

Хромато-масс-спектрометрическое определение нового наркотического средства метоксетамина и синтетических каннабимиметиков PB22, PB22F, AB-PINACA, AB-FUBINACA, FUB-PB-22 в биологических жидкостях и образцах волос в Набережночелнинском наркологическом диспансере

ГИЗЕТДИНОВА Л.А.¹, МИНГАЗОВ А.А.², НУГМАНОВА Р.Р.¹, ДЕРНОВА О.А.¹, ПИЛЯЕВА А.Р.¹, САВЧУК С.А.³

¹ Филиал ГАУЗ «РНД» МЗ РТ Набережночелнинский наркологический диспансер

² Набережночелнинский филиал ГАУЗ «РБСМЭ» МЗ РТ

³ ФГБУ «Национальный научный центр наркологии» Минздрава России

Рассмотрен опыт практической работы лаборатории — выявление случаев употребления метоксетамина, синтетических каннабимиметиков, атропина. Описаны условия пробоподготовки мочи и волос для выявления синтетических каннабимиметиков PB22, PB22F, AB-PINACA, AB-FUBINACA, FUB-PB-22. Приведены масс-спектральные характеристики выделенных веществ, хроматограммы по полному ионному току и по экстрагированным ионам.

Ключевые слова: метоксетамина, каннабимиметики, атропин, волосы, газовая хроматография — масс-спектрометрия

Введение

В 2012, 2013 гг. в г.Набережные Челны произошел резкий подъем распространения широкого спектра синтетических каннабимиметиков. В химико-токсикологической лаборатории филиала ГАУЗ «РНД» МЗ РТ Набережночелнинский наркологический диспансер с мая 2013 г. проводились исследования биологических проб на содержание синтетических каннабимиметиков методом газовой хроматографии с масс-селективным детектированием.

За указанный период по результатам химико-токсикологических исследований биологических проб от лиц, доставленных на медицинское освидетельствование состояния опьянения, а также на стационарное лечение, в ХТЛ филиала ГАУЗ «РНД» МЗ РТ НЧНД выявлены 8 случаев употребления N-(хинолин-8-ил)-1- пентил-1Н-индол-3- карбоксиамида (PB-22), 44 случая употребления N-(хинолин-8-ил)-1-(5-фторпентил)-1Н-индол-3-карбоксиамида (PB-22F) и с августа 2013 г. 6 случаев употребления N-(1-амино-3-метил-1-оксобутан-2-ил)-1-(4-фторбензил)-1Н-индазол-3-карбоксиамида (AB-FUBINACA), 44 случая употребления N-(1-амино-3-метил-1-оксобутан-2-ил)-1-пентил-1Н-индазол-3-карбоксиамида (AB-PINACA), 6 случаев употребления хинолин-8-ил-1-(4-фторбензил)-1Н-индол-3-карбоксиамида (FUB-PB-22) и 35 случаев употребления вышеперечисленных веществ в различных комбинациях.

Для проведения химико-токсикологических исследований использовалась моча. Также в лаборатории

проводились исследования волос на содержание наркотических средств и психотропных веществ. Методики исследования опубликованы в работах [1—22].

Условия подготовки пробы мочи

Гидролиз: к 3 мл мочи добавить 1 мл 5N раствора NaOH, выдержать при 50°C в течение 30 мин. Экстракция: гидролизат экстрагировать 3 мл смеси изооктан — этилацетат 7:1, при pH 2. Дериватизация: к упаренному досуха экстракту:

1) добавить 70 мкл BSTFA и 50 мкл этилацетата, выдержать 60 мин при 70°C;

2) добавить 100 мкл этилацетата, 50 мкл PFPA и 25 мкл PFPOH, выдержать 50 мин при 90°C.

Условия подготовки пробы волос

Волосы поместить в пластиковую трубу, измельчить, отмыть метанолом. Гидролиз: к волосам добавить 1,5 мл 2N раствора NaOH, выдержать при 60°C в течение 45 мин на УЗ бане. Экстракция: гидролизат центрифугировать 5 мин при 15 000 об./мин. Довести pH до 2—3 добавлением концентрированной соляной кислоты. Экстрагировать 2 мл смеси изооктан — этилацетат 7:1, чередуя с ультразвуковой обработкой в течение 1 мин. Дериватизация: к упаренному досуха экстракту:

1) добавить 70 мкл BSTFA и 50 мкл этилацетата, выдержать 60 мин при 70°C;

2) добавить 100 мкл этилацетата, 50 мкл PFPA и 25 мкл PFPOH, выдержать 50 мин при 90°C.

