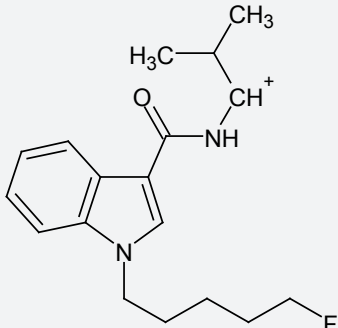
3. вторичные масс-спектры молекулярных ионов (МН<sup>+</sup>) обнаруженных в п.2 должны содержать ионы, соответствующие по брутто формуле ионам (при расхождении по мол. массе не более 20ррм), образующимся в ходе мс-мс эксперимента с нативными веществами (как с учетом метаболитических изменений массы приведенный в п.2 так и без них), либо каким-либо ионам, приведенным в таблице 1, либо иным, известным из литературных данных.

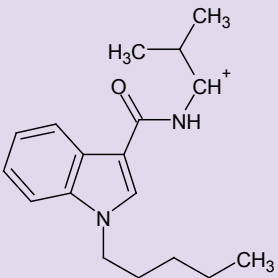
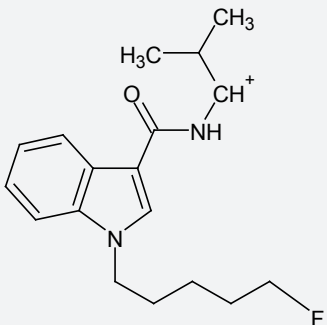
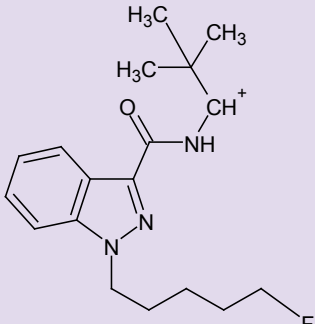
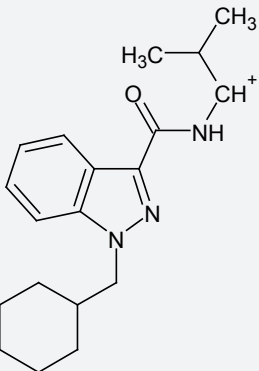
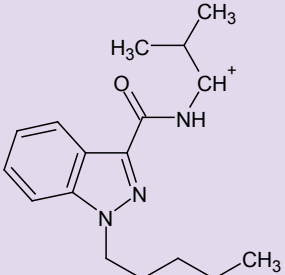
4. вторичные масс-спектры осколочных ионов образующихся в ионном источнике при повышенном напряжении на фрагменторе от нативных соединений и от метаболитов, должны содержать аналогичные фрагментные ионы (при расхождении по массе не более 20ррм).

При получении положительно результата в ходе поиска по п.п. 1-4 формируется положительный вывод о наличии метаболита интересующего психоактивного соединения, для которого проводился поиск по ионам рассчитанным в п.2.

| Точная масса фрагмента<br>(а.е.м) | Структурная формула<br>фрагмента                                                                                                        |
|-----------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 145,0396                          |  <chem>[O-][C+]1=CNC2=CC=CC=C12</chem>               |
| 144,0443                          |  <chem>[O-][C+]1=CNC2=CC=CC=C12</chem>               |
| 217,0608                          |  <chem>[O-][C+]1=CNC(CCC(=O)O)C2=CC=CC=C12</chem>   |
| 216,0655                          |  <chem>[O-][C+]1=CNC(CCC(=O)O)C2=CC=CC=C12</chem>  |
| 244,0968                          |  <chem>[O-][C+]1=CNC(CCCC(=O)O)C2=CC=CC=C12</chem> |

|          |                                                                                       |
|----------|---------------------------------------------------------------------------------------|
| 245,0921 |    |
| 155,0491 |    |
| 231,1128 |    |
| 230,1176 |  |
| 213,1022 |  |
| 212,1069 |  |

|          |                                                                                       |
|----------|---------------------------------------------------------------------------------------|
| 214,1226 |    |
| 215,1179 |    |
| 233,1085 |    |
| 232,1132 |   |
| 304,1819 |  |
| 303,1867 |  |

|          |                                                                                                                                                        |
|----------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 285,1961 |  <chem>CCCCCNc1c[nH]c2ccccc12C(=O)NC(C)C</chem>                     |
| 303,1867 |  <chem>CCCCCCFNC1=CN=C2C(=C1)C(=C3C=CC=CC=C3C(=O)NC(C)C)C=C2</chem> |
| 318,1976 |  <chem>CCCCCCFNC1=NC2=CC=CC=C2N1C(=O)NC(C)(C)C</chem>              |
| 312,2070 |  <chem>C1CCCCC1CN2C(=N1)c3ccccc3C(=O)NC(C)C</chem>                |
| 286,1914 |  <chem>CCCCCNc1c[nH]n2ccccc12C(=O)NC(C)C</chem>                   |

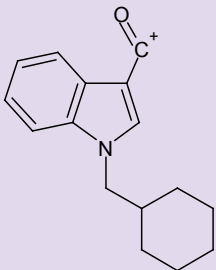
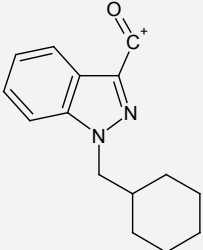
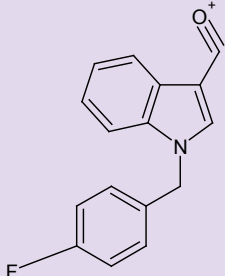
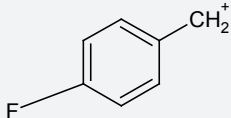
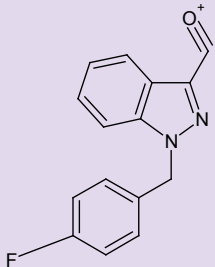
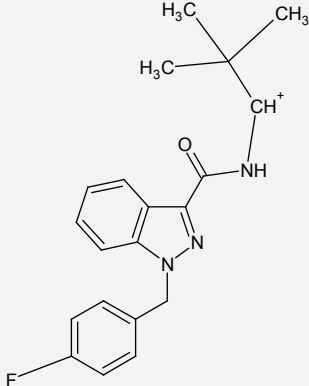
|          |                                                                                       |
|----------|---------------------------------------------------------------------------------------|
| 240,1388 |    |
| 241,1335 |    |
| 252,0819 |    |
| 109,0448 |   |
| 253,0772 |  |
| 338,1663 |  |

