

ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

**ИССЛЕДОВАНИЕ ВЕЩЕСТВА JWH-018 —
(НАФТАЛИН-1-ИЛ)(1-ПЕНТИЛ-1Н-ИНДОЛ-3-ИЛ)МЕТАНОНА —
В ВЕЩЕСТВЕННЫХ ДОКАЗАТЕЛЬСТВАХ**

**THE INVESTIGATION OF SUBSTANCE
1-NAPHTHALENYL(1-PENTYL-1H-INDOL-3-YL)METHANONE
(A.K.A. JWH-018) IN REAL EVIDENCE**

А.В. Киричек¹, Т.И. Степанова², Н.И. Калетина², А.Е. Коваленко²

A.V. Kirichek¹, T.I. Stepanova², N.I. Kaletina², A.E. Kovalenko²

¹ 111-й Государственный главный центр судебно-медицинских и криминалистических экспертиз МО России, Москва

² Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева, Москва

¹ General centre of Medico-Legal and Criminalistic Examination of Russian Ministry of Defence, Moscow, Russia

² Mendeleev University of Chemical Technology of Russia, Moscow, Russia

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: синтетические каннабимиметики, ТСХ, ГХ-МС

KEY WORDS: synthetic cannabimimetics, TLC, GC-MS

РЕЗЮМЕ: Проведено исследование вещества JWH-018, содержащегося в курительных смесях растительного происхождения. Для качественного обнаружения вещества JWH-018 использованы методы ТСХ и ГХ-МС, для количественного определения — метод ГХ-МС.

ABSTRACT: The subject of investigation was JWH-018 contained in smoking herbal mixtures. The presence of JWH-018 was established by thin-layer chromatography (TLC) and gas chromatography — mass spectrometry (GC-MS), whereas the quantity of substance was established by GC-MS method.

ВВЕДЕНИЕ

В последнее время в мире, в том числе и в России, стали популярны курительные смеси, содержащие синтетические психоактивные вещества, действующие на каннабиноидные рецепторы и вызывающие психоделические эффекты, близкие к эффектам Δ⁹-тетрагидроканнабинола (ТГК), а по силе воздействия превосходящие их. Такие вещества получили общее название кан-

набимиметики, основным из которых является JWH-018. Каннабимиметиками пропитывают компоненты растительного происхождения, не вызывающие сомнения в их легальности и входящие в состав различных курительных смесей. Анализ химического состава этих смесей выявил наличие в них синтетических каннабиноидов серии JWH (JWH-018 и его аналоги), серии CP (CP 47,497 и его аналоги), серии HU (HU-210) и синтетических аналогов предполагаемых эндогенных каннабиноидов. Согласно информации на упаковках курительных «миксов», это — «экзотические смеси благовоний, обладающие богатым ароматом». В России массовое распространение и употребление курительных смесей относится к концу 2008 — началу 2009 г.

Курительные смеси делятся на две группы: к первой группе относят «миксы», состоящие из растений, в составе которых имеются вещества, обладающие психотропным действием. Энтеогены (в дословном переводе с древнегреческого «становление божественным изнутри») — растения,

употребление которых оказывает психотропное действие. Они нередко используются в ритуальных обрядах различных народов. В настоящее время известно и описано множество видов растений-энтеогенов и вызываемых ими психоделических эффектов.

В состав курительных смесей этой группы входят особым образом подготовленные корни, семена, листья, кора, цветы и другие части таких растений, как *Nymphaea caerulea* (голубой лотос), *Salvia divinorum* (шалфей прорицателей), *Argyrea nervosa* (гавайская роза), *Verbascum thapsus* (медвежье ухо), *Leonorus sibiricus* (пустырник сибирский), *Leonotis leonorus* (львиный хвост), *Canavalia maritima/rosea* (канавалия морская/розовая) и др. (EMCDDA, 2009).

