

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования «Уральский федеральный университет имени
первого Президента России Б.Н. Ельцина»

На правах рукописи

Куприянова Ольга Всеволодовна

**ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ ПОЗИЦИОННЫХ ИЗОМЕРОВ
N-(2-ЗАМЕЩЕННЫХ)БЕНЗИЛ-2-(ДИМЕТОКСИФЕНИЛ)ЭТАНАМИНОВ
МЕТОДАМИ ХРОМАТОГРАФИИ И МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ**

1.4.2. Аналитическая химия

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Екатеринбург – 2023

Работа выполнена в научно-исследовательской лаборатории «Омиксные технологии» Института фундаментальной медицины и биологии ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет» и в Региональном научно-испытательном центре «Фармэксперт» ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет».

Научный руководитель: кандидат химических наук,
Шевырин Вадим Анатольевич

Официальные оппоненты: **Зенкевич Игорь Георгиевич**, доктор химических наук, профессор, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», г. Санкт-Петербург, профессор кафедры органической химии

Темердашев Азамат Зауалевич, доктор химических наук, доцент, ФГБОУ ВО «Кубанский государственный университет», г. Краснодар, старший научный сотрудник, руководитель испытательной лаборатории учебно-научно-производственного коллектива «Аналит»

Ульяновский Николай Валерьевич, доктор химических наук, ФГАОУ ВО «Северный (Арктический) федеральный университет имени М.В. Ломоносова», г. Архангельск, ведущий научный сотрудник лаборатории химии природных соединений и биоаналитики

Защита состоится «22» февраля 2023 г. в 12:00 ч на заседании диссертационного совета УрФУ 2.6.02.07 по адресу: 620002, г. Екатеринбург, ул. Мира, 19, ауд. И-420 (зал Ученого совета).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина» <https://dissovet2.urfu.ru/mod/data/view.php?id=12&rid=4291>

Автореферат разослан «___» _____ 20__ г.

Ученый секретарь
диссертационного совета



Семенищев Владимир Сергеевич

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Современная ситуация на нелегальном рынке наркотических средств (НС) и психотропных веществ (ПВ) характеризуется появлением новых психоактивных соединений (НПС), а также новыми тенденциями в области незаконного оборота наркотиков, что представляет проблему как для национальных правоохранительных органов, так и для научного персонала лабораторий судебной экспертизы. Одной из таких важнейших проблем, с которой сталкиваются химики-аналитики, является идентификация и последующая дифференциация изомеров. Несмотря на то, что современные методы хроматографии и масс-спектрометрии обладают высокой надежностью при определении органических соединений в разнообразных матрицах, возникают сложности при разделении смесей или идентификации изомеров из-за их структурного сходства. В то же время, изомеры могут иметь существенные различия в воздействии на организм человека, поэтому их надежное определение является важнейшей аналитической задачей.

N-((2-замещенные)бензил)фенилэтанамин представляет собой сравнительно новое семейство синтетических соединений, отдельные представители которых известны на нелегальном рынке как мощные психотомиметики. Так, *N*-(2-замещенные)бензил-2-(диметоксифенил)этанамин, содержащие две метоксигруппы в положениях 2 и 5 фенилэтильного фрагмента молекулы (например, 2-(4-йодо-2,5-диметоксифенил)-*N*-(2-метоксибензил)этанамин (25I-NBOMe)), проявляют ярко выраженный психоактивный эффект, а их препараты часто становятся причиной ряда тяжелых отравлений и даже смертей, в результате чего они были законодательно запрещены. С другой стороны, в случае изменения взаимного расположения двух метоксигрупп фенилэтильного фрагмента молекулы их позиционные изомеры могут не иметь каких-либо психоактивных эффектов, что даже позволяет их изучать в качестве потенциальных лекарственных средств.

Таким образом, возможные различия в фармакологических свойствах и разная степень юридического контроля позиционных изомеров *N*-(2-замещенных)бензил-2-(диметоксифенил)этанамин с $-OCH_3$ ($-OMe$), $-OCF_3$ ($-OMe$ (F)), $-F$, $-Cl$, $-Br$ и $-OH$ заместителями в *ortho*-положении *N*-бензильного фрагмента (далее – соединения NBOMe, NBOMe (F), NBF, NBCl, NBBr и NBOH соответственно) требуют достоверной идентификации и их дифференциации при проведении анализа в экспертных лабораториях, что обуславливает актуальность данной работы в рамках решения проблемы по борьбе с запрещенными веществами.

Степень разработанности темы исследования. Проблема дифференциации позиционных изомеров (региоизомеров) *N*-(2-замещенных)бензил-2-(диметоксифенил)этанамин по бензольному кольцу фенилэтильного фрагмента молекулы до настоящего времени не была проработана и требует изучения.

В научной литературе неоднократно обсуждались возможности дифференциации изомеров по положению функциональных групп в *N*-бензильном фрагменте. Наиболее распространенный случай – региоизомерия метоксигруппы в *N*-метоксибензильной группировке различных серий NBOMe, содержащих галогены либо алкильные заместители в положении 4 фенилэтильного фрагмента молекулы (25I-NBOMe, 25E-NBOMe (*N*-(2-метоксибензил)-2-(4-этил-2,5-диметоксифенил)этанамин) и др.). Возможности дифференциации также были описаны для региоизомеров по *N*-бромбензильному фрагменту для 25I-NBBr (*N*-(2-бромбензил)-2-(4-йод-2,5-диметоксифенил)этанамин).

Однако случай изомерии положения двух метоксигрупп в фенилэтильном фрагменте молекулы, как для самой распространенной серии NBOMe, так и для других серий, не рассматривался в принципе.

В этой связи поиск путей дифференциации позиционных изомеров серий NBOMe, NBOMe (F), NBF, NBCl, NBBr и NBOH с помощью методов газовой и жидкостной хроматографии (ГХ и ВЭЖХ) и масс-спектрометрии низкого (МС) и высокого разрешений (МСВР), широко применяемых при проведении судебных и токсикологических исследований, является важной и актуальной практической задачей, позволяющей исключить ошибки идентификации при проведении лабораторного анализа.

Цель работы: разработка унифицированного подхода к дифференциации позиционных изомеров по бензольному кольцу фенилэтильного фрагмента для *N*-(2-замещенных)бензил-2-(диметоксифенил)этанаминов серий NBOMe, NBOMe (F), NBF, NBCl, NBBr и NBOH методами хроматографии и масс-спектрометрии, включая создание информационного массива аналитических справочных данных, а также алгоритм дифференциации изомеров каждой серии.

Для реализации поставленной цели потребовалось решение следующих **задач:**

1. Синтезировать позиционные изомеры по бензольному кольцу фенилэтильного фрагмента *N*-(2-замещенных)бензил-2-(диметоксифенил)этанаминов шести серий, кроме изомеров, запрещенных к обороту. Подтвердить их индивидуальность и химическую структуру с применением комплекса методов хроматографии, масс-спектрометрии, ЯМР спектроскопии, элементного анализа.

2. Подобрать условия хроматографического разделения региоизомеров шести серий с использованием методов ГХ и ВЭЖХ.

3. Изучить особенности масс-спектрометрической фрагментации соединений при ионизации электронами (ИЭ) и в результате диссоциации, индуцированной соударениями (ДИС), используя два принципиально различных источника ионизации (ИЭ и ионизация электрораспылением (ИЭР)).

4. Разработать подход для масс-спектрометрической дифференциации позиционных изомеров шести серий на основе масс-спектров ИЭ и спектров ДИС.

5. Предложить алгоритм дифференциации позиционных изомеров каждой серии.

6. Разработать единую методику дифференциации позиционных изомеров с использованием методов ГХ и ВЭЖХ, а также МС и МСВР.

Научная новизна:

- Впервые было осуществлено хроматографическое разделение позиционных изомеров по бензольному кольцу фенилэтильного фрагмента для *N*-(2-замещенных)бензил-2-(диметоксифенил)этанаминов серий NBOMe, NBOMe (F), NBF, NBCl, NBBr и NBON методами ГХ и ВЭЖХ.

- Впервые изучены особенности масс-спектрометрической фрагментации позиционных изомеров по бензольному кольцу фенилэтильного фрагмента для *N*-(2-замещенных)бензил-2-(диметоксифенил)этанаминов шести серий при ИЭ и в результате ДИС, выделены ключевые фрагментные ионы, образование и интенсивности сигналов которых зависят от изомерной структуры соединения.

- Впервые изучены особенности протекания перегруппировки Мак-Лафферти в источнике ИЭ на примере некоторых *N*-((2-замещенных)бензил)фенилэтанаминов с помощью МС и МСВР; установлена возможность протекания перегруппировки в случае позиционных изомеров с занятыми обоими *орто*-положениями фенилэтильного фрагмента молекулы, что позволяет пересмотреть предыдущие знания о перегруппировке Мак-Лафферти.

- Впервые разработан единый подход и предложен алгоритм дифференциации позиционных изомеров по бензольному кольцу фенилэтильного фрагмента для *N*-(2-замещенных)бензил-2-(диметоксифенил)этанаминов шести серий с использованием методов хроматографии и масс-спектрометрии.

- Впервые синтезированы 102 соединения, установлена и доказана химическая структура 106 соединений методами хроматографии / масс-спектрометрии, ЯМР спектроскопии, элементного анализа.

Теоретическая и практическая значимость:

- Результаты работы представляют собой разработанный подход, позволяющий дифференцировать позиционные изомеры по бензольному кольцу фенилэтильного фрагмента *N*-(2-замещенных)бензил-2-(диметоксифенил)этанаминов серий NBOMe, NBOMe (F), NBF, NBCl, NBBr и NBON на основе комплексной оценки различий параметров хроматографического удерживания и масс-спектральных данных.