Таблица 1

Сравнительные значения Rf при исследовании извлечений из мочи освидетельствуемого Б., 19 лет, на пластинках «Сорбфил»

Система	Rf			
	AB-FUBINACA	AB-PINACA	PB-22	Кофеин, никотин, каннабиноиды
№1	0,25	0,25	0,4; 0,5	Не окрашивается
№2	0,5	0,5	0,63; 0,56	
№3	0,88	0,88	0,9	
Цвет пятна	Синий	Синий	Фиолетовый	

Таблица 2

Результаты химико-токсикологических исследований биологических объектов (моча, волосы) на содержание наркотических средств и психоактивных веществ

№ п/п, возраст больного	Моча		Волосы		Клинические проявления, анамнез, жалобы
	Нативное извлечение	Кислое извлечение после щелочного гидролиза с дериватизацией BSTFA	Извлечение после щелочного гидролиза без дериватизации	Кислое извлечение после щелочного гидролиза с дериватизацией BSTFA	
Б. №1, 26 лет	Димедрол, атропин	Не обнаружено	Не обнаружено	Не обнаружено	Доставлен с улицы, поведение неадекватное, контакту недоступен, тахикардия, АД повышено, зрачки расширены, сознание помрачено, дезориентация во времени, месте, ситуации
Б. №2, 17 лет	Атропин, 8-гидрокси-хинолин	Не обнаружено	Не обнаружено	PB22F	Доставлен с улицы, поведение неадекватное, контакту недоступен, тахикардия, АД повышено, зрачки расширены, сознание помрачено, дезориентация во времени, месте, ситуации. После выхода из психоза сообщил, что курит спайс эпизодически, в день госпитализации употреблял семена неизвестного растения путем жевания
Б. №3, 20 лет	Димедрол, карбамазепин, доксиламин, бромгексин, амброксол	AB-PINACA	Не обнаружено	AB-PINACA, PB22F	Жалобы отца на неадекватное поведение, заторможенность. Контакт доступен. Кожные покровы гиперемированы, склеры инъектированы. Походка шаткая тремор рук, сознание ясное. Напряжён, замкнут, скрытен, настроение подавленное
Б. №4, 19 лет	Не обнаружено	AB-FUBINACA	AB-PINACA	PB22F, AB-PINACA, AB-FUBINACA	Обращение родителей

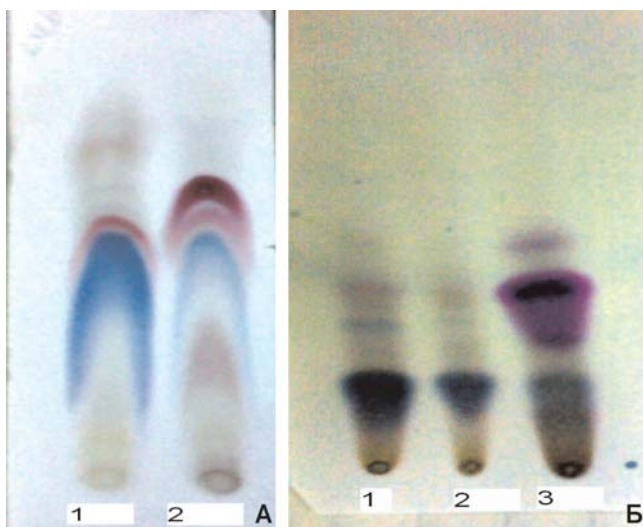


Рис. 1. Реагент — реактив Ван-Урка:

А — система: гексан — изобутанол — ледяная уксусная кислота (90:9:1); объект — моча, содержащая: 1) АВ-FUBINACA; 2) РВ-22;
Б — система: толуол — ацетон — этанол — аммиак (47,5:47,5:4,5:0,5); объект — моча, содержащая: 1) АВ-FUBINACA; 2) АВ-PINACA; 3) РВ-22

После обработки гидролизата концентрированной соляной кислотой наблюдали выпадение хлопьев денатурированного белка, что приводило к связыванию целевых веществ. Поэтому в процессе экстракции применяли ультразвуковую обработку с целью повышения выхода целевых компонентов.

Среди методов обнаружения наркотических веществ использовали тонкослойную хроматографию и хромато-масс-спектрометрию.

Извлечения, полученные при РН2 из гидролизованной мочи больного Б., 19 лет, испаряли досуха, растворяли в 100 мкл трихлорметана и наносили на пластины тонкослойной хроматографии (ТСХ) «Sorbfil» ПТСХ-П-А-УФ, предварительно активированные при 80°C в течение 30 мин.

Система:

1) гексан — изобутанол — ледяная уксусная кислота (90:9:1);

2) толуол — ацетон — этанол — аммиак (47,5:47,5:4,5:0,5);

3) хлороформ — пропанол — ледяная уксусная кислота (70:29:1).

Для детектирования использовали реактив Ван-Урка. Результаты исследования приведены в табл. 1. Хроматограмма приведена на рис. 1.

Хромато-масс-спектрометрическое исследование проводилось на газовом хроматографе с масс-селективным детектором МАЭСТРО МСД с капиллярной кварцевой колонкой НР-5MS (длина 30,0 м, диаметр 250 мкм, толщина пленки 0,25 мкм), в режиме полного сканирования ионов.