Второй вид курительных «миксов» — это смеси трав, обработанные синтетическими каннабиимиметиками. Состав компонентов таких курительных смесей, заявляемый производителями, не содержит растений, обладающих галлюциногенным действием. Некоторые из указываемых растений вообще не упоминаются в научной литературе. Таким образом, травяные смеси являются биологической матрицей (носителем) синтетических каннабиноидов, приемлемой для их ингаляционного использования (Рожанец, 2010). Постановлением Правительства Российской Федерации от 31 декабря 2009 г. № 1186 были внесены изменения в перечень запрещенных к обороту наркотических средств и психотропных веществ. В Список I, помимо листа шалфея предсказателей, цветков и листьев голубого лотоса и семян гавайской розы, были включены обнаруженные в составе ряда курительных смесей 23 синтетических каннабиноида серий CP, HU, JWH.

Исследования специалистов показывают, что употребление курительных смесей с одурманивающим эффектом вызывает длительные психические расстройства.

Одним из таких синтетических веществ является соединение JWH-018, или (нафталин-1-ил)(1-пентил-1Н-индол-3-ил)метанон.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Вещество JWH-018 ((нафталин-1-ил)(1-пентил-1Н-индол-3-ил)метанон) — одно из многих в серии JWH-соединений — синтезировано в 1995 г. для экспериментальных целей американским химиком Дж. Хаффманом (J.W. Huffman, Clemson University, США) и получило название по первым буквам его имени (номер CAS: 209414-07-3; патенты США № 7241799 и 6900236).

В 2008 г. в результате химического исследования ароматических курительных «миксов» Спайс Даймонд (Spice Diamond), Чилин (Chillin), Зохай (ZoHai) и Огонь Юкатана (Yucatan Fire) в их составе был обнаружен синтетический каннабииметик JWH-018.

Вещество JWH-018 (рис. 1) имеет брутто-формулу $C_{24}H_{23}NO$, молекулярную массу 341,45, не растворимо в воде при 25 °С, растворимо в диметилформамиде, диметилсульфоксиде, этиловом спирте.

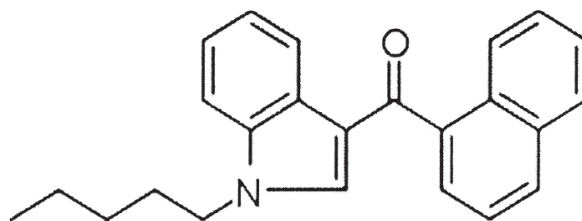


Рис. 1. Структурная формула вещества JWH-018

Химическая структура вещества JWH-018 существенно отличается от строения Δ^9 -тетрагидроканнабинола (ТГК). Галлюциногенный эффект JWH-018 примерно в пять раз выше, чем у ТГК. Психоделические эффекты при курении JWH-018 наступают незамедлительно. Эффективная дозировка JWH-018 при курении составляет от 0,5 до 3 мг, при пероральном приеме — от 3 до 10 мг, LD_{50} — 10 мг/кг (Steup, 2010). Пути метаболизма вещества JWH-018, как и других синтетических каннабиноидов, у человека пока не установлены. Химико-токсикологические исследования биологических жидкостей с целью установления факта употребления синтетических каннабиноидов не проведены.

Вещество JWH-018 — агонист каннабиноидных рецепторов CB1 и CB2. Каннабиноидные рецепторы обнаружены в 1990 и 1992 гг. В дальнейшем была разработана концепция эндоканнабиноидной системы в организме млекопитающих, включающей рецепторы CB1 и CB2, их физиологические лиганды — «эндогенные каннабиноиды» — производные арахидоновой кислоты анандамид, или арахидонилэтаноламид и 2-арахидонилглицерин. Рецепторы CB1 и CB2 принадлежат к суперсемейству G-протеинсвязанных мембранных рецепторов (Cobellis et al., 2006). Рецепторы CB1 — одни из самых многочисленных рецепторов мозга, сопряженных с G-белком, — располагаются в центральной и периферической нервной системе, а также в гипофизе, надпочечниках, репродуктивных органах, сердце, легких, желудочно-кишечном тракте, мочевом пузыре, иммунокомпетентных клетках. Наиболее высокая их плотность наблюдается в ганглиях головного мозга. Рецепторы CB1, располагающиеся на аксонах (в ЦНС и на периферии), модулируют высвобождение возбуждающих и тормозных медиаторов, усиливая или угнетая передачу соответствующих сигналов. Рецепторы CB1 участвуют в реализации таких психических функций, как восприятие, общая активность, двигательная активность, координация движений, витальные функции