Таблица 1. наиболее типичные фрагменты молекул синтетических каннабимиметиков и их расчетные точные массы

## Экспериментальная часть

### Оборудование

| Описание                                                                                          | Номер по каталогу |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------|
| Agilent 1260 Infinity Binary Pump                                                                 | G1312B            |
| and LAN card                                                                                      | G1369C            |
| Agilent 1260 Infinity Standard Autosampler                                                        | G1329B            |
| with 900 µL head                                                                                  | G1313-60007       |
| and an Agilent 1260 Infinity Thermostat                                                           | G1330B            |
| Agilent 1260 Infinity Flexible Cube                                                               | G4227A            |
| Agilent 1200 Infinity Online SPE starter kit including one 2-position/10-port valve               | G4742A            |
| Agilent 1260 Infinity Thermostatted Column Compartment                                            | G1316C            |
| Agilent G6450 Q-TOF LC/MS System with Agilent Jet Stream Technology                               |                   |
| <b>Analytical Column</b>                                                                          |                   |
| Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18, 2.1 × 150 mm, 3.5 µm                                             | 959763-902        |
| <b>Trapping Columns</b>                                                                           |                   |
| Guard Column Hardware Kit                                                                         | 820999-901        |
| PLRP-S Cartridges, 4.6 × 12.5 mm, 15-20 µm                                                        | 5982-1270         |
| <b>Software</b>                                                                                   |                   |
| Agilent MassHunter data acquisition for quadruple-time-of-flight mass spectrometer, Version 06.00 |                   |
| Agilent MassHunter qualitative software, Version 06.00                                            |                   |

### Пробоподготовка

Перед анализом пробы мочи подвергают минеральному гидролизу. Наиболее информативным с точки зрения наличия метаболитов является совместное проведение кислотного и щелочного гидролиза. Для проведения гидролиза две аликвоты мочи каждая по 4 мл вносят в две стеклянные емкости, к одной добавляют 6Н раствор минеральной щелочи (NaOH либо KOH), к другой добавляют 6Н раствор HCl, после чего обе емкости укупоривают и нагревают в течении 40 минут при 90°С. После чего обе емкости остужают до комнатной температуры, и смешивают содержимое. При необходимости доводят pH до значения 8 с помощью буфера.

Полученную смесь гидролизатов далее фильтруют через фильтр с размером пор 0,45 мкм, либо центрифугируют при 12000 об/мин в течении 5 мин и вводят в количестве 30 мкл в систему ВЭЖХ-мс-мс, снабженную оборудованием для он-лайн твердофазной экстракции [4]. В случае отсутствия оборудования для он-лайн твердофазной экстракции, можно провести выделение метаболитов традиционными методами, например методом жидкостной экстракции, в данном случае можно воспользоваться экстракцией смеси гексан-этилацетат 7:1, экстрагирования для метаболитов синтетических каннабиноидов оптимально делать из кислых сред pH < 2. После отделения верхнего органического слоя, его упаривают, а сухой остаток растворяют в 40% растворе этанола. Ввод пробы 2-5 мкл.

### МС метод

детектор Agilent 6540 работал в режиме положительной электрораспылительной ионизации в следующих условиях: температура источника ионов – 350 °C, напряжение на капилляре – 3.5 кВ, напряжение на фрагментаторе – 100 В, напряжение на скиммере – 65 В, расход газа-осушителя 8 л мин<sup>-1</sup>, расход газа для термофокусировки 8 л мин<sup>-1</sup>, диапазон сканирования ионов-предшественников – 100–500 Да, диапазон регистрации ионов-продуктов – 50–500 Да. Газ для соударений – азот, давления газа для соударений в ячейке соударений – 1.37 кПа, энергия соударений 20 эВ. Режим работы детектора – высокое разрешение (40000 на половине высоты при m/z 622, точность измерения масс 0.08 ppm), скорость сканирования – 5 сканов в сек.

Настройка прибора и автоматическая коррекция точности измерения масс в реальном времени проводилась с использованием стандартных растворов, рекомендованных производителем прибора, состоящих из трифторацетата натрия, пурина и гексакис(2,2,3,3-тетрафторпропокси) фосфазина (HP-0921).

Работа проводилась в режиме «auto-ms», предполагающим автоматический отбор пяти наиболее интенсивных ионов-предшественников, и их последующей фрагментацией, активированной соударениями. При проведении отбора иона предшественника окно пропускания квадрупольного фильтра масс задавалось 1,3 а.е.м

## Реактивы

Использованы следующие реактивы: вода деионизованная (из системы водоподготовки Milli-Q, Millipore, США), ацетонитрил, квалификации «чистый для хроматографии», муравьиная кислота, квалификации “х.ч.”.

## Результаты и их обсуждение

В качестве первого примера рассмотрим идентификацию метаболитов вещества .[1-(5-фторпентил)-1H-индол-3-yl](нафталин-1-yl)метанон. в биологическом образце (моче).

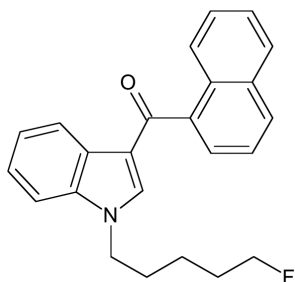


Рисунок 1. [1-(5-фторпентил)-1H-индол-3-yl](нафталин-1-yl)метанон.

