

ჯოხაძე მ.¹, თუშურაშვილი პ.¹, მურთაზაშვილი თ., იმნაძე ნ.², სივსივაძე კ.²

სინთეზური კანაბინოიდების JWH-018 და JWH-073 მეტაბოლიტების ანალიზი ბიოლოგიურ ობიექტში ქრომატომასსპექტრომეტრიული (LC-MS/MS)მეთოდით 1.

ლევან სამხარაულის სახელობის სასამართლო ექსპერტიზის ეროვნული ბიურო, ქიმიურნარკოლოგიური ექსპერტიზის დეპარტამენტი; 2. თსსუ, ფარმაცევტული და ტოქსიკოლოგიური ქიმიის დეპარტამენტი

სინთეზური კანაბინოიდები მცენარული და ქიმიური ნივთიერებების ნარევიანა, რომლის მოქმედებაც მარიხუანას მსგავსია, თუმცა უფრო ძლიერია და სპეციფიკური. მას ცრუ რეკლამა ახლავს თან, თითქოს ბუნებრივია, თუმცა ყოველთვის შეიცავს ხელოვნურად დამზადებულ ნარკოტიკს, რომლის ნარკოგენული პოტენციალი გაცილებით მაღალია, ვიდრე მარიხუანისა (3).[3].

ფსიქოაქტიური ნივთიერებების შავ ბაზარზე სინთეზურმა კანაბინოიდებმა დიდი პოპულარობა მოიპოვეს და ამით დიდ საშიშროებას ქმნიან საზოგადოებისთვის, რადგან ისინი წარმოადგენენ ახალი სახის ნარკოტიკებს. ამგვარი სინთეზური ნარკოტიკი ვრცელდება ინტერნეტის გზით და წარმოადგენს სხვადასხვა ფორმით მოწოდებულ პროდუქტს: მოსაწევი საშუალება, აბები, მარილები და სხვა (2).

სინთეზური კანაბინოიდების უმრავლესობისთვის დამახასიათებელი ნიშანი არის მოკლე ალიფატური ჯაჭვი, რომელიც ურთიერთქმედებს კანაბინოიდურ CB1 და CB2 რეცეპტორებთან.

მეცნიერულმა კვლევებმა აჩვენეს, რომ სინთეზური კანაბინოიდები, მაგ. JWH-018 (1-პენტოილ-3-(1ნაფტოილ)ინდოლი) და JWH-073 (1-ბუთილ-3-(1ნაფტოილ)ინდოლი) ინტენსიურად მეტაბოლიზდება ორგანიზმიდან გამოყოფამდე. საწყისი ნივთიერებები შარდში უმნიშვნელო რაოდენობით დეტექტირდება და, შესაბამისად, კვლევის სამიზნე ნივთიერებებს წარმოადგენს მეტაბოლიტები (1, 5).

ამიტომ ბიოლოგიურ ობიექტებში ნარკოტიკულ ნივთიერებების კვლევის ქრომატო-მასსპექტრომე-ტრიული მეთოდის შემუშავება სასამართლო ქიმიურ 2 ექსპერტიზაში აქტუალურ საკითხს წარმოადგენს.

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა ბიოლოგიურ სითხეებში სინთეზური კანაბინოიდების JWH – 018 და JWH – 073-ის მეტაბოლიტების აღმოჩენის ქრომატო-მასსპექტრომეტრიული (LC-MS/MS) მეთოდის შემუშავება.

კვლევის ობიექტს წარმოადგენდა ცოცხალი და გვამური პირებიდან აღებული შარდი.