- Предложенный подход может быть использован для дифференциации позиционных изомеров других производных *N*-((2-замещенных)бензил)фенилэтанамина, включая и НПС.

- Разработанная унифицированная методика анализа шести серий позиционных изомеров по бензольному кольцу фенилэтильного фрагмента является простым, надежным, дешевым и быстрым способом

дифференциации позиционных изомеров, что особенно важно при срочном проведении исследований в экспертных лабораториях.

- Впервые для 72 соединений определены аналитические характеристики в виде газохроматографических индексов удерживания, рассчитанных для режима программирования температуры и изотермического режима, и спектральных данных, необходимых для идентификации и последующей дифференциации позиционных изомеров *N*-(2-замещенных)бензил-2-(диметоксифенил)этанаминов шести серий методом ГХ (ГХ-МС).
- Предложен новый способ дифференциации термически неустойчивых позиционных изомеров серии NBOH методом ГХ (ГХ-МС).
- Масс-спектры ИЭ и данные об индексах удерживания соединений и их дериватов внесены в электронную библиотеку масс-спектров ИЭ и хроматографических индексов удерживания «EKBDRUGS» (св. о гос. рег. № 2015621086 Россия), используемую при проведении экспертиз НС и ПВ.
- Созданный информационный массив аналитических данных и методика анализа позволяют дифференцировать легальные изомеры, которые могут быть изучены в медицинских целях в качестве потенциальных лекарственных препаратов.

Методология и методы исследования. Дифференциация позиционных изомеров и их дериватов осуществлялась с использованием методов газожидкостной хроматографии в сочетании с масс-спектрометрией низкого разрешения (ГХ-МС) и высокоэффективной жидкостной хроматографии в сочетании с тандемной масс-спектрометрией высокого разрешения (ВЭЖХ-МС/МСВР). Для разделения критической пары изомерных соединений одной из серий применялся метод тонкослойной хроматографии (ТСХ). Установление химических структур и индивидуальности синтезированных соединений проводили с помощью элементного анализа, методов ^1H , ^{13}C и ^{19}F ЯМР спектроскопии, ГХ-МС, ВЭЖХ-МСВР. Изучение особенностей протекания перегруппировки Мак-Лафферти проводили с использованием метода ГХ-МСВР.

Положения, выносимые на защиту:

1. Пути масс-спектрометрического распада *N*-(2-замещенных)бензил-2-(диметоксифенил)этанаминов серий NBOMe, NBOMe (F), NBF, NBCl, NBBr и NBOH под действием ИЭ и в результате ДИС. Взаимосвязь «структура-фрагментация».
2. Алгоритм дифференциации позиционных изомеров *N*-(2-замещенных)бензил-2-(диметоксифенил)этанаминов каждой из шести серий на основе хроматографических параметров удерживания и масс-спектральных данных.
3. Унифицированная методика дифференциации позиционных изомеров по бензольному кольцу фенилэтильного фрагмента для *N*-(2-замещенных)бензил-2-(диметоксифенил)этанаминов серий NBOMe, NBOMe (F), NBF, NBCl, NBBr и NBOH с использованием методов ГХ-МС и ВЭЖХ-МСВР.

Степень достоверности и апробация результатов.

Достоверность полученных данных обеспечиваются использованием в работе современных физико-химических методов анализа и высокотехнологичного оборудования, а также статистической обработкой экспериментально полученных хроматографических параметров удерживания и масс-спектральных данных.

Основные результаты работы доложены на Всероссийской научно-практической конференции на тему «Современные проблемы химической технологии биологически активных веществ» (г. Москва, 2016 г.), II-м ежегодном научно-практическом семинаре «Газовая и жидкостная хромато-масс-спектрометрия Agilent Technologies как инструмент в идентификационных исследованиях синтетических психостимуляторов и каннабимиметиков» (г. Москва, 2016 г.), Международной научно-практической конференции на тему «Актуальные аспекты химической технологии биологически активных веществ» (г. Москва, 2020 г.), Международной научной конференции «Актуальные вопросы органической химии и биотехнологии» (г. Екатеринбург, 2020 г.), X Съезде ВМСО IX Всероссийской конференции с международным участием «Масс-спектрометрия и ее прикладные проблемы» (г. Москва, 2021 г.).

Личный вклад соискателя заключался в постановке проблемы, целей и задач исследования, планировании и проведении экспериментальных исследований, обработке, интерпретации и систематизации результатов.

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 10 научных работ, в том числе, 6 статей в рецензируемых изданиях, определенных ВАК РФ и Аттестационным советом УрФУ и входящих в международные базы Scopus и WOS; 4 тезиса докладов, представленных на конференциях.

Структура и объем работы. Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, экспериментальной части, шести глав результатов исследований и их обсуждения, заключения, списка литературы из 124 наименований и двух приложений. Работа изложена на 162 страницах, содержит 50 рисунков, 3 фото, 2 схемы, 30 таблиц.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во **Введении** изложены основные положения об актуальности и степени разработанности темы диссертационной работы, определены цели и задачи исследования, сформулирована научная новизна и практическая значимость, а также положения, выносимые на защиту диссертации.

В **первой главе (обзор литературы)** дана общая характеристика класса фенилэтанаминов, их структура и свойства. Рассмотрены аналитические методы определения соединений класса фенилэтанаминов и их производных, применяемые в экспертных лабораториях. Проведен анализ публикаций по использованию аналитических методов при определении их *N*-(2-замещенных)бензильных аналогов. Обсуждается литературная информация по идентификации и возможной дифференциации позиционных изомеров *N*-(2-замещенных)бензил-2-(диметоксифенил)этанаминов в контексте двух

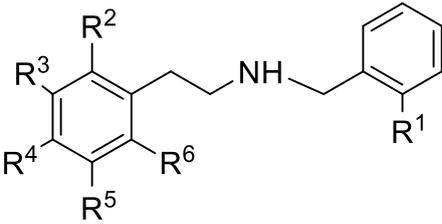
видов структурной изомерии молекулы: по *N*-бензильному и фенилэтильному фрагментам. Рассмотрены способы дифференциации позиционных изомеров *N*-(2-замещенных)бензил-2-(диметоксифенил)этанаминов различными аналитическими методами, в особенности, с помощью хроматографии и масс-спектрометрии, применяемыми в судебных и токсикологических лабораториях. Установлено отсутствие публикаций, посвященных вопросам дифференциации позиционных изомеров *N*-2-((замещенных)бензил)-2-(диметоксифенил)этанаминов по бензольному кольцу фенилэтильного фрагмента с использованием какого-либо метода анализа, что не позволяет дифференцировать законодательно контролируемые позиционные изомеры среди остальных. В настоящей главе обоснован выбор объектов анализа.

Во второй главе (экспериментальная часть) представлены объекты диссертационного исследования - соединения серий NBOMe, NBOMe (F), NBF, NBCl, NBBr и NBOH (табл. 1), используемые реактивы, материалы, оборудование.

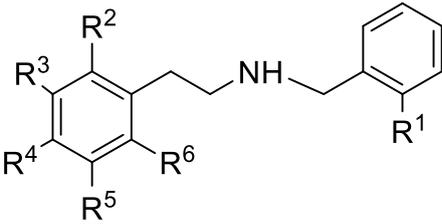
Таблица 1 - Структура, химические и условные названия объектов исследования

Номер	Условное название	Заместители	Химическое название
1	25H-NBOMe	$R^1 = R^2 = R^5 = OCH_3$; $R^3 = R^4 = R^6 = H$	<i>N</i> -(2-метоксибензил)-2-(2,5-диметоксифенил)этанамин
2	23H-NBOMe	$R^1 = R^2 = R^3 = OCH_3$; $R^4 = R^5 = R^6 = H$	<i>N</i> -(2-метоксибензил)-2-(2,3-диметоксифенил)этанамин
3	24H-NBOMe	$R^1 = R^2 = R^4 = OCH_3$; $R^3 = R^5 = R^6 = H$	<i>N</i> -(2-метоксибензил)-2-(2,4-диметоксифенил)этанамин
4	26H-NBOMe	$R^1 = R^2 = R^6 = OCH_3$; $R^3 = R^4 = R^5 = H$	<i>N</i> -(2-метоксибензил)-2-(2,6-диметоксифенил)этанамин
5	34H-NBOMe	$R^1 = R^3 = R^4 = OCH_3$; $R^2 = R^5 = R^6 = H$	<i>N</i> -(2-метоксибензил)-2-(3,4-диметоксифенил)этанамин
6	35H-NBOMe	$R^1 = R^3 = R^5 = OCH_3$; $R^2 = R^4 = R^6 = H$	<i>N</i> -(2-метоксибензил)-2-(3,5-диметоксифенил)этанамин
7	25H-NBOMe (F)	$R^1 = OCF_3$; $R^2 = R^5 = OCH_3$; $R^3 = R^4 = R^6 = H$	2-(2,5-диметоксифенил)- <i>N</i> -(2-(трифторметокси)бензил)этанамин
8	23H-NBOMe (F)	$R^1 = OCF_3$; $R^2 = R^3 = OCH_3$; $R^4 = R^5 = R^6 = H$	2-(2,3-диметоксифенил)- <i>N</i> -(2-(трифторметокси)бензил)этанамин
9	24H-NBOMe (F)	$R^1 = OCF_3$; $R^2 = R^4 = OCH_3$; $R^3 = R^5 = R^6 = H$	2-(2,4-диметоксифенил)- <i>N</i> -(2-(трифторметокси)бензил)этанамин