Исходя из структуры соединения с учетом изложенных в п.п. 2 данных можно предположить что протонированные формы метаболитов будут иметь следующие мол.массы (приведены только наиболее вероятные метаболиты):

- 376,1707 (моногидроксиметаболит)
- 372,1594 (C5-карбоксиметаболит)
- 358,1801 (C5-OH - метаболит - продукт замещения фтора гидроксигруппой)
- 344,1281 (продукт карбоксилирования с укорочением углеродной цепи на 2 атома углерода).

В результате для указанных масс получены следующие хроматограммы (даны в наложении, окно поиска 5ррм):

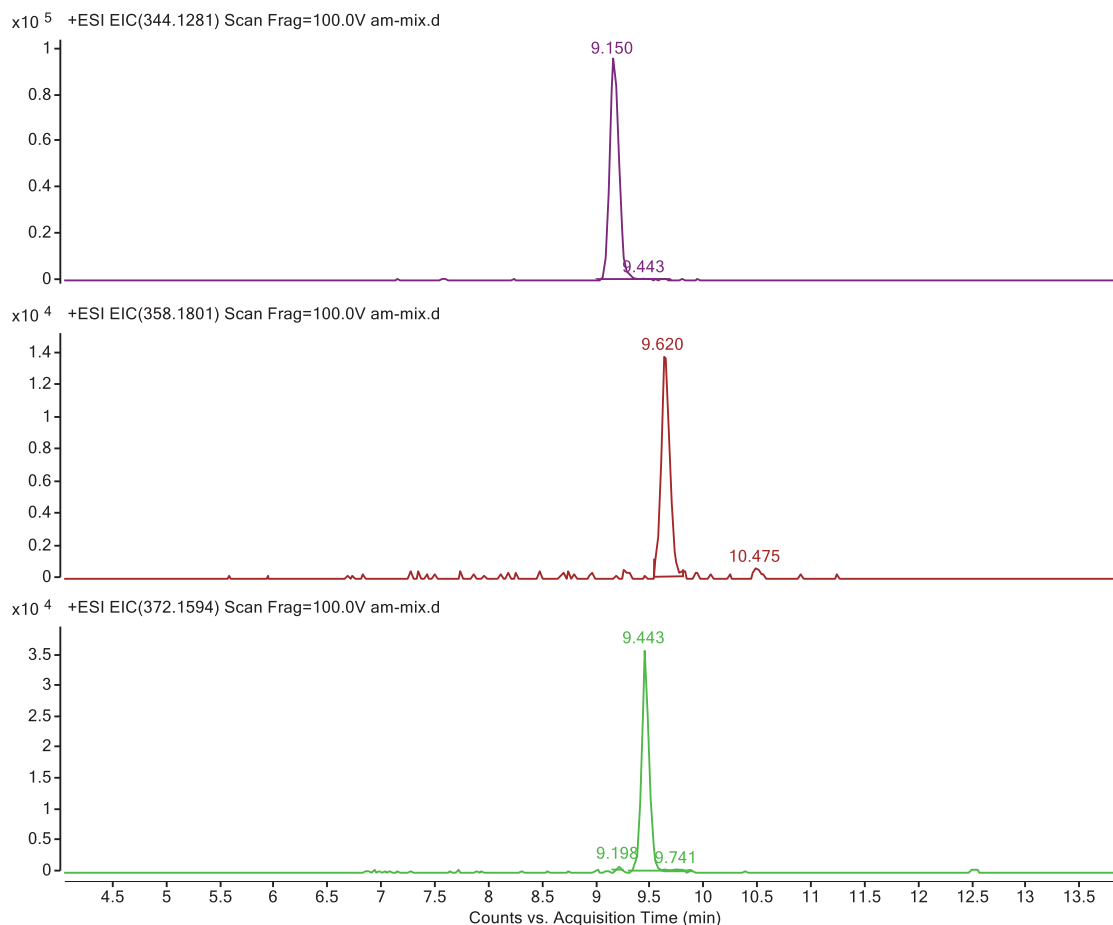


Рисунок 2. сверху вниз: C3-карбокси, дефторгидрокси, C5-карбокси.

сигнал, соответствующий по массе протонированной форме моногидроксиметаболита на хроматограмме обнаружен не был.

Для пика соответствующего протонированной форме вероятного продукта карбоксилирования с укорочением углеродной цепи на 2 атома углерода получен следующий мс-мс спектр (рис. 3)

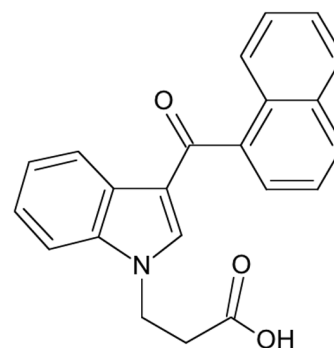
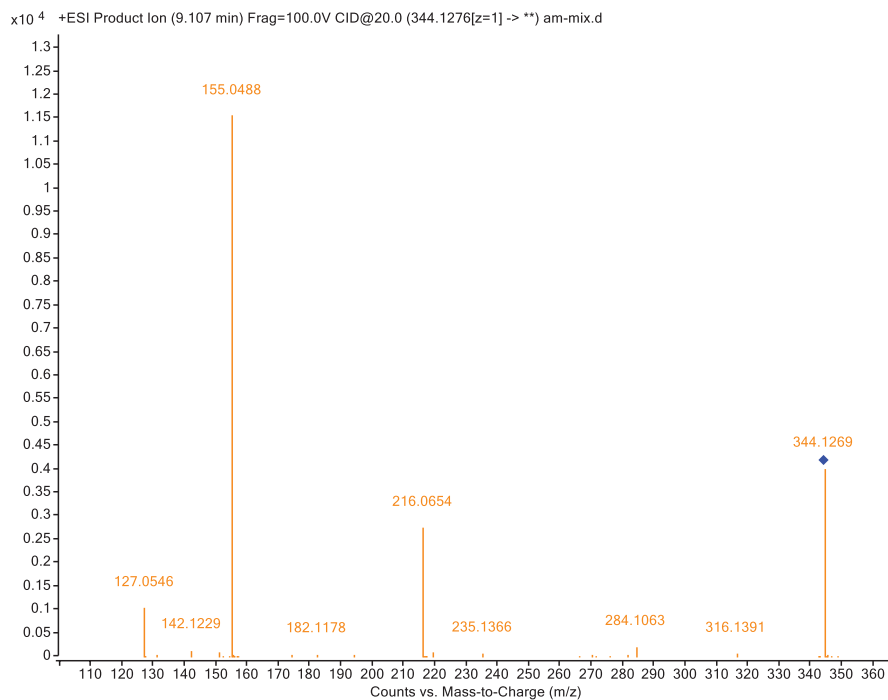