(голод, половое влечение и пр.), болевая чувствительность, память и эмоции. Главный эффект возбуждения рецепторов СВ1 связан с уменьшением выделения медиаторов — дофамина, норэпинефрина, серотонина и снижением интенсивности сигналов, передаваемых от клетки к клетке с помощью этих нейромедиаторов. Рецепторы СВ1 сосредоточены на нейронах, высвобождающих γ -аминомасляную кислоту (ГАМК) — главный тормозной нейротрансмиттер головного мозга (под влиянием ГАМК нервные клетки прекращают генерировать электрические импульсы). Особенно плотно рецепторы СВ1 распределены около синапсов — области контакта двух нейронов. Такое расположение каннабиноидных рецепторов заставило ученых предположить, что они участвуют в передаче нервных сигналов через ГАМК-синапсы (Pozzoli et al., 2006).

Рецепторы СВ2 ответственны за иммуномодулирующие эффекты каннабиноидов и расположены в тканях, выполняющих в организме человека иммунологические функции (лейкоциты крови, костный мозг, селезенка, вилочковая железа, миндалины, макрофаги и мастоциты). Функции этих рецепторов до конца не изучены, однако недавние исследования японских ученых показали, что воздействие каннабиноидов на обладающие рецепторами СВ2 лимфоциты нарушает механизмы клеточной поляризации. Таким образом, иммунные клетки теряют способность к миграции в места заражения и воспаления.

Исследуемые объекты представляли собой спиртовые экстракты следующих растений и курительных смесей:

- № 1. Марихуана;
- № 2. Mojo;
- № 3. Smoke Plus;
- № 4. Genie;
- № 5. AK-47;
- № 6. Spice 1;
- № 7. Effya;
- № 8. Jah Rush;
- № 9. Spice 2;
- № 10. Smoke XXX;
- № 11. Неизвестная курительная смесь без названия, изъятая для экспертизы.

Методом хроматографии в тонком слое сорбента (ТСХ) были исследованы образцы ряда курительных смесей. Основная задача эксперимента состояла в выборе оптимальных условий хроматографирования с целью обнаружения вещества JWH-018: подбор систем элюентов и реактивов для проведения характерных «цветных» реакций.

В качестве неподвижных фаз использовали следующие:

- ПТСХ-А-АФ-УФ — ТСХ-пластины аналитические; подложка — алюминиевая фольга; в сорбент введен флуоресцентный индикатор ($\lambda = 254$ нм);
- пластины фирмы «Merck», Германия:

- НРТLC-Si-60;
- НРТLC RP-18.

В качестве подвижных фаз использовали:

- смесь гексан : диэтиловый эфир в соотношении 4 : 1;
- смесь петролейный эфир : диэтиловый эфир в соотношении 4 : 1;
- смесь метанол : аммиак в соотношении 100 : 1,5;
- смесь гексан : диоксан в соотношении 9 : 1;
- смесь гексан : ацетон в соотношении 3 : 1.

Для достижения лучшего разделения элюирование проводили дважды при использовании смесей гексан : диэтиловый эфир и петролейный эфир : диэтиловый эфир, а при работе с подвижной фазой гексан : диоксан — трижды.