Проведены параллельные исследования мочи и волос от 4 пациентов. 3 из них поступили в острое отделение (2 — с признаками психоза), 1 — случай самообращения. Результаты определения каннабими-метиков в волосах и моче даны в табл.2. Хроматогра-фические профили гидролизатов волос и масс-спек-тры идентифицированных веществ (метаболитов РВ22F, АВ-PINACA, АВ-FUBINACA) приведе-ны на рис. 2 и 3. На рис. 4 приведена хроматограмма мочи освидетельствуемого, в которой был обнаружен маркер употребления (метаболит) каннабимиметика FUB-PB-22.

Проведены параллельные исследования мочи и волос от четырёх пациентов. Трое из них поступили в острое отделение (2 — с признаками психоза), 1 — случай самообращения. Результаты исследования приведены в табл. 2.

В городе Набережные Челны наблюдались случаи употребления подростками семян дурмана. Так, в августе 2013 г. произошел случай массового употребле-ния подростками 1996—1998 годов рождения семян дурмана. При химико-токсикологических исследова-ниях методом газовой хроматографии с масс-селек-тивным детектированием мочи подростков был выяв-лен атропин. На рис. 5 приведены хроматографичес-кие профили и масс-спектры мочи подростка, посту-пившего в диспансер с симптомами отравления (дели-рий, расширенный зрачок, слюнотечение, галлюцина-ции, двигательная активность).

В 2012, 2013 гг. выявлено 2 случая употребления метоксетамина — вещества, являющегося аналогом кетамина (включён в Список I Постановления №681 Правительства РФ от 30.06.1998 г.). На рис.6 при-ведена хроматограмма по полному ионному току экс-тракта мочи освидетельствуемого, содержащей ме-токсетамин, поступившей на исследование из кабинета экспертизы.

Метоксетамин (МХЕ, 3-МеО-2-Охо-РСЕ) — диссоциатив класса арилциклогексиламинов (англ.). Это более мощный (в 2—3 раза) аналог кетамина. Как и кетамин, действует как антагонист NMDA-ре-цепторов и ингибитор обратного захвата дофамина, хотя он не был официально описан фармакологиче-ски. Метоксетамин отличается от многих других дис-социативных анестетиков из класса арилциклогекси-ламинов в том, что он был специально разработан для продажи на сером рынке.

Употребляется перорально, внутримышечно, внутри-венно, сублингвально, интраназально либо ректально.

6 октября 2011 г. метоксетамин, а также его про-изводные занесены в Список I наркотических средств и психотропных веществ, оборот которых в Россий-ской Федерации запрещён. В Швейцарии МХЕ оборот запрещён с декабря 2011 г.