Рисунок 4. разница вычисленной точной массы и определенной в ходе эксперимента составляет 3,5ppm

Рисунок 3. спектр диссоциации индуцируемой соударениями (ДИС) родительского иона 344.1276, предположительно соответствующего протонированной форме метаболита.

Для пика соответствующего протонированной форме вероятного C5-гидроксиметаболита получен следующий мс-мс спектр (рис. 5)

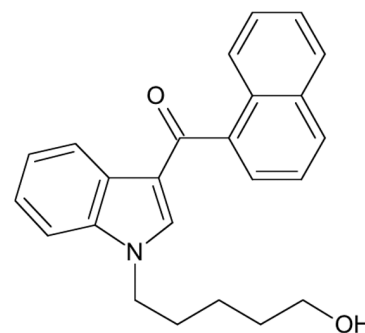
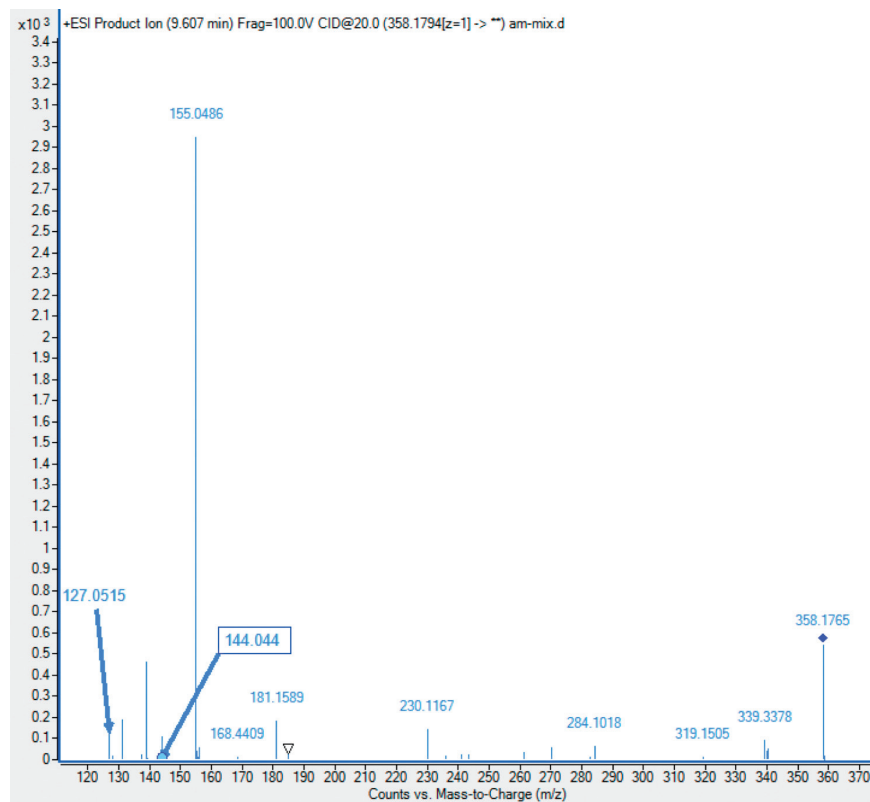


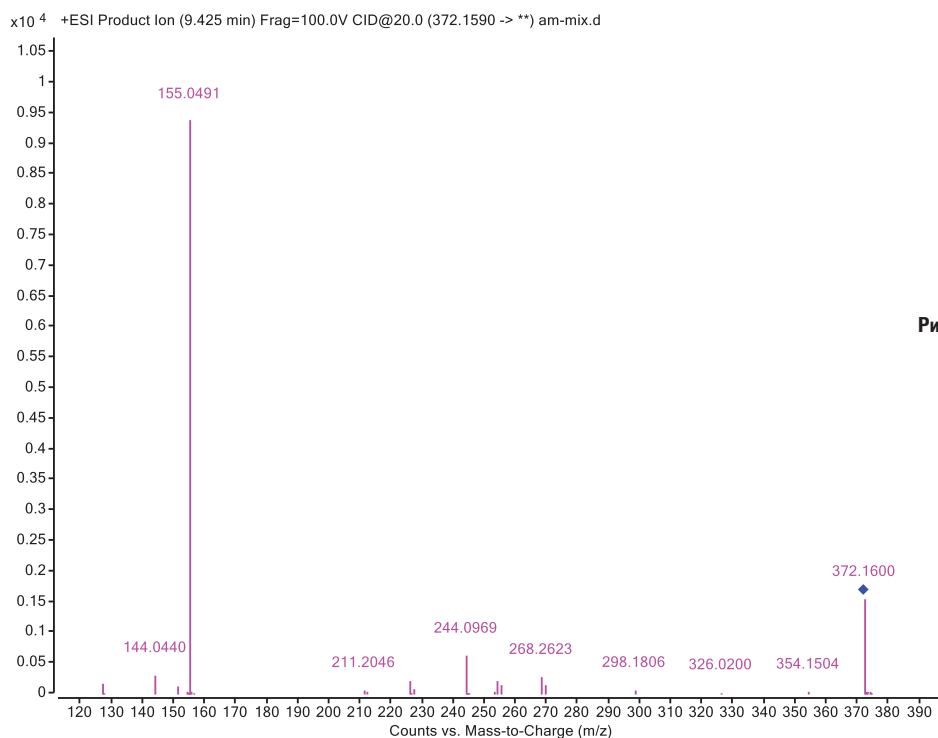
Рисунок 6.