Для хромато-масс-спектрометрического (ГХ-МС) исследования 0,1 г средней пробы вещества растительного происхождения из объекта измельчали, помещали в пробирку, заливали 1 мл этилового спирта и нагревали до начала кипения.

Исследование проводили на хромато-масс-спектрометре фирмы «Agilent Technologies» модель 5973N/6890N (США). Колонка HP-5MS длиной 30 м, внутренним диаметром 0,25 мм. В качестве газоносителя использовали гелий со скоростью расхода 1,3 мл/мин. Температуру инжектора и интерфейса поддерживали равной 280 °С. Температуру колонки программировали от 90 °С (1 мин) со скоростью 35 °С/мин до 310 °С (7 мин). Ввод 1 мкл образца осуществляли в режиме с делением потока газоносителя (40 : 1).

Масс-спектрометр работал в режиме сканирования спектров электронного удара при 70 эВ в диапазоне от 31 до 550 Да. Напряжение электронного умножителя устанавливали по результатам автоматической настройки прибора по программе Autotune из стандартного пакета математического обеспечения фирмы-производителя.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Значения R_f для вещества JWH-018 в экспериментах с различными подвижными и неподвижными фазами (при длине пробега фронта растворителя 80 мм) представлены в таблице 1.

Наилучшее разделение было получено при использовании в качестве подвижной фазы смеси гексан : ацетон в соотношении 3 : 1 (пластинки ПТСХ-А-АФ-УФ «Sorbfil» и НРТLC-Si-60 фирмы «Merck»).

Подбор реагентов для обнаружения зоны JWH-018

Образцы экстракта неизвестной курительной смеси (№ 11, см. выше), изъятой для экспертного исследования, были нанесены на пластины ПТСХ-А-АФ-УФ «Sorbfil»; в качестве элюента использовали смесь гексан : ацетон (3 : 1). Окрашивание проводили следующими реактивами:

Таблица 1. Величины R_f вещества JWH-018

Подвижная фаза	Неподвижная фаза		
	ПТСХ-А-АФ-УФ $R_f \pm \Delta X$	НPTLC-Si-60 $R_f \pm \Delta X$	НPTLC RP-18 $R_f \pm \Delta X$
Гексан : диэтиловый эфир 4 : 1	0,32 ± 0,10		—
Петролейный эфир : диэтиловый эфир 4 : 1	0,32 ± 0,10		—
Метанол : аммиак 100 : 1,5		—	0,54 ± 0,10
Гексан : диоксан 9 : 1	0,37 ± 0,10		—
Гексан ацетон 3 : 1	0,43 ± 0,10 0,36 ± 0,10*	0,40	—

* При длине пробега фронта растворителя 130 мм.

- 1) прочный синий ББ;
- 2) реактив Драгендорфа (по Мунье);
- 3) прочный черный К;
- 4) реактив Марки;
- 5) раствор йодплатината подкисленный;
- 6) реактив Манделина (после обработки реактивом пластинки нагревали при 110 °С в течение 3 мин);

7) реактив Ван-Урка (после обработки реактивом пластинки нагревали при 100 °С в течение 5 мин).

Результаты окрашивания зоны JWH-018 приведены в таблице 2.

Наиболее показательной является реакция с 1% этанольным раствором пара-диметиламинобен-

зальдегида в соляной кислоте (реактивом Ван-Урка), которую можно проводить на фильтровальной бумаге и рекомендовать в качестве предварительной реакции обнаружения вещества JWH-018.

