Ф А 2.2.1-32-367

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
факультет фармацевтичних технологій та менеджменту
кафедра медичної хімії

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

на тему: **«РОЗРОБКА МЕТОДИКИ ГАЗОХРОМАТОГРАФІЧНОГО АНАЛІЗУ КУРИЛЬНИХ СУМІШЕЙ, ЩО МІСТЯТЬ СИНТЕТИЧНІ КАНАБІНОЇДИ»**

Виконав: здобувач вищої освіти групи Фс18(4,5з)мед-01б
спеціальності: 226 Фармація, промислова фармація
освітньої програми Фармація
Інна АЛЕКСЄЄВА
Керівник: доцент закладу вищої освіти кафедри медичної хімії, к. фарм. н., доцент Ірина СИЧ
Рецензент: доцент закладу вищої освіти кафедри, к. фарм. н., доцент Наталія БЕВЗ

Харків – 2023 рік

АНОТАЦІЯ

В даній роботі розглянута загальна характеристика синтетичних канабіноїдів, їх структура та фармакохімічні характеристики. Розглянуті відомі способи дослідження та розроблені способи пробопідготовки та визначення синтетичних канабіноїдів методами газової хроматографії з масселективним детектуванням як об’єкта судової експертизи. Кваліфікаційна робота складається зі вступу, чотирьох розділів, загальних висновків та списку використаної літератури. Зміст роботи викладений на 51 сторінках, проілюстрована 35 рисунками та 10 таблицями, містить 64 джерела літератури.

Ключові слова: синтетичні канабіноїди, суміш для паління, ідентифікація, газова хроматографія, пробопідготовка, судова експертиза.

ANNOTATION

This work deals with the general characteristics of synthetic cannabinoids, their structure and pharmacochemical characteristics. Known research methods and developed methods of sample preparation and determination of synthetic cannabinoids by gas chromatography methods with mass selective detection as an object of forensic examination are considered. The qualification work consists of an introduction, four chapters, general conclusions and a list of used literature. The content of the work is laid out on 51 pages, illustrated with 35 figures and 10 tables, and contains 64 sources of literature.

Key words: synthetic cannabinoids, smoking mixture, identification, gas chromatography, sample preparation, forensic examination.

ЗМІСТ

	Стр.
ВСТУП	**5**
РОЗДІЛ 1 СКЛАД, СТРУКТУРА, ФАРМАКОХІМІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ТА СИНТЕЗ СУМІШЕЙ ДЛЯ ПАЛІННЯ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)	**8**
1.1 Склад сумішей для паління	**8**
1.2 Синтетичні канабіноїди: структура, фармакохімічні властивості та синтез	**10**
1.3 Суміші для паління об'єкт аналізу	**18**
1.3.1 Особливості експертних підходів	**18**
1.3.2 Ідентифікація фізіологічно активної речовини	**21**
Висновки до розділу 1	**25**
РОЗДІЛ 2 АПАРАТУРНЕ ОФОРМЛЕННЯ, РЕАКТИВИ, ДОСЛІДЖУВАНІ ЗРАЗКИ	**26**
2.1 Прилади, устаткування, реактиви	**26**
2.2 Досліджувані зразки та процедури їх попередніх випробувань	**26**
Висновки до розділу 2	**30**
РОЗДІЛ 3 ГАЗОВА ХРОМАТОГРАФІЯ З МАССЕКЛЕКТИВНИМ ДЕТЕКТУВАННЯМ ІДЕНТИФІКАЦІЯ СИНТЕТИЧНИХ КАННАБІНОЇДІВ	**31**
3.1 Техніка експерименту	**31**
3.2 Домішки у складі сумішей для паління	**32**
Висновки до розділу 3	**40**
РОЗДІЛ 4 ГХ-ПРОФІЛЮВАННЯ КОМПОНЕНТІВ НАПОВНЮВАЧІВ КС-СК	**41**
4.1 Пробопідготовка зразків	**41**
4.2 Оптимізація умов ГХ вимірювань	**45**
4.3 Ідентифікація профільних компонентів	**47**
Висновки до розділу 4	**50**
ВИСНОВКИ	**51**
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	**52**

СПИСОК СКОРОЧЕНЬ

СК – синтетичні канабіноїди

СП – суміш для паління

НПС – нові психоактивні сполуки

ПР – психотропні речовини

LD – летальна доза

ГХ-МС – газова хроматографія з масселективним детектуванням

ТШХ – тонкошарова хроматографія

ІЧ – інфрачервона спектроскопія

ВЕРХ – високо ефективна рідинна хроматографія

ГРХ – газорідинна хроматографія

УФ – ультрафіолет

SWGDRUG - Scientific Working Group for the Analysis of Seized Drugs

ВСТУП

Актуальність теми. На сьогодні у сучасному світі спостерігається безпрецедентне зростання потенційно небезпечних нових психоактивних сполук [1, 2]. Причому значна частина цих сполук припадає на синтетичні каннабіноїди (СК). У свою чергу, СК часто використовуються для приготування сумішей для паління (СП-СК), що мають характерну для конопель психоактивну дію. СП-СК особливо популярні серед молоді, завдяки їх доступності – поширенню безконтактним способом через мережу інтернет, низьку вартість та очікувану безпеку порівняно з класичними наркотиками [3]. Разом з тим компоненти СП-СК в організмі людини можуть викликати ряд тяжких токсичних розладів. Найбільш поширеними токсичними явищами є психічні (порушення свідомості, галюцинації, агресія) та соматичні (тахікардія, підйом артеріального тиску, ниркова недостатність) відхилення, у тому числі летальні наслідки [4-6]. Постановою Кабінету міністрів України від 06.05.2000 р. № 770 ряд СК був включений до Список I Таблиці II психотропних речовин (ПР), обіг яких на території України заборонено.

На тлі стійкої тенденції постійної зміни («оновлення») асортименту СП-СК дуже важливим є моніторинг їхнього компонентного складу. Дані щодо компонентного складу СП-СК необхідні відповідним фахівцям для оцінки ризиків заподіяння шкоди здоров'ю потенційних споживачів та вживання адекватних терапевтичних заходів у разі настання випадків інтоксикації, а також при розслідуванні інцидентів, пов'язаних з незаконним обігом ПР, та вжиття відповідних заходів законодавчого регулювання.

СП-СК – це багатокомпонентні суміші. Основними складовими сумішей є матриця (70-90% маси), фізіологічно активна речовина та різні домішки. Найбільш значущою з погляду правозастосовної практики і, відповідно, найбільш опрацьованою аналітичним завданням є ідентифікація фізіологічно

активної речовини у складі СП-СК. Для її вирішення переважно використовуються хроматографічні методи (ГХ, ВЕРХ з різними детекторами, ТШХ), а також методи ЯМР-, ІЧ- та УФ-спектроскопії. "Золотим стандартом" вважається метод ГХ-МС. Сьогодні ідентифіковано приблизно 180 видів СК різної хімічної структури.

Наповнювачі (домішки) у СП-СК практично не досліджувалися. Разом з тим, поряд з активною речовиною, ці сполуки формують індивідуальний «хімічний профіль» зразка, що дуже важливо при проведенні порівняльних досліджень. Склад профільних сполук з ідентифікаційною значимістю може бути додатковим інструментом для встановлення джерела походження вилучених з нелегального обороту СП-СК та їх ланцюжка нелегального поширення.

Цікаво отримати повний аналітичний образ СП-СК. Як базовий метод був обраний газохроматографічний метод.

Мета дослідження. Метою цієї роботи є розробка методик ГХ-аналізу для якісного та напівкількісного визначення компонентного складу сумішей для паління, що містять синтетичні канабіноїди, з урахуванням експертних підходів.

З**авдання дослідження**. Розробка методик дослідження супішей для паління, які містять синтетичні канабіноїди методом газової хроматографії з масселективним детектуванням за наступними етапами:

- сформувати статистично значиму картину поширеності видів СК, наявності відповідних домішок та можливості їх ГХ-визначення на основі даних експертних досліджень реальних зразків СП-СК.

- розробити способи пробопідготовки та оптимізувати процедури вимірювань для ГХ-визначення компонентного складу сумішей для паління.

- з отриманих результатів сформулювати алгоритм комплексного експертного дослідження КС-СК як цілісного об'єкта.

Предметом дослідження є розробка методів експертного дослідження синтетичних канабіноїдів як об’єктів судової експертизи.

Об’єкт дослідження – синтетичні канабіноїди.

Методи дослідження. Газова хроматографія, газова хроматографія з масселективним детектуванням, оптична мікроскопія, розрахунки результатів проводили за допомогою програми програмного забезпечення Shimadzu LabSolution та комерційних бібліотек NIST, SWGDRUGS, Willey. Для приготування робочого зразка використовували синтетичні канабіноїди, використовували допоміжні речовини і реактиви, які відповідають вимогам ДФУ.

Практичне значення отриманих результатів. Розроблені методики можуть бути використані для якісного та кількісного визначення синтетичних канабіноїдів при проведенні судових експертиз в лабораторіях різного рівня оснащення.

Елементи наукових досліджень.

1. Вперше встановлено основні види аналітів, які формують СП-СК як цілісний об'єкт та запропоновано підходи до їх визначення.

2. Знайдено оптимальні умови, що забезпечують ГХ-ПІД/МС визначення полярних органічних компонентів наповнювачів різної летючості СК, що містять пластичні суміші для паління.

Структура та обсяг кваліфікаційної роботи. Кваліфікаційна робота складається зі вступу, чотирьох розділів, загальних висновків, переліку використаних літературних джерел, викладена на 51 сторінках друкованого тексту, проілюстрована 35 рисунками та 2 таблицями, містить 64 джерел літератури.

РОЗДІЛ 1
СКЛАД, СТРУКТУРА, ФАРМАКОХІМІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ТА СИНТЕЗ СУМІШЕЙ ДЛЯ ПАЛІННЯ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

1.1 Склад сумішей для паління

Суміші для паління - загальна назва ароматизованих рослинних та синтетичних міксів, у складі яких присутні психоактивні компоненти, що викликають ейфорію та формують залежність. Основою сумішей для паління є різні матриці, що визначають їх умовні назви: «розсип», «спайс», «пластилін», «шоколад». Так, «розсип» і "спайс" - тонкоподрібнена трав'яна суміш, як правило, з використанням аптечної трави (ромашки, конюшини, собачої кропиви), "шоколад", "пластилін" - пластичні речовини коричневого кольору і т.д.

У 2000-х роках у мережі інтернет почали з'являтися повідомлення про «легальні наркотики» - курильні суміші, які були здатні надавати фармакологічну дію, аналогічну наркотичним засобам, що виготовляються з конопель. За заявами виробників очікуваний ефект досягався за рахунок синергії натуральних компонентів з лікарських трав, таких як блакитний лотос (*Nymphacea caerulea*), собача кропива сибірська (*Leonurus sibiricus*), канавалія морська (*Canavalia maritima*). Продаж в країнах Європи під виглядом пахощів здійснювалася переважно через інтернет-магазини під брендом Spice (у перекладі з англ. «приправа, спеція») – Рис. 1.1.

У 2009 році у звіті Європейського центру моніторингу наркотиків та наркоманії (EMCDDA) було опубліковано результати експертних досліджень, які показали, що дія «Spice» зумовлена не рослинними компонентами, а синтетичними агоністами канабіноїдних рецепторів різної хімічної природи у складі рослинної матриці [1]. У тому ж році в КС були ідентифіковані синтетичні

аналоги основного психоактивного компонента марихуани Δ9-тетрагідроканнабінолу (ТГК) CP 47,497 та JWH-018 [8].

Рисунок 1.1. Пакування сумішей для паління «Spice»

З цього часу ринок «Spice» із новими видами СК почав швидко розширюватися. Якщо у 2008 р. було ідентифіковано один вид СК, то наступні роки рахунок йшов на десятки сполук. В даний час Spice («спайс») використовується як загальне ім'я, що характеризує будь-які курильні суміші, що містять синтетичні канабіноїди.

Поряд із появою нових видів СК, на території ЄС спостерігалося різке зростання вилучень із незаконного обігу «спайсів». Так, у 2016 р. повідомлялося про більш ніж 3 тис. випадків виявлення фактів незаконного зберігання та збуту сумішей загальною масою близько 1,5 т. Так як багато СК значно активніші за природний ТГК, їх звичайні ефективні дози можуть становити для деяких речовин менше 1 мг (для порівняння – ефективна доза природного ТГК становить 3 мг). З урахуванням високої активності СК кількість вилучених речовин відповідає десяткам мільйонів разових доз [9-12].

Багато в чому аналогічна картина спостерігалася на території України та суміжних країн ЄС. Так само, як і в Європі, «спайси» спочатку поширювалися у вигляді подрібнених лікарських трав із нанесеною на них фізіологічно активною речовиною. З 2011 р. почали поширюватися СК- містять суміші у формі твердих,

пластичних або мазеподібних речовин темно-коричневого кольору, що отримали вуличні назви "шоколад", "твердий", "ТВ", "синтетичний гашиш". Подібна форма через її компактність зручніша для прихованого зберігання і в даний час часто є домінуючою в багатьох країнах. На Рис. 1.2 наведена інформація EMCDDA про порівняльну поширеність різних форм курильних сумішей [12].

На відміну від КС-СК з рослинними або порошкоподібними матрицями з відносно невеликим числом компонентів, пластичні курильні суміші, як правило, є складнішими системами речовин різної природи. Дані суміші не піддаються розведенню після виготовлення, враховуючи, що гомогенізація в'язкої пластичної речовини малої маси в побутових умовах скрутна.

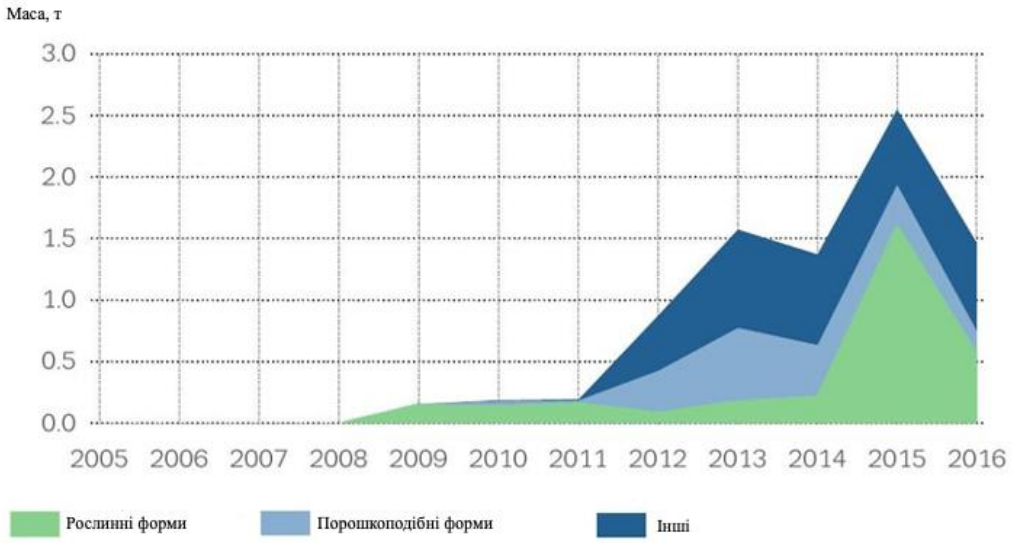

Рис. 1.2 Інформація EMCDDA про порівняльну поширеність різних форм курильних сумішей

1.2 Синтетичні канабіноїди: структура, фармакохімічні властивості та синтез

Канабіноїди – група хімічних сполук, похідних 2-заміщеного 5-амілрезорцину. У природі присутні в рослинах сімейства конопляних

(Cannabaceae) і є фізіологічно активними речовинами гашишу та марихуани. Психотропний ефект виникає при дії Δ-9 тетрагідроканнабінолу, який вибірково зв'язується з певними рецепторами головного мозку [13].

Протягом останніх 40 років незалежні групи вчених у пошуках речовин, що мають лікарські властивості канабісу, але без властивих йому негативних побічних ефектів, синтезували та охарактеризували ряд сполук з різною структурою. Було встановлено наявність у структурі даних сполук функціональних груп певної просторової конфігурації, відповідальних за взаємодію з рецепторами (Рисунок 1.3) [14].

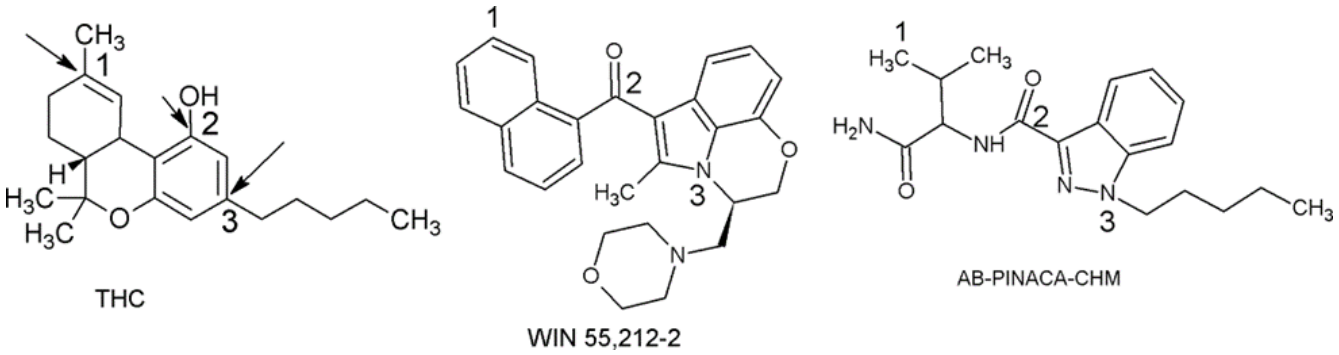

Рисунок 1.3 – Функціональні групи (1-3) у структурі синтетичних канабіноїдів, що визначають їх фізіологічну активність

В даний час синтезовано та досліджено близько 200 індивідуальних СК, яким присвоєно різні кодові позначення, пов'язані з іменами вчених ("JWH" - John W. Huffman; "AM" - Олександрос Макріяніс) або установ, компаній, де вони були вперше синтезовані (" HU" - Єврейський університет в Єрусалимі; "CP" - Charles Pfizer). Однак найбільш поширені кодові позначення СК, пов'язані з їхньою хімічною структурою. EMCDDA використовувала цей підхід для опису нових сполук та їх складових частин: хвіст, ядро, сполучна група та приєднана група [11].