Рисунок 5. спектр диссоциации индуцируемой соударениями (ДИС) родительского иона 358.1794, предположительно соответствующего протонированной форме метаболита.

Предполагаемая структура метаболита приведена на рис. 4

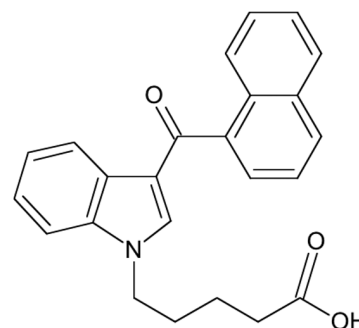
Предполагаемая структура метаболита приведена на рис. 6

Для пика соответствующего протонированной форме вероятного С5-карбоксии метаболита получен следующий мс-мс спектр (рис. 7)



**Рисунок 7.** спектр диссоциации индуцируемой соударениями (ДИС) родительского иона 372.1590, предположительно соответствующего протонированной форме метаболита.

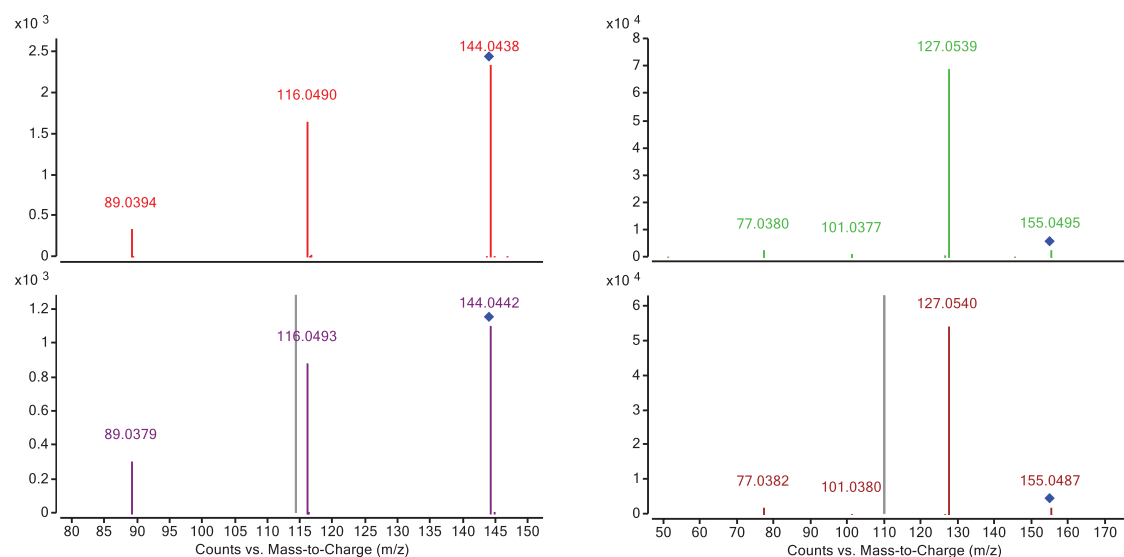
Предполагаемая структура метаболита приведена на рис. 8



**Рисунок 8.**

Как можно видеть фрагментные ионы в спектрах соударений соответствуют приведенным фрагментным ионам в таблице 1, расхождение вычисленных точных масс фрагментных ионов и полученных в ходе экспериментов также составляет менее 5ррм.

Также была сравнена фрагментация ионов 144,0440 и 155,0491, полученных от предполагаемых метаболитов и от нативных веществ при повышенном напряжении фрагментатора - 250В (рис. 9)



**Рисунок 9.** мс-мс спектры соударений осколочных ионов 144,0440 (слева) и 155,0491 (справа). Спектры в верхней части от нативных веществ, в нижней от метаболитов.

Как видно из рисунков, в полученных мс-мс спектрах присутствуют ионы с точными массами, указанные в таблице 1, соответствующие частям структур наиболее широко распространенных синтетических каннабимиметиков, совпадение расчетных точных масс фрагментных ионов и полученных в ходе экспериментов при этом составляет менее 5ppm. Также фрагментация общих ионов в масс-спектрах метаболита и нативного вещества — совпадают (ионы 144,0440 и 155,0491).

Таким образом, по причине совпадения:

- посчитанных точных масс метаболитов и масс протонированных молекулярных ионов, определенных в ходе исследования,
- наблюдения фрагментации, характерной для синтетических каннабимиметиков, в соответствии с данными приведенными в таблице 1,
- совпадении фрагментации основных фрагментов из структур метаболитов и нативных веществ,

можно сделать вывод о наличии метаболитов вещества AM-2201 [1-(5-фторпентил)-1H-индол-3-yl](нафталин-1-yl)метанон, либо вещества JWH-018 (нафталин-1-ил) (1-пентил-1H-индол-3-ил)метанон), в исследуемом образце, так как не были обнаружены фторсодержащие метаболиты.

В качестве примера реализации другого подхода к поиску метаболитов психоактивных веществ был рассмотрен алгоритм идентификации метаболитов каннабимиметика метил 2-[1-(циклогексилметил)-1H-индол-3-ил-карбоксамидо]-3,3-диметилбутаноат, сокращенное наименование MDMB-CHM