Продолжение Таблицы 1

			
Номер	Условное название	Заместители	Химическое название
10	26H-NBOMe (F)	$R^1 = \text{OCF}_3$; $R^2 = R^6 = \text{OCH}_3$; $R^3 = R^4 = R^5 = \text{H}$	2-(2,6-диметоксифенил)- <i>N</i> - (2-(трифторметокси)бензил) этанамин
11	34H-NBOMe (F)	$R^1 = \text{OCF}_3$; $R^3 = R^4 = \text{OCH}_3$; $R^2 = R^5 = R^6 = \text{H}$	2-(3,4-диметоксифенил)- <i>N</i> - (2-(трифторметокси)бензил) этанамин
12	35H-NBOMe (F)	$R^1 = \text{OCF}_3$; $R^3 = R^5 = \text{OCH}_3$; $R^2 = R^4 = R^6 = \text{H}$	2-(3,5-диметоксифенил)- <i>N</i> - (2-(трифторметокси)бензил) этанамин
13	25H-NBF	$R^1 = \text{F}$; $R^2 = R^5 = \text{OCH}_3$; $R^3 = R^4 = R^6 = \text{H}$	2-(2,5-диметоксифенил)- <i>N</i> - (2-фторбензил)этанамин
14	23H-NBF	$R^1 = \text{F}$; $R^2 = R^3 = \text{OCH}_3$; $R^4 = R^5 = R^6 = \text{H}$	2-(2,3-диметоксифенил)- <i>N</i> - (2-фторбензил)этанамин
15	24H-NBF	$R^1 = \text{F}$; $R^2 = R^4 = \text{OCH}_3$; $R^3 = R^5 = R^6 = \text{H}$	2-(2,4-диметоксифенил)- <i>N</i> - (2-фторбензил)этанамин
16	26H-NBF	$R^1 = \text{F}$; $R^2 = R^6 = \text{OCH}_3$; $R^3 = R^4 = R^5 = \text{H}$	2-(2,6-диметоксифенил)- <i>N</i> - (2-фторбензил)этанамин
17	34H-NBF	$R^1 = \text{F}$; $R^3 = R^4 = \text{OCH}_3$; $R^2 = R^5 = R^6 = \text{H}$	2-(3,4-диметоксифенил)- <i>N</i> - (2-фторбензил)этанамин
18	35H-NBF	$R^1 = \text{F}$; $R^3 = R^5 = \text{OCH}_3$; $R^2 = R^4 = R^6 = \text{H}$	2-(3,5-диметоксифенил)- <i>N</i> - (2-фторбензил)этанамин
19	25H-NBCl	$R^1 = \text{Cl}$; $R^2 = R^5 = \text{OCH}_3$; $R^3 = R^4 = R^6 = \text{H}$	2-(2,5-диметоксифенил)- <i>N</i> - (2-хлорбензил)этанамин
20	23H-NBCl	$R^1 = \text{Cl}$; $R^2 = R^3 = \text{OCH}_3$; $R^4 = R^5 = R^6 = \text{H}$	2-(2,3-диметоксифенил)- <i>N</i> - (2-хлорбензил)этанамин
21	24H-NBCl	$R^1 = \text{Cl}$; $R^2 = R^4 = \text{OCH}_3$; $R^3 = R^5 = R^6 = \text{H}$	2-(2,4-диметоксифенил)- <i>N</i> - (2-хлорбензил)этанамин
22	26H-NBCl	$R^1 = \text{Cl}$; $R^2 = R^6 = \text{OCH}_3$; $R^3 = R^4 = R^5 = \text{H}$	2-(2,6-диметоксифенил)- <i>N</i> - (2-хлорбензил)этанамин
23	34H-NBCl	$R^1 = \text{Cl}$; $R^3 = R^4 = \text{OCH}_3$; $R^2 = R^5 = R^6 = \text{H}$	2-(3,4-диметоксифенил)- <i>N</i> - (2-хлорбензил)этанамин
24	35H-NBCl	$R^1 = \text{Cl}$; $R^3 = R^5 = \text{OCH}_3$; $R^2 = R^4 = R^6 = \text{H}$	2-(3,5-диметоксифенил)- <i>N</i> - (2-хлорбензил)этанамин
25	25H-NBBr	$R^1 = \text{Br}$; $R^2 = R^5 = \text{OCH}_3$; $R^3 = R^4 = R^6 = \text{H}$	<i>N</i> -(2-бромбензил)-2-(2,5- диметоксифенил)этанамин
26	23H-NBBr	$R^1 = \text{Br}$; $R^2 = R^3 = \text{OCH}_3$; $R^4 = R^5 = R^6 = \text{H}$	<i>N</i> -(2-бромбензил)-2-(2,3- диметоксифенил)этанамин
27	24H-NBBr	$R^1 = \text{Br}$; $R^2 = R^4 = \text{OCH}_3$; $R^3 = R^5 = R^6 = \text{H}$	<i>N</i> -(2-бромбензил)-2-(2,4- диметоксифенил)этанамин

Продолжение Таблицы 1

			
Номер	Условное название	Заместители	Химическое название
28	26H-NBBr	$R^1 = \text{Br}; R^2 = R^6 = \text{OCH}_3;$ $R^3 = R^4 = R^5 = \text{H}$	<i>N</i> -(2-бромбензил)-2-(2,6-диметоксифенил)этанамин
29	34H-NBBr	$R^1 = \text{Br}; R^3 = R^4 = \text{OCH}_3;$ $R^2 = R^5 = R^6 = \text{H}$	<i>N</i> -(2-бромбензил)-2-(3,4-диметоксифенил)этанамин
30	35H-NBBr	$R^1 = \text{Br}; R^3 = R^5 = \text{OCH}_3;$ $R^2 = R^4 = R^6 = \text{H}$	<i>N</i> -(2-бромбензил)-2-(3,5-диметоксифенил)этанамин
31	23H-NBOH	$R^1 = \text{OH}; R^2 = R^3 = \text{OCH}_3;$ $R^4 = R^5 = R^6 = \text{H}$	<i>N</i> -(2-гидроксибензил)-2-(2,3-диметоксифенил)этанамин
32	24H-NBOH	$R^1 = \text{OH}; R^2 = R^4 = \text{OCH}_3;$ $R^3 = R^5 = R^6 = \text{H}$	<i>N</i> -(2-гидроксибензил)-2-(2,4-диметоксифенил)этанамин
33	26H-NBOH	$R^1 = \text{OH}; R^2 = R^6 = \text{OCH}_3;$ $R^3 = R^4 = R^5 = \text{H}$	<i>N</i> -(2-гидроксибензил)-2-(2,6-диметоксифенил)этанамин
34	34H-NBOH	$R^1 = \text{OH}; R^3 = R^4 = \text{OCH}_3;$ $R^2 = R^5 = R^6 = \text{H}$	<i>N</i> -(2-гидроксибензил)-2-(3,4-диметоксифенил)этанамин
35	35H-NBOH	$R^1 = \text{OH}; R^3 = R^5 = \text{OCH}_3;$ $R^2 = R^4 = R^6 = \text{H}$	<i>N</i> -(2-гидроксибензил)-2-(3,5-диметоксифенил)этанамин

Описаны методики синтеза изучаемых соединений, методики анализа, используемые для дифференциации позиционных изомеров шести изучаемых серий методами ГХ-МС и ВЭЖХ-МСВР в режимах МС и МС/МС, а также методом ТСХ (для дифференциации одной критической пары региоизомеров). Описана методика расчета индексов газохроматографического удерживания в различных режимах. Приведены полученные аналитические данные синтезированных позиционных изомеров, их дериватов и промежуточных соединений,

Третья глава (Обсуждение результатов).

В данной главе обосновывается выбор методов анализа для дифференциации позиционных изомеров серий NBOMe, NBOMe (F), NBF, NBCl, NBBr и NBOH.

Метод ГХ-МС - универсальный метод для определения НС, НПС, лекарственных препаратов, в связи с чем он активно применяется в экспертных лабораториях. ГХ-МС относится к подтверждающим методам анализа. Достоверность идентификации изучаемых соединений

обеспечивается измерением хроматографических параметров удерживания в совокупности с регистрацией масс-спектров и последующей их интерпретацией, в том числе с использованием компьютерного библиотечного поиска. Индексы удерживания являются наиболее надежными и воспроизводимыми относительными параметрами удерживания аналитов в ГХ.

Масс-спектры ИЭ позиционных изомеров обладают высоким сходством между собой, что может привести к ошибкам идентификации. Дериватизация – довольно распространенная практика решения проблемы дифференциации изомеров, поскольку масс-спектры ИЭ дериватов существенно разнообразнее, а газохроматографические пики, как правило, имеют лучшее разрешение, чем пики определяемых соединений. Кроме того, позиционные изомеры изучаемой серии NВОН термически неустойчивы, а значит, получение их дериватов является единственно возможным вариантом их идентификации методом ГХ-МС. Поэтому с целью идентификации и последующей дифференциации позиционных изомеров шести серий были получены их трифторацетильные (ТФА), а для серии NВОМе и пентафторпропионовые (ПФП) дериваты.

Дифференциация позиционных изомеров методом ГХ. Анализ методом ГХ проводился для изомерных соединений на колонке типа НР-5 с неподвижной фазой 5%-дифенил-95%-диметилполисилоксан (30 м × 0.25 мм × 0.25 мкм) в режиме программирования температуры термостата колонки, применяемого в экспертной практике для определения некоторых соединений NВОМе. Однако в этих условиях дифференциация соединений затруднена или невозможна. Добиться лучшего разделения хроматографических пиков как для целевых соединений, так и для их ТФА дериватов, удалось в изотермическом режиме при температуре 210 °С. В этих условиях для всех серий изомеров время анализа не превышает 27 минут, что является важным аспектом при идентификации изомерных соединений в криминалистических лабораториях. Времена удерживания пиков соединений в каждой из серии позиционных изомеров (за исключением NВОН) увеличиваются в ряду 23Н-NВХ < 26Н-NВХ < 25Н-NВХ < 34Н-NВХ < 24Н-NВХ < 35Н-NВХ, где Х – заместители –OСН₃, –OСF₃, –F, –Cl, –Br в *N*-2-бензильном фрагменте. Для дериватов изомеров всех серий порядок выхода пиков на хроматограмме аналогичен, за исключением серий NВBr и NВОН, для которых порядок выхода пиков меняется в случае 2,4- и 3,4-изомеров. Наилучшее разделение хроматографических пиков наблюдается в случае самих позиционных изомеров серий NВОМе (F), NBF, NВCl, NВBr и для ТФА дериватов позиционных изомеров серий NВОМе и NВОН. На рисунке 1 приведен пример хроматограммы смеси ТФА дериватов позиционных изомеров серии NВОМе.