Відомі різні класифікації СК, що ґрунтуються на присутності характерних груп у структурі їх молекул. Одна з найповніших подібних класифікацій

запропонована вченим Шевиріним В.А. (Таблиця 1.1), а структурні формули відповідних видів СК наведено на рисунку 4.

Таблиця 1.1

Класифікація синтетичних каннабіноїдів відповідно до їх хімічної структури

Синтетичні канабіноїди	
Група	Короткі найменування типових сполук з групи
Класичні канабіноїди	HU-210
Некласичні канабіноїди	CP 55,940
Гібридні канабіноїди	AM-4030
3- карбоніліндоли, 4- що поділяються на групи: • нафтоіліндоли; • фенілацетиліндоли; • бензоіліндоли; • індол-3-карбоксаміди; • індол-3-карбоксілати	JWH-018, JWH-250, JWH-251 JWH-184 MBA-CHM CBL-2201
Циклоалканкарбоніліндоли, що поділяються на підгрупи: • адамантанкарбоніліндоли; • циклопропанкарбоніліндоли	ACBM-018 TMCP-018
3-карбоніліндазоли, що подразділяються на групи: • нафтоіліндазоли; • індазол-3-карбоксаміди; • індазол-3-карбоксілати	AM(M)-2201 MBA(N)-018 QCBL(N)-Bz-F
Ейкозаноїди	AM-356

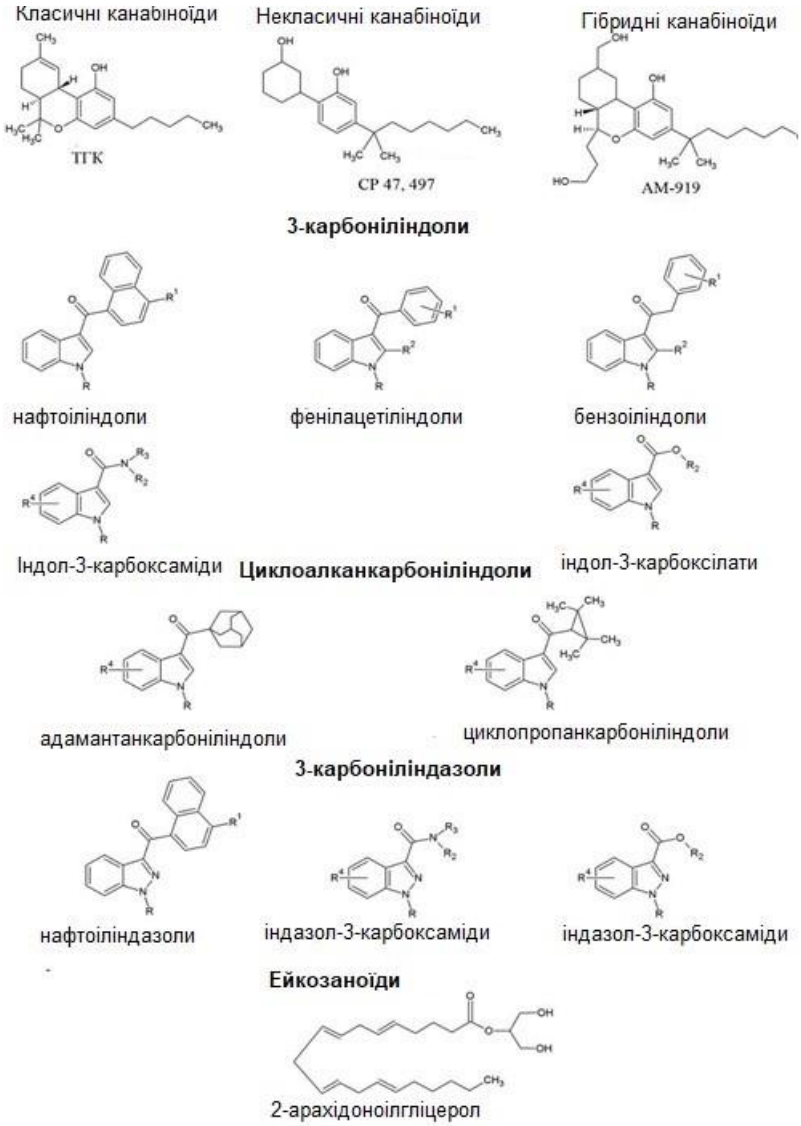

Рисунок 1.4 – Структурні формули синтетичних канабіноїдів найпоширеніших видів

Всі канабіноїди легко розчиняються в жирах і при попаданні в організм людини накопичуються в тканинах, багатих на ліпіди (мозку, легких, внутрішніх статевих органах). Синтетичні канабіноїди є агоністами (лігандами) канабіноїдних рецепторів CB1 та CB2. Рецептор CB1 експресується, головним чином, у головному мозку (центральній нервовій системі), а також у легенях, печінці та нирках. Рецептор CB2 експресується переважно в імунній системі та в кровотворних клітинах, проте подальші дослідження виявили існування цих

рецепторів також у деяких частинах мозку. Є дані, що дають підстави припускати існування інших каннабіноїдних рецепторів, які експресуються в ендотеліальних клітинах та ЦНС. Розташування канабіноїдних рецепторів у різних системах організму добре пояснює різноманітність ефектів СК. Їхній основний психоактивний ефект обумовлений впливом на рецептори CB1 у корі головного мозку [13].

Встановлення структури Δ9-тетрагідроканабінолу, основного психоактивного компоненту марихуани у 1964 році, відіграло важливу роль у дослідженнях, присвячених медичному використанню лікарської марихуани та інших канабіноїдів, які використовуються в даний час [15,16]. Лікарські властивості ТГК включають знеболювальну, протисудомну, протизапальну, жарознижувальну, протиблювотну та стимулюючу апетит дію. Пацієнти, які страждають від розсіяного склерозу, хворі на рак, які проходять хіміотерапію, страждають на глаукому, нервову анорексію через ВІЛ/СНІД, належать до тих, хто відчуває полегшення симптомів при використанні канабіноїдів [17-20]. Однак, використання канабіноїдів у медицині не набуло широкого поширення як через побічні ефекти, такі як погіршення моторики та когнітивних функцій мозку, так і через здатність викликати синдром відміни та залежність [21-24]. Істотний потенціал зловживання в наркотичних цілях призвів до визнання конопель та препаратів на її основі наркотичним засобом та відповідної заборони до поширення на міжнародному рівні [25]. Разом з тим, висока фізіологічна активність СК та потенціал їхнього терапевтичного застосування мотивували створення низки нових сполук [26-31].

Токсична дія малих концентрацій СК проявляється у відносно легких фізіологічних змінах, таких як зміна настрою та сприйняття, червоні чи налиті кров'ю очі, розширені зіниці, жар, пітливість та сухість у роті.

Наслідки вживання можуть бути різними, від слабких симптомів інтоксикації до серйозних негативних впливів, спрямованих на конкретні органи

[32 – 38]. СК мають високу наркогенність: синдром психічної залежності може сформуватися досить швидко - після декількох випадків вживання [39 - 43]. У середньому період епізодичного вживання СК становить від 1 до 6 місяців. Формування фізичної залежності відбувається у набагато короткі терміни, порівняно із залежністю від ТГК. Синдром відміни СК проявляється значно важче, порівняно із залежністю від ТГК. Різке припинення щоденного використання СК викликає синдром відміни, пов'язаний з такими важкими симптомами, як повторювані судоми та серцево-судинні та респіраторні ризики (тахікардія, біль у грудях, серцебиття, задишка). Поширені побічні ефекти середнього ступеня тяжкості включають непереборне бажання повторного вживання СК, головний біль, сильну тривогу, безсоння, нудоту і блювання, втрату апетиту і пітливість.

Методи синтезу СК описані як у статтях [44-48], так і в патентах [49-52], що знаходяться у відкритому доступі. Незважаючи на широке розмаїття видів СК, простежуються загальні алгоритми, що лежать в основі методів їх синтезу. Зазначені алгоритми можна продемонструвати на прикладі СК на основі індолу, як найбільш поширеного.

Виділяють дво- та тристадійні схеми синтезу СК. У разі двостадійної схеми (Рисунок 1.5) на етапі 1a відбувається N-алкілування індолу з утворенням сполуки II. На наступному етапі 1b відбувається завершення синтезу з утворенням речовини III в результаті приєднання до 3 положення N-заміщеного індолу групи, що містить у своїй структурі сполучну та приєднану групу. В іншому випадку на етапі 2a відбувається приєднання функціональної групи 3 положення індолу з утворенням речовини IV і потім на етапі 2b проводиться N-алкілування отриманої сполуки з утворенням речовини III.

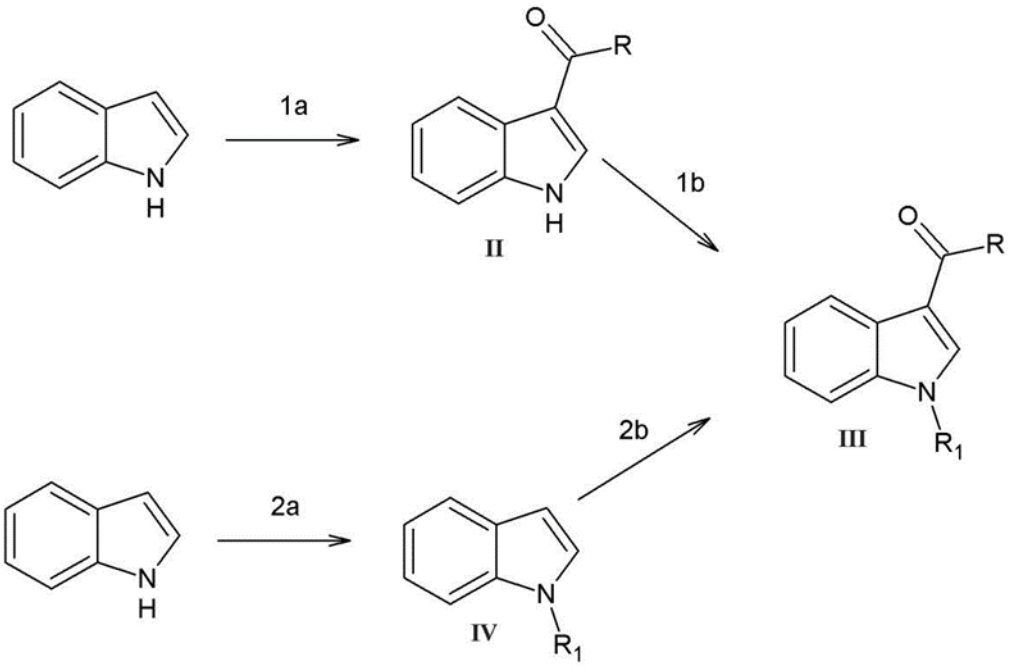

Рисунок 1.5 – Загальна двостадійна схема синтезу деяких видів СК

Синтез шляхом 1a-1b здійснювався для СК першого покоління, таких як нафтоїліндоли, фенілацетиліндоли, бензоїліндоли. Синтез шляхом 2a-2b здійснювався для СК із групи циклопропанкарбоніліндолів.

У наступних поколіннях СК у зв'язку з ускладненням структури та появою нових функціональних груп виникла потреба у тристадійному синтезі (Рисунок 1.6).

При синтезі за схемою 1 на етапі 1a відбувається N-алкілування індолу з утворенням сполуки (I). На етапі 1b проводиться приєднання реакційної групи A в 3 положення N-заміщеного індолу з утворенням сполуки (II). На етапі 1c відбувається завершення синтезу з утворенням кінцевої сполуки (III) у результаті додавання приєднаної групи R2.

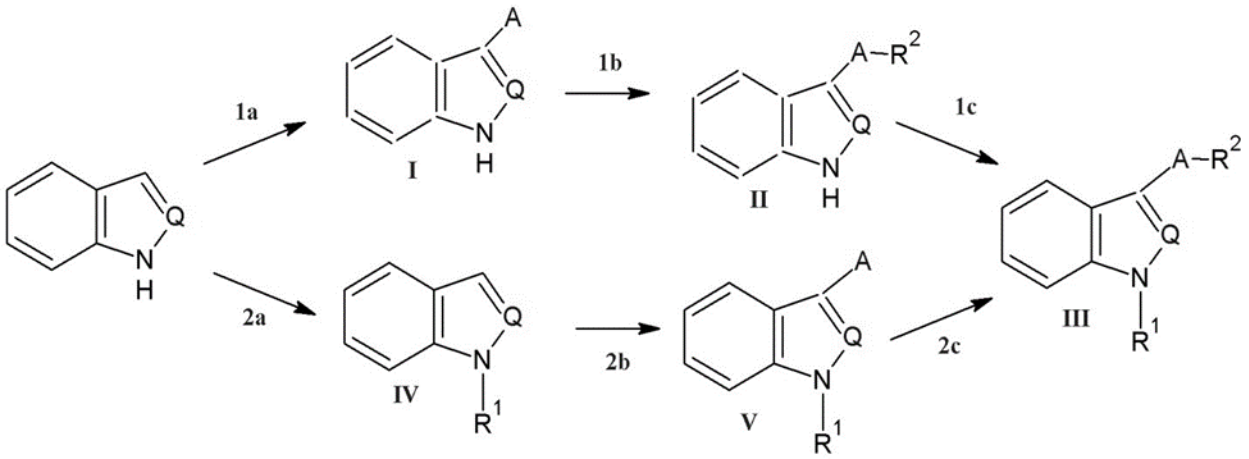

Рисунок 1.6 – Загальна тристадійна схема синтезу деяких видів СК

Альтернативним способом синтезу, що приводить до тієї ж кінцевої сполуки, є схема 2, в якій на етапі 2a проводиться приєднання функціональної групи 3 положення індолу з утворенням сполуки (IV). Далі на етапі 2b відбувається додавання приєднаної групи R1 з утворенням сполуки (V). Завершальним етапом 2c є N-алкілування з утворенням кінцевої сполуки (III).

Таким чином, наявні дані щодо способів синтезу свідчать про різноманіття варіантів синтезу та реагентів, які можуть бути використані при створенні СК. Враховуючи, що при цьому схеми синтезу є як мінімум двостадійними, можна зробити висновок про те, що з високою ймовірністю якісний і кількісний склад речовин, що потрапляють у кінцевий продукт, буде істотно відрізнятися при різних способах синтезу.

Можна виділити такі групи речовин, які потенційно можуть бути виявлені в СК:

1) речовини, що формують ядро СК (індол, індазол);

2) реактиви, що використовуються для формування хвостової групи (алкіл, арилалкіл, циклоакіл або 5-галоген - броміди, хлориди, йодиди, метилсульфоніл, трифторметилсульфоніл);

3) реактиви, що використовуються для формування приєднаної групи (нафтоїл, феніл, бензоїл – карбрнілхлориди, алкіл-хлороформати, нафтоли, нафтиламіни, 8-оксихінолін, амідин, метил 2-аміно-3,3-диметилбутаноат та ін.);

4) розчинники (тетрагідрофуран, діетиловий ефір, ДМСО, ДМФ, етилацетат та ін);

5) допоміжні речовини (реактиви Гриньяра, гідрид натрію, алкілхлориди алюмінію та інші кислоти Льюїса). 1-[біс(диметиламіно)метилен]-1H-1,2,3-триазоло[4,5-b]піридин-3 оксид гексафторфосфат. 3-диметиламінопропіл)карбодіїмід у чистому вигляді та в поєднанні гідроксибензотріазолом (органічні основи: триетиламін; діізопропілетиламін; трибутиламін. Неорганічні основи: карбонати та гідроксиди натрію; калію, цезію та ін.).

6) побічні продукти реакції (речовини, що у результаті переетерифікації, гідролізу, відщеплення кінцевої групи та інших).

Значну частину СК можна легко синтезувати за допомогою стандартного лабораторного обладнання та доступних реагентів.

1.3 Суміші для паління як об’єкт аналізу

1.3.1 Особливості експертних підходів

Вимоги до експертного дослідження НР формально відповідають класичній схемі аналітичного циклу, однак є низка специфічних особливостей. Так, завданнями експертного дослідження СР, може бути не тільки ідентифікація компонентів, а й відповідь на ряд питань, наприклад, про зв'язок двох і більше партій проб наркотиків, походження зразків, спосіб виробництва, (кустарне, лабораторне), прекурсорів та ін.