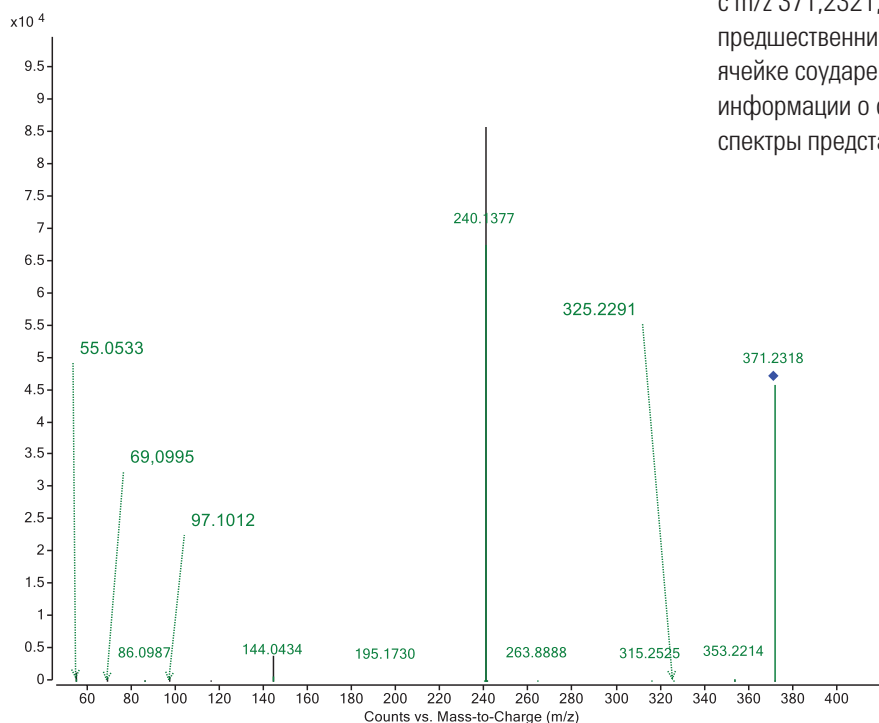


Рисунок 11. масс-спектр иона-предшественника с  $m/z$  371,2321 (дан в наложении 5, 20, 35эв).

В ходе анализа образца гидролизованной мочи при просмотре хромато-масс-спектрограммы по ионам-продуктам, наиболее характерным для синтетических каннабимиметиков (таблица 1) было выявлено что на хроматограмме элюируется вещество с временем выхода 9,95мин, при распаде в камере соударений масс-селективного детектора его протонированные молекулярные ионы образуют ионы-продукты с  $m/z$  240,1380 и 144,0442 а.е.м, при этом масса иона предшественника (протонированного мол. иона) составляет 371,2321. (рис. 10)

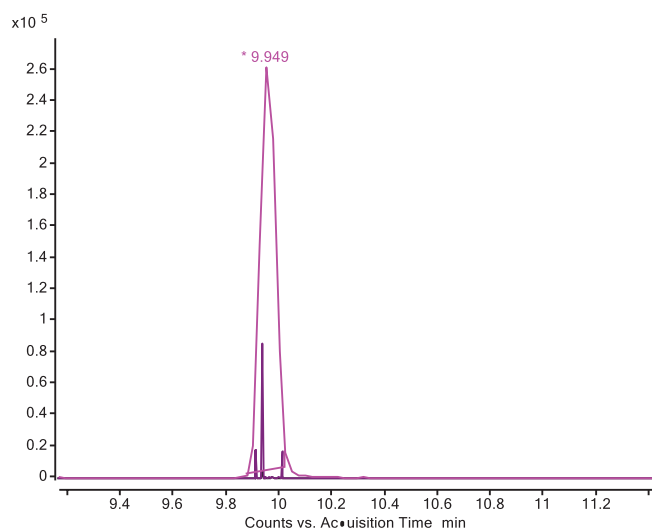


Рисунок 10. хроматограмма по выделенному иону  $m/z$  и 371,2321 и хроматограммы по ионам-продуктам с  $m/z$  240,1380 и 144,0442 а.е.м..

Также в ходе исследования полученной хроматограммы был получен полный масс-спектр иона-предшественника с  $m/z$  371,2321, также были получены масс-спектр иона-предшественника с  $m/z$  371,2321 с другими энергиями в ячейке соударений - 5 и 35 эв, для получения более полной информации о структуре этого иона предшественника. Все спектры представлены в наложении и приведены на рис. 11.

Как следует из [1] ионы-продукты с точными массами 144,0442, 240,1380, 97,1017, 69,0967, 55,0542 а.е.м, характеризуют наличие 1-(циклогексилметил)-1Н-индол-3-карбонильного фрагмента в структуре исследуемого соединения. Переход 371,2318-325,2291 соответствует потере карбоксильной группы (46.0027 а.е.м), что также подтверждается наличием перехода 381,2318-353,2214 (потеря гидроксильной группы). Указанные сведения, а также изучение лит. данных посвященных син. каннабимиметикам позволяет предположить наличие вещества 2-[1-(циклогексилметил)-1Н-индазол-3-ил-карбоксамидо]-3,3-диметилбутановая кислота), структура данного вещества приведена на рис. 12. Данное вещество может являться продуктом гидролиза как минерального так и метаболитического вещества метил 2-[1-(циклогексилметил)-1Н-индол-3-ил-карбоксамидо]-3,3-диметилбутаноат, либо соответствующего амида, который также замечен в незаконном обороте.

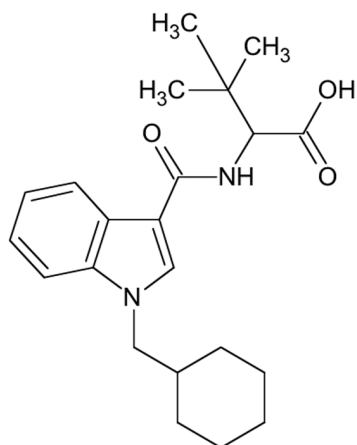


Рисунок 12.

Кроме того наличие в вышеприведенном масс-спектре иона  $m/z$  86,0987 подтверждает данное предположение. По брутто-формуле этот ион соответствует фрагменту 2,2-диметилпропиламина, имеющемуся в структуре соединения изображенного на рис.3.

