



Идентификация ЕА-3167, структурного аналога инкапаситанта ВЗ, в объектах, доставленных из зоны проведения специальной военной операции, и обнаружение его метаболитов в моче при экспонировании крыс

А.М. Григорьев[✉], В.А. Яшкир, В.И. Крылов, Н.А. Колосова, В.Н. Фатеенков

Федеральное государственное бюджетное учреждение «27 Научный центр имени академика Н.Д. Зелинского» Министерства обороны Российской Федерации,
111024, Российская Федерация, г. Москва, проезд Энтузиастов, д. 19
✉ e-mail: 27nc_1@mail.ru

Ранее нами было установлено, что в двух спиртосодержащих образцах, доставленных из зоны специальной военной операции (СВО), находится редкое психоактивное вещество ЕА-3167, являющееся структурным аналогом известного инкапаситанта ВЗ, включенного в Список 2 Конвенции о запрещении разработки, производства, накопления и применения химического оружия и его уничтожении (КЗХО). Кроме ЕА-3167 в жидкостях обнаружили добавки метадона, α-пирролидиновалерофенона и тетрагидроканнабинола. **Цель работы** – установление аналитических характеристик ЕА-3167, а также его метаболитов в моче крыс. **Методы исследования.** Структурная идентификация обнаруженного вещества методом ядерного магнитного резонанса, газовая и жидкостная хроматомасс-спектрометрия доставленных объектов и мочи крыс, полученной экспонированием лабораторных животных обнаруженным веществом. **Результаты исследования.** Концентрации ЕА-3167 в жидкостях составляли 910 и 3,9 мкг/мл соответственно. Установлено, что ЕА-3167 подвержен интенсивному метаболизму в организме крыс. В моче лабораторных животных предположительно идентифицированы более 30 метаболитов, представляющих собой продукты моно- и дигидроксилирования алифатических остатков молекулы, образования кетона, а также гидролиза. **Вывод.** Наиболее удобными мочевыми маркерами для подтверждения отравления ЕА-3167 методами газовой и жидкостной хроматомасс-спектрометрии являются исходное вещество, продукты его моногидроксилирования и образования карбоксильной группы на циклопентильном остатке.

Ключевые слова: ЕА-3167, ВЗ, биологические объекты, газовая хроматомасс-спектрометрия, жидкостная хроматомасс-спектрометрия, инкапаситанты, метаболиты, пищевые объекты, психоактивные вещества, специальная военная операция, точные массы, ядерный магнитный резонанс.

Для цитирования: Григорьев А.М., Яшкир В.А., Крылов В.И., Колосова Н.А., Фатеенков В.Н. Идентификация ЕА-3167, структурного аналога инкапаситанта ВЗ, в объектах, доставленных из зоны проведения специальной военной операции, и обнаружение его метаболитов в моче при экспонировании крыс. Вестник войск РХБ защиты. 2024;8(1):18–33. EDN:hrotqc.
<https://doi.org/10.35825/2587-5728-2024-8-1-18-33>

Прозрачность финансовой деятельности: авторы не имеют финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах.

Конфликт интересов: А.М. Григорьев является членом редколлегии журнала (с 2024 г.).

Финансирование: федеральное государственное бюджетное учреждение «27 Научный центр имени академика Н.Д. Зелинского» Министерства обороны Российской Федерации (27 НЦ МО РФ).

Поступила 20.02.2024 г. Принята к публикации 27.03.2024 г.

Identification of EA-3167, a Structural Analogue of the BZ Incapacitant, in Objects Delivered from the Zone of a Special Military Operation and Detection of Its Metabolites in Urine during Exposure of Rats

Andrej M. Grigoryev[✉], Vadim A. Jashkir, Vladislav I. Krylov, Nataliya A. Kolosova, Vladimir N. Fateenkov

Federal State Budgetary Establishment "27 Scientific Centre Named after Academician N.D. Zelinsky"
of the Ministry of Defence of the Russian Federation
Entuziastov Passage, 19, Moscow 111024, Russian Federation
✉ e-mail: 27nc1@mil.ru

Earlier, we found that two alcohol-containing samples delivered from the zone of special military operation contain a rare psychoactive substance EA-3167, which is a structural analogue of the well-known incapacitant BZ, included in the Schedule 1 of the Chemical Weapons Convention. In addition to EA-3167, additives of methadone, α -pyrrolidinovalerophenone and tetrahydrocannabinol were found in liquids. **The aim of the work** is to establish the analytical characteristics of EA-3167, as well as its metabolites in rat urine. **Research methods.** Structural identification of the detected substance by nuclear magnetic resonance, gas and liquid chromatomass spectrometry of delivered objects and rat urine obtained by exposing laboratory animals to the detected substance. **The results of the study.** Concentrations of EA-3167 in liquids were found to be 910 and 3.9 $\mu\text{g/mL}$, respectively. It has been established that EA-3167 is subject to intensive metabolism in rats. More than 30 metabolites, representing products of mono- and dihydroxylation of aliphatic moieties of the molecule, ketone formation, and hydrolysis, have been tentatively identified in the urine of laboratory animals. **Conclusion.** The most convenient markers for confirming poisoning of EA-3167 by gas and liquid chromatography-mass spectrometry were the parent substance, the products of its monohydroxylation and the formation of carbonyl group on the cyclopentyl moiety.

Keywords: accurate masses, biological objects, BZ, EA-3167, food objects, gas chromatography-mass spectrometry, incapacitants; liquid chromatography-mass spectrometry, metabolites, nuclear magnetic resonance, psychoactive substances.

For citation: Grigoryev A.M., Jashkir V.A., Kryliv V.I., Kolosova N.A., Fateenkov V.N. Identification of EA 3167, a Structural Analogue of the BZ Incapacitant, in Objects Delivered from the Zone of a Special Military Operation and Detection of Its Metabolites in Urine during Exposure of Rats. *Journal of NBC Protection Corps.* 2024;8(1):18–33. EDN:hrotqc.
<https://doi.org/10.35825/2587-5728-2024-8-1-18-33>

Financial Disclosure: The authors have no financial interests in the submitted materials or methods.

Conflict of interest statement: Andrej M. Grigoryev is a member of the Editorial Board of the journal since 2024.

Funding: Federal State Budgetary Establishment "27 Scientific Centre Named after Academician N.D. Zelinsky" of the Ministry of Defence of the Russian Federation (27 SC MD RF).

Received 20 February 2024. Accepted 27 March 2024

В начале XXI в. развитие аналитической токсикологии было сопряжено с новым явлением в развитии общества – появлением и широким распространением группы психоактивных соединений, названных «новыми психоактивными веществами» (НПВ). По крайней мере с 2005 г., Европейское агент-

ство по наркотикам и наркопотреблению (EMCDDA) и подобная структура в ООН (Управление по наркотикам и преступности, UNODC) фиксировали устойчивый и значительный рост числа психоактивных веществ, появляющихся на мировых рынках¹. Часть НПВ была синтезирована в середине и в

¹ European Drug Report 2023: Trends and Developments. European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction (EMCDDA), 2022. Available from: https://www.emcdda.europa.eu/publications/edr/trends-developments/2022_en

конце прошлого века, и поэтому их определение в качестве «новых» относится только к факту времени распространения.