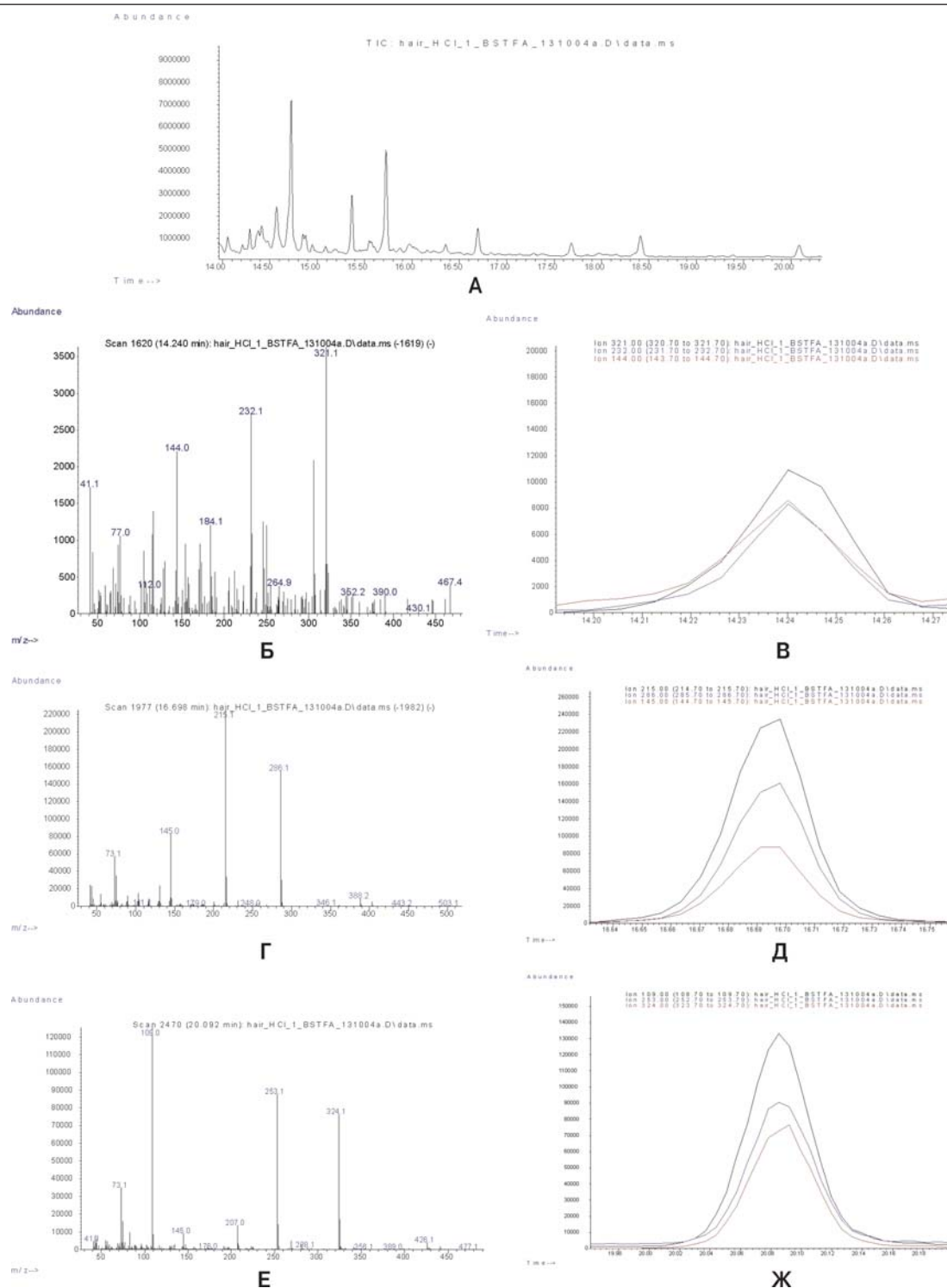


Рис. 2. PB22F, AB-PINACA, AB-FUBINACA в волосах больного №4, щелочной гидролиз (2N NaOH), жидкостная экстракция смесью растворителей изооктан-этилацетат 7:1. (100 мг волос), дериватизация BSTFA. Вещества идентифицированы по временам удерживания и по масс-спектрам:

А — хроматограмма по полному ионному току; Б — масс-спектр PB22F, соответствующий пику со временем удерживания 14,24; В — хроматограмма исследуемой пробы по экстрагированным ионам, соответствующим PB22F; Г — масс-спектр AB-PINACA, соответствующий пику со временем удерживания 16,698; Д — хроматограмма исследуемой пробы по экстрагированным ионам, соответствующим AB-PINACA; Е — масс-спектр AB-FUBINACA, соответствующий пику со временем удерживания 20,092; Ж — хроматограмма исследуемой пробы по экстрагированным ионам, соответствующим AB-FUBINACA.