Вибір оптимальної схеми експертного дослідження СР залежить від багатьох факторів, проте, основною вимогою є досягнення достовірності отриманих даних. У цьому питанні дуже корисними є рекомендації наукової групи SWGDRUG щодо аналізу вилучених наркотиків [53]. Ця група, що складається приблизно з 30 провідних експертів відомих профільних центрів з усього світу, з 1997 р. працює над підвищенням якості судово-медичної експертизи вилучених наркотиків та реагує на потреби судово-медичної спільноти шляхом підтримки міжнародних стандартів та надання ресурсів для надання допомоги лабораторіям у дотриманні цих стандартів.

Відбір проб. Відбір проб КС-СК здійснюється за стандартними процедурами, що дозволяють отримати репрезентовану пробу [54-55]. При відборі проб вилучені продукти групують за вказаними торговими назвами та зовнішнім виглядом упаковок. Використання апріорної інформації про характерні ознаки продуктів (байесовський підхід) дозволяє скоротити кількість проб, що відбираються, на 5-10 % при збереженні точності оцінювання.

Попередні випробування. Дослідження методом мікроскопії, зазвичай, проводиться для виявлення ознак, діагностично значимих і достатніх для визначення таксономічної приналежності частинок рослинного походження, які містяться у складі досліджуваної речовини та віднесення її до конкретного виду рослини. Крім того, оцінюється гомогенність та наявність механічних домішок, а також розчинність у різних розчинниках. Методологія порівняльного дослідження методом мікроскопії КС-СК нині не розроблено. Випробування методами кольорових або мікрокристалічних реакцій є недоцільними внаслідок низької концентрації аналітів.

Пробопідготовка. Стадія пробопідготовки СП-СК може включати пряму екстракцію органічними розчинниками з подальшим центрифугуванням або фільтруванням осаду для поділу фаз. Використовують середньо полярні чи неполярні розчинники: метанол, етанол, ацетонітрил, етилацетат, ацетон або

ізооктан. У деяких випадках застосовується препаративна ТШХ. В даний час відсутня інформація про вплив умов зберігання на склад СП-СК, а також методи їх консервації. Відомі способи пробопідготовки оптимальні для вирішення завдань ідентифікації основної фізіологічно активної речовини, але недостатньо ефективні для виявлення домішок, що мають важливе криміналістичне значення.

Методи аналізу. Відповідно до даних авторів [53], методи, включені до аналітичного циклу, умовно поділяються на три категорії залежно від рівня селективності (Таблиця 1.2). При цьому реалізація схеми руху від категорії С до категорії А забезпечує скринінг проб і дозволяє отримати науково обґрунтований висновок, що стосується юрисдикції та лабораторних протоколів.

Опрацювання результатів. Значною проблемою є аналіз великих масивів даних, оскільки кількість об'єктів, між якими необхідно встановити зв'язок, може становити кілька десятків. Інформації щодо застосування методів математичної обробки результатів хімічного аналізу КС-СК у літературі не виявлено.

Таблиця 1.2

Категорії аналітичних методів за рівнями селективності

Категорія А (селективність через структурну інформацію)	ЯМР-, ІЧ- спектроскопія Масс-спектроскопія Спектроскопія комбінаційного розсіювання Рентгенівська дифрактометрія
Категорія В (селективність через фізичну та хімічну інформацію)	Капілярний електрофорез Хроматографічні (ГХ, ВЕРХ, ТШХ, надкритична рідинна) УФ-, видима абсорбційна спектроскопія Мікроскопічні дослідження

Категорія С (селективність через загальні характеристики)	Колірні випробування Флуоресцентна спектроскопія Імуноферментний аналіз Фармацевтичні ідентифікатори, Температура плавлення

Таким чином, є необхідність розробки універсального алгоритму аналізу СП-СК на основі поєднання наявних експертних напрацювань застосування різних методів та нових процедур.

1.3.2 Ідентифікація фізіологічно активної речовини

Найбільш значущою з погляду правозастосовної практики і, відповідно, найбільш опрацьованим завданням є ідентифікація фізіологічно активної речовини у складі КС-СК. З цією метою використовують різноманітні окремі (ТШХ, ІЧ-, УФ-, ЯМР-спектроскопія), гібридні (ВЕРХ, ГХ з різними детекторами) та комбіновані методи. Вибір методу або комбінації методів багато в чому визначається ступенем складності задачі, що вирішується, а також наявністю адекватного інструментарію і підготовленого персоналу. Разом з тим, як основні методи розглядаються гібридні. Принаймні факторами в даному випадку є висока інформативність методів, яка підтримується рядом хроматографічних, мас-спектрометричних параметрів, комп'ютерною обробкою результатів вимірювань, банками даних, стандартними зразками. Сучасний інструментарій гібридних методів з різноманітними нерухомими та рухомими фазами, детекторами дозволяє аналізувати багатокомпонентні суміші з високою швидкістю, відтворюваністю та селективністю.

Застосування ТШХ часом дуже корисно на етапі попередніх випробувань, а ЯМР-спектроскопії – задля встановлення структури раніше невідомих СК. Інші методи (Таблиця 2) за потреби виступають як джерела додаткової інформації.

Тонкошарова хроматографія. Метод ТШХ привабливий своєю економічністю, експресністю, варіативністю у виборі як стаціонарної, так і рухомої фаз для досягнення необхідної роздільної здатності, можливістю візуалізації хроматографічних зон шляхом обробки пластин різноманітними реагентами. Пробопідготовка СП-СК для ТШХ включає екстрагування наважки суміші для паління етиловим або метиловим спиртом при нагріванні. Хроматографування екстрактів здійснюється на пластинах типу «Sorbfil» у різних системах розчинників (гексан-ацетон, гексан-діетиловий ефір, толуол-ацетон-етанол та ін.) [56,57]. Виявлення хроматографічних зон на пластинах проводиться в УФ-променях та шляхом обробки хроматограм парами йоду, розчином йодплатинату калію, реактивами Марки, Манделіна. Застосування двох-трьох систем розчинників і двох реагентів, що виявляють, як правило, буває достатньо для прийняття ідентифікаційного рішення. Так, для синтетичних ендоканабіноїдів CP47, 497-C8, JWH-073, JWH-018 на пластинах «Sorbfil-ПТСХ-АФ-В-УФ» в підібраних системах розчинників величини хроматографічної рухливості (Rf) склали відповідно 10; 0,63; 0,66 (гексан-діетиловий ефір, 2:1) та 0,08; 0,54; 0,24 (гексан-хлороформ-чотирьоххлористий вуглець, 15:15:15). Для порівняння використовувався метанольний екстракт марихуани.

Застосування методу ТШХ у ряді випадків стримується необхідністю застосування стандартів сполук, оскільки числові значення Rf не можуть служити основою для однозначної ідентифікації сполук.

ІЧ-спектроскопія. Метод непогано зарекомендував себе у комбінації з ТШХ. Компонент витягується метанолом з поверхні ТШХ-пластини у відповідній хроматографічній зоні і пресується у таблетку з бромідом калію для досліджень на ІЧ-Фур'є спектрометрі. Так, в ІЧ-спектрі JWH-018 виявлені

характерні для структури молекули СК смуги CH_3- і CH_2-груп, α-заміщеного нафталінового та індольного циклів, а також СОН-групи.

Газова хроматографія. "Золотим стандартом" вважається комбінація ГХ-МС [58]. Обмеження ГХ-методів пов'язані в основному з двома обставинами. По-перше, виникають проблеми з ГХ-МС аналізом регіоізомерів (різне положення однакових функціональних груп або кратних зв'язків при однаковому вуглецевому скелеті молекул). Як додатковий метод в даному випадку може бути використаний ІЧ-спектроскопічний або комбінація ГХ-ПІД. Друга обставина пов'язана з недостатньою летючістю та термічною стабільністю визначених компонентів. У цих випадках з метою переведення визначених сполук у стабільну або летку форму потрібно проведення процедур дериватизації відповідних компонентів проби.

Високоефективна рідинна хроматографія. Метод ВЕРХ позбавлений вищезазначених обмежень. Розподіл компонентів СР проводять у більшості випадків на звернено-фазних сорбентах на основі силікагелю, модифікованого октадецильними групами (С18). Як рухомі фази служать суміші з різним співвідношенням води - ацетонітрилу або метанолу з модифікуючими добавками частіше органічних кислот. Перед хроматографуванням готують метанольні екстракти рослинних сумішей КС-СК, які попередньо центрифугують і фільтрують через мембранний фільтр з розміром пор не більше 0,5 мкм. Для ідентифікації аналітів застосовуються детектори заряджених аерозолів [59], УФ – детектори на діодній матриці [60] та мас-спектрометричні детектори різних типів [61 – 63].

Однак широкому впровадженню ВЕРХ в експертну практику заважає відносно висока вартість аналізів, що складається, зокрема, з жорстких вимог до якості витратних матеріалів (розчинників).

Інші методи. Залучення інших методів виправдане необхідністю подолання (вирішення) проблем, що виникають при ідентифікації СК

вищеописаними методами. Як правило, це високо витратні системи в частині експлуатації інструментарію, підтримки кваліфікованого персоналу і є надмірними в нашому випадку. Зазвичай СП-СК містять один або два фізіологічно активні компоненти і жорсткі вимоги до методів аналізу багатокомпонентних сумішей, не настільки категоричні. [58].

Ультрависокоефективна рідинна хроматографія. Системи УФЕЖХ дозволяють досягти підвищення ефективності поділу в порівнянні з ВЕРХ за рахунок більш високого тиску та сорбентів з частинками розміром менше 2 мкм.

Рідина хроматографія – тандемна мас-спектрометрія. ЖХ-МС/МС поєднує в собі селективність звичайної ВЕРХ або УВЕРХ з чутливістю тандемного мас-спектрометричного детектора.

Спектрометрія іонної рухливості використовується для швидкого скринінгу СР.

Іонізаційна мас-спектрометрія у різних варіантах дозволяє проводити відбір проб безпосередньо з поверхні без необхідності екстрагування.

Мас-спектрометрія високої роздільної здатності дає додаткову інформацію про елементний склад нових синтетичних молекул.

Матрично-активована лазерно десорбційна іонізація – проміжна мас-спектрометрія – прямий якісний аналіз сумішей без пробопідготовки.

Ядерна магнітно-резонансна спектроскопія - ^{1}Н ЯМР-і ^{13}С ЯМР-ідентифікація невідомих нових СК та виявлення їх структури.

Висновки до розділу 1:

1. У цьому розділі проведений літературний огляд синтетичних канабіноїдів, розглянуто їх хімічні структури, фармакохімічні властивості та способи синтезу.

2. Літературний пошук показав, що основна частина публікацій з хімічного аналізу нових синтетичних канабіноїдів застаріла. У науковій літературі практично відсутня інформація про методики екстракції та визначення нових сумішей для паління, які містять синтетичні канабіноїди як об'єкта судової експертизи. Таким чином, актуальною є розробка методик ідентифікації синтетичних канабіноїдів з використанням сучасних високочутливих методів.

РОЗДІЛ 2
АПАРАТУРНЕ ОФОРМЛЕННЯ, РЕАКТИВИ, ДОСЛІДЖУВАНІ ЗРАЗКИ

2.1 Прилади, устаткування, реактиви

У роботі використовувалися наступні основні аналітичні прилади та обладнання:

• газовий хроматограф Shimadzu Nexis GC-2030 з ПІД (програмний пакет LabSolution);

• газовий хроматограф «Shimadzu GCMS-2020» з мас-спектрометричним детектором «GCMS-QP2020» (Shimadzu, Японія);

• кварцові капілярні колонки типу TR-5MS, HP-5MS (L=30 м, Ø=0,25 мм, фаза – (5% феніл)-диметилполісілоксан, Thermo Fisher Scientific, США);

• бінокулярний мікроскоп «Kern»;

У роботі використовувалися такі реактиви та матеріали:

Метанол (Merck, х.ч.), дихлорметан, тетрагідрофуран, діоксан (усі ч.д.а.), трихлорметан, гідроксиламіну гідрохлорид, гексан (всі ч.д.а.), тетрахлорметан (ч.д.а.), діетиламін, триетиламін (обидва ч.д.а.), толуол (ч.д.а.), піридин (ч.д.а), BSTFA (NO-біс(триметилсиліл)-трифторацетамід) (х.ч.), лактоза, мальтоза, сахароза (х.ч.).

2.2 Досліджувані зразки та процедури їх попередніх випробувань

У період з січня 2016 року по теперішній час при проведенні експертиз наркотичних засобів і психотропних речовин ННЦ «ІСЕ ім. Засл. проф. М.С. Бокаріуса» накопичено значний матеріал у вигляді звітів, баз даних, хроматограм

та мас- спектрів. У зв'язку з тим, що ідентифікаційні параметри вносилися до баз даних часом через значний час після появи нових СК в незаконному обігу, накопичилася певна кількість матеріалу, в якому, на той момент часу, провести ідентифікацію сполук не було можливим. Метою роботи ми поставили систематизувати наявні дані, а також провести ретроспективний аналіз накопиченого матеріалу у зв'язку з розширенням списків небезпечних СК, оновленням баз даних, у тому числі бібліотек мас-спектрів з метою визначення видів СК. Також проводився пошук та встановлення складу домішок досліджених раніше зразків визначення їх зв'язку з типом СК.

Аналізовані зразки, як правило, були твердими, пластичними або порошкоподібними речовинами, а також представляли собою висушені фрагменти рослин різної дисперсності. Перед вимірами проводили низку процедур відповідно до відомчих методичних рекомендацій.

Питання «схожість» представлених об'єктів апріорно вирішувалося порівнянням низки зовнішніх (колір, запах, консистенція, характерні включення), і навіть морфологічних і анатомічних ознак. У іншому разі використовували метод оптичної мікроскопії.

З цією метою фрагменти представницьких проб виділених груп зразків розглядали у полі зору мікроскопа у відбитому штучному світлі на білому та чорному тлі зі збільшенням від 10 до 40 раз. На цій стадії проявляються зовнішні морфологічні ознаки рослинної матриці зразка, а також визначається кількість компонентів, що входять до її складу. На Рисунках 2.1, 2.2 наведено типові порівняльні знімки зразків гашишу та КС-СК з MDMB(N)-2201.

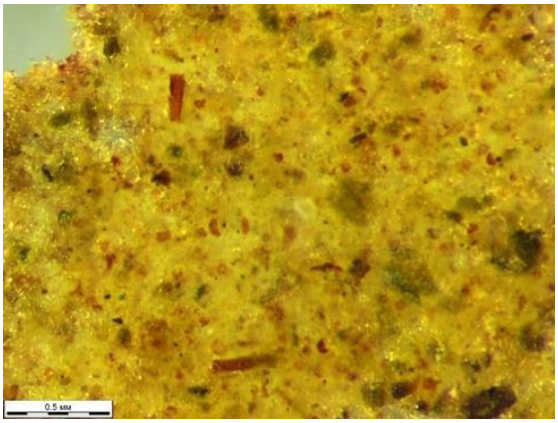

Рисунок 2.1 − Зразок гашишу при збільшенні 40х

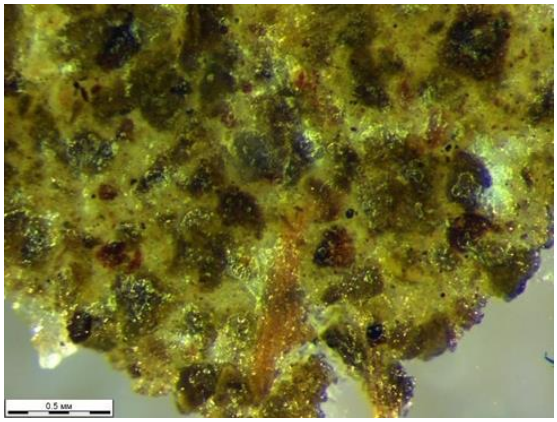

Рисунок 2.2 – Зразок суміші для паління з MDMB(N)-2201 при збільшенні 40х

Для виявлення анатомічних ознак проби масою 0,05 г обробляли 1 $см^3$ 5% розчином NaOH при кип'ятінні до освітлення препарату. Після охолодження зразки переносили на предметне скло і розглядали в полі зору мікроскопа в штучному світлі, що проходить при збільшенні від 100 до 400 ^{x}. На Рисунках 2.3, 2.4 показані зразки пластичних КС-СК, що мають однаковий склад активної речовини і подібних на вигляд, але містячих у складі наповнювача частинки різної природи.

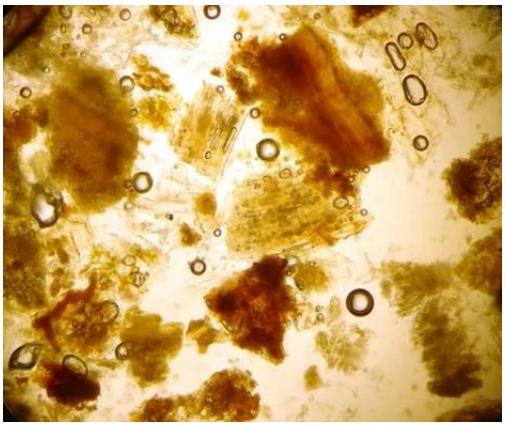

Рисунок 2.3 – Зразок суміші для паління, який містить частинки тютюну, при збільшенні 100^x

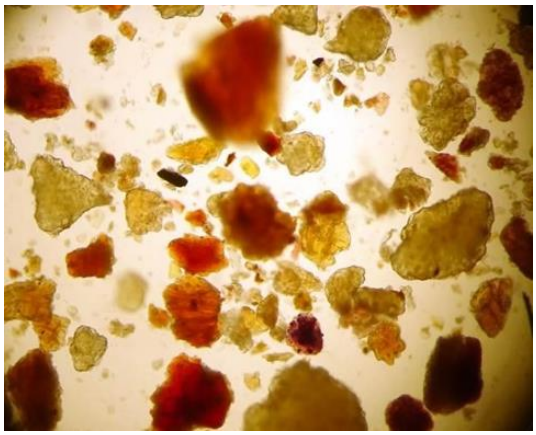

Рисунок 2.4 – Зразок суміші для паління, який містить частинки плодів черемхи, при збільшенні 100^x

Слід зазначити, що в більшості випадків застосування морфологічних та анатомічних ознак для порошкоподібних або пластичних КС-СК на предмет однозначної схожості зразків у межах певної партії утруднена внаслідок високої гомогенності та дисперсності компонентів або відсутності рослинних частинок. У цьому випадку використовували чисельні методи після одержання та обробки відповідних хроматограм.