Ряд психоактивных веществ, синтезированных ранее, либо разрабатываемых в настоящее время, имеют потенциал применения в качестве оружия. Согласно терминологии Организации по запрещению химического оружия (ОПХВ), эта группа веществ классифицируется как инкапаситанты (incapacitants, «выводящие из строя»). Представитель этой группы, названный ВЗ (3-хинуклидинил бензилат, рисунок 1), включен в Список 2 Конвенции о запрещении разработки, производства, накопления и применения химического оружия и его уничтожении (КЗХО)².

Из открытых источников следует, что ВЗ был изначально синтезирован в лаборатории Hoffman-La Roche Inc. в 50-х годах прошлого века при поиске новых спазмолитических агентов и впоследствии исследован в лаборатории биомедицинских исследований армии США в Форте Детрик³ [2, 3]. Было найдено, что ВЗ обладает значительной антиацетилхолиновой активностью, превышающей таковую для атропина. В рассекреченном отчете лаборатории Форта Детрик сообщается, что для людей ВЗ проявляет достаточную эффективность в дозировке 3–7 мкг/кг при оральном употреблении. Среди симптомов отравления указываются галлюцинации, спутанность

сознания, гиперактивное дезорганизованное поведение, бессвязная речь, невозможность фокусировки взгляда. Остаточные явления наблюдали в течение 3–4 суток после отравления. Вычисленная LD_{50} для людей составляла около 5 мг/кг. Это значение представляется реалистичным, поскольку измеренная LD_{50} для обезьян была около 10 мг/кг.

В середине 2022 г. нами было проведено исследование ряда объектов, доставленных из зоны проведения специальной военной операции, происхождение которых связывали с отравлением. Среди объектов присутствовали два образца спиртосодержащих жидкостей, в которых обнаружили наличие малоизвестного вещества. Оно было идентифицировано как хинуклидин-3-ил 2-циклопентил-2-гидрокси-2-фенилацетат (CAS 26758-53-2, рисунок 1), являющийся структурным аналогом ВЗ [4].

Сведения об этом веществе малочисленны, однако оно приведено в справочнике Handbook of Chemical and Biological Warfare Agents под названием «Agent EA 3167» [1]. Синтез вещества впервые описан в 1982 г. и отмечена его высокая аффинность к мускариновым холинэргическим рецепторам крыс и собак (константа ассоциации K_A $8,21 \times 10^9$ М⁻¹) [5, 6]. Эта величина сравнима с аффинностью ВЗ (K_A $5,28 \times 10^9$ М⁻¹) и почти в 50 раз превышает аффинность атропина. Сравнительно недавно (2005 г.) китайские исследователи опубликовали результаты определения кристаллической структуры EA-3167 [7].

Появление в обороте нового психоактивного вещества, применение которого имеет военный, диверсионный и террористический потенциал, требует обязательного определения его аналитических характеристик, позволяющих обнаруживать его современными скрининговыми методами. В число последних обязательно входят газовая и жидкостная хроматография-масс-спектрометрия (ГХ-МС и ЖХ-МС соответственно) [8–11], включая регистрацию масс-спектров высокого разрешения (ВР) [12].

Дополнительным обязательным требованием описания свойств нового вещества являются сведения о возможности его обнаружения в биологических объектах. Для ва-

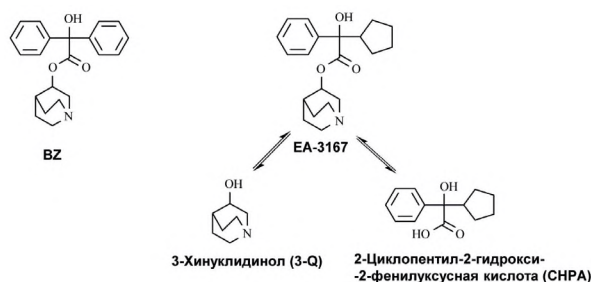


Рисунок 1 – Формулы ВЗ, наиболее известного члена семейства инкапаситантов, EA-3167 и продуктов его гидролиза (3-хинуклидинола, 3-Q, и 2-циклопентил-2-гидроксифенилуксусной кислоты, СНРА) ([1] и данные авторов)

(дата обращения: 05.02.2024).

World Drug Report 2023. United Nations Office on Drug and Crime, 2023. Available from: <https://www.unodc.org/unodc/en/data-and-analysis/world-drug-report-2023.html> (дата обращения: 05.02.2024).

² OPCW. Annex of Chemicals. Schedule 2. Available from: <https://www.opcw.org/chemical-weapons-convention/annexes/annex-chemicals/schedule-2> (дата обращения: 05.02.2024).

³ Форт Детрик – сленговое название U.S. Army Medical Research Institute of Infectious Diseases (USAMRIID) – Медицинский исследовательский институт инфекционных болезней армии США. В те годы – основной центр разработки и производства биологического оружия в США.

рианта BZ сообщается, что его основными метаболитами в моче крыс и других лабораторных животных были найдены продукты гидролиза – 3-хинуклидинол (3-Q) и 2-гидрокси-2,2-дифенилуксусная кислота [3, 13], причем около 3 % начальной дозы экскретируется с мочой в неизмененном состоянии. Оба вещества вместе с неизмененным BZ определяли в виде добавок в моче людей с методом ГХ-МС после подготовки проб, включающей стадии твердофазной экстракции и дериватизации триметилсилилированием [13].

Обнаружение метаболитов может оказаться необходимым при интенсивном метаболизме исходного вещества (когда оно отсутствует в моче или его концентрация невысока) и крайне желательно для повышения достоверности заключений. Для генерации метаболитов нового вещества могут быть использованы как методы *in vivo*, так и *in vitro* [14, 15]. Последние требуют применения дорогостоящих и плохо хранящихся реактивов, в то время как получаемые результаты (в том числе с использованием гепатоцитов человека) могут значительно отличаться от метаболических смесей *in vivo*.

Цель работы – установление аналитических характеристик EA-3167, а также его метаболитов в моче крыс.

Для достижения данной цели проводилась газовая и жидкостная хроматомасс-спектрометрия полученных образцов, исследовались метаболиты EA-3167, получаемых *in vivo* экспонированием лабораторных крыс.

Материалы и методы

Реактивы и материалы. Использовали ацетонитрил (для ВЭЖХ, Scharlab, S.L., Испания), формиат аммония и муравьиную кислоту (для ВЭЖХ, Sigma-Aldrich, Германия). Деионизированную воду (18,2 МОм) получали с помощью системы очистки Milli-Q Advantage A10 (Merck, Германия). Все другие реагенты и растворители (квалификация не ниже х.ч.) были приобретены в Химмед (Россия).

Объекты анализа. Для проведения химико-токсикологического анализа были доставлены следующие объекты: (а) две спиртосодержащие жидкости темно-желтого цвета с запахом коньяка; (б) два образца промывных вод желудка пострадавших.

Первичный скрининг образцов проводили методом ЖХ-МСⁿ (последовательная фрагментация до стадии МС³) с детектированием компонентов масс-спектрометром типа «трехмерная ионная ловушка» в информационно-зависимом режиме. Условия скрининга были подобны методу Bruker Toxtyper⁴, модифицированного для использования с хроматографической колонкой Zorbax SB300-C18 (100 мм × 2,1 мм, 3,5 мкм, Agilent Technologies, США). В обоих образцах спиртосодержащих жидкостей были найдены α-пирролидиновалерофенон и метадон; в образце жидкости № 2 дополнительно обнаружили тетрагидроканнабинол и каннабидиол; причем содержание α-пирролидиновалерофенона в образце жидкости № 1 (согласно площадям пиков) было незначительным. Оборот всех обнаруженных вещества (кроме каннабидиола) запрещен в РФ⁵. Никакие вещества, имеющие лекарственное, нарколоическое или токсикологическое значение не были обнаружены в промывных водах.