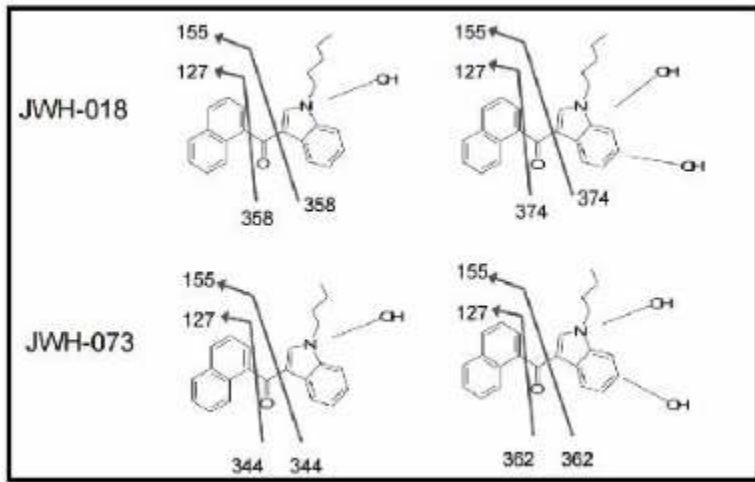
კვლევის მეთოდი - სითხური ქრომატოგრაფია ულტრაიისფერი და ტანდემური მასსპექტრომეტრიული დეტექტირებით წარმოადგენს ქიმიური ნივთიერებების ანალიზის ძლიერ მგრძნობიარე და უზუსტეს მეთოდს (4). მისი საშუალებით შესაძლებელია საკვლევი ობიექტის თვისობრივ-რაოდენობრივი ანალიზი პიკოგრამებში (10⁻¹² გ). ქრომატო-მასსპექტრომეტრიული მეთოდისაგან განსხვავებით, ნივთიერებათა დაყოფა წარმოებს სითხოვან არეში. აპარატი წარმოადგენს ორი

დამოუკიდებელი მოწყობილობის: სითხური ქრომატოგრაფი და მასსპექტრომეტრის ტანდემს. ნივთიერებათა დაყოფა წარმოებს 5-250 სმ სვეტში, ხოლო დეტექტირება ორ (MS/MS) კვადრუპოლის მქონე მასსპექტრომეტრში, დეტექტორში (6).

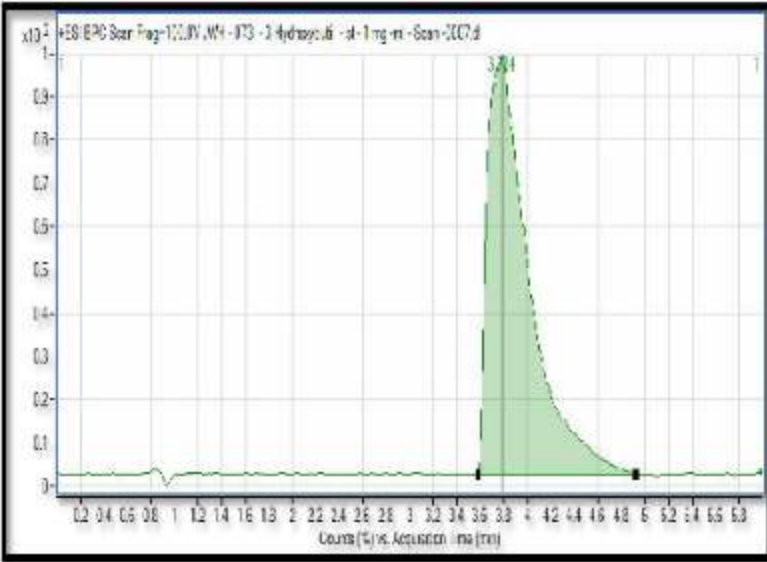
ექსპერიმენტული ნაწილი: სინთეზური კანაბინოიდების ანალიზი ჩატარდა JWH – 018 და JWH – 073-ის მაგალითზე მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფირების მეთოდის გამოყენებით. ექსპერიმენტის შედეგად შერჩეულ იქნა ანალიზის ოპტიმალური პირობები: დეტექტირების პირობები, მოძრავი ფაზა – 0.1 % ძმარმჟავას ხსნარი წყალში + 0.1% ძმარმჟავას ხსნარი აცეტონიტრილში 20 : 80, სტაციონარული ფაზა - *B18*, მოძრავი ფაზის სიჩქარე - 0.4 მლ/წთ MS/MS პირობები:

- გაზის ტემპერატურა - 300°C
- გაზის დინების სიჩქარე - 10 მლ/ წთ □□ნებულაიზერი - 45 მლ
- კაპილარი - 4000 ვ
- დენის ძაბვა - 1500 ვ
- ფრაგმენტორის ძაბვა - 150 ვ
- კოლიზიური ენერგია - 35 ვ

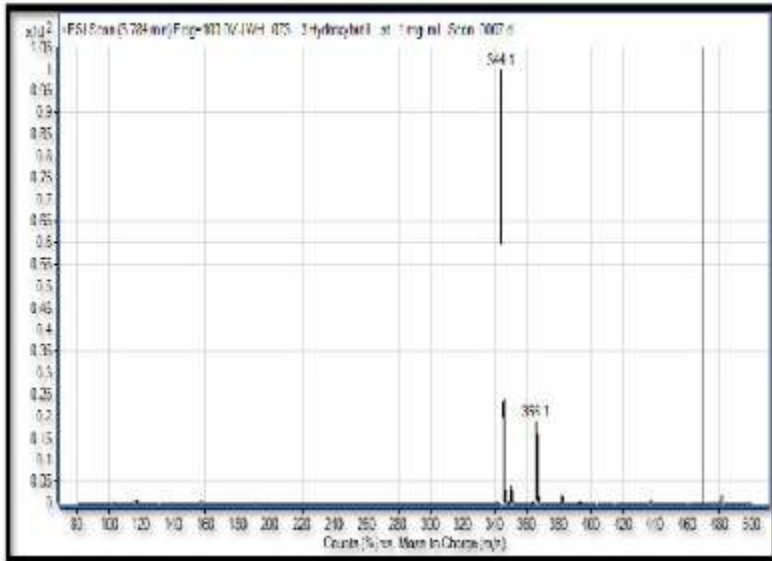
მიღებული ქრომატოგრამები და მას-სპექტრები მოცემულია სურ. 1-5.



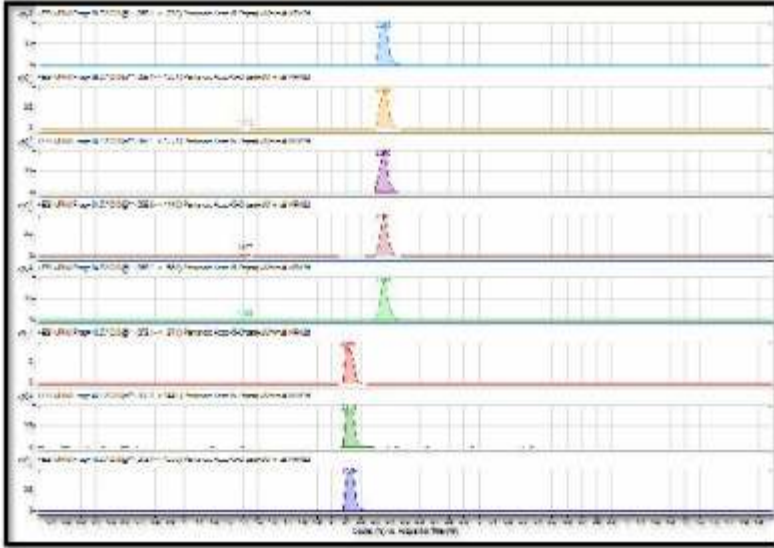
სურათი =1. JWH – 018 და JWH – 073-ის მეტაბოლიტების მას ფრაგმენტაცია