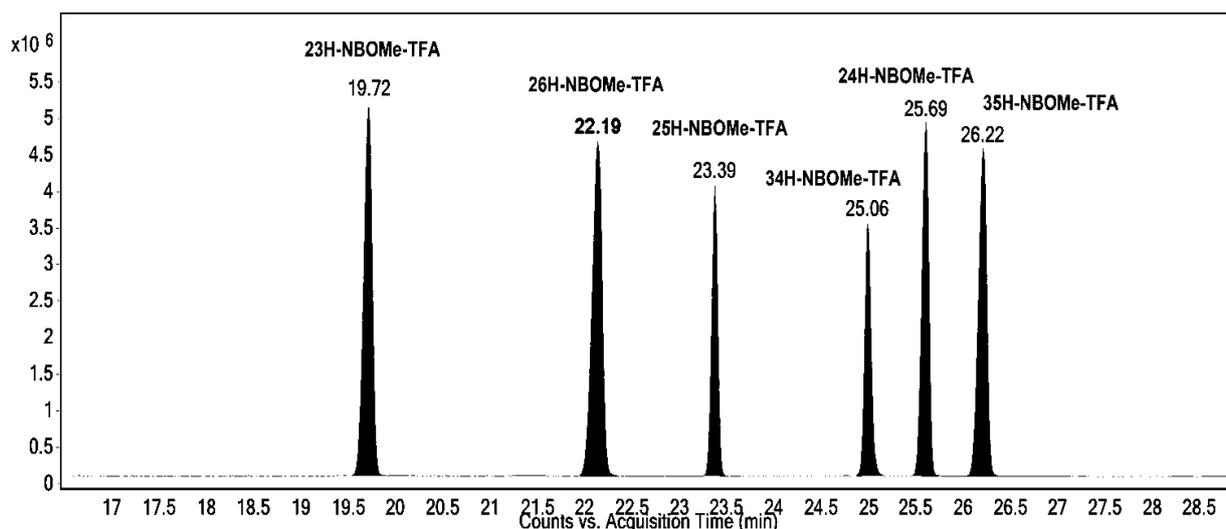


Рисунок 1 – Хроматограмма смеси шести ТФА дериватов позиционных изомеров NBOMe в изотермическом режиме (210 °С)

Для лучшего разделения трех пар 2,4 и 3,4- позиционных изомеров серий NBF, NBCl, NBBr можно использовать более длинную хроматографическую колонку с аналогичными свойствами неподвижной фазы. Для дифференциации критической пары изомеров 24H-NBOMe (F) и 34H-NBOMe (F) можно применять колонку с альтернативной фазой. Кроме того в рамках данной работы был предложен способ дифференциации критической пары изомеров 24H-NBOMe (F) и 34H-NBOMe (F) с помощью метода ТСХ на основании их характерного окрашивания после обработки реактивом.

В режиме программирования температуры были определены линейные индексы удерживания, а в изотермическом режиме – логарифмические индексы удерживания (Ковача). Универсальные обобщенные (линейно-логарифмические) индексы удерживания были рассчитаны для обоих режимов.

Дифференциация позиционных изомеров с помощью масс-спектров ИЭ. Изучение зарегистрированных масс-спектров позиционных изомеров NBOMe, NBOMe (F), NBF и NBCl показало, что интенсивности сигналов основных ионов (m/z 121, 150, 91 для NBOMe, m/z 175, 204, 109 для NBOMe (F), m/z 109, 138 для NBF, m/z 125, 154 для NBCl) близки между собой. Это может привести к ошибкам идентификации. Масс-спектры *N*-ацильных дериватов этих серий, а также дериватов позиционных изомеров серии NBOH имеют существенные различия между собой и могут быть использованы для дифференциации. Для позиционных изомеров серии NBBr дифференциация надежна и без получения ТФА дериватов, поскольку основные сигналы в спектрах изомерных соединений интенсивны и информативны.

Фрагментация под действием электронной ионизации позиционных изомеров всех шести серий NBOMe, NBOMe (F), NBF, NBCl, NBBr и NBOH и их дериватов осуществляется по одним и тем же основным направлениям (рис. 2).

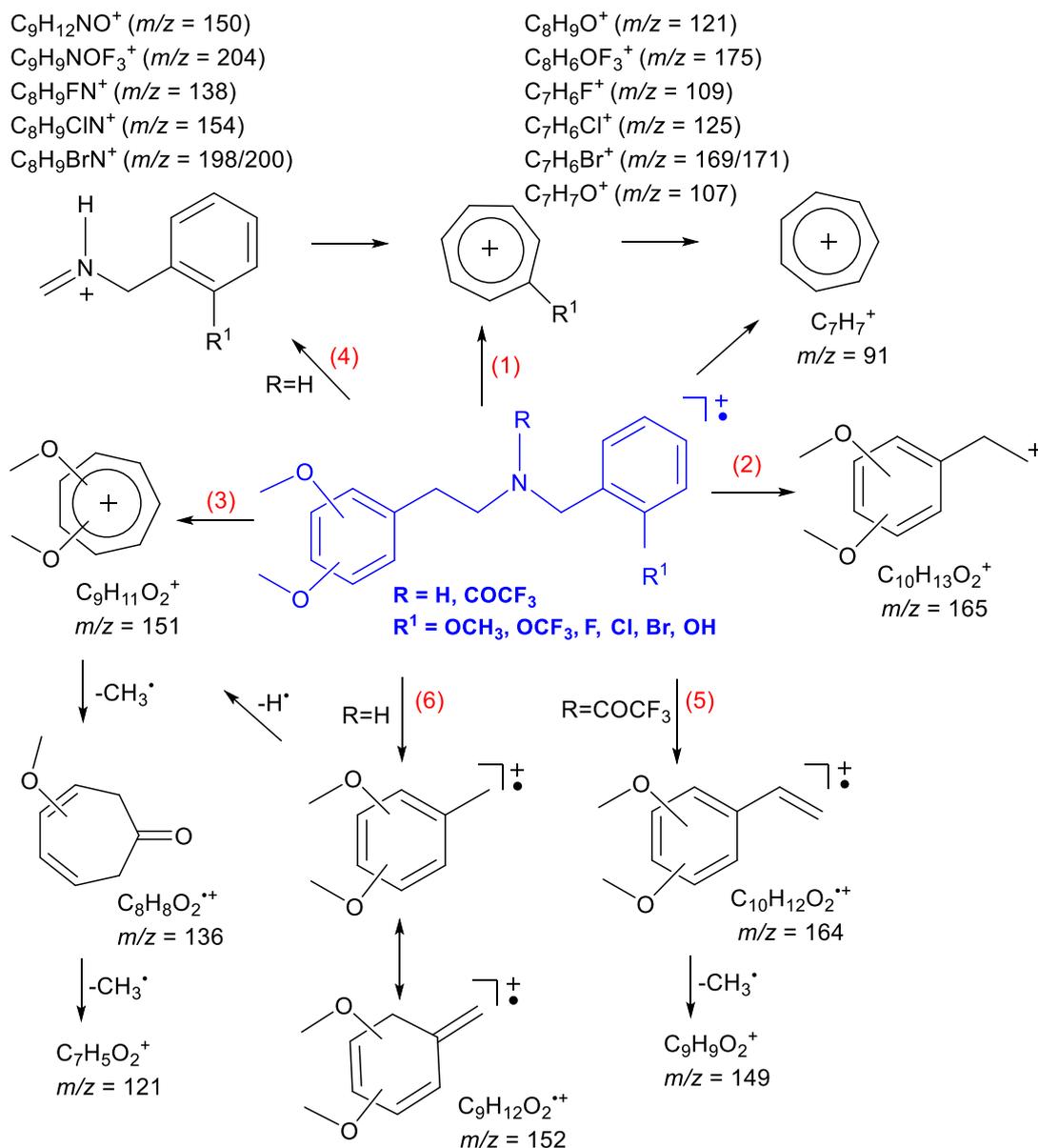


Рисунок 2 – Основные направления фрагментации позиционных изомеров шести серий и их ТФА дериватов в масс-спектрах ИЭ

Направление 1. Разрыв связи C–N со стороны *орто*-замещенного бензильного фрагмента, приводящий к образованию интенсивного сигнала соответствующего иона тропилиевого типа $C_8H_9O^+$ (m/z 121), $C_8H_6OF_3^+$ (m/z 175), $C_7H_6F^+$ (m/z 109), $C_7H_6Cl^+$ (m/z 125), $C_7H_6Br^+$ (m/z 169/171) и $C_7H_7O^+$ (m/z 107) (рис. 2 (1)), который превращается в катион тропилия $C_7H_7^+$ (m/z 91).

Направление 2. Разрыв связи C–N при β -атоме углерода диметоксифенилэтильного фрагмента, приводящий к появлению катиона $C_{10}H_{13}O_2^+$ (m/z 165) (рис. 2 (2)), регистрируемого в спектрах в виде малоинтенсивного сигнала.

Направление 3. β -разрыв углерод-углеродной связи с сохранением заряда на безазотном (диметоксибензильном) фрагменте молекулы с образованием катиона $C_9H_{11}O_2^+$ (m/z 151) (рис. 2 (3)).