Экстракция EA-3167 из спиртосодержащей жидкости и очистка. Жидкость № 1 (200 мл) упаривали примерно до половины от исходного объема на вакуумно-ротаторном испарителе при температуре 40 °С. К остатку добавили бикарбонат натрия (около 1 г) и экстрагировали хлористым метилом (100 мл). Органическую фазу упаривали досуха. Сухой остаток растворяли в хлороформе и разделяли на колонке с силикагелем (Silica 60, 0,04–0,063 мм, MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG, Германия) в подвижной фазе 10 об.% метанола в хлороформе с контролем чистоты фракций методами ТСХ и ЖХ-МС. Целевые фракции объединяли и упаривали при температуре 40 °С досуха.

Экспонирование крыс. Для обнаружения и предполагаемой структурной идентификации метаболитов EA-3167 использовали пять беспородных крыс-самцов со средней массой тела 208–216 г. За сутки до экспонирования животных переставали кормить при свободном доступе к воде. Двум животным вводили раствор EA-3167 в диметилсульфоксиде (1 мг/мл) интрамускулярно, и двум – интрагастрально в количестве 1 и 3 мг соответственно. Пятое животное использовали как контрольное с экспозицией 3 мл диметилсульфоксида интрагастрально. Далее жи-

⁴ Bruker Daltonics Toxtyper™. <https://www.bruker.com/en/products-and-solutions/mass-spectrometry/ms-solutions/toxtyper> (дата обращения: 05.02.2024).

⁵ Постановление Правительства РФ от 30 июня 1998 г. № 681 (ред. от 07.02.2024) «Об утверждении перечня наркотических средств, психотропных веществ и их прекурсоров, подлежащих контролю в Российской Федерации». <https://base.garant.ru/12112176/?ysclid=luprz9ay7f322550623> (дата обращения: 15.02.2024).

вотные были помещены в метаболические камеры. Мочу отбирали дважды, через 4 и 24 ч. Условия содержания экспериментальных животных и проведения экспонирования соответствовали ГОСТ 33216-2014⁶.

Подготовка проб. Спиртосодержащие жидкости № 1 и № 2 разводили смесью, содержащей 5 об.% ацетонитрила в воде в 5000 и 50 раз соответственно, и вводили в хроматограф.

К образцам промывных вод (125 мкл) добавляли холодный ацетонитрил (500 мкл), перемешивали и помещали в холодильник (минус 20 °С, 15 мин). После центрифугирования (1000 g, 5 мин) отбирали надосадочную жидкость (100 мкл), смешивали с водой (900 мкл) и вводили в хроматограф.

К образцам мочи крыс (100 мкл) добавляли холодный ацетонитрил (500 мкл) и помещали в холодильник. Затем смеси центрифугировали, отбирали надосадочную жидкость (400 мкл), упаривали досуха при температуре не выше 40 °С в токе азота. Сухой остаток растворяли в смеси, содержащей 5 об.% ацетонитрила (100 мкл), и вводили в хроматограф. Содержание метаболитов оценивали методом внутренней нормировки площадей пиков протонированных молекул, измеренных при ЖХ-МС (ВР).

Ядерный магнитный резонанс. Спектры ЯМР регистрировали с применением ЯМР-спектрометра AS400 (QOne Tec AG, Швейцария) при частотах 400 МГц (¹H) и 100 МГц (¹³C) в CDCl₃. Химические сдвиги измеряли относительно сигналов остаточного хлороформа. Структуру подтверждали методами DEPT, COSY, HMBC, HSQC.

Жидкостная хроматография-масс-спектрометрия. Жидкостные масс-хроматограммы получали с помощью двух ЖХ-МС систем.

Первую систему применяли для структурной идентификации. Она состояла из жидкостного хроматографа сверхвысокого давления Ultimate 3000, соединенного с трибидным масс-спектрометром Orbitrap Fusion Lumos высокого разрешения (Thermo Fisher Scientific, США). Компоненты проб разделяли на колонке Acclaim RSLC 120 C18 (100 мм × 2,1 мм, 2,2 мкм, Thermo) в градиентном режиме двумя фазами: А (0,1 об. % муравьиной кислоты в воде) и В (ацетонитрил) при температуре 40 °С и скорости потока 0,5 мл/мин. Объем пробы 5 мкл.

При разделении проб использовали две программы элюирования: 1 (быстрая, для исходных соединений) и 2 (медленная, для биологических объектов). Последовательность выполнения программ следующая.

(1): 2 % фазы В (0–1 мин), 2–98 % В (1–8 мин), 98 % В (8–9 мин), 98–2 % В (9–9,1 мин), 2 % фазы В (9,1–11 мин);

(2): 2 % фазы В (0–1 мин), 2–21 % В (1–4 мин), 21–29 % В (4–8 мин), 29–64 % В (8–13 мин), 64–98 % В (13–15 мин), 98 % В (15–17 мин), 98–2 % В (17–17,1 мин), 2 % В (17,1–19 мин).

Масс-спектрометр работал в режиме электрораспылительной ионизации (ЭРИ) с ионным источником HESI-II при следующих условиях: вид газа для ионного источника и высокоэнергетичной столкновительной диссоциации (HCD), азот; вид газа для столкновительной диссоциации в линейной ионной ловушке (CID), гелий; поток дополнительного (Aux) и продувочного (Sweep) газа 10 и 1 усл. ед. соответственно; давление в распылителе (Sheath) 50 psi; температуры распыления и трубки переноса ионов 350 и 325 °С соответственно; напряжение при распылении в положительном и отрицательном режимах 3500 и 2500 В соответственно. Приведенные далее величины энергии столкновительной диссоциации (СД) нормализованы и выражены в процентах.

Вторая система была предназначена для полуколичественного определения и состояла из жидкостного хроматографа сверхвысокого давления 1290 Infinity II LC, соединенного с масс-спектрометром 6470В (тройной квадруполь, Agilent, США). Компоненты проб элюировали на колонке ACQUITY UPLC BEH C18 (100 мм × 2,1 мм, 1,7 мкм, Waters Corporation, США). Состав фаз, скорость потока элюента, температура колонки и объем вводимой пробы были теми же, что для первой системы. Режим элюирования соответствовал программе 1.

Масс-спектрометр настраивали для работы в электрораспылительном положительном режиме с температурной фокусировкой в ионном источнике Jet Stream ESI (Agilent) при следующих условиях: вид газа для ионного источника и ячейки СД, азот; температура газа-осушителя (Dry) и газа-завесы (Sheath), 320 °С (10 л/мин) и 300 °С (11 л/мин) соответственно; давление в распылителе 60 psi; напряжение капилляра 3500 В.

⁶ ГОСТ 33216-2014. Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за лабораторными грызунами и кроликами. <https://internet-law.ru/gosts/gost/62388/> (дата обращения: 10.01.2024).