Висновки до розділу 2:

1. В даному розділі наведений повний перелік устаткування та реактивів, які використовувалися при проведенні досліджень, а також наведено процедуру попередніх досліджень зразків.

РОЗДІЛ 3
ГХ – МС ІДЕНТИФІКАЦІЯ СИНТЕТИЧНИХ КАННАБІНОЇДІВ

3.1 Техніка експерименту

Пробопідготовка та умови вимірювань. Наважки проб подрібнювали у фарфорових ступках до гомогенного стану. Далі субпроби 2-5 мг у разі порошкоподібних речовин та 10-15 мг у разі рослинних сумішей або пластичних речовин екстрагували 1 мл метанолу. Отримані розчини інкубували протягом 30 хвилин при кімнатній температурі, потім центрифугували для відділення залишку та досліджували методом ГХ-МС за таких умов: іонізація електронним ударом (енергія 70 еВ); колонки типу HP-5MS, TR-5MS; температури випарника та інтерфейсу детектора – 280 ^{0}C; початкова та кінцева температури колонки – 100 ^{0}C, 300 ^{0}C; швидкість підйому температури колонки – 15 ^{0}C /хв; час витримки за кінцевої температури 10 хв; газ-носій – гелій; швидкість потоку газу-носія – 1,0 мл/хв; режим введення проби – з поділом потоку (Split 40:1).

Алгоритм ГХ-МС ідентифікації СК. Пошук та ідентифікацію сполук на хроматограмах проводили з використанням програм Willey та NIST MS Search версія 2.0, відкритих бібліотек SWGDRUG, Cayman Spectral Library. Оцінювалися показники подібності мас-спектрів зі значеннями понад 850 одиниць. Серед запропонованих програмним забезпеченням ідентифікаційних гіпотез спочатку вибирався варіант із найбільшим значенням показника подібності. На наступному етапі для відібраного варіанта самостійно оцінювався ступінь збігу досліджуваного мас-спектру з бібліотечним спектром з метою виключення хибних позитивних результатів. При цьому оцінювалася наявність у мас-спектрі сполуки піків усіх характерних іонів та їх інтенсивності порівняно з бібліотечним спектром. Особлива увага зверталася на пік молекулярного іона і на піки іонів з інтенсивностю більше 5% від інтенсивності піку максимального

іона. Мас-спектри вважалися такими, що збіглися, у разі присутності в досліджуваному мас-спектрі піків усіх характерних іонів з бібліотечного мас-спектру, включаючи молекулярний іон за відсутності піків сторонніх іонів, особливо з інтенсивністю більше 3%. Підсумковий висновок щодо ідентифікації сполук робився на основі комплексної оцінки розрахованих програмним забезпеченням показників подібності та загального виду мас-спектру.

3.2 Домішки у складі сумішей для паління

Незаконно виготовлені в підпільних лабораторіях СП у більшості випадків містять значну кількість домішок. Їх природа та відносні концентрації залежать від ряду факторів: рецептури та умов проведення синтезу, чистоти вихідних та допоміжних реагентів, протікання побічних процесів, ступеня очищення кінцевих продуктів та ін. Нижче наведені типові хроматограми та мас-спектри домішкових сполук для окремих класів СК.

У СП із класу індол-3-карбоксамідів як прекурсори ідентифіковані N-пентиліндол і N-(5-фторпентил)індол, 1-ізоціанатоадамантан і амантадин. Крім того, ідентифікована 1,3-дициклогексилсечовина, ймовірно, що є продуктом гідролізу 1,3-дициклогексилкарбодиіміда - допоміжного реагенту в синтезі амідів, ефірів і ангідридів (Рисунок 3.1-3.6).

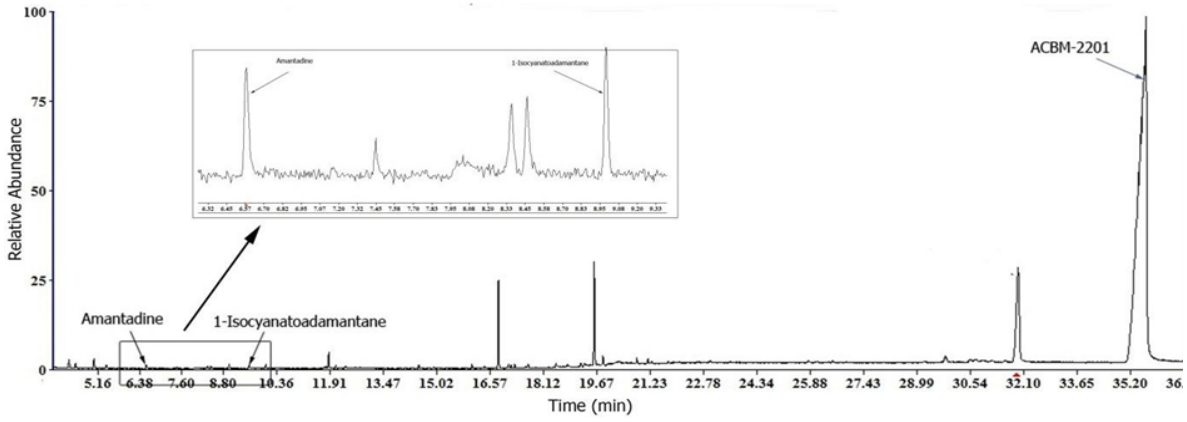

Рисунок 3.1 – Хроматограма зразка СК - ACBM-2201

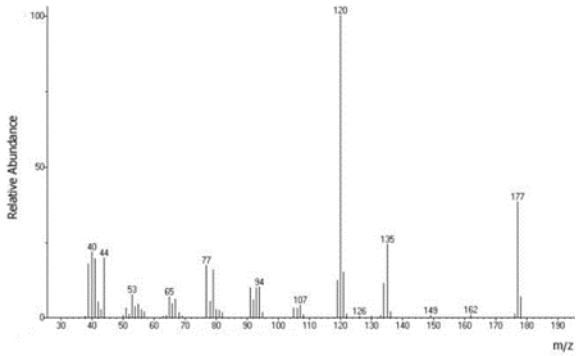

Рисунок 3.2 - Мас-спектр N-пентиліндолу

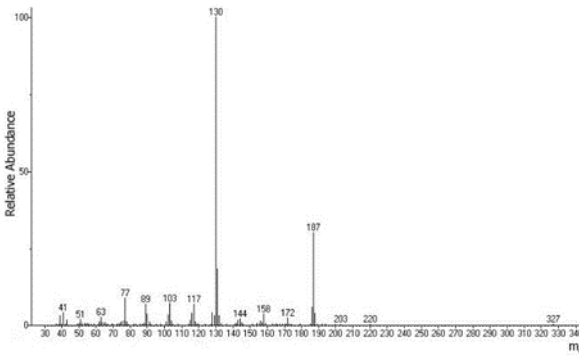

Рисунок 3.3 - Мас-спектр N-(5-фторпентил)індолу

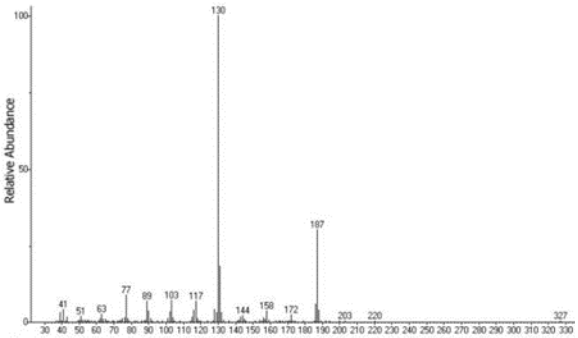

Рисунок 3.4 - Мас-спектр 1-ізоціанатоадамантану

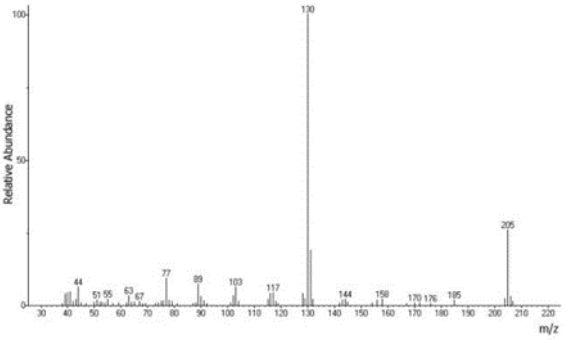

Рисунок 3.5 - Мас-спектр амантадину

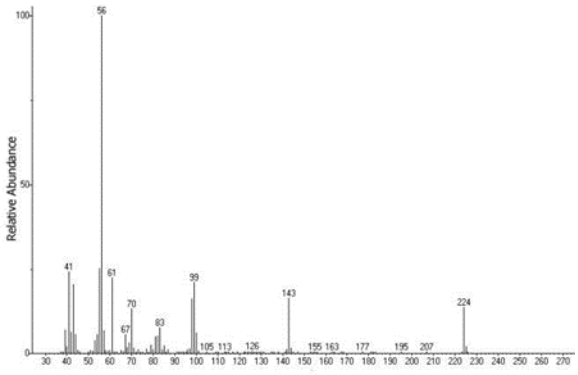

Рисунок 3.6 - Мас-спектр 1,3-дициклогексілсечовини

Відповідно до зміни домінуючого типу СК, починаючи з 2014 року, у зразках як додаткові реагенти синтезу ідентифіковані (бромометил) циклогексан

та циклогексилметанол. На Рисунках 3.7 – 3.10 наведено хроматограму AB-PINACA-CHM та мас-спектри домішок.

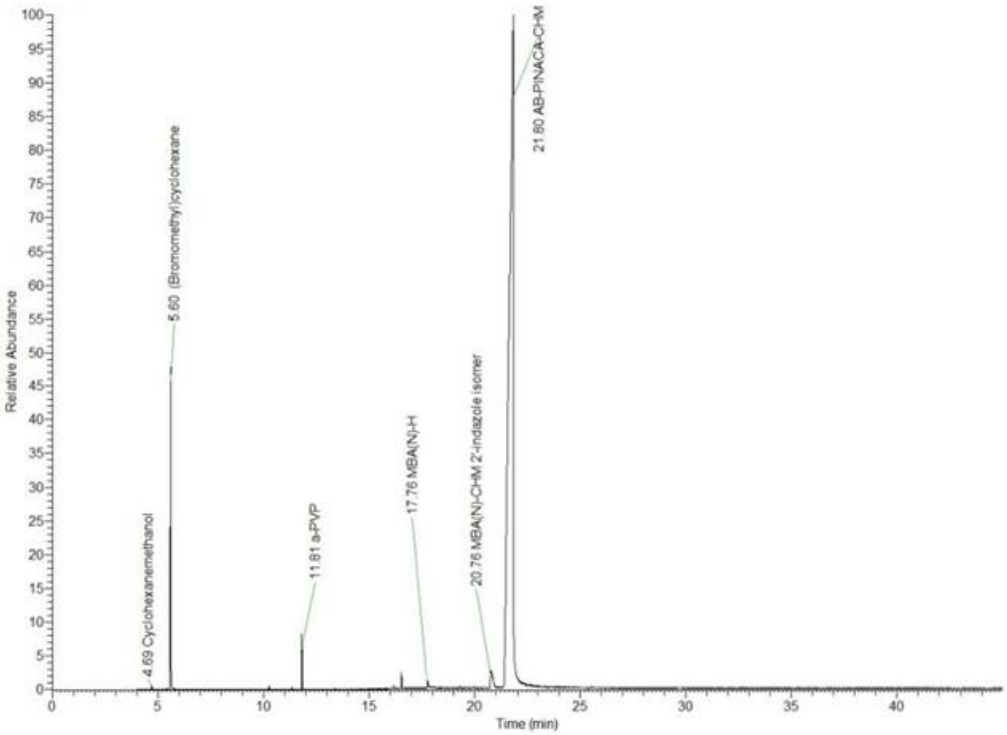

Рисунок 3.7 - Хроматограма зразка СК AB-PINACA-CHM

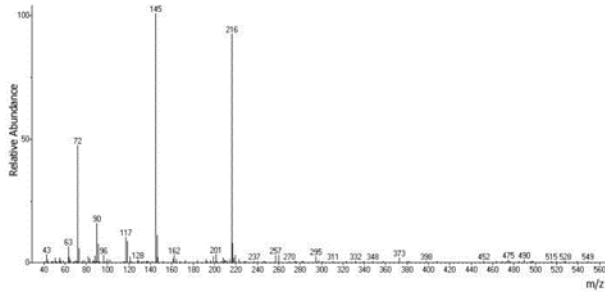

Рисунок 3.8 - Мас-спектр N-(1-карбамоіл-2-метилпроп-1-іл)-1H-індазол-3-карбоксаміду (MBA(N)H)

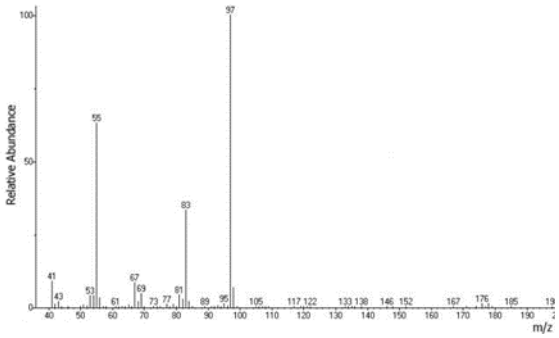

Рисунок 3.9 – Мас-спектр (бромометил)циклогексану

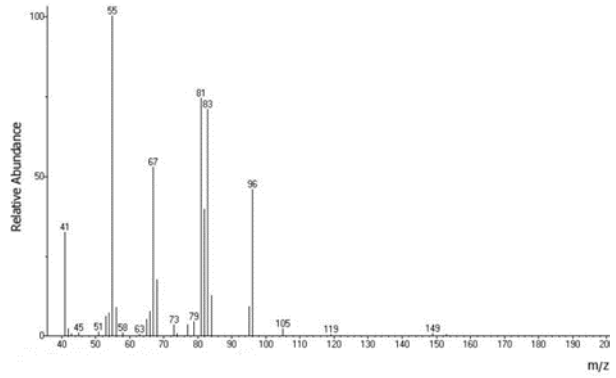

Рисунок 3.10 - Мас-спектр циклогексілметанолу

Для СК з класу індол-3-карбоксилатів ідентифікованими домішками основних реагентів синтезу є N-пентиліндол і N-(5-фторпентил)індол, а як додаткові - 1-нафтол і 8-гідроксихінолін. Причому 8-гідроксихінолін ідентифікований практично у всіх зразках, а 1-нафтол - у 25% зразків.

На рисунку 3.11 – 3.13 наведено хроматограми СК QCBL-2201 та мас-спектри відповідних домішок.