Также были проведены эксперименты с большим напряжением на фрагменторе с целью получить фрагменты интересующего нас соединения в ионном источнике и изучить их фрагментацию. Ниже приведены масс-спектры соударений, полученные для фрагментных ионов 240,1380 и 144,0440. (рис. 13)

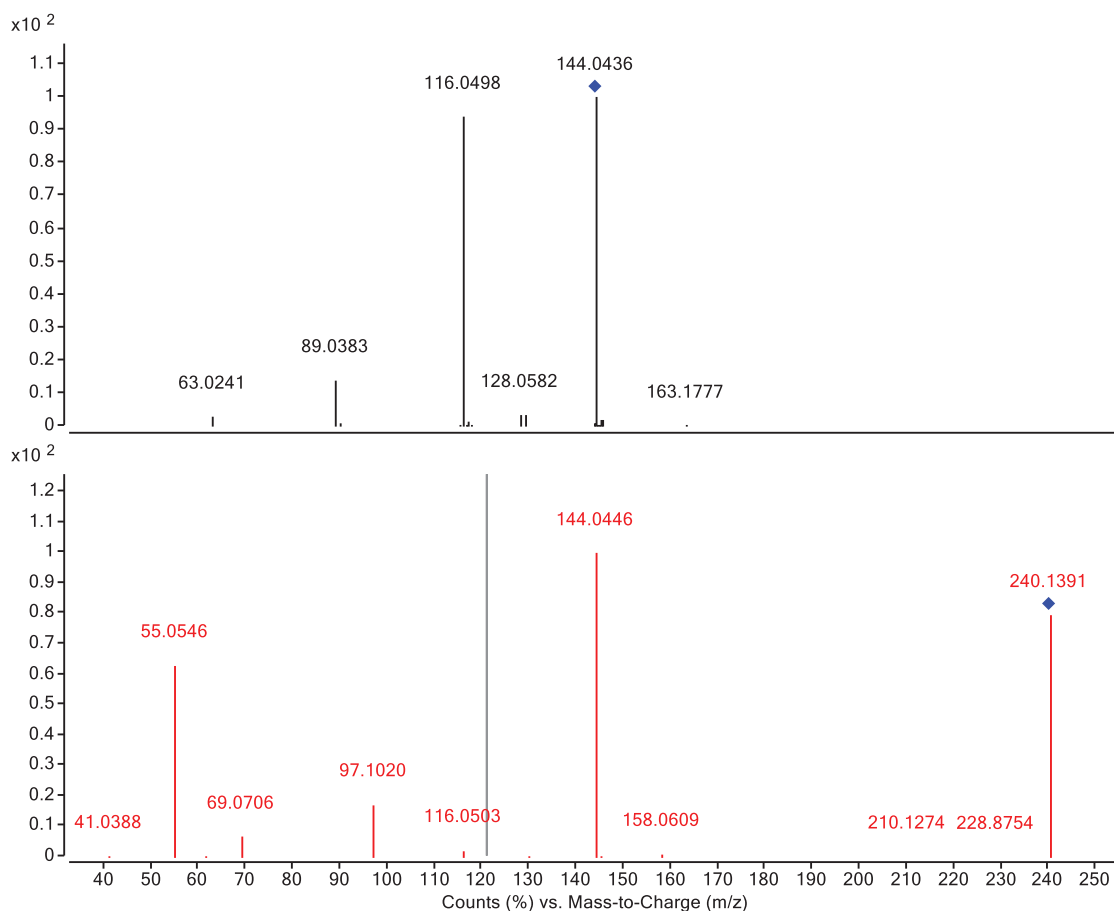


Рисунок 13. масс-спектры соударений полученные для фрагментных ионов 240,1380 (снизу) и 144,0440 (вверху).

Для дополнительной идентификации указанного соединения были изучены спектральные характеристики вещества метил 2-[1-(циклогексилметил)-1Н-индол-3-ил-карбоксамидо]-3,3-диметилбутаноат, представляющего собой метиловый эфир предполагаемого соединения, и изъятых из незаконного оборота и идентифицированных ранее с помощью библиотеки масс-спектров АИПСИН.

Данное вещество исследовалось в указанных выше условиях, в ходе эксперимента обнаружено, что на хроматомасс-спектрограмме имеется пик соответствующий по точной массе протонированному молекулярному иону указанного соединения  $m/z$  385,2489 (вычисленное  $m/z$  385,2486), полный масс-спектр ионов-продуктов этого соединения приведен на рис. 14

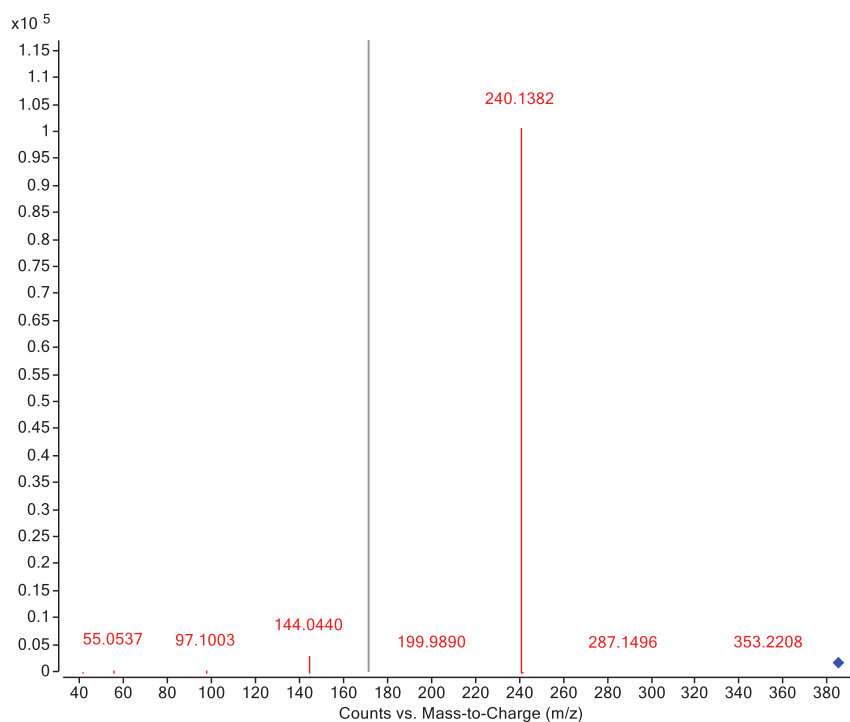


Рисунок 14. спектр соударений иона-предшественника  $m/z$  385,2489 (энергия соударений 20 эв ).