Газовая хроматография-масс-спектрометрия. Газовые масс-хроматограммы получали с помощью газового хроматографа 8890, соединенного с моноквадрольным масс-спектрометром 5977В (Agilent). Компоненты проб элюировали на колонке VF-5ms (30 м × 0,25 мм × 0,25 мкм, Agilent) согласно двум температурным программам:

- (1) 50 °С (1 мин), 100 °С (99°/мин, 1 мин), 300 °С (35°/мин, 12 мин);
- (2) 50 °С (1 мин), 100 °С (99°/мин, 1 мин), 280 °С (15°/мин, 20 мин).

Газ-носитель гелий (постоянная скорость потока, 1 мл/мин), объем вводимой пробы 1 мкл, режим ввода без деления потока. Температуры инжектора и интерфейса 270 и 290 °С соответственно.

Масс-спектрометр работал в режиме электронной ионизации (ЭИ) в высокоэнергетичном источнике (НЕС), энергия ионизации

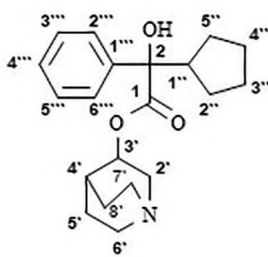
70 эВ, диапазон сканирования 39–600. Температуры ионного источника и масс-фильтра были 230 и 150 °С соответственно. Индексы удерживания измеряли относительно смеси n-алканов C₁₀–C₄₀.

Результаты и обсуждение

Идентификация EA-3167. Спектры ЯМР EA-3167 (таблица 1) весьма сложны из-за значительного количества взаимодействующих метиленовых и метиновых групп, трех оптических центров и возможных конформеров циклопентильного и хинуклидинольного остатков. В спектрах выделенного образца EA-3167 заметно наличие двух соединений, предположительно являющихся диастереомерами.

Наличие фенильного кольца подтверждается присутствием трех мультиплетов в области 7,20–7,65 м.д. спектра ¹Н. В спектре ¹³С

Таблица 1 – Сигналы ¹Н и ¹³С для EA-3167 в CDCl₃ при 400 и 100 МГц соответственно (данные авторов)

			
Номер	¹³ С (δ, м.д.), диастереомер 1	¹³ С (δ, м.д.), диастереомер 2	¹ Н (δ, м.д.)
1	174,95	174,65	–
2	79,33	79,64	–
3 (ОН)	–	–	12,18
2'	52,66	52,61	3,60, 3,72, 2H, c
3'	68,79	68,43	5,08, 1H, c
4'	23,72	24,10	2,31, 2,39, 1H, c
5'	20,25	20,41	1,93, 2H, m
6'	45,38	45,43	3,40-3,00, 2H, m
7'	46,34	46,20	3,40-3,00, 2H, m
8'	16,75	17,10	1,80-1,39, 2H, m
1''	46,24	46,59	3,40-3,00, 2,92, 1H, m;
2''	26,57	26,55	1,80-1,39, 1H, m
3''	26,06	26,06	1,80-1,39, 1H, m
4''	26,50	26,46	1,80-1,39, 1H, m
5''	26,99	27,14	1,80-1,39, 1H, m
1'''	141,27	141,19	–
2'''/6'''	125,96	125,60	7,59, 1H, д, J=8 Гц
3'''/5'''	128,34	128,46	7,32, 1H, дд, J=8 Гц
4'''	127,92	127,92	7,25, 1H, м
Примечание. Прочерк (–) означает неприменимость величины.			

фенильному остатку принадлежат два дублета (C-2'''', C-6''' и C-3'''', C-5''') и один синглет C-4''' в слабопольной области спектра, а также сигналы четвертичного углерода C-1''' около 141 м.д. Другие четвертичные атомы углерода (C-1 в составе сложноэфирной группы и C-2, соединенный с гидроксильной группой) в этом же спектре имеют сдвиги около 175 и 79 м.д. соответственно.

Химические сдвиги атомов углерода циклопентильного остатка C-2'' – C-5'' близки (26,06–27,14 м.д.), а сигналы присоединенных к ним протонов составляют сложный мультиплет в сильнопольной части спектра ¹H. Их отнесение было выполнено на основании спектров COSY и HSQC ввиду взаимодействия с атомами метиновой группы циклопентильного остатка.

Спиновая связь с метиновой группой C-3' позволяет выполнить отнесение сигналов ме-

тиленовой группы C-2'. Химический сдвиг атома углерода последней в спектре ¹³C (около 52,6 м.д.) близок к сдвигам углеродов других метиленовых групп (C-6' и C-7'), соединенных с атомом азота. Отнесение сигналов групп C-5' и C-8' выполняли на основании спиновых связей с атомами C-6', C-7' и C-4'.

ЖХ-МС (ВР) и ГХ-МС ЕА-3167 и продуктов его гидролиза. В данном разделе приведены только те масс-спектры, которые отсутствуют в доступных библиотеках. В применяемых условиях ЖХ-МС (ВР) исходное вещество элюируется двумя близко удерживаемыми пиками (таблица 2), что (как отмечено выше) можно объяснить диастереомерией. Оба пика характеризуются близкими величинами *m/z* (идентичными брутто-формулами) и подобными масс-спектрами (МС²). На рисунке 2 приведены спектры ионов-фрагментов ЕА-3167 для двух режимов

Таблица 2 – ЖХ-МС характеристики ЕА-3167, его артефактов и метаболитов в моче крыс (данные авторов)*

Вещество (метаболит, артефакт)	Метаболическая (артефактная) реакция	Элементный состав	Теор. <i>m/z</i>	$\Delta m/z$, ppm	<i>t_R</i> , мин	Отн. площадь в моче, %	
						4 ч	24 ч
ЕА-3167	–	C ₂₀ H ₂₈ NO ₃	330,2064	1,0	8,56	1,0	1,0
ЕА-3167	–	C ₂₀ H ₂₈ NO ₃	330,2064	0,7	8,81	2,2	2,4
3-Q	Гидролиз	C ₇ H ₁₄ NO	128,1070	-1,5	0,53	2,3	5,2
СНРА	Гидролиз	C ₁₃ H ₁₅ O ₃	219,1027	0,1	11,49	–	–
М1.1	Моногидроксилирование (циклопентил)	C ₂₀ H ₂₈ NO ₄	346,2013	0,6	4,60	7,3	9,5
М1.2	«–»	C ₂₀ H ₂₈ NO ₄	346,2013	1,2	4,86	2,4	1,9
М1.3	«–»	C ₂₀ H ₂₈ NO ₄	346,2013	0,0	5,00	15	6,4
М1.4	«–»	C ₂₀ H ₂₈ NO ₄	346,2013	1,2	5,15	5,6	4,2
М1.5	«–»	C ₂₀ H ₂₈ NO ₄	346,2013	0,9	5,26	4,5	2,6
М1.6	«–»	C ₂₀ H ₂₈ NO ₄	346,2013	0,6	5,52	19	14
М1.7	«–»	C ₂₀ H ₂₈ NO ₄	346,2013	-1,7	5,61	1,4	1,2
М2.1	Моногидроксилирование (хинуклидинил)	C ₂₀ H ₂₈ NO ₄	346,2013	1,2	8,74	1,0	1,1
М2.2	«–»	C ₂₀ H ₂₈ NO ₄	346,2013	1,5	8,89	0,8	0,8
М3.1	Образование кетона (циклопентил)	C ₂₀ H ₂₆ NO ₄	344,1856	1,7	5,13	0,7	0,6
М3.2	«–»	C ₂₀ H ₂₆ NO ₄	344,1856	2,0	5,15	0,7	0,6
М3.3	«–»	C ₂₀ H ₂₆ NO ₄	344,1856	1,2	5,60	9,2	8,3
М4.1	Дигидроксилирование (циклопентил)	C ₂₀ H ₂₈ NO ₅	362,1962	1,7	4,05	1,6	1,7
М4.2	«–»	C ₂₀ H ₂₈ NO ₅	362,1962	1,4	4,16	0,6	1,4
М4.3	«–»	C ₂₀ H ₂₈ NO ₅	362,1962	0,6	4,43	3,6	7,1
М4.4	«–»	C ₂₀ H ₂₈ NO ₅	362,1962	1,4	4,65	0,6	0,8
М5.1	Дигидроксилирование (циклопентил и хинуклидинил)	C ₂₀ H ₂₈ NO ₅	362,1962	1,4	4,65	0,6	0,8