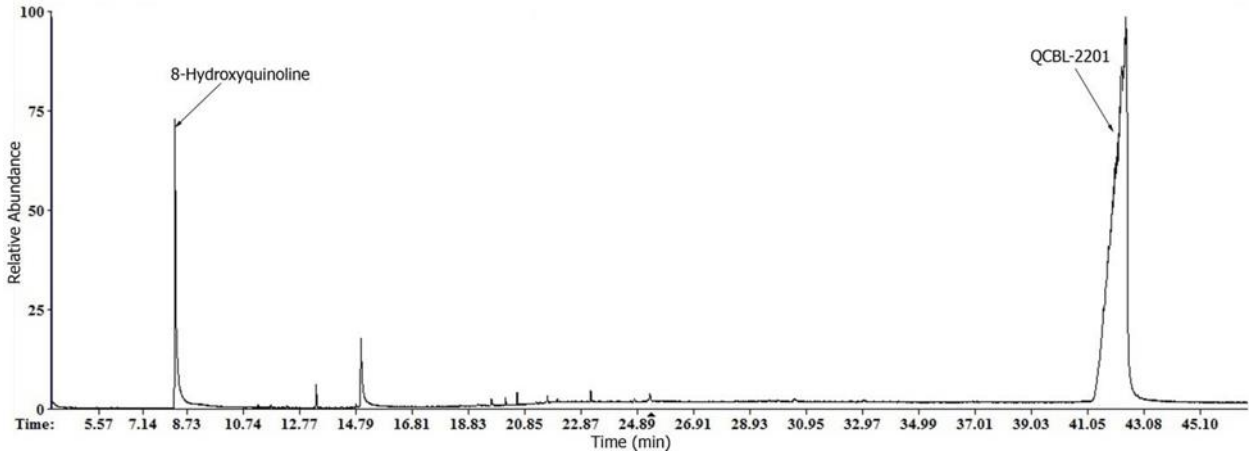

Рисунок 3.11 – Хроматограма зразка СК QCBL-2201

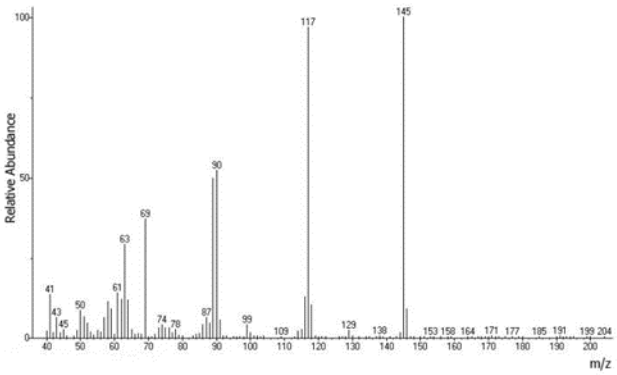

Рисунок 3.12 - Мас-спектр 8- гідроксихіноліну

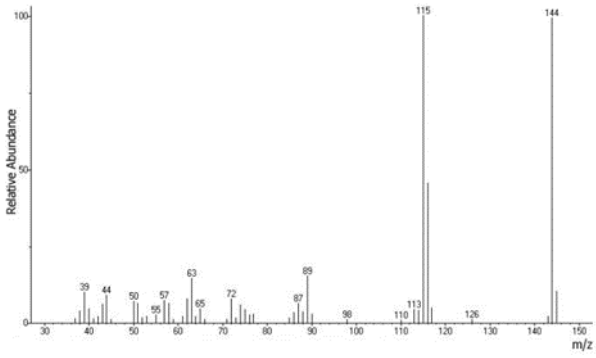

Рисунок 3.13 - Мас-спектр 1-нафтолу

Для СК із класу циклоалканоїліндолів ідентифікованою домішкою основного реагенту синтезу є 3-(2,2,3,3-тетраметилциклопропанкарбоніл)індол. Як домішки додаткових реагентів ідентифіковані 1-бром-5-фторпентан і (бромометил)циклогексан, а також відповідні продукти гідролізу: 5-фтор-1-пентанол та циклогексилметанол. Як допоміжний реагент синтезу ідентифікований трибутиламін (Рисунок 3.14). На Рисунках 3.15 – 3.18 наведено окремі приклади мас-спектрів домішок.

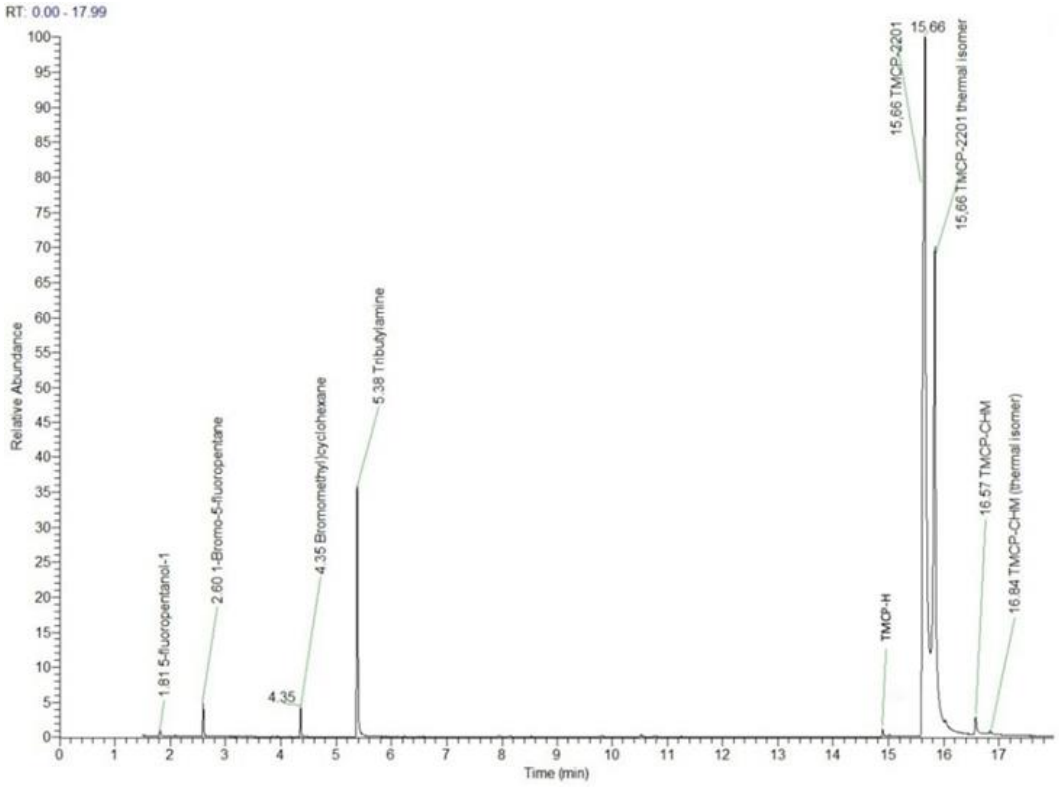

Рисунок 3.14 – Хроматограма зразка СК TMCP-2201

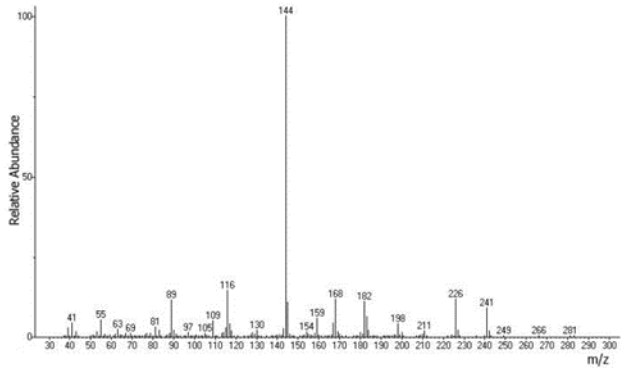

Рисунок 3.15 – Мас-спектр 3-(2,2,3,3-тетраметилциклопропанкарбоніл)індолу (TMCP-H)

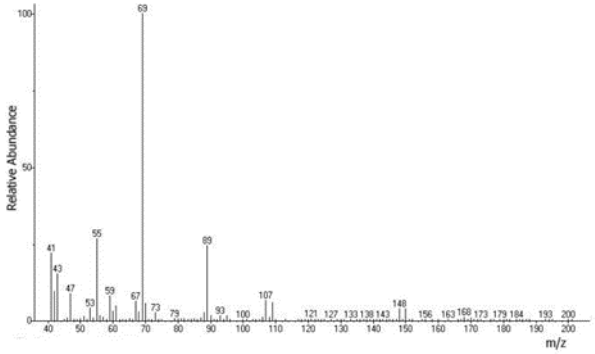

Рисунок 3.16 – Мас-спектр 3-(2,2,3,3-тетраметилциклопропанкарбоніл)індолу (TMCP-H)

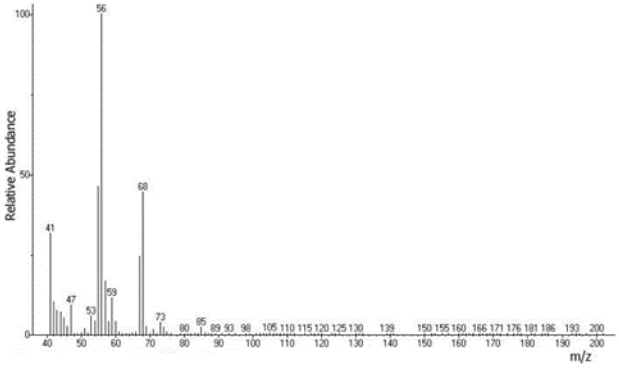

Рисунок 3.17 - Мас-спектр 5-фтор-1-пентанолу

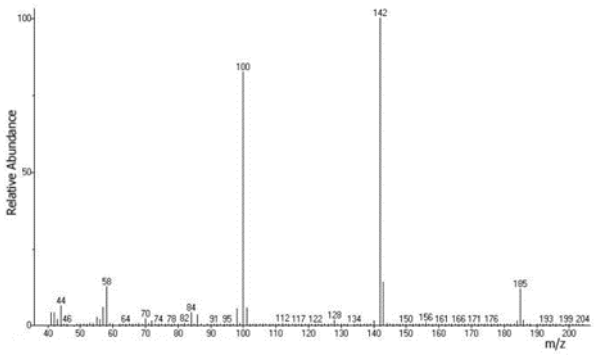

Рисунок 3.18 - Мас-спектр трибутіламіну

Слід зазначити, що з цієї групи СП домішки проявляються лише у 5 % зразків. Також необхідно відзначити, що зміст легколетких компонентів варіює в широкому діапазоні: від декількох відсотків від площі основного компонента до слідових кількостей, що виявляються тільки в режимі пошуку виведених іонів (SIM). Наприклад, 1-бром-5-фторпентан виявляється у більшості проб ТМСР-2201, але оскільки час виходу 1-бром-5-фторпентану, як правило, потрапляє в діапазон «мертвого часу» детектора при рутинних дослідженнях, відсутня статистика з виявлення даної речовини у вилучених зразках синтетичних канабіноїдів. Слід зазначити, що склад ідентифікованих домішок корелює з теоретичними схемами синтезу [46 – 52].

Домішки, пов'язані з наповнювачем (розріджувачем). Починаючи з 2015 року стали поширюватися суміші на основі пластичної або мазеподібної матриці темно-коричневого кольору зі специфічним, як правило, «солодким» (ваніль, шоколад) запахом, вулична назва «шоколад», "твердий"). На рисунку 3.19 наведена хроматограма метанольного екстракту зразка пластичної курильної суміші.

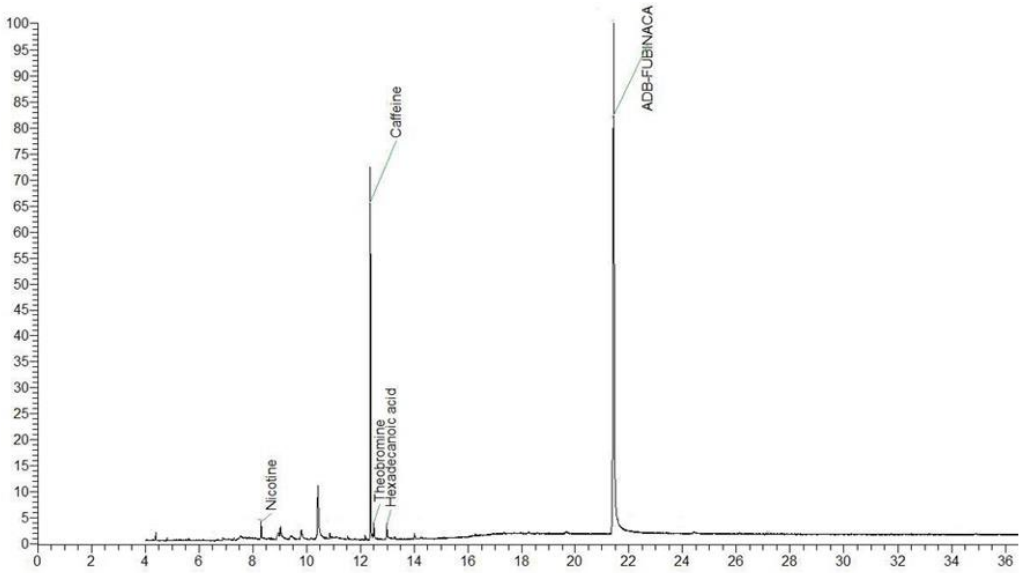

Рисунок 3.19 - Хроматограма за повним іонним струмом зразка пластичної курильної суміші

Характерним набором домішок, що визначаються методами хромато-мас-спектрометрії для даного типу наповнювача, виступають: гліцерин, а також компоненти, що не ідентифікуються, характер мас-спектрів яких дозволяє припустити, що вони є продуктами термічного розкладання полярних сполук (цукрів і органічних кислот). У зв'язку з тим, що в умовах вимірювання не забезпечується необхідний хроматографічний дозвіл, у наступному розділі пошуку оптимальних умов ідентифікації компонентів наповнювачів СП-СК було приділено особливу увагу.

Висновки до розділу 3:

В експертних зразках СП-СК, ідентифіковано декілька СК різної хімічної структури та відповідні домішки. Встановлено статистично значущий взаємозв'язок між компонентним складом домішок, видом СК та схемами їх синтезу.

РОЗДІЛ 4
ГАЗОХРОМАТОГРАФІЧНЕ-ПРОФІЛЮВАННЯ КОМПОНЕНТІВ НАПОВНЮВАЧІВ СУМІШЕЙ ДЛЯ ПАЛІННЯ

На момент проведення дослідження у доступній літературі практично відсутні дані про компонентний склад наповнювачів КС-СК, так само, як і про відповідні процедури їх профілювання. Останнє представляє інтерес для класичної аналітичної хімії у рамках створення методичного забезпечення нових об'єктів аналізу. Крім того, отримана інформація може бути корисною лікарям при терапевтичному моніторингу та токсикологічній оцінці випадків отруєння курильними сумішами, а також експертам при розслідуванні інцидентів, пов'язаних з незаконним обігом наркотичних речовин.

4.1 Пробопідготовка зразків

Як досліджувані зразки використовували СК, які містять пластичні курильні суміші. Пробопідготовку зразків проводили, як описано, з урахуванням рекомендацій. Тестові хроматограми (Рисунок 29) підтвердили присутність у наповнювачах КС-СК компонентів як полярної, так і неполярної природи. Причому на неполярній колонці TR-5MS не досягається задовільного поділу хроматографічних піків компонентів суміші (Рисунок 4.1 - хроматограма 1). Навпаки, при використанні полярної колонки HP-FFAP спостерігається дуже ефективний поділ, імовірно, сполук полярної природи (Рисунок 4.1 - хроматограма 2). Є підстави припускати, що можуть бути продуктами термічного розкладання полярних сполук. Тому надалі полярним компонентам наповнювачів приділялося більше уваги, в т.ч. та нелетучими сполуками, які не виявляються в цих умовах.

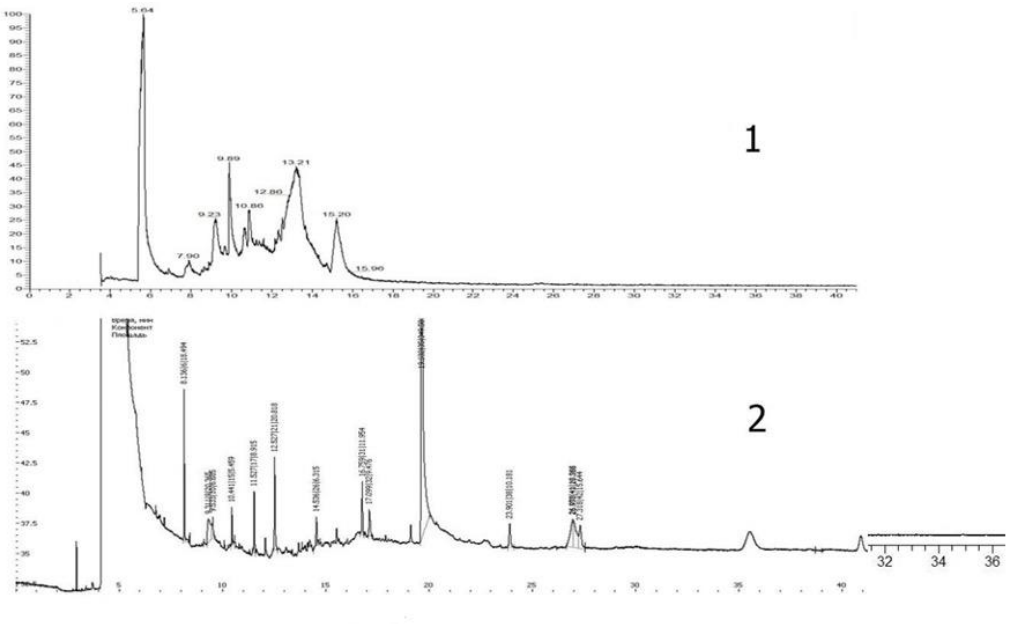

Рисунок 4.1 - Тестові хроматограми метанольного екстракту зразка СП-КС, які отримані на колонці з неполярною TR-5MS (1) та полярною HP-FFAP (2) фазами

Вилучення полярних компонентів. Для отримання полярних компонентів наповнювачів зразків КС-СК використовували водно-метанольні розчини з різним вмістом води. Ефективність вилучення компонентів оцінювали за відношенням суми площ хроматографічних піків компонентів для водно-метанольних розчинів стосовно зазначеного параметра для вихідного метанольного розчину. Завдання полягало у визначенні мінімального вмісту води для повного вилучення полярних компонентів без істотного погіршення параметрів хроматографічної колонки. У віали з розчинами (10 мг курильної суміші 1 мл метанолу) додавали від 50 до 200 мкл дистильованої води. Суміші витримували протягом півгодини, поміщали у ванну і обробляли ультразвуком протягом 3 хв. Отримані суспензії центрифугували для відділення твердої фази. На рисунку 4.2 наведено залежність відносин сумарних площ хроматографічних піків полярних компонентів від вмісту води. Видно, що залежність виходить на плато при вмісті води у суміші від 10%.