Также были проведены эксперименты с большим напряжением на фрагменторе с целью получить фрагменты интересующего нас соединения в ионном источнике и

изучить их фрагментацию. Ниже приведены масс-спектры соударений полученные для фрагментного иона 240,1380 (рис. 15)

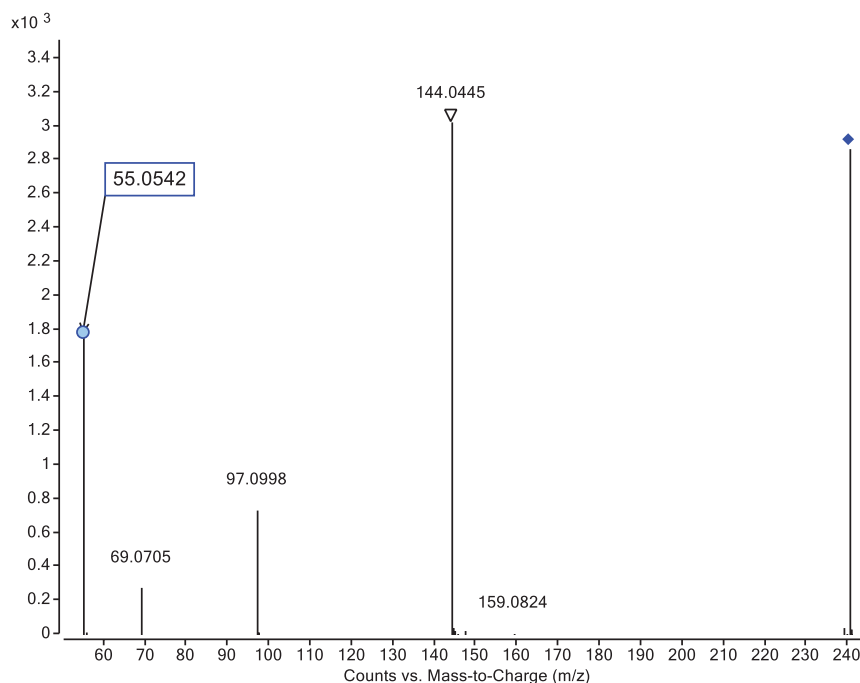


Рисунок 15. полный масс-спектр соударений (20эв) иона-предшественника  $m/z$  240,1380.

Как видно фрагментация протонированного молекулярного иона, а также фрагментация одного из осколочных ионов соединения с близкой структурой (MDMB-CHM) совпадает с изученной ранее фрагментацией для соединения MDMB-CHM -COOH (рис. 13). Что подтверждает сделанное нами ранее предположения для структуры вещества, обнаруживаемое в образцах мочи.

## Заключение

Для обнаружения ряда синтетических каннабимиметиков и их метаболитов в биологических объектах предложен способ нецелевого скрининга маркеров употребления синтетических каннабиноидов, основанный на постоянстве базовой структуры аналитов, поскольку большинство современных синтетических каннабимиметиков можно условно отнести к индольным и индазольным производным, имеющим ряд общих структурных фрагментов.

Для поиска метаболитов синтетических каннабимиметиков реализованы два подхода:

— поиск метаболитов известного соединения с использованием масс-спектра высокого разрешения второго поколения протонированных молекулярных ионов вероятных метаболитов, который обеспечивает высокую надежность определения;

— целевой поиск ионов-продуктов, характерных для наиболее распространенных классов психоактивных соединений. Данный подход является более универсальным и позволяет обнаружить соединения, претерпевшие более глубокие изменения в ходе обмена веществ (например, гидролиз эфирных или амидных связей), за счет возможности установления значения точных масс всех ионов, включая ион-предшественник, что в совокупности со знанием точных масс некоторых характеристичных фрагментов, их структур и других литературных данных, позволяет сделать вывод о наличии метаболитов психоактивных веществ в анализируемом образце. Притом использование приборов высокого разрешения делает достоверным получаемый результат, так как значительно повышает надежность идентификации фрагментных ионов.

Возможность применения предложенных подходов рассмотрена на реальных образцах, содержащих метаболиты AM-2201 (JWH-018) и MDMB-CHM

Таким образом в ходе исследования было доказано наличие в образцах мочи вещества 2-[1-(циклогексилметил)-1H-индазол-3-ил-карбоксамид]-3,3-диметилбутановая кислота), которая может быть метаболитом - продуктом гидролиза наркотического средства MDMB-CHM, находящегося в незаконном обороте и являющегося метиловым эфиром обнаруженного нами соединения.

## Список литературы

1. Шевырин В.А. Идентификация и аналитические характеристики новых синтетических каннабиноидов: дис. канд. хим. наук. Екб., **2013**. 136 с.
2. Temerdashev A. Z., Grigor'ev A. M., Rybal'chenko I. V. // J. Anal. Chem. **2014**. Vol. 69. N 9. P. 899–926
3. Sobolevsky T., Prasolov I., Rodchenkov G. Detection of urinary metabolites of AM-2201 and UR-144, two novel synthetic cannabinoids // Drug Test. Anal. **2012**. Vol. 4. N 10. P. 745–753.
4. 5991-5514RURU Применение он-лайн твердофазной экстракции с помощью модуля agilent 1290 flex cube с последующим взжж-мс-мс анализом в химико-токсикологическом анализе образцов мочи в скрининговом анализе наркотических средств. А.В. Лабутин Областное государственное учреждение здравоохранения «Томский областной наркологический диспансер»

Контакты: Agilent MAPs:  
**maps\_agilent@agilent.com**

Дополнительная информация:  
**<http://www.your-analytical-solution.com>**

This information is subject to change without notice.

© Agilent Technologies, Inc. 2015  
Published in USA, April 1, 2015  
5991-5677RURU