Продолжение таблицы 2

Вещество (метаболит, артефакт)	Метаболическая (артефактная) реакция	Элементный состав	Теор. m/z	Δm/z, ppm	t _R , мин	Отн. площадь в моче, %	
						4 ч	24 ч
M5.2	«-»	C ₂₀ H ₂₈ NO ₅	362,1962	1,9	4,78	1,2	1,5
M5.3	«-»	C ₂₀ H ₂₈ NO ₅	362,1962	0,8	5,18	1,5	1,6
M5.4	«-»	C ₂₀ H ₂₈ NO ₅	362,1962	2,2	5,21	1,5	1,6
M5.5	«-»	C ₂₀ H ₂₈ NO ₅	362,1962	1,7	5,57	1,6	1,7
M6.1	Дигидроксилирование (хинуклидинил)	C ₂₀ H ₂₈ NO ₅	362,1962	1,9	7,18	0,1	0,2
M6.2	«-»	C ₂₀ H ₂₈ NO ₅	362,1962	2,2	7,44	0,0	0,0
M7.1	Образование кетона и моногоксилирование (циклопентил)	C ₂₀ H ₂₆ NO ₅	360,1805	1,7	4,40	0,9	1,4
M7.2	«-»	C ₂₀ H ₂₆ NO ₅	360,1805	1,7	4,43	2,9	5,9
M7.3	«-»	C ₂₀ H ₂₆ NO ₅	360,1805	2,2	4,53	1,0	1,2
M7.4	«-»	C ₂₀ H ₂₆ NO ₅	360,1805	1,4	4,59	1,2	2,0
M8.1	Образование кетона (циклопентил) и моногоксилирование (хинуклидинил)	C ₂₀ H ₂₆ NO ₅	360,1805	1,7	5,15	3,9	4,9
M8.2	«-»	C ₂₀ H ₂₆ NO ₅	360,1805	1,1	5,64	4,8	6,8

Примечание.
Теор. m/z – моноизотопная теоретическая m/z протонированной молекулы; Δm/z – отклонение измеренного m/z от теоретического; t_R – время удерживания для программы элюирования 2; отн. – относительная; «-» – величину не рассчитывали.
*Приведены относительные площади (внутренняя нормировка, %) пиков протонированных молекул метаболитов, полученных при интратракаральном введении EA-3167.

столкновительной диссоциации (HCD и CID). Следует отметить, что фрагментация HCD, в целом, подобна фрагментации в условиях канонических ячеек СД, применяемых в масс-спектрометрах типа «тройной квадруполь», в то время как спектры CID более сравнимы со спектрами, получаемыми в трехмерных ловушках, выпускаемых фирмой Bruker Daltonics⁷ и применяемых в ряде химико-токсикологических лабораторий России. Главными особенностями CID являются (а) преимущественно однократная фрагментация ионов-прекурсоров с минимизацией вторичной фрагментации и (б) потери легких ионов при возбуждении. Использование обоих режимов (HCD и CID) упрощает интерпретацию масс-спектров. Тем не менее, в нашем случае режим CID позволял получать более характеристичные масс-спектры и поэтому использовался в дальнейшем для структурной интерпретации метаболитов. Пути фрагментации EA-3167 преимущественно заключаются в потере молекулы воды при дегидратации третичной гидроксильной группы (рисунок 2Б) и разрушении сложного эфира. Фрагментация циклических остатков (циклопентильного и хинуклидинольного) мало значительна.

⁷ Bruker Daltonics Toxtyper™. <https://www.bruker.com/en/products-and-solutions/mass-spectrometry/ms-solutions/toxtyper> (дата обращения: 05.02.2024).

⁸ NIST/EPA/NIH 20 Mass Spectral Library. National Institute of Standards and Technology Mass Spectrometry Data Center. Gaithersburg, USA. <https://chemdata.nist.gov/dokuwiki/doku.php?id=chemdata:start> (дата обращения: 05.02.2024).

Фрагментация 3-Q (HCD) наблюдается только при высоких энергиях СД (рисунок 2В), причем дальнейшее повышение энергии СД ведет к появлению большого количества малохарактеристичных фрагментов при сохранении протонированной молекулы. Ионизация СНРА (HCD, рисунок 2Г) была возможна только в отрицательном режиме, а наблюдаемые фрагменты содержат циклопентильный остаток. Масс-спектры ГХ-МС 3-Q, его триметилсилильного деривата и дитриметилсилильного деривата СНРА приведены в базе NIST2020 (NIST# 229779, 289606 и 476439 соответственно)⁸. Фрагментация EA-3167 и его триметилсилильного деривата, в основном, заключается в элиминировании хинуклидинформильного остатка с образованием ионов

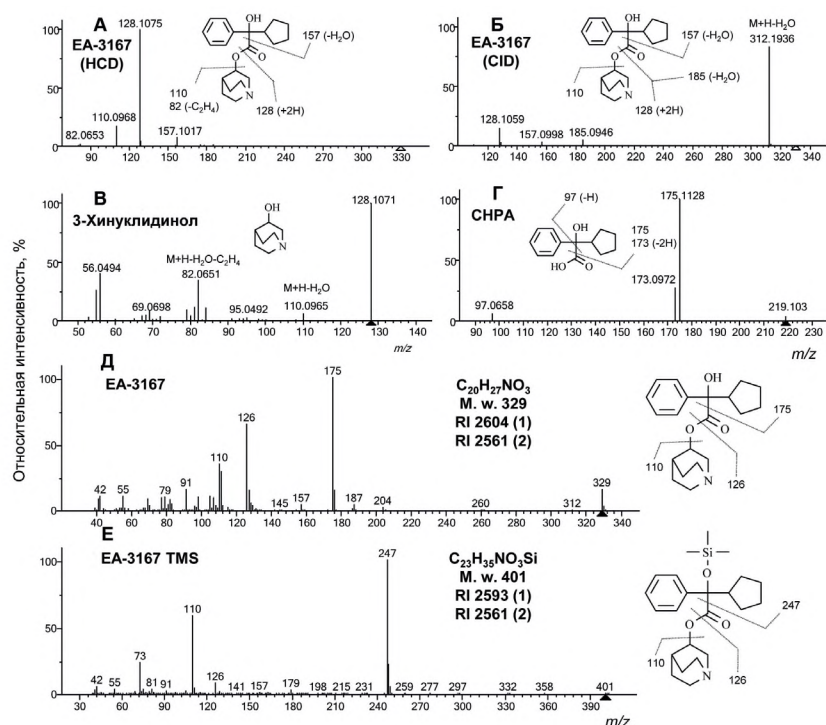


Рисунок 2 – ЖХ-МС (ЭРИ) масс-спектры высокого разрешения EA-3167 (А – HCD, 30 %; Б – CID, 40 %), 3-хинуклидинола (В – HCD, 60 %) и СНРА (Г – HCD, 20 %). Масс-спектры (А-В) регистрировали в положительном режиме, (Г) – в отрицательном. ГХ-МС (ЭИ) масс-спектры EA-3167 (Д) и его триметилсилильного деривата (Е). М.в. – молекулярная масса, RI – индексы удерживания для двух температурных программ (данные авторов)

с m/z 175 и 247 соответственно (рисунок 2Д). В обоих спектрах присутствуют интенсивные ионы с m/z 110 и 126, содержащие хинуклидинильный остаток. Брутто-формулы ионов были подтверждены регистрацией точных масс с помощью квадруполь-времяпролетного масс-спектрометра.