Анализ экстракта неизвестной курительной смеси № 11

На пластину ПТСХ-А-АФ-УФ полосой наносили образец экстракта неизвестной курительной смеси (№ 11), изъятой для проведения криминалистической экспертизы. Однократное элюирование проводили смесью гексан : ацетон в соотношении 3 : 1, после чего слой силикагеля с адсорбированным веществом JWH-018 снимали; с сорбента вещество элюировали спиртом, спирт упаривали, ве-

Таблица 2. Окрашивание зоны JWH-018 при проведении ТСХ

Реактивы	Окрашивание зоны JWH-018	
	на фильтровальной бумаге	на хроматографической пластине
Прочный синий ББ	—	желтовато-коричневая
Реактив Драгендорфа (по Мунье)	—	желто-оранжевая окраска проявляется после обработки H_2SO_4
Прочный черный К	—	—
Реактив Марки	желтовато-бурая	бурая
Раствор йодплатината подкисленный	—	желтовато-бурая; исчезает при нагревании
Реактив Манделина	—	ярко-желтая; проявляется при нагревании (110 °С около 2—3 мин)
Реактив Ван-Урка	фиолетовая	фиолетовая, при нагревании (100 °С в течение 2—3 мин) становится буро-желтой

щество JWH-018 анализировали методом ГХ-МС. Полученный масс-спектр сравнили с масс-спектром (рис. 2) вещества JWH-018, приведенным в литературе (Steup, 2010).

Количественное определение вещества JWH-018 проводили методом ГХ-МС по иону 341 Да, в

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных исследований методами ТСХ и ГХ-МС было доказано наличие в образцах курительных смесей вещества JWH-018 — (нафталин-1-ил)(1-пентил-1Н-индол-3-ил)метанона.