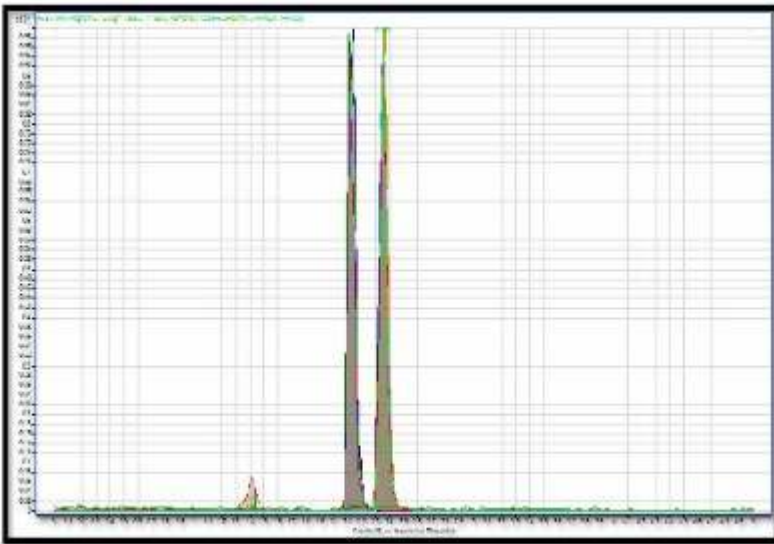
სურათი =2. სტანდარტული JWH 073 4-ჰიდროქსიბუთილი LC-MS (TIC) ქრომატოგრამა.



სურათი =3. სტანდარტული JWH 073 4-ჰიდროქსიბუთილი LS/MS სპექტრი.



სურათი =4. შარდში JWH – 018 და JWH – 073-ის მეტაბოლიტების LC- MS/MS ქრომატოგრამა



სურათი =5. შარდში JWH – 018 და JWH – 073-ის მეტაბოლიტების გაერთიანებული LC- MS/MS ქრომატოგრამა

შედეგები: სინთეზური კანაბინოიდების და მათი მეტაბოლიტების ექსტრაქცია შარდიდან მოხდა სითხე-სითხე ექსტრაქციით. ბიოლოგიური სითხის ჰიდროლიზი ვაწარმოეთ β -გლუკურონიდაზით სუსტ მჟავა არეში 55°C ტემპერატურაზე 1 სთ-ის განმავლობაში. მეთოდის ვალიდაცია წარმოებდა საერთაშორისო რეკომენდაციის მიხედვით: სელექტიურობის, იდენტიფიკაციის, სიზუსტის აღმოსაჩენი მინიმუმის, განსასაზღვრავი მინიმუმის და სწორხაზობრიობის მიხედვით.

სურ. =4 და =5-ზე ნაჩვენებია შარდში JWH – 018 და JWH – 073-ის მეტაბოლიტების LC- MS/MS ქრომატოგრამები. მეთოდის სელექტიურობა

შესწავლილი იქნა ფარდობითი შეკავების დროთი და იონების თანაფარდობის კრიტერიუმით, რაც იძლევა დადებით ნიმუშებში სამიზნე ნივთიერებების იდენტიფიკაციის შესაძლებლობას, ხოლო უარყოფით ნიმუშებში იონების ტრანზაქციას არ აქვს ადგილი, შესაბამისად პიკები არ დეტექტირდება და მატრიცის ეფექტსაც არ აქვს ადგილი. აღნიშნული მეთოდით შესაძლებელია JWH – 018 და JWH – 073-ის მეტაბოლიტების თვისებრივ-რაოდენობრივი ანალიზი. მეთოდი სწორხაზობრივია 1-50 ნგ/მლ კონცენტრაციის ფარგლებში. აღმოსაჩენი მინიმუმი შეადგენს 1 ნგ/მლ, ხოლო განსასაზღვრავი მინიმუმი 2.5 ნგ/მლ-ს.