Оценка содержания EA-3167 и 3-Q в объектах. Для полуколичественной оценки содержания использовали очищенные образцы EA-3167 и 3-Q. Анализ объектов проводили в

режиме наблюдения выбранных переходов, для чего оптимизировали напряжение фрагментатора и энергии СД по трем ионным переходам (одному количественному и двум квалификационным) для каждого вещества. Результаты оптимизации приведены в таблице 3. Градуировку проводили по трем концентрациям (1, 10 и 100 ppb), измеряя площади пиков. Повторяемость (относительная СКО, %, для количественных ионных переходов) при трех измерениях каждой кон-

Таблица 3 – Условия ЖХ-МС/МС определения EA-3167 и 3-хинуклидинола в объектах (данные авторов)

Соединение	Q1	Q3	t_R , мин	Фрагментор, В	ЭСД, эВ	Диапазон концентраций, нг/мл	R^2
EA-3167*	330,2	128,1*	4,89; 4,94	140	35	1-100	0,9999
EA-3167	330,2	110,1	«-»	140	30	«-»	-
EA-3167	330,2	157,1	«-»	140	30	«-»	-
3-Q*	128,1	82,1*	0,51	160	35	1-100	0,9999
3-Q	128,1	94,1	«-»	160	45	«-»	-
3-Q	128,1	56,0	«-»	160	35	«-»	-

Примечание.
3-Q – 3-хинуклидинол; Q1 – m/z иона-прекурсора; Q3 – m/z иона-продукта; t_R – время удерживания; ЭСД – энергия СД; R^2 – коэффициент детерминации; * – переходы, использованные для количественной оценки; «-» – величина соответствует указанной выше; - – величину не рассчитывали.

центрации не превышала 2,3 %. Для обоих веществ коэффициенты детерминации (R^2) были очень высокие ($>0,9999$). Повторяемость отношений площадей пиков квалификационных переходов к количественным не превышала 1,4 %.

Результаты определения EA-3167 и 3-Q в спиртосодержащих жидкостях и промывных водах приведены в таблице 4. Основываясь на полученных данных, можно сделать вывод о том, что EA-3167 был добавлен в жидкость № 1, в то время как его содержание в жидкости № 2 невелико и возможно, является случайным загрязнением, сделанным в процессе приготовления жидкостей. Как было указано в Экспериментальной части, жидкость № 2 содержала большие количества наркотических веществ (α -пирролидиновалерофенон, метадон и тетрагидроканнабинол) и, следовательно, имела несколько иное назначение по сравнению с жидкостью № 1. Содержание EA-3167 в промывных водах № 1 и № 2 сопоставимо.

Метаболизм EA-3167 для крыс. Метод ЖХ-МС (ВР). Всего обнаружили 29 метаболитов EA-3167. Хроматограммы образцов мочи крыс, полученной при интрагастральном введении и отобранной в течение 4 ч после экспонирования, приведены на рисунке 3. Все обнаруженные метаболиты относятся к семейству окисленных и могут быть разделены на восемь групп согласно виду окисления и позиции в пределах остатка.

Таблица 4 – Оценка содержания EA-3167 и 3-хинуклидинола в объектах (данные авторов)

Объект	EA-3167, мкг/мл	3-Хинуклидинол, мкг/мл
Жидкость № 1	910±20	2,8±0,1
Жидкость № 2	3,9±0,04	< 0,05
Промывные воды № 1	0,39±0,01	< 0,05
Промывные воды № 2	1,1±0,00	< 0,05

EA-3167 – сложный эфир, и можно было бы предположить, что основным направлением метаболических модификаций исходной структуры был бы гидролиз, протекающий самопроизвольно или при воздействии ферментов-гидролаз, присутствующих в крови млекопитающих [16]. В этом случае должны были бы образовываться 3-Q и СНРА, присутствующие в моче в неизменном или конъюгированном состоянии. Однако, согласно относительным площадям пиков метаболитов, полученных при интрамускулярном введении (таблица 2), содержание 3-Q оценивается как невысокое. Для образцов мочи, полученных при интрагастральном введении (общие данные не приведены), это значение еще меньше (менее 1,5 %). Поскольку время удерживания 3-Q невелико (0,53 мин) и близко к мертвому времени системы (около 0,44 мин), то можно было бы предположить значительное подавление

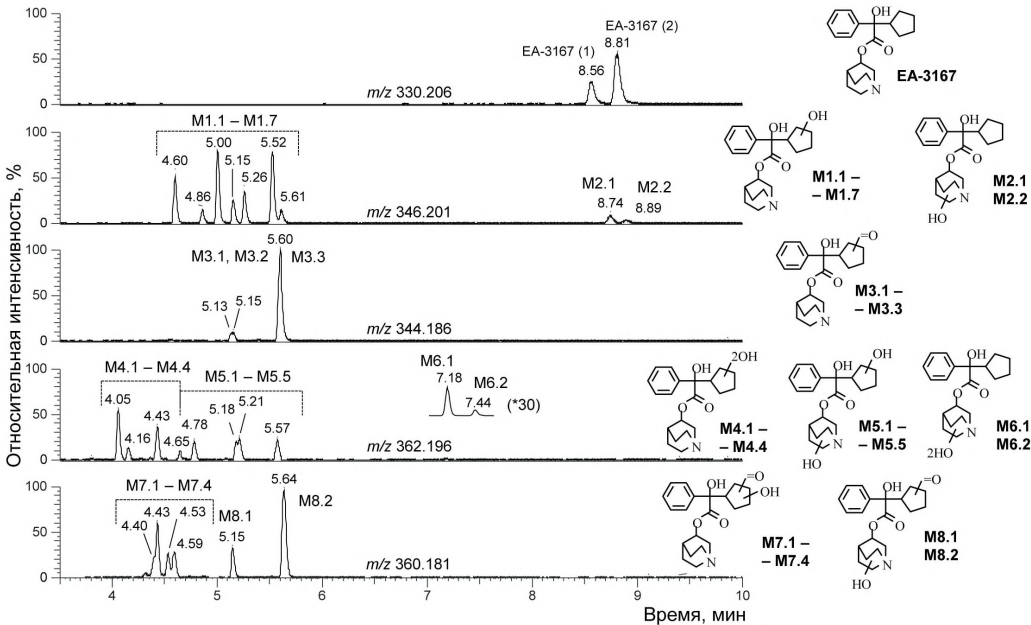


Рисунок 3 – ЖХ-МС (ВР) хроматограммы образцов мочи крыс с метаболитами EA-3167. Предполагаемые структуры метаболитов. Диапазон отображения хроматограмм ± 5 ррт, постоянный масштаб осей ординат (данные авторов)

ионизации, вызванное матрицей мочи. Тем не менее, площадь пика депротонированной молекулы СНРА в моче (равно как и ее предполагаемого глюкуронида) была также очень малой.