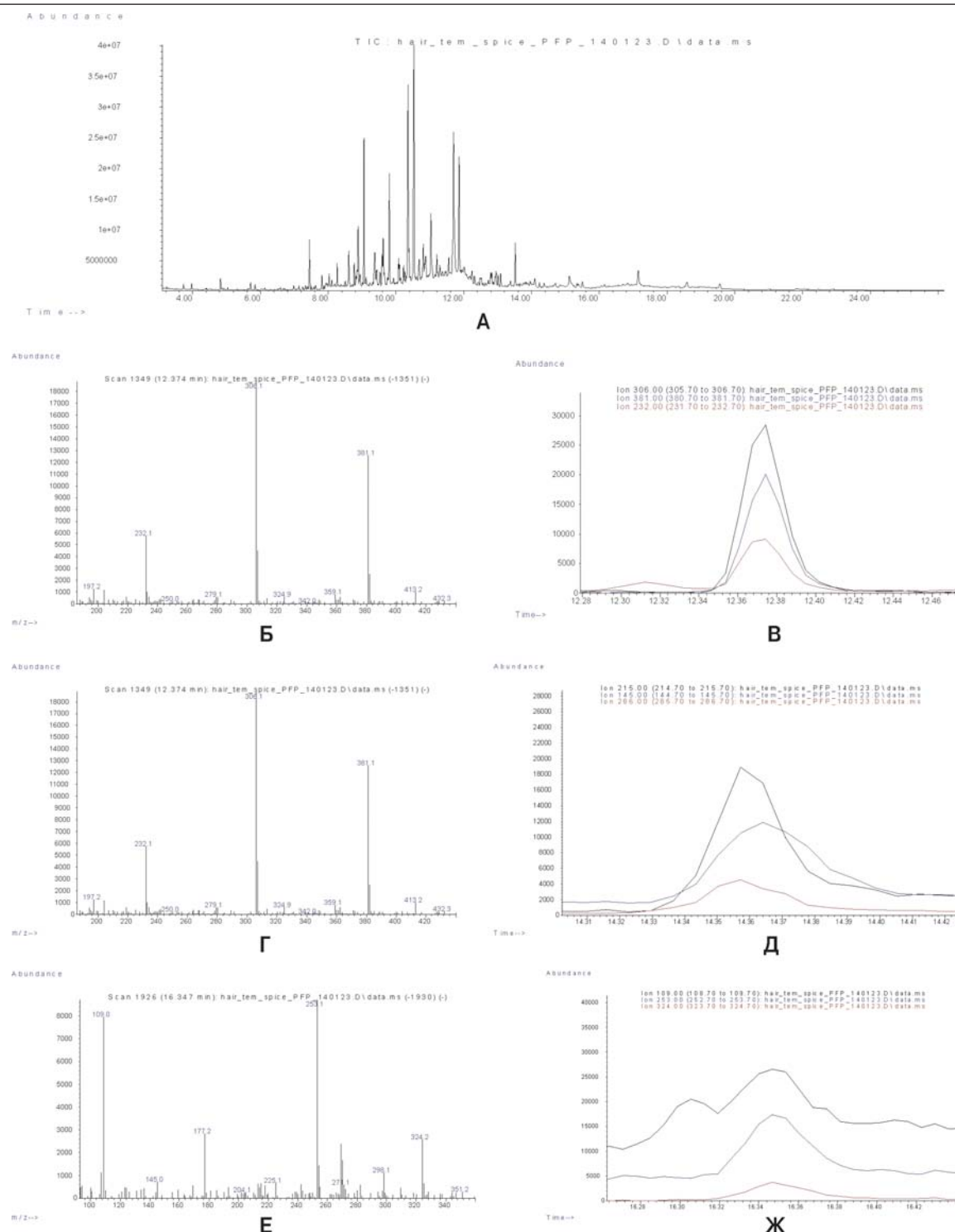


Рис. 3. PB22F, AB-PINACA, AB-FUBINACA в волосах больного №4, щелочной гидролиз (2N NaOH), жидкостная экстракция смесью растворителей изооктан-этилацетат 7:1. (100 мг волос), дериватизация PFP и PFPON. Вещества идентифицированы по временам удерживания и по масс-спектрам:

А – хроматограмма по полному ионному току; Б – масс-спектр PB22F, соответствующий пику со временем удерживания 12,374; В – хроматограмма исследуемой пробы по экстрагированным ионам, соответствующим PB22F; Г масс-спектр AB-PINACA, соответствующий пику со временем удерживания 14,374; Д – хроматограмма исследуемой пробы по экстрагированным ионам, соответствующим AB-PINACA; Е – масс-спектр AB-FUBINACA, соответствующий пику со временем удерживания 16,347; Ж – хроматограмма исследуемой пробы по экстрагированным ионам, соответствующим AB-FUBINACA.

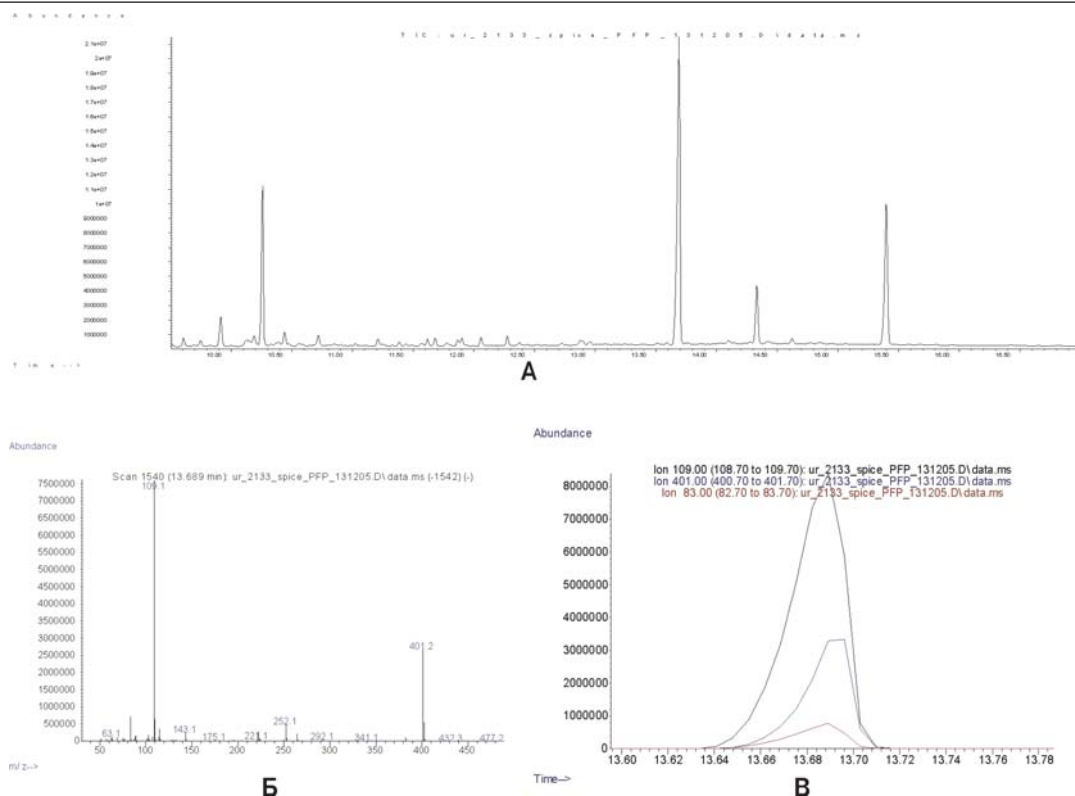


Рис. 4. FUB-PB-22 в моче. Вещество идентифицировано по временам удерживания и по масс-спектрам: А — хроматограмма по полному ионному току; Б — масс-спектр FUB-PB-22, соответствующий пику со временем удерживания 13,68; В — хроматограмма исследуемой пробы по экстрагированным ионам, соответствующим FUB-PB-22.