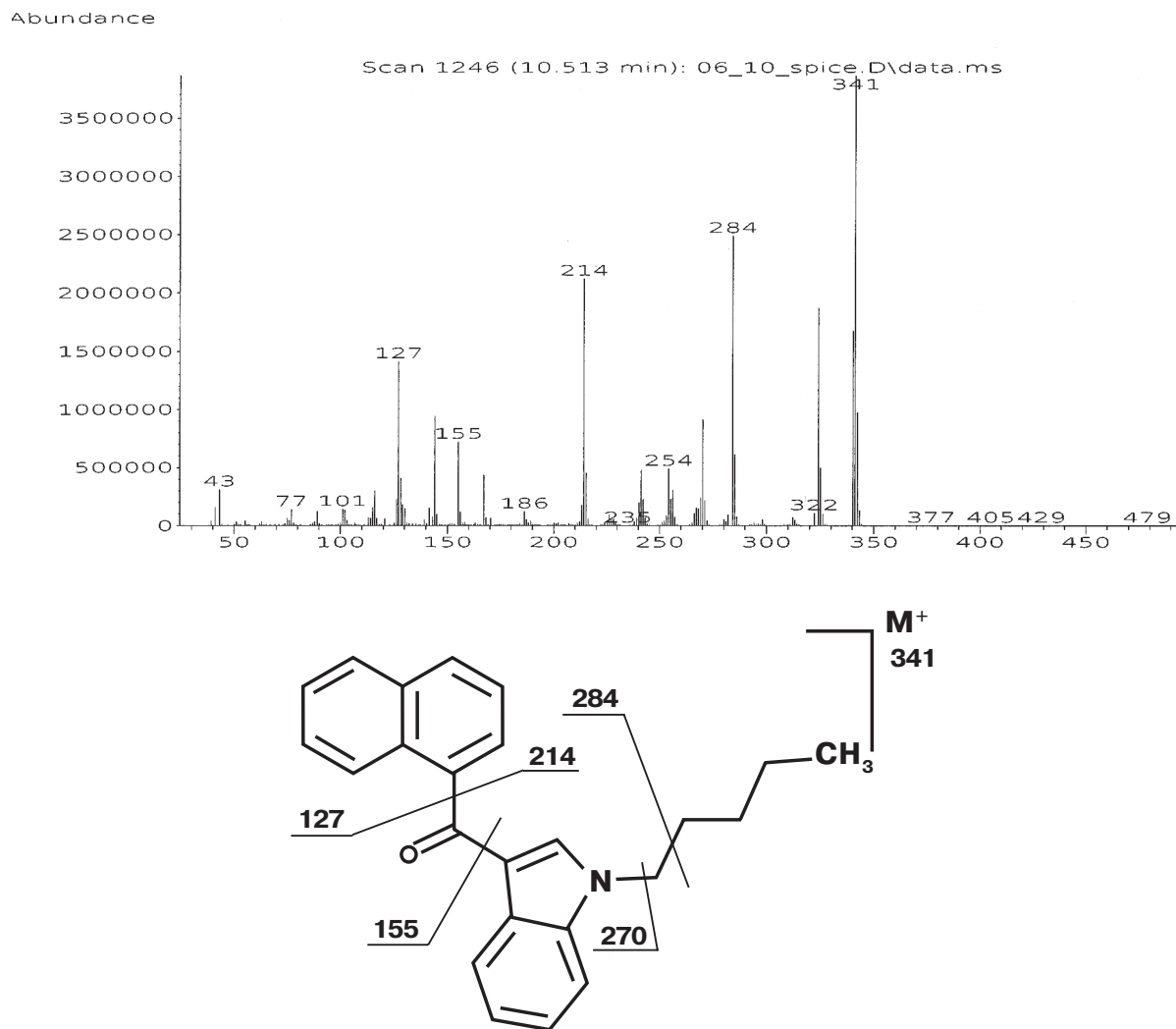


Рис. 2. Масс-спектр (нафталин-1-ил)(1-пентил-1Н-индол-3-ил)метанона (JWH-018) и фрагменты характеристических ионов

качестве подтверждающих ионов использовали ионы 284, 214 и 127 Да. Расчеты проводили методом внешнего стандарта. С этой целью строили калибровочный график зависимости площади хроматографического пика иона 341 Да от концентрации вещества JWH-018 в спиртовом растворе: 0,025, 0,05, 0,1, 0,5 и 1 мкг/мл. Измерения проводили в вышеописанных условиях настройки прибора, за исключением того, что пробу вводили в режиме без деления потока газа-носителя. В указанном диапазоне концентраций калибровочный график имел линейную зависимость. Коэффициент корреляции составил 0,998.

Для разделения курительных смесей методом ТСХ были подобраны эффективные хроматографические системы и реактивы для обнаружения зоны вещества JWH-018. По результатам исследования наилучшее разделение получено на пластинах ПТСХ-А-АФ-УФ и НРТLC-Si-60 с использованием в качестве подвижной фазы смеси гексан : ацетон в соотношении 3 : 1. Специфическое окрашивание зоны вещества JWH-018 дают реактивы Манделина и Ван-Урка. Цветную реакцию с реактивом Ван-Урка можно рекомендовать в качестве предварительной реакции обнаружения вещества JWH-018.

В качестве подтверждающего метода обнаружения вещества JWH-018 в курительных смесях и его количественного определения был использован метод ГХ-МС.

ЛИТЕРАТУРА

Постановление Правительства РФ от 31 декабря 2009 г. № 1186.

Рожанец В. В. Феномен Spice // Наркология. 2010. № 3 (99). С. 80—84.

Cobellis G., Cacciola G., Scarpa D., Meccariello R., Chianese R., Franzoni M.F., Mackie K., Pierantoni R., Fasano S.

Endocannabinoid system in frog and rodent testis: type-1 cannabinoid receptor and fatty acid amide hydrolase activity in male germ cells // Biol Reprod. 2006, 75:82—89.

EMCDDA. Understanding the «Spice» phenomenon. Lisbon: European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction, 2009. 37 p.

Pozzoli G., Tringali G., Vairano M., D'Amico M., Navarra P., Martire M. Cannabinoid agonist WIN55, 212-2 induces apoptosis in cerebellar granule cells via activation of the CB(1) receptor and downregulation of bcl-x(L) gene expression // *J Neurosci Res.* 2006, 83(6):1058—1065.

Steup C. Untersuchung des Handelsproduktes «Spice». Frankfurt: THC PHARM GmbH, 2010. 6 p.