Относительная площадь неизмененного ЕА-3167 (в виде суммы площадей пиков диастереомеров) в моче, полученной при интрагастральном и интрамускулярном введении, не превышала 13 и 4 % соответственно, и можно заключить, что ЕА-3167 подвержен интенсивному метаболизму. Первую группу метаболитов (М1.1–М1.7) предположительно идентифицировали как продукты моногидроксилирования цикlopentильного остатка. На это указывает двухкратная дегидратация (ионы с m/z 328, 310, 173 и 155) и наличие неизмененного хинуклидинольного остатка (ионы с m/z 128 и 110), рисунок 4. Присутствие гидроксильной группы на цикlopentильном (а не на фенильном) остатке доказывается как легкой дегидратацией, так и отсутствием

в спектре пиков ионов с характерной гидроксилированной тропилиевой структурой. Цикlopentильный остаток имеет три положения для гидроксилирования, и наличие на хроматограмме семи пиков объясняется диастереомерией: следует учесть, что при гидроксилировании этого остатка в положения 2''–5'' появляются два дополнительных оптических центра (четвертый и пятый).

В масс-спектрах двух оставшихся моногидроксилированных метаболитов (М2.1 и М2.2) присутствует интенсивный пик иона с m/z 144 и малоинтенсивный с m/z 126, что прямо указывает на присутствие дополнительного атома кислорода на хинуклидинольном остатке. Оба метаболита имеют значительное удерживание, сопоставимое с удерживанием неизмененного ЕА-3167. Этот факт свидетельствует о подавлении протонирования атома азота, что уменьшает гидрофильность молекулы [17]. В этом случае метаболиты М2.1 и М2.2 являются продуктами

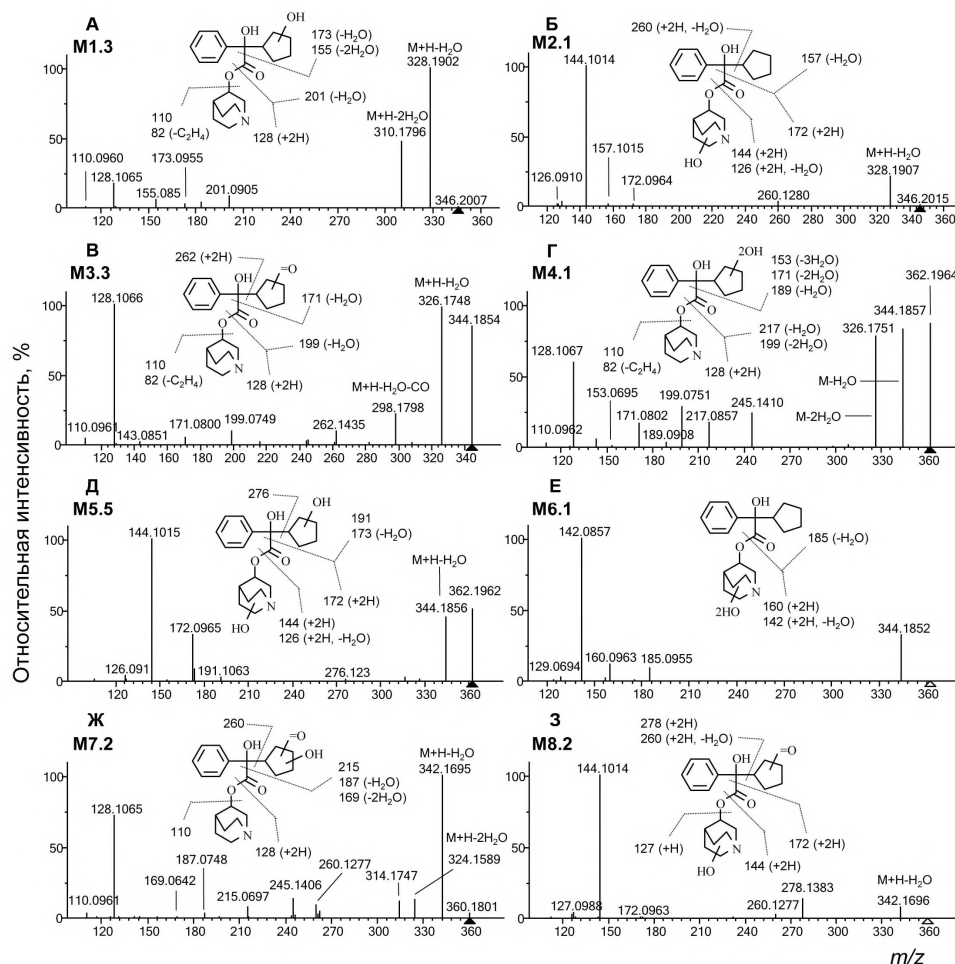


Рисунок 4 – ЖХ-МС (ЭРИ, ВР) масс-спектры метаболитов ЕА-3167 и предполагаемые структуры. Энергия СД 30 % (CID) (данные авторов)

гидроксирования ближайших к атому азота метиленовых групп (положения 2', 6' или 8'), либо N-оксидами.

В структуре молекул третьей группы метаболитов (M3.1–M3.3) атом кислорода предположительно находится на циклопентильном остатке в составе карбонильной группы. На это указывает преимущественно однократная дегидратация (ион с m/z 326), а также наличие пиков ионов с m/z 262 и 128, указывающих на отсутствие дополнительного атома кислорода на фенильном и хинуклидинольном остатках.

Четвертая группа содержит четыре метаболита, предположительно дигидроксилированных по циклопентильному остатку (M4.1–M4.4). Фрагментация этих соединений включает двухкратную дегидратацию протонированной молекулы (ионы с m/z 344 и 326) и трехкратную – дигидроксилированного циклопентилфенилметанольного остатка (малоинтенсивный ион с m/z 153).

Дигидроксилированные метаболиты пятой группы (M5.1–M5.5) характеризуются большим удерживанием по сравнению с M4.1–M4.4, а в их масс-спектрах присутствуют ионы, ясно указывающие на наличие дополнительного атома кислорода на хинуклидинольном остатке (m/z 172 и 144). Гидроксильная группа находится на циклопентильном остатке, что следует из наличия ионов с m/z 191 и 276 в масс-спектре (рисунок 4Д). Пользуясь аргументацией, приведенной выше для сильноудерживающихся моногидроксилированных метаболитов M2.1 и M2.2, можно сделать вывод о том, что в структурах M5.1–M5.5 гидроксильна одна из ближайших к атому азота метиленовых групп, либо они являются N-оксидами.

Удерживание метаболитов шестой группы (M6.1 и M6.2) очень велико по сравнению с другими дигидроксилированными метаболитами. Их фрагментация (наличие в масс-спектре пика иона с m/z 160 и (дегидратированного) m/z 276 ясно указывает на присутствие двух дополнительных атомов кислорода на хинуклидинольном остатке. Повышенное удерживание объясняется как подавлением протонирования атома азота, так и локализацией гидрофильных гидроксильных групп на одном остатке.