Направление 4. β -разрыв углерод-углеродной связи с образованием интенсивного сигнала соответствующего катиона иминия $C_9H_{12}NO^+$ (m/z 150), $C_9H_9NOF_3^+$ (m/z 204), $C_8H_9FN^+$ (m/z 138), $C_8H_9ClN^+$ (m/z 154) и $C_8H_9BrN^+$ (m/z 198/200) (рис. 2 (4)). Для *N*-ацильных дериватов образование катиона иминия неблагоприятно, что связано с конкурирующим процессом, перегруппировкой Мак-Лафферти с участием карбонильной группы и формированием заряда на олефиновом продукте, в ходе которой образуется катион-радикал $C_{10}H_{12}O_2^{\bullet+}$ (m/z 164) (рис. 2 (5)). Другой вариант перегруппировки Мак-Лафферти, протекающий с миграцией атома водорода от азота аминогруппы к диметоксизамещенному бензольному кольцу, приводит к появлению в масс-спектрах позиционных изомеров пяти изучаемых серий катион-радикала $C_9H_{12}O_2^{\bullet+}$ (m/z 152) (рис. 2 (6)). Интересным фактом является возможность протекания перегруппировки не только при наличии в молекуле хотя бы одного атома водорода в *орто*-положении бензольного кольца, но и при занятых обоих *орто*-положениях, что было доказано для соединения *N*-(2-метоксибензил)-2-(2,4,6-триметоксифенил)этанамин (2,4,6-ТМРЕА-NBOMe) на основании проведенных тандемных экспериментов методом ГХ/МСВР.

Алгоритм дифференциации на основе масс-спектров ИЭ. Для дифференциации изомеров шести серий на основе масс-спектров ИЭ были использованы относительные интенсивности сигналов (ОИС) основных характерных ионов самих позиционных изомеров (серия NBr) и их ТФА дериватов (серии NBOMe, NBOMe (F), NBF, NBCl и NBOH) (табл. 2, 3). Наиболее значимые для дифференциации позиционных изомеров значения ОИС характерных ионов выделены в таблице жирным шрифтом.

Таблица 2 – ОИС характеристических ионов (%) в масс-спектрах ИЭ (70 эВ) ТФА дериватов позиционных изомеров NBOMe, NBOMe (F), NBF, NBCl и NBOH, скорректированные на интенсивность базового пика (100%)

Соединения	Основные ионы (m/z) и их относительные интенсивности (%)							
<i>серия NBOMe</i>								
	121	151	164	91	397	136	107	300
25H-NBOMe - ТФА	64	19	100	41	20	< 1	4	< 1
23H-NBOMe - ТФА	100	11	96	77	10	25	9	2
24H-NBOMe - ТФА	42	100	71	39	3	< 1	2	-
26H-NBOMe - ТФА	57	89	100	89	5	1	5	< 1
34H-NBOMe - ТФА	30	62	100	34	6	< 1	9	-
35H-NBOMe - ТФА	83	7	100	56	10	2	6	2
<i>серия NBOMe (F)</i>								
	151	164	175	91	109	136	121	451
25-NBOMe (F) - ТФА	40	100	37	11	39	1	25	29
23-NBOMe (F) - ТФА	21	100	60	37	74	52	8	5
24-NBOMe (F) - ТФА	100	47	9	10	21	< 1	24	< 1

Продолжение Таблицы 2

Соединения	Основные ионы (m/z) и их относительные интенсивности (%)							
	<i>серия NBOMe (F)</i>							
	151	164	175	91	109	136	121	451
26-NBOMe (F) - ТФА	100	79	20	51	45	2	7	1
34-NBOMe (F) - ТФА	100	97	17	6	33	< 1	2	3
35-NBOMe (F) - ТФА	21	100	48	10	54	< 1	3	3
	<i>серия NBF</i>							
	109	151	164	91	121	136	149	385
25H-NBF - ТФА	70	35	100	11	25	2	12	29
23H-NBF - ТФА	100	10	58	22	5	32	12	4
24H-NBF - ТФА	37	100	44	11	26	< 1	7	2
26H-NBF - ТФА	80	100	79	57	7	2	23	2
34H-NBF - ТФА	57	100	96	5	2	2	6	5
35H-NBF - ТФА	100	15	77	7	3	1	< 1	5
	<i>серия NBCl</i>							
	164	125	151	91	121	136	149	401
25H-NBCl - ТФА	100	48	31	13	21	1	10	19
23H-NBCl - ТФА	100	96	16	36	6	41	16	4
24H-NBCl - ТФА	48	22	100	13	23	< 1	7	< 1
26H-NBCl - ТФА	86	46	100	55	6	< 1	20	< 1
34H-NBCl - ТФА	100	38	98	10	2	< 1	5	3
35H-NBCl - ТФА	100	77	13	12	2	< 1	< 1	3
	<i>серия NBOH</i>							
	151	164	107	91	121	136	149	383
23H-NBOH - ТФА	16	91	100	37	10	52	18	8
26H-NBOH - ТФА	100	69	50	53	8	2	21	3
34H-NBOH - ТФА	100	88	41	7	4	1	6	3
24H-NBOH - ТФА	100	45	17	12	28	< 1	7	2
35H-NBOH - ТФА	23	100	77	11	6	2	1	6

Таблица 3 – ОИС характеристических ионов (%) в масс-спектрах ИЭ (70 эВ) позиционных изомеров NBBr, скорректированные на интенсивность базового пика (100%)

Соединения	Основные ионы (m/z) и их относительные интенсивности (%)							
	198/200	169/171	152	318/320	121	91	136	349/351
25H-NBBr	100/97	91/89	60	3/2	12	20	3	< 1/< 1
23H-NBBr	96/91	100/97	6	10/8	4	42	18	-
24H-NBBr	55/52	73/71	100	< 1/< 1	20	30	1	< 1/< 1
26H-NBBr	96/94	100/98	50	2/1	5	66	3	< 1/< 1
34H-NBBr	83/78	100/98	87	-/-	4	32	4	< 1/< 1
35H-NBBr	100/94	97/95	19	-/-	4	34	1	< 1/< 1

Дифференциация изомеров внутри каждой серии осуществляется по следующему алгоритму.

ТФА дериваты изомеров 23Н-NBOMe и 24Н-NBOMe различаются на основании базовых пиков ионов с m/z 121 и 151 соответственно (табл. 2). В группе с базовым пиком m/z 164 2,6-изомер дифференцируется на основании одинаковых и высоких значений ОИС ионов с m/z 151 и 91, 3,5-изомер – по наибольшему и наименьшему значениям ОИС ионов с m/z 121 и 151 соответственно в данной группе. Дифференциация 25Н-NBOMe - ТФА осуществляется на основании ОИС ионов с m/z 121 и 397, которые по сравнению с 3,4-изомером выше более, чем в 2 и 3 раза, соответственно.

Соединения 34-NBOMe (F) - ТФА и 24-NBOMe (F) - ТФА (табл. 2) различаются с помощью наибольших величин ОИС с m/z 164 и 121 соответственно в группе с базовым пиком m/z 151. Для 2,6-деривата дифференциация осуществляется на основании самых высоких в этой группе значений ОИС с m/z 109 и 91. Внутри группы с базовым пиком m/z 164 25-NBOMe (F) - ТФА дифференцируется по наибольшим значениям ОИС молекулярного иона (m/z 451) и иона с m/z 121, а дериват 2,3-изомера – на основании наибольших величин ОИС с m/z 136 и 109, а также иона с m/z 91, ОИС которого более, чем в 3 раза, превышает аналогичное значение для ТФА дериватов 2,5- и 3,5-изомеров.

Для 25Н-NBF - ТФА ион с m/z 164 является базовым пиком, что отличает 2,5-изомер среди других изомеров серии NBF (табл. 2). Соединения 23Н-NBF - ТФА и 35Н-NBF - ТФА, имеющие базовый пик с m/z 109, различаются по сигналам ионов с m/z 91 и 136. 26Н-NBF - ТФА, имеющий базовый пик с m/z 151 наряду с дериватами 2,4- и 3,4-изомеров, дифференцируется по ОИС ионов с m/z 109 и 164, значения которых для этого изомера практически одинаковы. Сравнение величин ОИС ионов с m/z 164 и 121 позволяет отличить 24Н-NBF - ТФА и 34Н-NBF - ТФА.

Внутри группы с базовым пиком с m/z 164 (табл. 2) 25Н-NBCl - ТФА дифференцируется по наибольшим значениям ОИС молекулярного иона (m/z 401) и иона с m/z 121, 23Н-NBCl - ТФА – по более высоким значениям ОИС ионов с m/z 136 и 91, а 34Н-NBCl - ТФА – по наибольшей величине ОИС иона с m/z 151. Для дифференциации 2,4- и 2,6-дериватов используется набор сигналов характерных ионов с m/z 164, 125, 91 и 149, значения ОИС которых для 26Н-NBCl - ТФА в несколько раз выше по сравнению с 24Н-NBCl - ТФА, и сигнала с m/z 121, величина которого для 26Н-NBCl - ТФА ниже в 4 раза, чем для ТФА деривата 2,4-изомера.

Для 23Н-NBON - ТФА и 35Н-NBON - ТФА ионы с m/z 107 и 164 соответственно являются базовыми, что позволяет однозначно дифференцировать эти изомеры среди остальных изомеров серии NBON (табл. 2). В группе позиционных изомеров, имеющих базовый пик с m/z 151, 24Н-NBON - ТФА и 26Н-NBON - ТФА дифференцируются по наибольшему значению ОИС иона с m/z 121 и 91 соответственно.

Для 24Н-NBBr ион с m/z 152 является базовым пиком, что позволяет дифференцировать 2,4-изомер среди других изомеров серии NBBr (табл. 3).