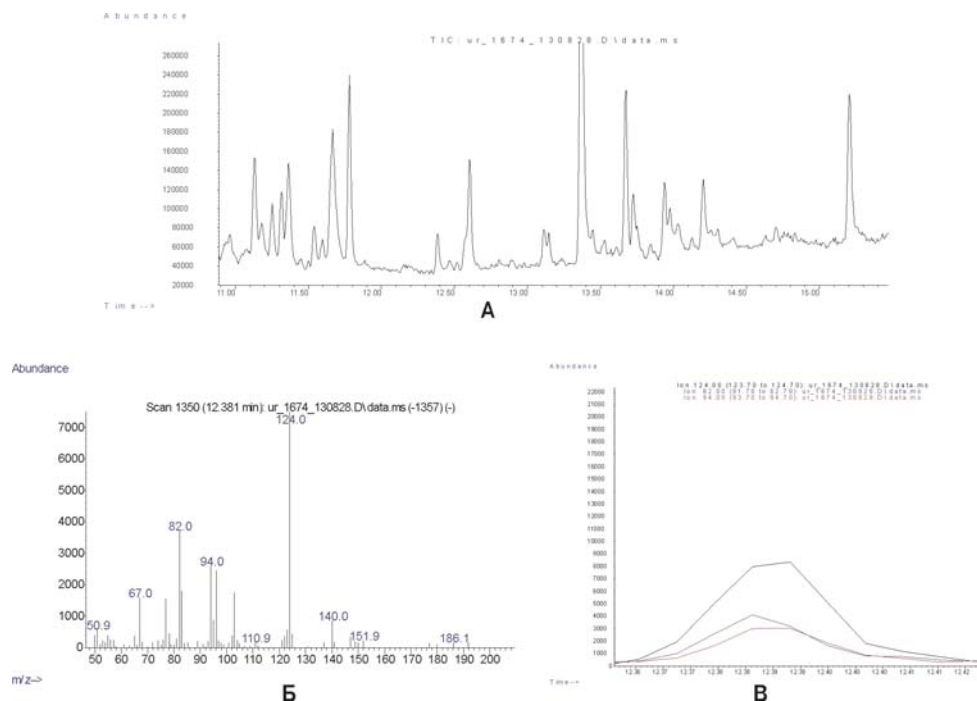


Рис. 5. Атропин в моче подростка, поступившего в диспансер с симптомами отравления атропином. Вещество идентифицировано по времени удерживания и по масс-спектрам: А — хроматограмма по полному ионному току; Б — масс-спектр атропина, соответствующий пику со временем удерживания 12,381; В — хроматограмма исследуемой пробы по экстрагированным ионам, соответствующим атропину.