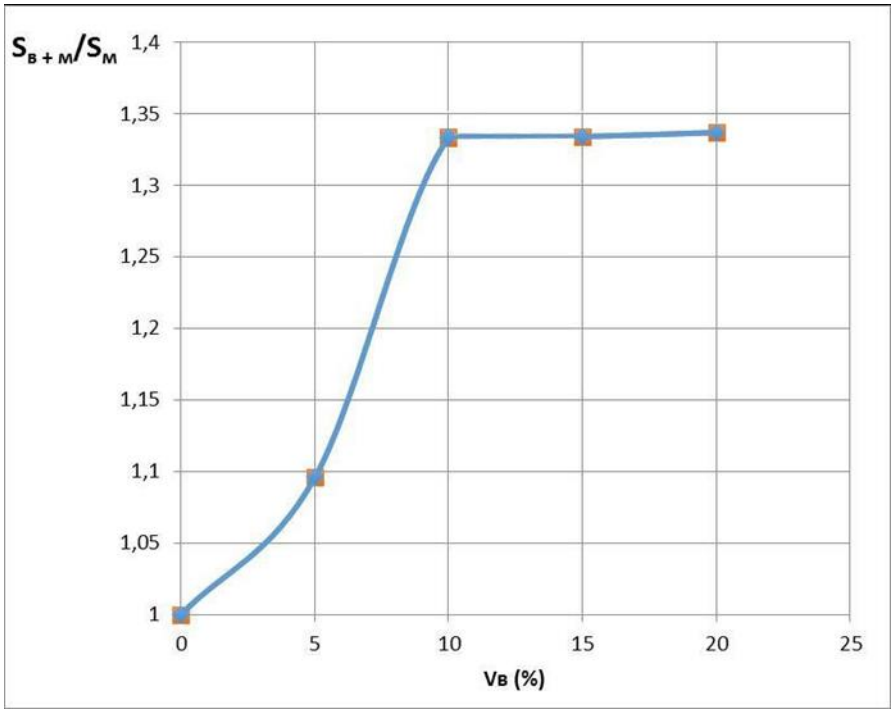

Рисунок 4.2 - Залежність відносин сумарних площ хроматографічних піків (Sв+м/Sм) від вмісту води (Vв) у водно-метанольній суміші для вилучення полярних компонентів наповнювачів КС-СК

Дериватизація нелетких компонентів. Для визначення нелетких полярних компонентів використовували спрямовані реакції отримання їх летких дериватів шляхом обробки зразків солянокислим гідроксиламіном і N, O-біс(триметилсиліл)-трифторацетамідом (BSTFA) [64]. Метанольні розчини зразків (10 мг/мл) поміщали у віали та висушували насухо в термостаті при 70 ºС. До сухих залишків додавали 1,0 мл дистильованої води, струшували і витримували протягом 30 хв. Розчини у віалах центрифугували, відбирали по 0,2 мл рідкої фази та повторювали операцію висушування. До отриманих сухих залишків додавали по 0,2 мл розчину солянокислого гідроксиламіну в піридині (25 мг/мл) і нагрівали при 70 ºС до їх повного розчинення. Потім до розчинів додавали по 20 мкл NO-біс(триметилсиліл)-трифторацетаміду (BSTFA) і отримані суміші витримували при температурі 70 С протягом 30 хв.

При цьому передбачалося, що відповідно до схем реакцій (Рисунок 4.3) утворюються триметилсилілільні ефіри (ТМСЕ) за наявності у вихідних сполуках гідроксильних, карбоксильних груп (1) і ТМСЕ-оксими (2) - за наявності карбонільних груп.

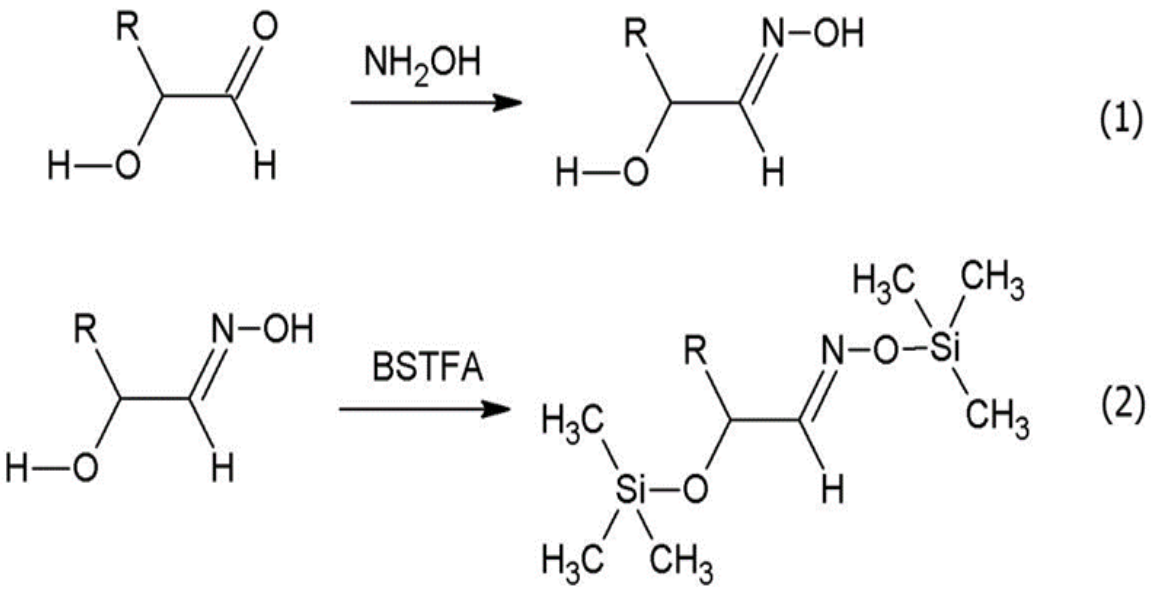

Рисунок 4.3 - Схеми реакцій утворення ТМСЕ (1) та ТМСЕ-оксимів (2) нелетких компонентів наповнювачів КС-СК

Дериватизація з використанням оксимної схеми застосовується для складних сумішей, у зв'язку з більш простою, порівняно з рештою підходів, хроматографічної картини: кожен відновлюючий сахарид генеруватиме по два хроматографічні піки, що відповідають анти(E)- та син(Z) – ізомерам. Навпаки, сахариди, що не відновлюють, і поліоли – по одному хроматографічному піку.

Для визначення речовин даних класів ми мали у своєму розпорядженні відповідні ГХ-ПІД/МС - методики. Тому далі досліджували умови ГХ-ПІД/МС-вимірів летких полярних компонентів.

4.2 Оптимізація умов ГХ вимірювань

Проводили варіювання основних параметрів ГХ-вимірів: стартової температури колонки, поділу потоку, швидкості підйому температури. Температура інжектора (190^{o} С) обрана для забезпечення повного випаровування аналізованих компонентів.

Варіювання поділу потоку (split): в діапазоні від 1:20 до 1:50, не мало істотного впливу на хроматографічний поділ.

На першому етапі оптимізували стартову температуру колонки в діапазоні 40 ºС - 70 ºС. На рисунку 4.4, як приклад, наведені типові хроматограми. Максимальна кількість дозволених піків (71) спостерігалося при 60 ºС.

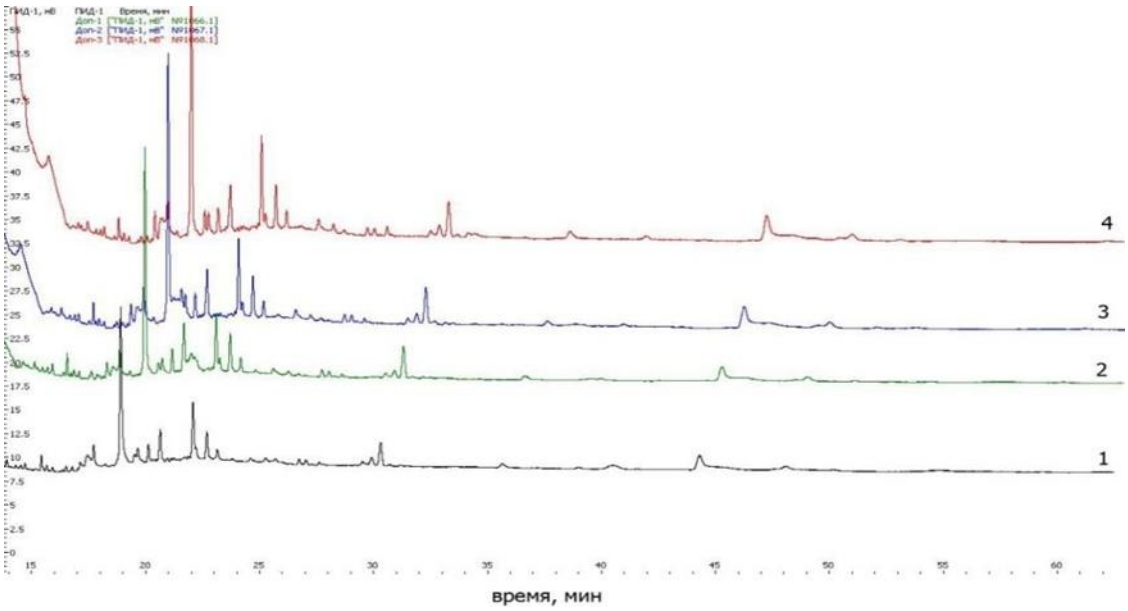

Рисунок 4.4 – Фрагменти хроматограм за різної стартової температури колонки: 70 ºС (1), 60 ºС (2), 50 ºС (3), 40 ºС (4)

Варіювання швидкості підйому температури проводилося в діапазоні від 5 до 20 ºС/хв (Рисунок 4.5). Як видно з рисунку 32, найкращий баланс чутливості та роздільної здатності піків забезпечує градієнт 10 – 15 ºС/хв.

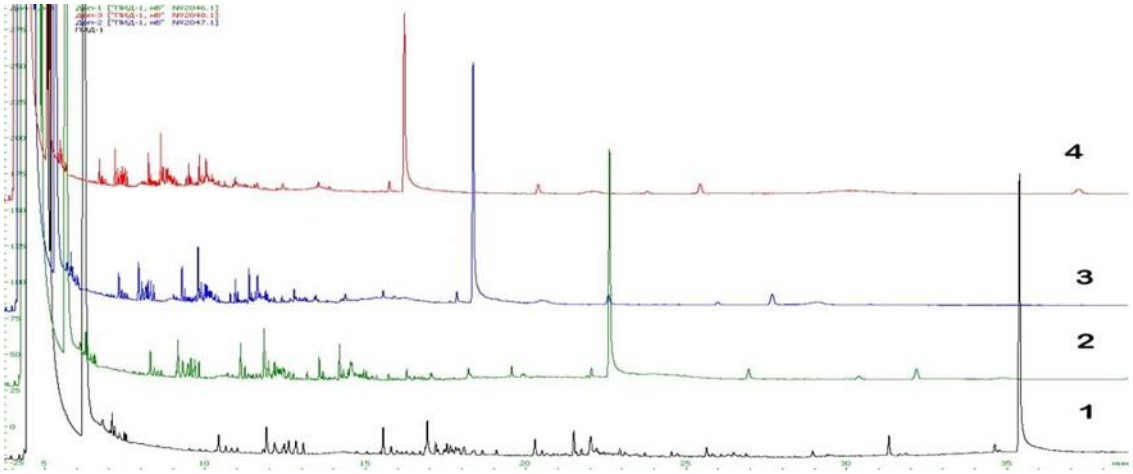

Рисунок 4.5 – Фрагменти хроматограм при різній швидкості збільшення температури колонки: 5 ºС/хв (1), 10 ºС/хв (2), 15 ºС/хв (3), 20 ºС

На підставі отриманих даних були визначені наступні оптимальні умови ГХ-ПІД/МС-визначення компонентів наповнювачів СП-СК (іонізація електронним ударом - енергія 70 еВ, діапазон сканування 40 - 550 а.е.м., газ-носій - гелій; швидкість потоку газу носія - 1,0 $см^3$/хв; режим введення проби - з розподілом потоку 40:1; обсяг проби, що вводиться 1 мкл):

• леткі компоненти – колонка HP-FFAP; температура інжектора – 190 ºС, детектора – 220 ºС; програмування температури термостата колонки від 60 ºС (початкова) до 200 ºС (кінцева); швидкість підйому температури – 13 ºС/хв; час витримки при початковій температурі – 2 хв, при кінцевій – 25 хв;

• деривати нелетких компонентів – колонка TR-5MS; температура інжектора та інтерфейсу детектора – 280 ºС, програмування температури термостата колонки від 100 ºС (початкова) до 300 ºС (кінцева); швидкість підйому температури – 15 ºС/хв; час витримки за початкової температури - 2 хв, за кінцевої – 45 хв.

Ідентифікація піків відповідно до заздалегідь обраного набору проводилась відповідно до наступного підходу:

1) найбільш інтенсивні піки були вказані як «опорні» у таблиці компонентів і для них задавалося збільшене вікно пошуку (± 2% від часу виходу).

2) далі при інтегруванні піків програмно розраховувалася різниця між реальними та табличними часами утримування опорних піків та будувалася лінійна функція зсуву часів утримування.

3) для звичайних (не опорних) піків розраховувався час утримування, на основі заданого в таблиці компонентів та застосування функції зсуву часу утримування.

4.3 Ідентифікація профільних компонентів

Для ідентифікації профільних компонентів наповнювачів СП-СК у знайдених оптимальних умовах використовували систему ГХ-ПІД/МС. Ідентифіковані наступні леткі полярні речовини, що відносяться переважно до органічних кислот, лактонів і похідних фурану: глікольальдегід, оцтова, щавлева, пропанова, левулінова, н-гексадеканова кислоти, пропіленгліколь, фурфурол, 4-гідрокси-2- 3-гідроксибутиролактон, фурфуриловий спирт, 5-етеніл-5-метилоксолан-2-он, 2-циклопентен-1-он, 2-гідрокси-1, дигідро-3-метилен-5-метил-2-фуранон, мальтол, дигідроксиацетон, 2,3-дигідро-3,5-дигідрокси-6-метил-4Н-піран-4-он, оксиметилфурфурол.

На рисунку 4.6 представлена типова хроматограма за іонним повним струмом СП-СК з леткими полярними компонентами. Метилових ефірів органічних кислот і гліцерину не було виявлено, що свідчить про те, що в умовах хроматографування не відбувається етерифікації наявних органічних кислот і гліцерину.

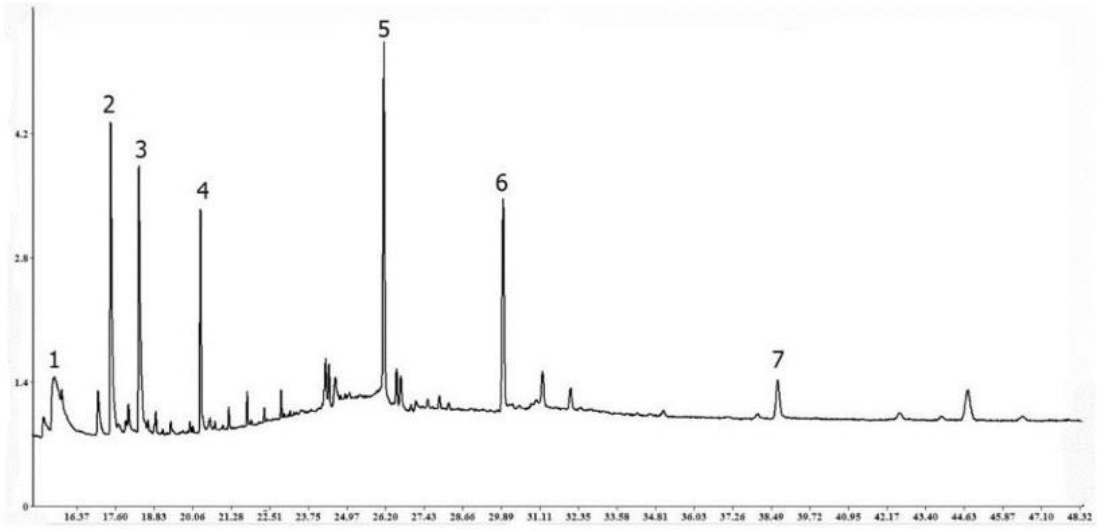

Рисунок 4.6 – Типова хроматограма по повному іонному струму СП-СК з леткими полярними компонентами: 1 – глікольальдегід, 2 – оцтова кислота, 3 – щавлева кислота, 4 – фурфуриловий спирт, 5 – дигідроксиацетон, 6 – 2,3 5-дигідрокси-6-метил-4Н-Піран-4-он, 7 – левулінова кислота

Однак наявність лактонів і похідних фурану може вказувати на розкладання термолабільних компонентів, зокрема, оксикислот і сахаридів в інжекторі. На рисунку 4.7 представлена хроматограма ТМС-похідних нелетких речовин.