23H-NBBr дифференцируется по наименьшему значению ОИС этого же иона и наибольшим значениям ОИС ионов с m/z 136 и 318/320 в сравнении с остальными позиционными изомерами. Для дифференциации 26H-NBBr и 34H-NBBr используются сигналы ионов с m/z 91, 152 и 318/320. Дифференциация 25H-NBBr и 35H-NBBr, имеющих базовый пик с m/z 198, осуществляется по значениям ОИС ионов с m/z 152, 121 и 318/320, которые во всех случаях существенно выше для 2,5-изомера.

Для дифференциации позиционных изомеров методом ВЭЖХ были использованы колонки фирмы Agilent с тремя различными неподвижными фазами: с силикагелем, модифицированным октадецильными группами (C_{18}), фенил-гексильными и со встроенными амидными группами в C_{14} -алкильной цепи (Poroshell 120 Bonus-RP). Хроматографическое разделение позиционных изомеров всех шести групп было достигнуто менее, чем за 25 минут, на колонке Bonus-RP в изократическом режиме при содержании ацетонитрила 15% (об.). Пример разделения позиционных изомеров серии NBOMe приведен на рисунке 3.

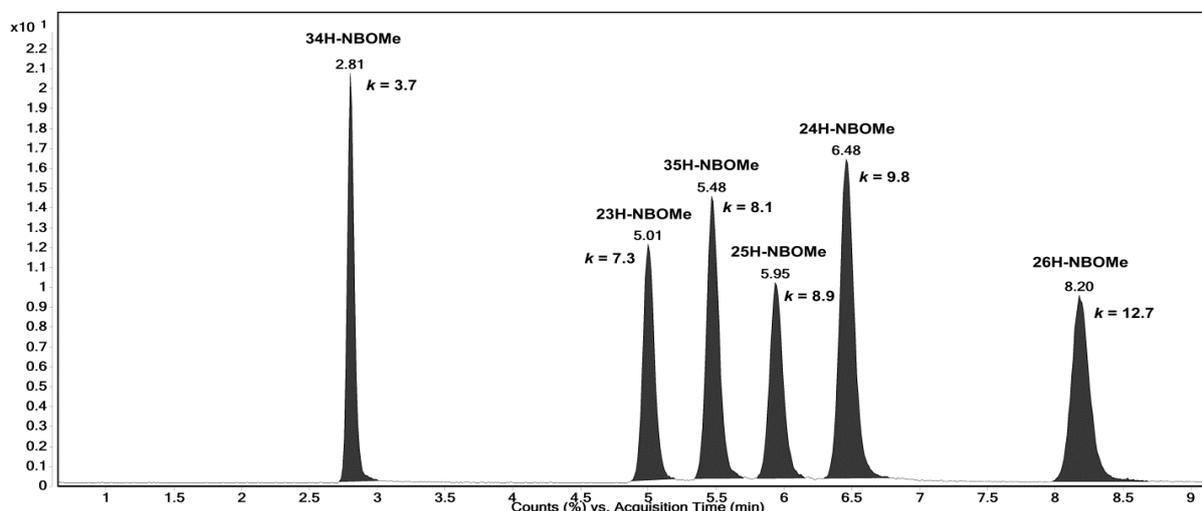


Рисунок 3 – ВЭЖХ-МС хроматограмма смеси шести позиционных изомеров NBOMe в изократическом режиме при содержании ацетонитрила 15% об./об. и коэффициенты удерживания (k)

Времена удерживания пиков позиционных изомеров в каждой из шести групп увеличивались в ряду 34H-NBX < 23H-NBX < 35H-NBX < 25H-NBX < 24H-NBX < 26H-NBX, где X – заместители $-OCH_3$, $-OCF_3$, $-F$, $-Cl$, $-Br$ и $-OH$ в *орто*-положении *N*-бензильного фрагмента (рис. 3).

Фрагментация в результате диссоциации, индуцируемой соударениями. Для изучения фрагментации соединений нами использовался диапазон энергий столкновений (CE) 10-25 эВ, при котором был получен достаточно полный набор характеристических ионов без их чрезмерного разрушения и искажения картины фрагментации (рис. 4).

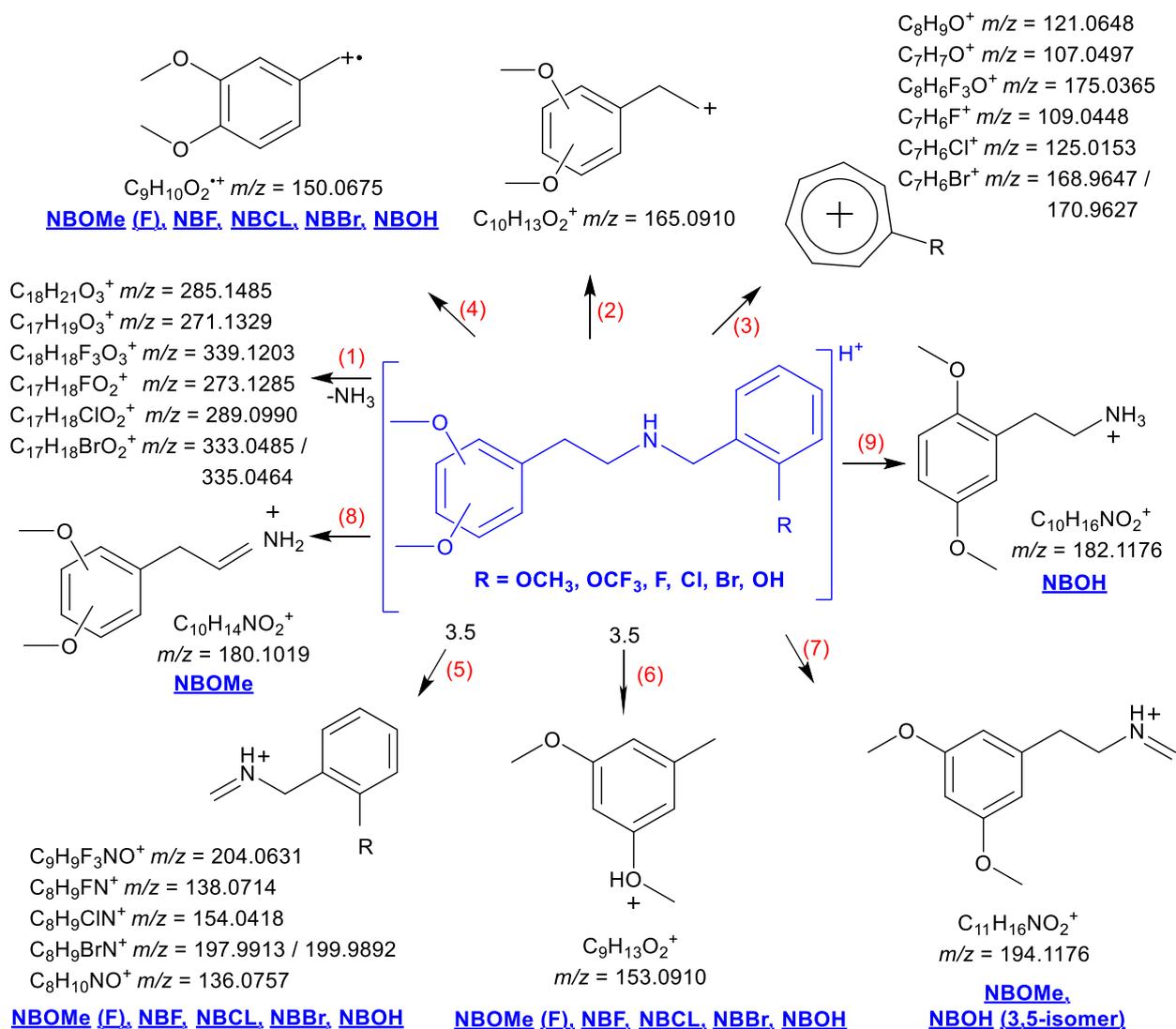


Рисунок 4 – Основные направления фрагментации в спектрах ДИС протонированных молекул соединений шести серий при 10–25 эВ

Основные пути фрагментации в спектрах ДИС протонированных молекул соединений шести изучаемых серий имеют сходство по трем направлениям (рис. 4 (1-3)). Направление 1 на рисунке 4 - выброс молекулы аммиака из протонированной молекулы, протекающий с разрывом связи C-N со стороны *орто*-замещенного бензильного фрагмента через скелетную перегруппировку, приводящую к образованию соответствующих катионов $C_{18}H_{21}O_3^{+}$ (m/z 285.1485), $C_{18}H_{18}F_3O_3^{+}$ (m/z 339.1203), $C_{17}H_{18}FO_2^{+}$ (m/z 273.1285), $C_{17}H_{18}ClO_2^{+}$ (m/z 289.0990), $C_{17}H_{18}BrO_2^{+}$ (m/z 333.0485 / 335.0464), $C_{17}H_{19}O_3^{+}$ (m/z 271.1329). Два других направления фрагментации связаны с расщеплением C-N связи: со стороны этанаминового фрагмента с образованием катиона $C_{10}H_{13}O_2^{+}$ (m/z 165.0910) (рис. 4 (2)) и со стороны *орто*-замещенного бензильного фрагмента с появлением катиона, соответствующего каждой серии: $C_8H_9O^{+}$ (m/z 121.0648), $C_8H_6F_3O^{+}$ (m/z 175.0365), $C_7H_6F^{+}$ (m/z 109.0448), $C_7H_6Cl^{+}$ (m/z 125.0153), $C_7H_6Br^{+}$ (m/z

168.9647 / 170.9627), $C_7H_7O^+$ (m/z 107.0497) (рис. 4 (3)). Однако во фрагментациях различных серий наблюдается ряд особенностей, обусловленных влиянием природы заместителя, находящегося в *орто*-положении *N*-бензильного фрагмента (рис. 4 (4-9)).