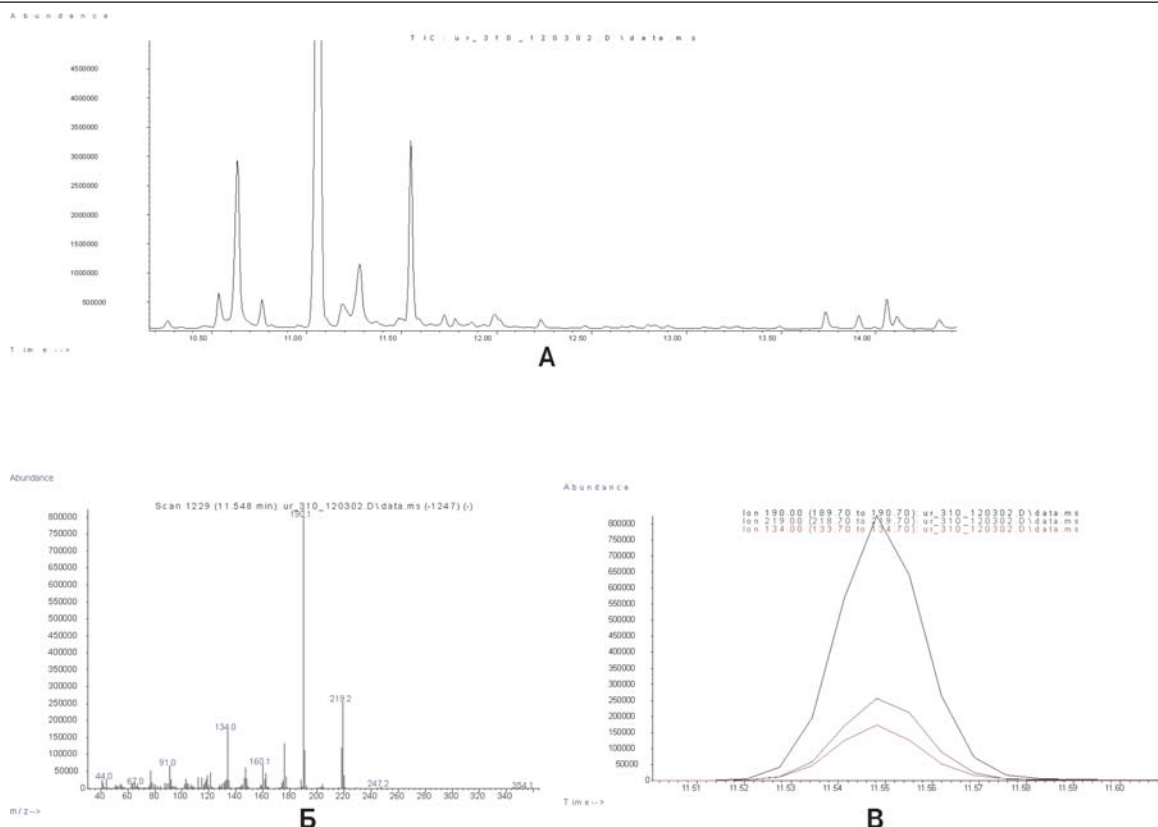


Рис. 6. Метоксетамин в моче. Вещество идентифицировано по масс-спектру:

А — хроматограмма по полному ионному току; Б — масс-спектр метоксетамин, соответствующий пику со временем удерживания 11,548; В — хроматограмма исследуемой пробы по экстрагированным ионам, соответствующим метоксетамину.

Список литературы

1. Sobolevsky T., Prasolov I., Rodchenkov G. Detection of JWH-018 metabolites in smoking mixture post-administration urine // *Forensic Sci. Int.* — 2010. — Vol. 200. — P. 141—147.
2. Grigoryev A., Savchuk S., Melnik A., Moskaleva N., Dzhurko J., Ershov M., Nosyrev A., Vedenin A., Izotov B., Zabirowa I., Rozhanets V. Chromatography-Mass Spectrometry Studies on the Metabolism of Synthetic Cannabinoids JWH-018 and JWH-073, Psychoactive Components of Smoking Mixtures // *Journal of Chromatography B.* — 2011. — Vol. 879. — P. 1126—1136.
3. Григорьев А.М., Савчук С.А., Мельник А.А., Ершов М.Б., Джурко Ю.А., Веденин А.Н., Носырев А.Е., Изотов Б.Н., Рожанец В.В. Установление факта приема синтетического каннабиноида JWH-018 хромато-масс-спектрометрическими методами // *Журн. аналит. химии.* — 2012. — Т. 67, №11. — С. 995—1004.
4. Grigoryev A., Savchuk S., Melnik A., Simonov A., Rozhanets V. Gas and liquid chromatography-mass spectrometry studies on the metabolism of the synthetic phenylacetylindole cannabimimetic JWH-250, the psychoactive component of smoking mixtures // *Journal of Chromatography B.* — 2011. — Vol. 879. — P. 2519—2526.
5. Grigoryev A., Kavanagh P., Melnik A. The detection of the urinary metabolites of 1-[(5-fluoropentyl)-1H-indol-3-yl]-(2-iodophenyl)methanone (AM-694), a high affinity cannabimimetic, by gas chromatography — mass spectrometry // *Drug Testing and Analysis.* — 2012. — DOI 10.1002/dta.1336.
6. Kavanagh P., Grigoryev A., Melnik A., Simonov A. The identification of the urinary metabolites of 3-(4-methoxybenzoyl)-1-pentylindole (RCS-4), a novel cannabimimetic, by gas chromatography/mass spectrometry // *Journal of Analytical Toxicology.* — 2012. — Vol. 36. — P. 303—311.
7. Grigoryev A., Kavanagh P., Melnik A. The detection of the urinary metabolites of 3-[(adamantan-1-yl)carbonyl]-1-pentylindole (AB-001), a novel cannabimimetic, by gas chromatography-mass spectrometry // *Drug Testing and Analysis.* — 2011. — DOI: 10.1002/dta.350.
8. Kavanagh P., Grigoryev A., Savchuk S., Mikhura I., Formanovsky A. UR-144 in products sold via the Internet: Identification of related compounds and characterization of pyrolysis products // *Drug Testing and Analysis.* — 2013. — DOI: 10.1002/dta.1456.
9. Григорьев А.М., Мельник А.А., Савчук С.А., Божко Е.С. Обнаружение психоактивного компонента курительных смесей CP47,497 (C8) в моче методом хромато-масс-спектрометрии // *Сорбционно-хроматографические процессы.*
10. Изотов Б.Н., Савчук С.А., Григорьев А.М., Мельник А.А., Носырев А.Е., Джурко Ю.А., Забиrowa И.Г., Суркова Л.А., Листвина В.П., Самойлик Л.В., Рожанец В.В. Синтетические каннабиноиды в растительных смесях «Spice». Идентификация метаболитов JWH-018 как маркеров употребления в биологических жидкостях крыс и человека // *Наркология.* — 2011. — №2. — С. 73—83.
11. Григорьев А.М., Мельник А.А., Савчук С.А., Симонov А.Б., Изотов Б.Н., Носырев А.Е., Рожанец В.В. Хромато-масс-спектрометрическая идентификация метаболитов синтетиче-

ского каннабимиметика JWH-250 в биологических жидкостях человека и крыс // Наркология. — 2012. — №6. — С. 75—86.