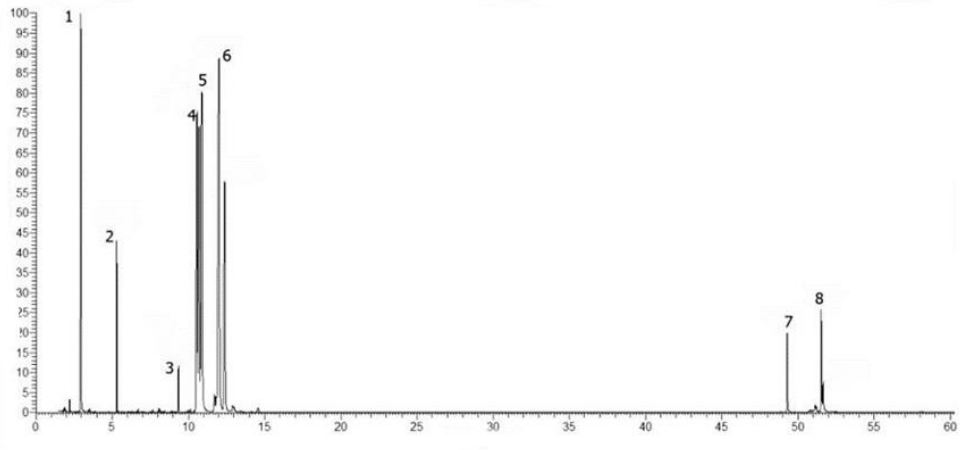

Рисунок 4.7 - Хроматограма по повному іонному струму ТМС-похідних нелетких речовин КС-СК: ефіри: 1 – гліцерину, 2 – малеїнової кислоти, 3 – хінної

кислоти, 4 – сорбітолу, 5 – оксиму фруктози, 6 – оксиму глюкози, 7 – сахарози, 8 – мальтози

Достовірність ідентифікації підтверджена такими характеристиками результатів:

- часи утримання ідентифікованих компонентів збігаються з часом утримування компонентів модельного розчину,

- індекси утримування (за наявності даних) у межах довірчого інтервалу збігаються з даними щодо індексів утримування бібліотеки NIST 14;

- ширина піків сполук достатня для параметрів роздільної здатності не менше 1,2;

- значення показника асиметрії піків не перевищувало 1,1

- піки характерних іонів для кожної сполуки, що мають максимальні значення в кожному вибраному мас-спектрі;

- максимальна розбіжність між відносними інтенсивностями іонів в діапазоні мас, що реєструється, для аналізованих мас-спектрів і стандартних мас-спектрів, що визначається параметрами збігу при прямому і зворотному пошуку по бібліотеці NIST 14 не перевищувала 10 %,

- за наявності в мас-спектрі молекулярних іонів ізотопне співвідношення відповідало природному;

- значення співвідношення сигнал/шум для мас-спектрів компонентів було не нижче 1000:1, що значно перевищує мінімальне значення заданого детектора (25:1).

У знайдених оптимальних умовах вимірювань збіжність утримування компонентів наповнювачів КС-СК була дуже високою. Коефіцієнти варіації для часів утримання індивідуальних сполук не перевищували 0,03%. а для індексів Ковача – 0,08%.

Висновки до розділу 4:

1. Розроблено методики ГХ-ПІД/МС визначення полярних органічних компонентів наповнювачів СК, що містяться в пластичних курильних сумішах. Виявлено поліоли, продукти їх ацетилювання, моносахариди, дисахариди та їх похідні, а також низку органічних кислот.

2. Вибрано та реалізовано хемометричний підхід на основі кластерного аналізу з використанням чисельних методів обробки хроматограм для ГХ-ПІД порівняльного аналізу великих масивів КС-СК експертних зразків.

3. На підставі одержаних результатів сформульовано алгоритм комплексного експертного дослідження КС-СК як цілісного об'єкта.

ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ

1. В експертних зразках СП-СК, ідентифіковано декілька СК різної хімічної структури та відповідні домішки. Встановлено статистично значущий взаємозв'язок між компонентним складом домішок, видом СК та схемами їх синтезу.

2. Розроблено методики ГХ-ПІД/МС визначення полярних органічних компонентів наповнювачів синетитичних канабіноїдів, які містять курильні суміші. Виявлено поліоли, продукти їх ацетилювання, моносахариди, дисахариди та їх похідні, а також низку органічних кислот.

3. Вибрано та реалізовано хемометричний підхід на основі кластерного аналізу з використанням чисельних методів обробки хроматограм для ГХ-ПІД порівняльного аналізу великих масивів КС-СК експертних зразків.

4. На підставі одержаних результатів сформульовано алгоритм комплексного експертного дослідження КС-СК як цілісного об'єкта.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. World drug report 2020. Booklet 2. Drug use and health consequences [Електроний ресурс] // United Nations Office on Drugs and Crime. – 2020. -

Режим доступу: https://wdr.unodc.org/wdr2020

2. The challenge of new psychoactive substances [Електроний ресурс] // United Nations Office on Drugs and Crime. – 2013. – Режим доступу: https://www.unodc.org/documents/scientific/NPS_Report.pdf.

3. Софронов, Г.А. Синтетичні каннабіноїди. Стан проблеми / Г.А. Софронов, А.І. Головко, В.А. Барінов та ін. // Наркологія. - 2012. - Т. 11. - № 10. - С. 97 - 110.

4. Tait, R.J. A systematic review of adverse events arising from the use of synthetic cannabinoids and their associated treatment / R. J. Tait, D. Caldicott, D. Mountain et al. // Clinical Toxicology. – 2016. - Vol. 54. – № 1. – P. 1 – 13.

5. Drug-related deaths and mortality in Europe. Update from the EMCDDA expert network. July 2019 [Електроний ресурс] // European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction. – 2019. – Режим доступу: https://www.emcdda.europa.eu/system/files/publications/11485/20193286_TD0319444ENN_PDF.pdf.

6. Angerer, V. Three fatalities associated with the synthetic cannabinoids 5F-ADB, 5F-PB-22, and AB-CHMINACA / V. Angerer, S. Jacobi, F. Franz et al. // Forensic Science International – 2017. – Vol. 281. – P. 9 – 15.

7. Annual Report 2009: the state of the drugs problem in Europe [Електроний ресурс] // European Monitoring Centre for Drugs and Drug addiction. – 2009. - Режим доступу: http://www.emcdda.europa.eu/publications/annual-report/2009

8. Auwärter, V. Spice and other herbal blends: harmless incense or cannabinoid designer drugs? / V. Auwärter, S. Dresen, W. Weinmann et al. // Journal of Mass Spectrometry. – 2009. – Vol. 44. – № 5. – P. 832 – 837.

9. Lindigkeit, R. Spice: A never ending story? / R. Lindigkeit, A. Boehme, I. Eiserloh et al. // Forensic Science International. – 2009. – Vol. 191 – № 1 – P. 58 – 63.

10. Доповідь Міжнародного комітету з контролю за наркотиками за 2016 рік. Розділ II. Функціонування системи міжнародного контролю за наркотиками. Частина I// Наркологія. - 2017. - Т. 16. - № 6. - С. 3 - 18.

11. Perspectives on drugs. Synthetic cannabinoids in Europe [Електроний ресурс] // European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction. - 2017. – Режим доступу: http://www.emcdda.europa.eu/system/files/publications/2753/POD_Synthetic%20cannabinoids_0.pdf.

12. EU Drug Markets Report 2019 [Електроний ресурс] // European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction. – 2019. – Режим доступу: https://www.emcdda.europa.eu/system/files/pubtions/12078/20192630_TD0319332ENN_PDF.pdf.

13. Karila, L. The synthetic cannabinoids phenomenon / L. Karila, A. Benyamina, L. Blecha et al. // Current pharmaceutical design. – 2016. – Vol. 22. – № 42. – P. 6420 – 6425.

14. Huffman, J.W. Cannabimimetic indoles, pyrroles and indenes / J.W. Huffman // Current medicinal chemistry. - 1999. - Vol. 6. – P. 705 – 720.

15. Gaoni, Y. Isolation, structure, and partial synthesis of an active constituent of hashish / Y. Gaoni, R. Mechoulam // Journal of the American chemical society. – 1964. – Vol. 86. – № 8. – P. 1646 – 1647.

16. Mechoulam, R. A total synthesis of dl-Δ1-tetrahydrocannabinol, the active constituent of hashish1 / R. Mechoulam, Y. Gaoni // Journal of the American Chemical Society. – 1965. – Vol. 87. – № 14. – P. 3273–3275.

17. Sledzinski, P. Cannabinoids in Medicine: Cancer, Immunity, and Microbial Diseases / P. Sledzinski, A. Nowak-Terpiłowska, J. Zeyland et al. // International Journal of Molecular Sciences. – 2021. – Vol. 22. – №. 263. – P. 1 – 22.

18. Amar, M. Ben Cannabinoids in medicine: A review of their therapeutic potential / M. Ben Amar // Journal of ethnopharmacology. – 2006. – Vol. 105. – № 1 – 2. – P. 1 – 25.

19. Pertwee, R.G. Cannabinoid pharmacology: the first 66 years / R.G. Pertwee // British journal of pharmacology. – 2006. – Vol. 147. – № S1. – P. 163– 171.

20. Robson, P.J. Therapeutic potential of cannabinoid medicines / P.J. Robson // Drug testing and analysis. – 2014. – Vol. 6. – № 1 – 2. – P. 24 – 30.

21. Ashton, C.H. Adverse effects of cannabis and cannabinoids. / C.H. Ashton // British Journal of anaesthesia. – 1999. – Vol. 83. – № 4. – P. 637 – 649.

22. Holdcroft, A. Adverse effects of cannabis and cannabinoids. / A. Holdcroft // British journal of anaesthesia. – 2000. – Vol. 84. – № 3. – P. 419 – 420.

23. Hall, W. The adverse health effects of chronic cannabis use / W. Hall, L. Degenhardt // Drug testing and analysis. – 2014. – Vol. 6. – № 1. – 2 – P. 39 – 45.

24. Kalant, H. Adverse effects of cannabis on health: an update of the literature since 1996 / H. Kalant // Progress in neuro-psychopharmacology and biological psychiatry. – 2004. – Vol. 28. – №. 5. – P. 849 – 863.

25. Єдина конвенція про наркотичні засоби 1961 року з поправками, внесеними до неї відповідно до Протоколом 1972 року про поправки до Єдиної конвенції про наркотичні засоби 1961 року. - ООН, 1972. - 62 с.

26. [Hydroxy-4-(substituierte)-phenyl]-cycloalkanon- und -cycloalkanolderivate, Verfahren zu ihrer Herstellung und diese enthaltende Arzneimittel: пат. DE2839836 ФРГ; заявл. 13.09.78; опубл. 15.03.1979.

27. Mechoulam, R. Enantiomeric cannabinoids: stereospecificity of psychotropic activity / R. Mechoulam, J.J. Feigenbaum, N. Lander et al. // Experientia. – 1988. – Vol. 44. – № 9 – P. 762 – 764.

28. Haubrich, D.R. Pharmacology of pravadoline: a new analgesic agent / D.R. Haubrich, S.J. Ward, E. Baizman et al. // Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. – 1990. – Vol. 255. – № 2. – P. 511 – 522.

29. Huffman, J.W. Design, Synthesis and Pharmacology of Cannabimimetic Indoles / J.W. Huffman, D. Dai, B.R. Martin et al. // Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters. – 1994. – Vol. 4. – № 4. – P. 563 – 566.

30. Cannabimimetic indole derivatives пат. WO0128557A1 WIPO; заявл. 18.10.2000; опубл. 24.06.2001.

31. 3-cycloalkylcarbonyl indoles as cannabinoid receptor ligands пат. WO2006069196A1 WIPO; заявл. 21.12.2005; опубл. 29.06.2006.

32. Wang, T. Adverse effects of medical cannabinoids: a systematic review / T. Wang, J.P. Collet, S. Shapiro et al. // Cmaj. – 2008. – Vol. 178 – № 13. – P. 1669 – 1678.

33. Gurney, S.M.R. Pharmacology, toxicology, and adverse effects of synthetic cannabinoid drugs / S.M.R. Gurney, K.S. Scott, S.L. Kacinko et al. // Forensic Science Reviews. – 2014. – Vol. 26. – № 1 – P. 53 – 78.

34. Chung, E.Y. Pharmacology and adverse effects of new psychoactive substances: synthetic cannabinoid receptor agonists / E.Y. Chung, H.J. Cha, H.K. Min et al. // Archives of Pharmacal Research. – 2021. – Vol. 44. - P. 1 – 12.

35. Cohen, K. Synthetic and non-synthetic cannabinoid drugs and their adverse effects-a review from public health prospective / K. Cohen, A.M. Weinstein // Frontiers in public health. – 2018. – Vol. 6. – P. 162.

36. Cooper, Z.D. Adverse effects of synthetic cannabinoids: management of acute toxicity and withdrawal / Z.D. Cooper // Current psychiatry reports. – 2016. – Vol. 18 – № 5 – P. 52.

37. White, C.M. The pharmacologic and clinical effects of illicit synthetic cannabinoids / C.M. White // The Journal of Clinical Pharmacology. – 2017. – Vol. 57. – № 3 – P. 297 – 304.

38. Zaurova, M. Clinical effects of synthetic cannabinoid receptor agonists compared with marijuana in emergency department patients with acute drug overdose

/ M. Zaurova, R.S. Hoffman, D. Vlahov et al. // Journal of medical toxicology. – 2016. – Vol. 12. – № 4. – P. 335 – 340.

39. Zimmermann, U.S. Withdrawal phenomena and dependence syndrome after the consumption of «Spice Gold» / U.S. Zimmermann, P.R. Winkelmann, M. Pilhatsch et al. // Deutsches Ärzteblatt International. – 2009. – Vol. 106. – № 27. – P. 464 – 467.

40. Nacca, N. The synthetic cannabinoid withdrawal syndrome / N. Nacca, D. Vatti, R. Sullivan et al. // Journal of addiction medicine. – 2013. – Vol. 7. – № 4. – P. 296 – 298.

41. Hout, M.C. Van User experiences of development of dependence on the synthetic cannabinoids, 5f-AKB48 and 5F-PB-22, and subsequent withdrawal syndromes / M.C. Hout Van, E. Hearne // International Journal of Mental Health and Addiction. – 2017. – Vol. 15. – № 3. – P. 565 – 579.

42. Carlier, J. Monitoring perinatal exposure to cannabis and synthetic cannabinoids / J. Carlier, M.A. Huestis, S. Zaami et al. // Therapeutic drug monitoring. – 2020. - Vol. 42 – № 2. – P. 194 – 204.

43. Bonnet, U. The cannabis withdrawal syndrome: current insights / U. Bonnet, U.W. Preuss // Substance abuse and rehabilitation. – 2017. – Vol. 8 – P. 9.

44. D'Ambra, T.E. C-Attached aminoalkylindoles: potent cannabinoid mimetics / T.E. D'Ambra, M.A. Eissenstat, J. Abt et al. // Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters. – 1996. – Vol. 6. – № 1. – P. 17 – 22.

45. Lin, S. Novel Analogues of Arachidonylethanolamide (Anandamide): Affinities for the CB1 and CB2 Cannabinoid Receptors and Metabolic Stability / S. Lin, A.D. Khanolkar, P. Fan et al. // Journal of Medicinal Chemistry. – 1998. – Vol. 41. – № 27. – P. 5353 – 5361.

46. Lan, R. Design and synthesis of the CB1 selective cannabinoid antagonist AM281: A potential human SPECT ligand / R. Lan, Q. Lu, P. Fan et al. // AAPS PharmSciTech. – 1999. – Vol. 1 – № 2 – P. 39 – 45.

47. Ooms, F. Exploration of the Pharmacophore of 3-Alkyl-5-Arylimidazolidinediones as New CB1 Cannabinoid Receptor Ligands and Potential Antagonists: Synthesis, Lipophilicity, Affinity, and Molecular Modeling / F. Ooms, J. Wouters, O. Oscari et al. // Journal of Medicinal Chemistry. – 2002. – Vol. 45. – № 9. – P. 1748 – 1756.

48. Huffman, J.W. 1-Pentyl-3-phenylacetylindoles, a new class of cannabimimetic indoles / J.W. Huffman, P.V. Szklennik, A. Almond et al. // Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters. – 2005. – Vol. 15. – № 18. – P. 4110 – 4113.

49. Cannabinoid receptor modulators, their processes of preparation, and use of cannabinoid receptor modulators for treating respiratory and non-respiratory diseases пат. US6653304B2 США; заявл. 08.02.2001; опубл. 09.08.2002.

50. Indoles are cannabinoid receptor ligands пат. US7750039B2 США; заявл. 13.02.2009; опубл. 06.07.2010.

51. Novel indoles are cannabinoid receptor ligands пат. US20110065685A1 США; заявл. 14.06.2010; опубл. 17.03.2011.

52. Cannabinoid compounds пат. WO 2014/167530A1 WIPO; заявл. 11.00.2014; опубл. 16.10.2014.

53. Scientific Working Group for the analysis of seized drugs (SWGDRUG) recomendations. Version 8.0, 2019-June-13 [Електроний ресурс] // SWGDRUG. – 2019. – Режим доступа: http://www.swgdrug.org/Documents/SWGDRUG%20Recommendations%20Version%208_FINAL_ForPosting_092919.pdf.

54. Guidelines on sampling of illicit drugs for quantitative analysis – European Network of Forensic Science Institutes (ENFSI). – 2014. – Режим доступу: http://enfsi.eu/wp105content/uploads/2016/09/guidelines_quant_sampling_dwg_printing_vf4.pdf

55. Guidelines on Representative Drug Sampling [Електроний ресурс] // European Network of Forensic Science Institutes (ENFSI). – 2009. – Режим доступа:

https://enfsi.eu/wpcontent/uploads/2016/09/drugs_sampling_guideline_unodc-enfsi.pdf.

56. Logan, B.K. Identification of synthetic cannabinoids in herbal incense blends in the United States / B.K. Logan, L.E. Reinhold, A. Xu et al. // Journal of forensic sciences. - Wiley Online Library, 2012. – Vol. 57. – № 5. – P. 1168 – 1180.