Так, картина фрагментации для соединений NBOMe, имеющих электронодонорную метоксигруппу, в основном связана с разрывом связи C–N со стороны 2-метоксибензильного фрагмента молекулы (рис. 4 (1, 3, 7, 8)), причем образование катиона $C_{10}H_{14}NO_2^+$ m/z 180.1019 наблюдается только для изомеров серии NBOMe (рис. 4 (8)).

Фрагментация соединений серий NBOMe (F), NBF, NBCl и NBBr протекает по одним и тем же направлениям, что объясняется электроноакцепторными свойствами заместителей, содержащих в своей структуре атомы галогенов: –OCF₃, –F, –Cl –Br (рис. 4 (1-6)). Образование характерных фрагментных ионов для соединений этих серий происходит в основном за счет разрывов связей в этанаминовой части молекулы (рис. 4 (2, 4-6)). Характерной особенностью изомеров этих серий является образование катион-радикала $C_9H_{10}O_2^{*+}$ (m/z 150.0675), возникающего за счет гомолитического разрыва связи между двумя атомами углерода этанаминовой группировки (рис. 4 (4)). Кроме того, для 3,5-изомеров перечисленных серий характерны два направления фрагментации, приводящие к образованию соответствующих катионов $C_9H_9F_3NO^+$ (m/z 204.0631), $C_8H_9FN^+$ (m/z 138.0714), $C_8H_9ClN^+$ (m/z 154.0418), $C_8H_9BrN^+$ (m/z 197.9913 / 199.9892) и $C_8H_{10}NO^+$ (m/z 136.0757) (рис. 4 (5)), а также иона $C_9H_{13}O_2^+$ (m/z 153.0910) (рис. 4 (6)), что не наблюдается при фрагментации 3,5-изомера серии NBOMe.

Основные пути фрагментации в спектрах ДИС протонированных молекул позиционных изомеров серии NBOH в целом напоминают картину фрагментации соединений галогенсодержащих серий, для которых разрыв связей происходит в этанаминовой части молекулы (рис. 4 (2, 4-6)). В то же время, для *N*-(2-гидроксибензил)замещенных соединений подобно позиционным изомерам серии NBOMe характерным направлением фрагментации остается разрыв связи C–N между аминогруппой и 2-гидроксибензильным фрагментом (рис. 4 (1, 3, 7 и 9)). Также для серии NBOH характерны особенности фрагментации в случае 3,5-изомера, причем два направления аналогичны сериям, содержащим в структуре *N*-бензильного заместителя галоген (рис. 4 (5 и 6)), а третье протекает с образованием катиона $C_{11}H_{16}NO_2^+$ (m/z 194.1176), наблюдаемого для всех изомерных соединений серии NBOMe (рис. 4 (7)). Важной особенностью, характерной только для соединений серии NBOH, является наличие в ДИС спектрах сигнала катиона $C_{10}H_{16}NO_2^+$ (m/z 182.1176) (рис. 4 (9)).

Алгоритм дифференциации на основе ДИС спектров. Для идентификации и последующей дифференциации позиционных изомеров серий NBOMe, NBOMe (F), NBF, NBCl, NBBr и NBOH были оценены значения ОИС основных характерных ион-продуктов (табл. 4-6).

Таблица 4 – ОИС характерных ионов в спектрах ДИС позиционных изомеров NBOMe и NBOH при значении энергии столкновений 10 эВ (%), скорректированные на интенсивность сигнала базового пика (100%)

Соединения	Ион-продукты (m/z) и относительные интенсивности их сигналов (%)						
<i>серия NBOMe</i>							
	121.0648	285.1485	165.0910	194.1176	180.1019	177.0910	
25H-NBOMe	45	3	2	< 1	1	1	
23H-NBOMe	38	4	1	< 1	1	1	
24H-NBOMe	34	9	18	< 1	1	1	
26H-NBOMe	21	2	11	< 1	2	< 1	
34H-NBOMe	94	22	3	1	1	3	
35H-NBOMe	81	2	4	8	1	3	
<i>серия NBOH</i>							
	182.1176	165.0910	107.0497	271.1329	153.0910	136.0757	194.1176
23H-NBOH	46	28	13	1	-	-	-
24H-NBOH	15	83	8	< 1	-	-	-
26H-NBOH	14	51	6	-	-	-	-
34H-NBOH	57	76	31	8	-	-	-
35H-NBOH	97	28	28	1	4	3	2

Таблица 5 – ОИС характерных ионов в спектрах ДИС позиционных изомеров NBOMe (F) при значении энергии столкновений 25 эВ (%), скорректированные на интенсивность сигнала базового пика (100%)

Соединения	Ион-продукты (m/z) и относительные интенсивности их сигналов (%)						
	165.0910	150.0675	175.0365	109.0448	204.0631	153.0910	339.1203
25H-NBOMe (F)	100	83	15	8	2	–	< 1
23H-NBOMe (F)	100	42	10	5	1	< 1	< 1
24H-NBOMe (F)	100	2	1	< 1	–	–	–
26H-NBOMe (F)	100	2	1	< 1	–	–	–
34H-NBOMe (F)	100	19	8	5	1	< 1	< 1
35H-NBOMe (F)	38	2	100	27	27	43	8

Таблица 6 – ОИС характерных ионов в спектрах ДИС позиционных изомеров NBF, NBSl и NBBr при значении энергии столкновений 20 эВ (%), скорректированные на интенсивность сигнала базового пика (100%)

Соединения	Ион-продукты (m/z) и относительные интенсивности их сигналов (%)					
<i>серия NBF</i>						
	165.0910	150.0675	109.0448	138.0714	153.0910	273.1285
25H-NBF	100	72	20	2	–	1
23H-NBF	100	42	15	1	< 1	< 1
24H-NBF	100	2	< 1	–	–	–
26H-NBF	100	2	1	–	–	–
34H-NBF	100	15	11	1	< 1	1
35H-NBF	31	1	100	36	43	10

Продолжение Таблицы 6

Соединения	Ион-продукты (m/z) и относительные интенсивности их сигналов (%)					
<i>серия NBCl</i>						
	165.0910	150.0675	125.0153	154.0418	153.0910	289.0990
25H-NBCl	100	45	10	1	–	1
23H-NBCl	100	27	8	< 1	< 1	< 1
24H-NBCl	100	< 1	< 1	–	–	–
26H-NBCl	100	< 1	< 1	–	–	–
34H-NBCl	100	9	6	1	< 1	< 1
35H-NBCl	51	1	100	67	80	14
<i>серия NBBr</i>						
	165.0910	150.0675	168.9647	197.9913	153.0910	333.0485
25H-NBBr	100	34	5	< 1	–	< 1
23H-NBBr	100	19	4	< 1	–	–
24H-NBBr	100	< 1	< 1	–	–	–
26H-NBBr	100	< 1	< 1	–	–	–
34H-NBBr	100	7	3	< 1	< 1	< 1
35H-NBBr	59	1	65	49	100	10

Имеющиеся отличия в ДИС спектрах соединений серий NBOMe и NBOH позволяют идентифицировать позиционные изомеры при значении CE 10 эВ (табл. 4). Ключевым для идентификации изомеров серии NBOMe является ион с m/z 121.0648, ОИС которого уменьшается в ряду 34H-NBOMe > 35H-NBOMe > 25H-NBOMe > 23H-NBOMe > 24H-NBOMe > 26H-NBOMe. Кроме того, более высокое по сравнению с остальными изомерами значение ОИС иона с m/z 285.1485 является характерным признаком 3,4- и 2,4-изомеров, иона с m/z 165.0910 – соединений 24H-NBOMe и 26H-NBOMe, а иона с m/z 194.1176 – изомера 35H-NBOMe. Ключевыми для идентификации изомеров серии NBOH являются ионы с m/z 182.1176, 165.0910 и 107.0497, соотношения в ОИС которых позволяют дифференцировать изомеры серии NBOH. Дополнительным критерием идентификации для 3,5-изомера является набор ионов с m/z 153.0910, 136.0757 и 194.1176, не наблюдаемых в спектре остальных изомеров, а для 3,4-изомера – иона с m/z 271.1329.

Дифференциация позиционных изомеров NBOMe (F), NBF, NBCl и NBBr осуществляется в два этапа. Для серии NBOMe (F) при CE 25 эВ (табл. 5) и для серий NBF, NBCl и NBBr при CE 20 эВ (табл. 6) дифференцируется большинство соединений каждой серии, за исключением 2,4- и 2,6-изомеров. Их можно различить при понижении CE до 10 эВ на основании сравнительной оценки величины ОИС иона-предшественника $[M+H]^+$:

NBOMe (F) $[M+H]^+ = 356.1481$ – 84% (2,4-изомер) и 100 % (2,6-изомер);

NBF $[M+H]^+ = 290.1551$ – 30 % (2,4-изомер) и 55 % (2,6-изомер);

NBCl $[M+H]^+ = 306.1255$ – 54 % (2,4-изомер) и 96 % (2,6-изомер);

NBBr $[M+H]^+ = 350.0750$ – 51 % (2,4-изомер) и 86 % (2,6-изомер).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Синтезированы 102 соединения, установлена и доказана химическая структура 106 соединений методами ГХ/МС, ВЭЖХ/МСВР, ^1H , ^{13}C и ^{19}F ЯМР спектроскопии, элементного анализа.