12. Григорьев А.М., Савчук С.А., Джурко Ю.А., Мельник А.А., Симонов А.Б., Рожанец В.В. Обнаружение метаболитов синтетических каннабимиметиков в биологических объектах // «Актуальные вопросы судебно-химических и химико-токсикологических исследований», Материалы межрегиональной научно-практической конференции, Екатеринбург. — 2011. — С. 42—49.

13. Григорьев А.М., Веденин А.Н., Савчук С.А., Мельник А.А., Ершов М.Б., Джурко Ю.А., Симонов А.Е., Носырев А.Е., Изотов Б.Н., Рожанец В.В. Установление маркеров приема и характеристики основных метаболитов «синтетических каннабиноидов» JWH-018, JWH-073, JWH-250 и CP-47,497 C8 хромато-масс-спектрометрическими методами // «Современные вопросы судебно-медицинской науки и практики». Материалы научно-практической конференции, посвященной 85-летию образования судебно-медицинской службы Свердловской области и 75-летию кафедры судебной медицины Уральской государственной медицинской академии, Екатеринбург. — 2010. — С. 229—239.

14. Савчук С.А., Григорьев А.М. Хромато-масс-спектрометрический анализ в наркологической и токсикологической практике. — М.: URSS, 2013. — 224 с.

15. Shevyrin V., Melkozerv V., Nevero A., Eltsov O., Shafraan Yu. Analytical characterization of some synthetic cannabinoids, derivatives of indole-3-carboxylic acid // Forensic Sci. Int. — 2013. — Vol. 232. — P. 1—10.

16. Uchiyama N., Matsuda S., Kawamura M., Kikura-Hanajiri R., Goda Y. Two new-type cannabimimetic quinolinyl carboxylates, QUPIC and QUCHIC, two new cannabimimetic carboxamide derivatives, ADB-FUBINACA and ADBICA, and five synthetic cannabinoids detected with a thiophene

derivative a-PVT and an opioid receptor agonist AH-7921 identified in illegal products // Forensic Toxicol. — 2013. — Vol. 31. — P. 223—240.

17. Uchiyama N., Matsuda S., Wakana D., Kikura-Hanajiri R., Goda Y. New cannabimimetic indazole derivatives, N-(1-amino-3-methyl-1-oxobutan-2-yl)-1-pentyl-1H-indazole-3-carboxamide (AB-PINACA) and N-(1-amino-3-methyl-1-oxobutan-2-yl)-1-(4-fluorobenzyl)-1H-indazole-3-carboxamide (AB-FUBINACA) identified as designer drugs in illegal products // Forensic Toxicol. — 2013. — Vol. 31. — P. 93—100.

18. Катаев С.С., Зеленина Н.Б., Дворская О.Н. Идентификация маркеров каннабимиметиков PB-22 и PB-22F в моче методом ГХ-МС // Бутлеровские сообщения. — 2013. — Т. 34, №4. — С. 116—122.

19. Катаев С.С., Зеленина Н.Б., Дворская О.Н. Идентификация метаболитов каннабимиметика AB-PINACA в моче методом ГХ-МС // Бутлеровские сообщения. — 2013. — Т. 35, №9. — С. 131—138.

20. Савчук С.А., Никитина Н.М., Зулаева А.С., Несмеянова Н.И., Константинова С.Д. Применение методов ГХ-МС и ВЭЖХ-МС/МС для определения наркотических веществ в волосах // Наркология. — 2012. — №10. — С. 72—79.

21. Шевырин В.А., Мелкозеров В.П., Моржерин Ю.Ю. Идентификация и аналитические характеристики двух новых синтетических каннабиноидов — производных индазола // Бутлеровские сообщения. — 2012. — Т. 30, №4. — С. 93—98.

22. Савчук С.А., Гофенберг М.А., Никитина Н.М., Надеждин А.В., Тетенова Т.Ю. Определение маркеров синтетических каннабимиметиков PB-22, PB-22F, AB-PINACA, AB-FUBINACA в волосах и моче методом ГХ-МС // Наркология. — 2013. — №11. — С. 60—66.

CHROMATOGRAPHY-MASS SPECTROMETRIC DETERMINATION OF THE NEW DRUG METOKSETAMIN AND SYNTHETIC CANNABIMIMETICS PB22, PB22F, AB-PINACA, AB-FUBINACA, FUB-PB-22 IN BIOLOGICAL FLUIDS AND HAIR SAMPLES SPENT IN DRUG TREATMENT CLINIC (NABEREZHNYE CHELNY)

GIZETDINOVA L.A., MINGAZOV A.A., NUGMANOVA R.R., DERNOVA O.A., PILYAEVA A.R., SAVCHUK S.A.