57. Sherma, J. Thin layer chromatography in the analysis of cannabis and its components and synthetic cannabinoids / J. Sherma, F. Rabel // Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies. – 2019. – Vol. 42. – № 19 – 20. – P. 1 – 16.

58. United Nation Office on Drugs and Crime (UNODC). Recommended methods for the identification and analysis of synthetic cannabinoid receptor agonists in seized materials – United Nations Office on Drugs and Crime, 2013. – 66 p.

59. Popławska, M. Application of high-performance liquid chromatography with charged aerosol detection (LC–CAD) for unified quantification of synthetic cannabinoids in herbal blends and comparison with quantitative NMR results / M. Popławska, A. Błażewicz, K. Kamiński et al. // Forensic Toxicology. – 2018. – Vol. 36. – № 1. – P. 122 – 140.

60. Ciolino, L.A. Quantitation of Synthetic Cannabinoids in Plant Materials Using High Performance Liquid Chromatography with UV Detection (Validated Method) / L.A. Ciolino // Journal of Forensic Sciences. – 2015. – Vol. 60. – № 5. – P. 1171 – 1181.

61. Borg, D. A fast and comprehensive analysis of 32 synthetic cannabinoids using agilent triple quadrupole LC–MS-MS / D. Borg, A. Tverdovsky, R. Stripp // Journal of Analytical Toxicology. – 2017. – Vol. 41. – № 1. – P. 6 – 16.

62. Guale, F. Validation of LC–TOF–MS screening for drugs, metabolites, and collateral compounds in forensic toxicology specimens / F. Guale, S. Shahreza, J.P. Walterscheid et al. // Journal of analytical toxicology. – 2013. – Vol. 37. – № 1. – P. 17 – 24.

63. Huppertz, L.M. A comprehensive library-based, automated screening procedure for 46 synthetic cannabinoids in serum employing liquid chromatography-quadrupole ion trap mass spectrometry with high-temperature electrospray ionization / L.M. Huppertz, S. Kneisel, V. Auwärter et al. // Journal of Mass Spectrometry. - Wiley Online Library, 2014. – Vol. 49. – № 2. – P. 117–127.

64. Ruiz-Matute, A.I. Derivatization of carbohydrates for GC and GC– MS analyses / A.I. Ruiz-Matute, O. Hernández-Hernández, S. Rodríguez-Sánchez et al. // Journal of Chromatography B. – 2011. – Vol. 879. – №. 17 – 18. – P. 1226- 1240.

Ф А 2.2.1-32-366

Національний фармацевтичний університет

Факультет фармацевтичних технологій та менеджменту
Кафедра медичної хімії
Ступінь вищої освіти магістр
Спеціальність 226 Фармація, промислова фармація
Освітня програма Фармація

ЗАТВЕРДЖУЮ
Завідувачка кафедри
медичної хімії

_____
Ліна ПЕРЕХОДА

«_22__» _серпня_ 2022 року

ЗАВДАННЯ
НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ ЗДОБУВАЧА ВИЩОЇ ОСВІТИ

Інни АЛЕКСЄЄВОЇ

1. Тема кваліфікаційної роботи: «Розробка методики газохроматографічного аналізу курильних сумішей, що містять синтетичні канабіноїди»
керівник кваліфікаційної роботи: Ірина СИЧ, к.фарм.н., доцент
затверджений наказом НФаУ від «14» жовтня 2022 року № 227.

2. Строк подання здобувачем вищої освіти кваліфікаційної роботи: грудень 2022 р.

3. Вихідні дані до кваліфікаційної роботи: склад сумішей для паління, структура, фармакохімічні властивості та синтез, особливості експертних підходів, ідентифікація фізіологічно активної речовини.
4. Зміст розрахунково-пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити): Провести огляд літератури щодо складу сумішей для паління, речовин що містять синтетичні канабіноїди; розглянути та узагальнити дані наукової літератури щодо способів синтезу, фізико-хімічних і фармакологічних властивостей; розробити методики газохроматографічного аналізу для якісного та напівкількісного визначення компонентного складу сумішей для паління, що містять синтетичні канабіноїди, з урахуванням експертних підходів; сформувати статистично значиму картину поширеності видів синтетичних канабіноїдів, наявності відповідних домішок та можливості їх ГХ-визначення на основі даних експертних досліджень реальних зразків сумішей для паління; розробити способи пробопідготовки та оптимізувати процедури вимірювань для ГХ-визначення компонентного складу сумішей для паління; з отриманих результатів сформулювати алгоритм комплексного експертного дослідження сумішей для паління як цілісного об'єкта.
5. Перелік графічного матеріалу (з точним зазначенням обов’язкових креслень):

таблиць – 2, рисунків – 35

6. Консультанти розділів кваліфікаційної роботи

Розділ	Ім'я, ПРІЗВИЩЕ, посада консультанта	Підпис, дата	
		завдання видав	завдання прийняв
1	Ірина СИЧ, доцент закладу вищої освіти кафедри медичної хімії	вересень. 2022р	вересень. 2022р
2	Ірина СИЧ, доцент закладу вищої освіти кафедри медичної хімії	жовтень. 2022р	жовтень. 2022р
3	Ірина СИЧ, доцент закладу вищої освіти кафедри медичної хімії	жовтень. 2022р.	жовтень. 2022р
4	Ірина СИЧ, доцент закладу вищої освіти кафедри медичної хімії	жовтень. 2022р	жовтень. 2022р

7. Дата видачі завдання: «_22__» _серпня__ 2022 року.

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№ з/п	Назва етапів кваліфікаційної роботи	Термін виконання етапів кваліфікаційної роботи	Примітка
1	Склад сумішей для паління, що містять синтетичні канабіноїди, структура, фармакохімічні властивості та синтез	вересень 2022 р.	**виконано**
2	Огляд сучасних експертних підходів та ідентифікації фізіологічно активних речовин	вересень 2022 р.	**виконано**
3	Методи випробувань та ідентифікації сумішей для паління, що містять синтетичні канабіноїди	вересень 2022 р.	**виконано**
4	Вибір об'єктів дослідження і підбір методів аналізу	жовтень 2022 р.	**виконано**
5	Розробка методики дослідження методом газової хроматографії з масселективним детектуванням, оптимізація методу та профілювання компонентів	жовтень-листопад 2022 р.	**виконано**
6	Статистична обробка отриманих результатів	листопад 2022 р.	**виконано**
7	Оформлення роботи і надання в Екзаменаційну комісію	грудень 2022 р.	**виконано**

Здобувач вищої освіти _____ Інна АЛЕКСЄЄВА

Керівник кваліфікаційної роботи _____ Ірина СИЧ

ВИТЯГ З НАКАЗУ № 227
по Національному фармацевтичному університету
від 14 жовтня 2022 року

Про затвердження тем кваліфікаційних робіт

Затвердити теми кваліфікаційних робіт, керівників-консультантів та рецензентів здобувачам вищої освіти **5 курсу,** спеціальність – **226 Фармація, промислова фармація**, освітня програма – **Фармація** (для осіб, що мають ОКР «молодший спеціаліст» за напрямом **«Медицина»**), ступінь вищої освіти – **магістр**, термін навчання – **4 р. 6 міс.**, **заочна** форма.

Прізвище, ім'я по батькові здобувача вищої освіти	**Тема кваліфікаційної роботи** (українською мовою)	**Тема кваліфікаційної роботи** (англійською мовою)	**Керівник кваліфікаційної роботи**	**Рецензент кваліфікаційної роботи**
Алексєєва Інна Юріївна	Розробка методики газохроматографічного аналізу курильних сумішей, що містять синтетичні канабіноїди	Development of a technique for gas chromatographic analysis of smoking mixtures containing synthetic cannabinoids	к.фарм.н., доцент закладу вищої освіти кафедри медичної хімії Сич І.А.	к.фарм.н., доцент закладу вищої освіти кафедри фармацевтичної хімії Бевз Н.Ю.

Ректор **Алла КОТВІЦЬКА**

Вірно:
Декан факультету фармацевтичних технологій та менеджменту **Наталія ЖИВОРА**

Ф А2.8-03-110

ВИСНОВОК

Комісії з академічної доброчесності про проведену експертизу

щодо академічного плагіату у кваліфікаційній роботі

здобувача вищої освіти

№ 109763 від «14» грудня 2022 р.

Проаналізувавши випускну кваліфікаційну роботу за магістерським рівнем здобувача вищої освіти заочної форми навчання Алексєєвої Інни Юріївни, 5 курсу, _____ групи, спеціальності 226 Фармація, промислова фармація, на тему: «Розробка методики газохроматографічного аналізу курильних сумішей, що містять синтетичні канабіноїди / Development of a technique for gas chromatographic analysis of smoking mixtures containing synthetic cannabinoids», Комісія з академічної доброчесності дійшла висновку, що робота, представлена до Екзаменаційної комісії для захисту, виконана самостійно і не містить елементів академічного плагіату (компіляції).

Голова комісії,

професор **Інна ВЛАДИМИРОВА**

0%

14%

Ф А 2.2.1-32-353

ВІДГУК

наукового керівника на кваліфікаційну роботу ступеня вищої освіти магістр, спеціальності 226 Фармація, промислова фармація

Інни АЛЕКСЄЄВОЇ

на тему: «Розробка методики газохроматографічного аналізу курильних сумішей, що містять синтетичні канабіноїди»

Актуальність теми. У цій роботі розглянуто актуальні проблеми використання синтетичних каннабіноїдів, які сьогодні здобули дуже широку популярність на нелегальному ринку психоактивних речовин і є серйозною загрозою для суспільства, оскільки є об'єктами зловживання з метою досягнення ейфорії.

Оскільки поширення та вживання сумішей для паління, що містять синтетичні канабіноїди, заборонено і карається законодавством, тому найгострішим завданням є насамперед встановлення хімічної структури нових психоактивних сполук, що з'являються в нелегальному обороті, що є однією з найбільш складних проблем у сучасній хімії. Не менш важливе завдання є і розробка методичного забезпечення експертної діяльності, що включає методики аналізу і довідкові дані про аналітичні характеристики сполук. У роботі наведено склад сумішей для паління, наведена структура, фармакохімічні властивості та синтез, розглянуто методи, що використовуються експертною практикою. Обґрунтовано вибір об'єктів для подальшого дослідження, розроблено методики розроблено методики ідентифікації синтетичних канабіноїдів з подальшим їх профілюванням.

Практична цінність висновків, рекомендацій та їх обґрунтованість. За допомогою сучасних хімічних та фізико-хімічних методів проведено визначення нових синтетичних канабіноїдів – як об'єктів судово-експертної діяльності.

Запропонована оптимізована схема дослідження методом газохроматографічного аналізу із значно нижчою межею детектування. У роботі розроблено методику профілювання методом газохроматографічного аналізу та проведено визначення нових наркотичних синтетичних засобів як об'єктів судово-експертної діяльності.

Оцінка роботи. Робота виконана на високому науковому рівні, одержані результати надійні, висновки послідовні та обґрунтовані. Загальна оцінка є позитивною.

Загальний висновок та рекомендації про допуск до захисту. Кваліфікаційна робота виконана у повному обсязі. За актуальністю, методичним рівнем, теоретичним та практичним значенням, об’ємом виконаних досліджень відповідає вимогам і пропонується до захисту до Екземенаційної комісії на здобуття Інною АЛЕКСЄЄВОЮ освітньо-кваліфікаційного рівня магістра.

Науковий керівник _____ Ірина СИЧ

«07» грудня 2022 р.

Ф А 2.2.1-32-356

РЕЦЕНЗІЯ

на кваліфікаційну роботу ступеня вищої освіти магістр, спеціальності 226 Фармація, промислова фармація

Інни АЛЕКСЄЄВОЇ

на тему: «Розробка методики газохроматографічного аналізу курильних сумішей, що містять синтетичні канабіноїди»

Актуальність теми. Робота студента Інни АЛЕКСЄЄВОЇ є дослідження присвячене на даний момент дуже актуальній темі – розробці методики газохроматографічного аналізу курильних сумішей, що містять синтетичні канабіноїди. Оскільки поширення та вживання наркотичних засобів, синтетичних канабіноїдів, які містять у своєму складі нові психоактивні сполуки, заборонено та карається законодавством, тому з'явився певний інтерес для наркобізнесу, який представляє пошук нових видів наркотичних засобів, так званих «сумішей для паління».

Теоретичний рівень роботи. У цій роботі проведено роботу з ідентифікації сумішей для паління, що містять синтетичні канабіноїди як об'єктів судово-експертної діяльності із застосуванням сучасних аналітичних методів. Розроблена методика дослідження за допомогою сучасного методу газової хроматографії з масселективним детектуванням.

Робота виконана на високому науковому рівні, одержані результати надійні, висновки логічні та обґрунтовані.

Пропозиції автора на тему дослідження. Розробити методики кількісного визначення нових наркотичних засобів.

Практична цінність висновків, рекомендацій та його обгрунтованість. Вперше встановлено основні види аналітів, які формують суміші для паління, що

містять синтетичні канабіноїди як цілісний об'єкт та запропоновано підходи до їх визначення.

Знайдено оптимальні умови, що забезпечують ГХ-ПІД/МС визначення полярних органічних компонентів наповнювачів різної летючості синтетичних канабіноїдів, що містять пластичні суміші для паління.

Недоліки роботи. Зустрічаються помилки та невдалі висловлювання.

Загальний висновок та оцінка роботи. Кваліфікаційна робота Інни АЛЕКСЄЄВОЇ з актуальності та обсягом виконаних досліджень, новизною отриманих результатів, їх теоретичним та практичним значенням відповідає вимогам, що пред'являються до кваліфікаційних робіт, і може бути рекомендована до захисту в екзаменаційній комісії.

Рецензент _____ доц. Наталія БЕВЗ

«15» грудня 2022 р.

Ф А2.2.1-91-287

ВИТЯГ

з протоколу засідання кафедри медичної хімії

№ 5 від 23 грудня 2022 р.

ПРИСУТНІ:

проф. Ліна ПЕРЕХОДА, доц. Вадим ЗУБКОВ, доц. Ірина СИЧ, доц. Віталій ЯРЕМЕНКО, доц. Ілля ПОДОЛЬСЬКИЙ, доц. Наталія КОБЗАР, доц. Марина РАХІМОВА, доц. Маргарита СУЛЕЙМАН, ас. Олена БЕВЗ, ас. Ольга ВІСЛОУС.

ПОРЯДОК ДЕННИЙ:

Звіт про стан виконання кваліфікаційної роботи здобувача вищої освіти факультету фармацевтичних технологій та менеджменту
Фс18(4.5з)-01б (226 Фармація, промислова фармація освітньої програми Фармація) Інни АЛЕКСЄЄВОЇ на тему: «Розробка методики газохроматографічного аналізу курильних сумішей, що містять синтетичні канабіноїди»

СЛУХАЛИ: доповідь здобувача вищої освіти факультету фармацевтичних технологій та менеджменту Фс18(4.5з)-01б (226Фармація, промислова фармація освітньої програми Фармація) Інну АЛЕКСЄЄВУ на тему: «Розробка методики газохроматографічного аналізу курильних сумішей, що містять синтетичні канабіноїди», керівник доцент закладу вищої освіти кафедри медичної хімії, к. фарм. н., доцент Ірина СИЧ

УХВАЛИЛИ: рекомендувати кваліфікаційну роботу Інни АЛЕКСЄЄВОЇ до офіційного захисту в Екзаменаційній комісії.

Зав. кафедри медичної хімії,

професор **Ліна ПЕРЕХОДА**

Секретар кафедри медичної хімії,

доцент **Марина РАХІМОВА**

Ф А2.2.1-32-042

НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

ПОДАННЯ
ГОЛОВІ ЕКЗАМЕНАЦІЙНОЇ КОМІСІЇ
ЩОДО ЗАХИСТУ КВАЛІФІКАЦІЙНОЇ РОБОТИ

Направляється здобувач вищої освіти Інна АЛЕКСЄЄВА до захисту кваліфікаційної роботи
за галуззю знань 22 Охорона здоров'я
спеціальністю 226 Фармація, промислова фармація
освітньою програмою Фармація
на тему: «Розробка методики газохроматографічного аналізу курильних сумішей, що містять синтетичні канабіноїди».

Кваліфікаційна робота і рецензія додаються.

Декан факультету _____ / Наталія ЖИВОРА /

Висновок керівника кваліфікаційної роботи

Здобувач вищої освіти Інна АЛЕКСЄЄВА у повному обсязі виконала кваліфікаційну роботу. За актуальністю, методичним рівнем, теоретичним та практичним значенням, об'ємом виконаних досліджень кваліфікаційна робота відповідає вимогам і допускається до захисту в Екзаменаційній комісії.

Керівник кваліфікаційної роботи

_____ Ірина СИЧ

«07» грудня 2022 р.

Висновок кафедри про кваліфікаційну роботу

Кваліфікаційну роботу розглянуто. Здобувач вищої освіти Інна АЛЕКСЄЄВА допускається до захисту даної кваліфікаційної роботи в Екзаменаційній комісії.

Завідувачка кафедри
медичної хімії

_____ Ліна ПЕРЕХОДА

«23» грудня 2022 року

Кваліфікаційну роботу захищено
у Екзаменаційній комісії
« 06 » лютого 2023 р.
З оцінкою _____
Голова Екзаменаційної комісії,
доктор фармацевтичних наук, професор
_____ / Володимир ЯКОВЕНКО /