დასკვნები: დადგენილ იქნა ბიოლოგიური ობიექტიდან JWH – 018 და JWH – 073-ის იზოლირების ოპტიმალური პირობები სითხე-სითხე ექსტრაქციის საშუალებით.

ლევან სამხარაულის სახელობის სასამართლო ექსპერტიზის ეროვნული ბიუროს ქიმიურ-ნარკოლოგიური ექსპერტიზის დეპარტამენტის ბაზაზე დამუშავებულია JWH – 018 და JWH – 073-ის თვისებით რაოდენობრივი განსაზღვრის მეთოდიკა სითხური ქრომატოგრაფ ტანდემური მასსპექტრომეტრული მეთოდის გამოყენებით. აღნიშნული მეთოდები ხასიათდება მაღალი მგრ- მნობელობით და სპეციფიკურობით.

ლიტერატურა:

1. Brents L.K., Reichard E.E., Zimmerman S.M., Moran J.H., Fantegrossi W.E., Prather P.L. Phase I hydroxylated metabolites of the K2 synthetic cannabinoid JWH-018 retain in vitro and in vivo cannabinoid 1 receptor affinity and activity // PLoS One. – 2011.

2. Dargan P.I., Hudson S., Ramsey J., Wood D.M. The impact of changes in UK classification of the synthetic cannabinoid receptor agonists in 'Spice' // Int. J. Drug Policy. – 2011.

3. Dresen S., Ferreirós N., Pütz M., Westphal F., Zimmermann R., Auwärter V. Monitoring of herbal mixtures potentially containing synthetic cannabinoids as psychoactive compounds // J. Mass Spectrom. – 2010.

4. Dresen S., Kneisel S., Weinmann W., Zimmermann R., Auwärter V. Development and validation of a liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for the quantitation of synthetic cannabinoids of the aminoalkylindole type and methanandamide in serum and its application to forensic samples // J. Mass Spectrom. – 2011.

5. Logan B., Kacinko S., McMullin M., Xu A., Middleberg R., Technical Bulletin: Identification of Primary JWH018 and JWH-073 Metabolites in Human Urine, (2011).

6. Rosenbaum, C.D. carriero, S.P. & K.M. here today, gone tomorrow... and back again? A reiew of herbal marijuana alternbatives (k2. Spice) sunthetic canabinoides, krantom, salvia divinorum, methoxetamine, and piperazines. Jurnar of medical toxicology:official journal of the American Collage of Medical Toxicology, 2012, 8(1)

Jokhadze M. 1 , Tushurashvili P. 1 , Murtazashvili T. , Imnadze N. 2 , Sivsivadze K. 2

ANALYSIS OF METABOLITES OF SYNTHETIC CANNABINOIDS JWH-018 AND JWH-073 BY CHROMATOGRAPHY MASS-SPECTROMETRIC (LC-MS/MS) METHOD IN BIOLOGICAL FLUIDS

LEPL LEVAN SAMKHARAU LI NATIONAL FORENSIC BUREAU; TSMU, DEPARTMENT OF PHARMACEUTICAL AND TOXICOLOGICAL CHEMISTRY

A liquid chromatographic method was developed to resolve a comprehensive set of metabolites of JWH-018 and JWH-073. In addition to the chromatographic analysis method, an extraction method was developed to recover a broad range of synthetic cannabinoid metabolites, including carboxylic acid metabolites that are not traditionally recovered using a high pH liquid/liquid extraction. The extraction and analysis methods were used to identify and quantify the significant metabolites in urine samples.

The chromatographic method detailed in this application note employed a RP-HPLC column and MS/MS detection. The quantitative range validated for all metabolites was 1 ng/mL to 500 ng/mL in urine. **2**

Based on the data, this method is suitable for quantification of metabolites of JWH-018 and JWH-073 to support broader research studies that positively identify clinically significant metabolites and their concentrations in urine.