2. Осуществлено хроматографическое разделение позиционных изомеров по бензольному кольцу фенилэтильного фрагмента *N*-(2-замещенных)бензил-2-(диметоксифенил)этанаминов серий NBOMe, NBOMe (F), NBF, NBCl, NBBr и NBOH методами ГХ и ВЭЖХ. Дифференциация методом ГХ (ГХ/МС) возможна на хроматографической колонке типа HP-5 в условиях изотермического режима (210°C). Дифференциация методом ВЭЖХ осуществима на хроматографической колонке Bonus RP в условиях изократического режима при 15% (об.) содержании ацетонитрила.

3. На основе МС и МС/МС-спектров высокого разрешения изучены закономерности масс-спектрометрического распада *N*-(2-замещенных)бензил-2-(диметоксифенил)этанаминов шести серий в результате ИЭ и в условиях ДИС. Установлено, что под действием ИЭ фрагментация протекает по одним и тем же направлениям для позиционных изомеров всех шести серий. Основные пути фрагментации в спектрах ДИС протонированных молекул позиционных изомеров шести серий неодинаковы и имеют ряд особенностей, связанных с природой заместителя, находящегося в *орто*-положении *N*-бензильного фрагмента.

4. Изучены особенности протекания перегруппировки Мак-Лафферти для *N*-((2-замещенных)бензил)фенилэтанаминов в источнике ИЭ с помощью МС и МСВР. Установлена возможность ее протекания для позиционных изомеров с занятыми *орто*-положениями в фенилэтильном фрагменте молекулы, что позволяет пересмотреть предыдущие знания о перегруппировке Мак-Лафферти.

5. Дифференциация позиционных изомеров на основе масс-спектров ИЭ возможна для серий NBOMe, NBOMe (F), NBF, NBCl только в случае регистрации как спектра самого соединения, так и спектра его *N*-ацильного деривата, для серии NBBr – без необходимости получения дериватов. Дифференциация термолабильных изомеров NBOH осуществима только при регистрации масс-спектров ИЭ их ТФА дериватов. Дифференциация позиционных изомеров на основании ДИС спектров с использованием источника ИЭР осуществима без необходимости получения дериватов в диапазоне СЕ 10-25 эВ.

6. Определены аналитические характеристики 72 соединений в виде хроматографических параметров удерживания и спектральных данных; данные индексов удерживания и масс-спектров ИЭ соединений и их дериватов внесены в электронную библиотеку масс-спектров ИЭ «EKBDRUGS», что позволит идентифицировать запрещенные позиционные изомеры *N*-((2-замещенных)бензил)-2-(диметоксифенил)этанаминов серий NBOMe, NBOMe (F), NBF, NBCl, NBBr и NBOH при проведении исследований в лабораториях, занимающихся определением наркотических средств.

7. Разработан единый подход и предложен алгоритм дифференциации позиционных изомеров *N*-(2-замещенных)бензил-2-(диметоксифенил)этанаминов серий NBOMe, NBOMe (F), NBF, NBCl, NBBr и NBON методами ГХ/МС и ВЭЖХ/МСВР, что позволит избежать ошибок идентификации при проведении лабораторного анализа.

Перспективы дальнейшей разработки темы исследований заключаются в том, что:

- на основе предложенных подходов и методов, а также информационного массива аналитических данных планируется изучение *N*-(2-замещенных)бензил-2-(триметоксифенил)этанаминов аналогичных серий с целью достоверной идентификации запрещенных позиционных изомеров в лабораториях, занимающихся определением НС;

- совместно со специалистами по биоанализу *in vitro* и фармакологами начато и планируется дальнейшее изучение свойств легальных позиционных изомеров *N*-(2-замещенных)бензил-2-(диметоксифенил)этанаминов с целью их возможного применения в качестве препаратов от нейродегенеративных расстройств;

- предполагается разработать методический подход для обнаружения метаболитов изучаемых *N*-((2-замещенных)бензил)фенилэтанаминов в биоматериале с использованием методов хроматографии и масс-спектрометрии.

Основные публикации по теме диссертационной работы

Статьи, опубликованные в рецензируемых журналах и изданиях, определенных ВАК РФ и Аттестационным советом УрФУ:

1. Shevyrin, V. Mass spectrometric properties of *N*-(2-methoxybenzyl)-2-(2,4,6-trimethoxyphenyl)ethanamine (2,4,6-TMPEA-NBOMe), a new representative of designer drugs of NBOMe series and derivatives thereof / V. Shevyrin, **O. Kupriyanova**, A.T. Lebedev, V. Melkozerov, O. Eltsov, Yu. Shafran, Yu. Morzherin, R. Sadykova // Journal of Mass Spectrometry. – 2016. – V. 51. – N. 10. – P. 969-979. (1.04 п. л. / 0.149 п. л.) (Scopus, WOS)

2. **Kupriyanova, O.V.** Synthesis and determination of analytical characteristics and differentiation of positional isomers in the series of *N*-(2-methoxybenzyl)-2-(dimethoxyphenyl)ethanamine using chromatography-mass spectrometry / **O.V. Kupriyanova**, V.A. Shevyrin, Y.M. Shafran, A.T. Lebedev, V.A. Milyukov, V.L. Rusinov // Drug Testing and Analysis. – 2020. – V. 12. – N. 8. – P. 1154-1170. (1.8711 п. л. / 0.4678 п. л.) (Scopus, WOS)

3. Pottie, E. Serotonin 2A Receptor (5-HT_{2A}R) Activation by 25H-NBOMe Positional Isomers: In Vitro Functional Evaluation and Molecular Docking / E. Pottie, **O.V. Kupriyanova**, A.L. Brandt, A.B. Laprairie, V.A. Shevyrin, C.P. Stove // ACS Pharmacology & Translational Science. – 2021. – V. 4 (2). – P. 479-487. (0.9587 п. л./0.1598 п. л.) (Scopus, WOS)

4. Pottie, E. Synthesis and Functional Characterization of 2-(2,5-Dimethoxyphenyl)-*N*-(2-fluorobenzyl)ethanamine (25H-NBF) Positional Isomers / E. Pottie, **O.V. Kupriyanova**, V.A. Shevyrin, C.P. Stove // ACS Chemical

Neuroscience. – 2021. – V. 12(9). – P. 1667-1673. (0.7334 п. л. / 0.1834 п. л.) (Scopus, WOS)

5. **Куприянова, О.В.** Potential of chromatography and mass spectrometry for the differentiation of three series of positional isomers of 2-(dimethoxyphenyl)-*N*-(2-halogenobenzyl)ethanamines / **О.В. Куприянова**, V.A. Shevyrin, Y.M. Shafran // Drug Testing and Analysis. – 2022. V. 14. – N. 6. – P. 1102-1115. (1.5477 п. л. / 0.5159 п. л.) (Scopus, WOS)

6. Demin, K.A. Acute behavioral and Neurochemical Effects of Novel *N*-Benzyl-2-Phenylethylamine Derivatives in Adult Zebrafish / K.A. Demin, **О.В. Куприянова**, V.A. Shevyrin, K.A. Derzhavina, N.A. Krotova, N.P. Ilyin, T.O. Kolesnikova, D.S. Galstyan, Y.M. Kositsyn, A.-A.S. Khaybaev, M.V. Serebinskaya, Y. Dubrovskii, R.G. Sadykova, M.O. Nerush, M.S. Mor, E.V. Petersen, T. Strekalova, E.V. Efimova, S.R. Kuvarzin, K.B. Yenkovyan, D.V. Bozhko, V.O. Myrov, S.M. Kolchanova, A.I. Polovian, G.K. Galumov, A.V. Kaluef // ACS Chemical Neuroscience. – 2022. – V. 13 (13). – P. 1902-1922. (6.8145 п. л. / 0.454 п. л.) (Scopus, WOS)

Другие публикации:

7. **Куприянова, О.В.** «*N*-(2-метоксибензил)-2-(2,4,6-триметоксифенил)этанамин – новое дизайнерское соединение фенэтиламина из серии NBOMe» / **О.В. Куприянова**, В.А. Шевырин, О.С. Ельцов, В.П. Мелкозеров, Ю.Ю. Моржерин, Р.Г. Садыкова // Сб. тезисов «Современные проблемы химической технологии биологически активных веществ». Москва, 2016. – С. 68-70 (0.231 п. л. / 0.231 п. л.)

8. **Куприянова, О.В.** Дифференциация позиционных изомеров некоторых 2-(диметоксифенил)-*N*-(2-метоксибензил)этанаминов методами хроматографии и масс-спектрометрии / **О.В. Куприянова**, В.А. Шевырин, В.А. Милюков, Р.Г. Садыкова, В.Л. Русинов // Сб. тезисов «Актуальные аспекты химической технологии биологически активных веществ». Москва, 2020. – С. 38-41 (0.4043 п. л. / 0.4043 п. л.)

9. **Куприянова, О.В.** *N*-(2-метоксибензил)-2-(диметоксифенил)этанамин. Синтез, свойства, масс-спектрометрические особенности и дифференциация позиционных изомеров / **О.В. Куприянова**, В.А. Шевырин, А.Т. Лебедев, Р.Г. Садыкова, В.Л. Русинов // Сб. тезисов «Актуальные вопросы органической химии и биотехнологии». – Екатеринбург, 2020. – Т. 1. – С. 121-124. (0.3696 п. л. / 0.3696 п. л.)

10. **Куприянова, О.В.** Аналитические возможности сочетания хроматографии и масс-спектрометрии при дифференциации 4-х серий позиционных изомеров *N*-бензил-2-(диметоксифенил)этанамин с -OCH₃, -F, -Cl, -Br заместителями в *орто*-положении *N*-бензильного фрагмента. **О.В. Куприянова**, Т.В. Григорьева, Р.Г. Садыкова, А.Т. Лебедев, В.А. Шевырин // Сб. тезисов IX всероссийской конференции с международным участием «Масс-спектрометрия и ее прикладные проблемы». X съезд ВМСО. – Москва, 2021. – С. 40 (0.1155 п. л. / 0.1155 п. л.)