В структурах четырех метаболитов седьмой группы (M7.1–M7.4) присутствует карбонильная и гидроксильная группа, локализованные на циклопентильном остатке. Этот вывод следует из наличия неизменных фенольного и хинуклидинольного остатков (ион с m/z 260), а также из увеличения веса циклопентилфенилметанольного

остатка, что соответствует добавлению двух атомов кислорода и отсутствию двух атомов водорода (ион с m/z 215). Этот ион подвержен двукратной дегидратации, приводящей к образованию ионов с m/z 187 и 169 и подтверждающей наличие дополнительной гидроксильной группы на циклопентилфенилметанольном остатке.

Два метаболита последней (восьмой) группы, M8.1 и M8.2, имеют кетогруппу на циклопентильном остатке и дополнительный атом кислорода – на хинуклидинольном. Последнее прямо подтверждается наличием интенсивного пика иона с m/z 144, а существование кетогруппы на циклопентильном остатке – наличием иона с m/z 278, указывающем на отсутствие изменений в фенильном остатке.

Все обнаруженные метаболиты относятся к фазе I. Метаболиты фазы II (глюкурониды и сульфаты) не обнаружили, исключая возможное присутствие глюкуронида СНРА в следовой концентрации. Основными метаболическими путями были окисление алифатических (а не ароматических) остатков исходного вещества, что согласуется с результатами более ранних исследований [17].

Как можно убедиться по данным, приведенным в таблице 2, метаболический профиль при интрамускулярном введении EA-3167 примерно одинаков для образцов мочи, собранных в течение 4 и 24 ч. Для случая интрагастрального введения (данные не приведены), наблюдали уменьшение относительных площадей неизмененного EA-3167 и моногидроксилированных метаболитов (M1.1–M1.6) примерно в 2 раза, в то время как относительные площади более сложных метаболитов групп M4, M6 и M7 наоборот, росли.

Дополнительный интерес представляет оценка общего содержания E-3167 и его метаболитов в моче в зависимости от времени отбора мочи. Суммы площадей пиков метаболитов при увеличении времени с 4 до 24 ч составили примерно 14 и 30 % от исходных значений для интрагастрального и интрамускулярного введения, соответственно. Эти значения позволяют предположить, что время надежного обнаружения E-3167 и его метаболитов в моче составляет, по крайней мере, не менее 2 сут.

Следует отметить, что объем полученных данных недостаточен для формирования уверенных выводов по составу метаболической смеси и времени экскреции. Однако в этом нет необходимости ввиду очевидного отличия метаболизма крыс от человеческого. Согласно нашему опыту, это отличие

в основном, заключается в преобладании одностадийных метаболитов для человека. Следовательно, наиболее вероятными метаболитами для человека должны быть соединения групп М1–М3, и наиболее удобны для обнаружения метаболиты М1.1, М3.3, М1.6 и М3.3.

Маркеры отравления ЕА-3167, наблюдаемые методом ГХ-МС. Важнейшими преимуществами ГХ-МС следует назвать воспроизводимость спектров электронной ионизации и возможность стандартизации удерживания с применением распространенных хроматографических фаз. Вместе с наличием бесплатных средств обработки газовых масс-хроматограмм, эти преимущества позволяет создавать дешевые и надежные методики скрининга образцов сложного состава [9–11]. Вместе с тем, при учете особенностей ионизации, молекулярной массы и температурной стабильности компонентов наблюдаемый состав образца как правило, отличается от того, который был получен методом ЖХ-МС [18]. Для оперативного обнаружения целевых веществ мы включили их характеристики, полученные методом ГХ-МС. Точное сопоставление веществ, обнаруженных методом ЖХ-МС и ГХ-МС, представляет сложную задачу при исследовании метаболических смесей, и поэтому большая часть перечисленных далее веществ следует рассматривать только как маркеры употребления ЕА-3167.

ГХ-МС хроматограммы экстракта мочи крыс с дериватизацией триметилсилилированием приведены на *рисунке 5* и масс-спектры метаболитов, имеющих наименьшее удерживание в группе, изображены на *рисунке 6*. Как отмечалось выше, ЕА-3167 элюируется в виде одного пика.

Все метаболиты, наблюдаемые методом ГХ-МС, имеют неизменный хинуклидинольный остаток, на что указывает присутствие пиков ионов с m/z 126 и 110 в их масс-спектрах. Наиболее интенсивным выглядит компонент, предположительно идентифицированный как продукт образования кетогруппы на циклопентильном остатке, *рисунк 6А*. Следует учесть, что данное вещество может являться продуктом температурной или химической дегидратации (артефактом) дигидроксилированных метаболитов. Тем не менее, это вещество наиболее удобно в качестве маркера отравления. На наличие кетогруппы указывает существование иона с m/z 261 (или иона с m/z 171 после элиминирования триметилсиланола).

Моногидроксилированные компоненты (*рисунк 6Б*) имеют большее удерживание, чем продукт образования кетона и, по-видимому, являются истинными метаболитами. Их фрагментация проходит подобно кетонному производному с разрывом связи между гидроксилированным циклопентилфенилметанольным остатком и остальной частью иона. Эти метаболиты также пригодны для

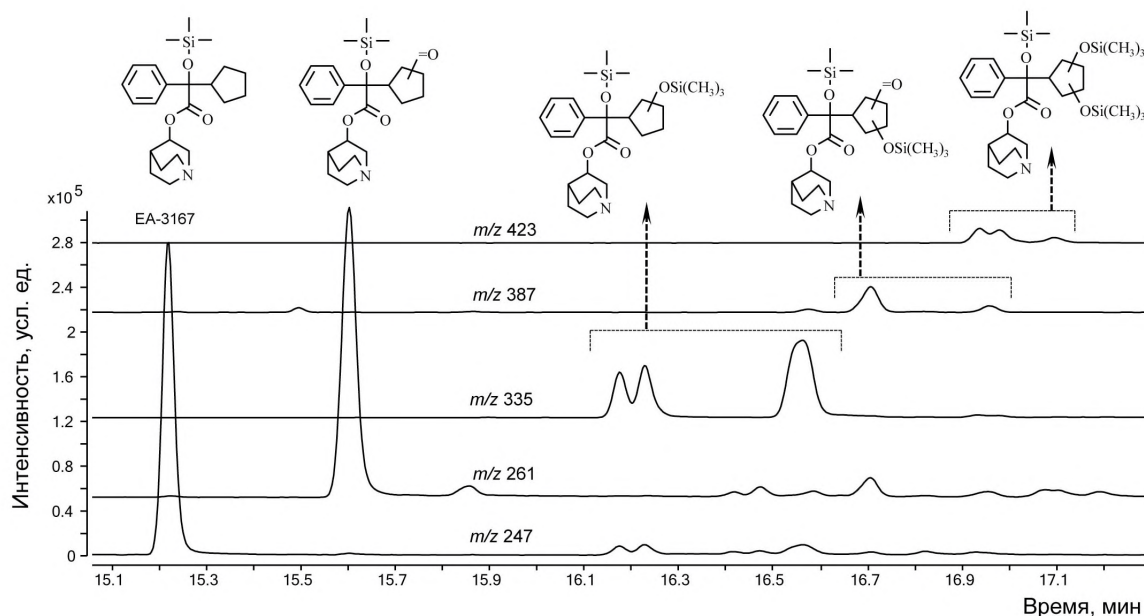


Рисунок 5 – ГХ-МС масс хроматограммы образцов мочи крыс с метаболитами ЕА-3167 (триметилсилилирование). Предполагаемые структуры метаболитов (данные авторов)

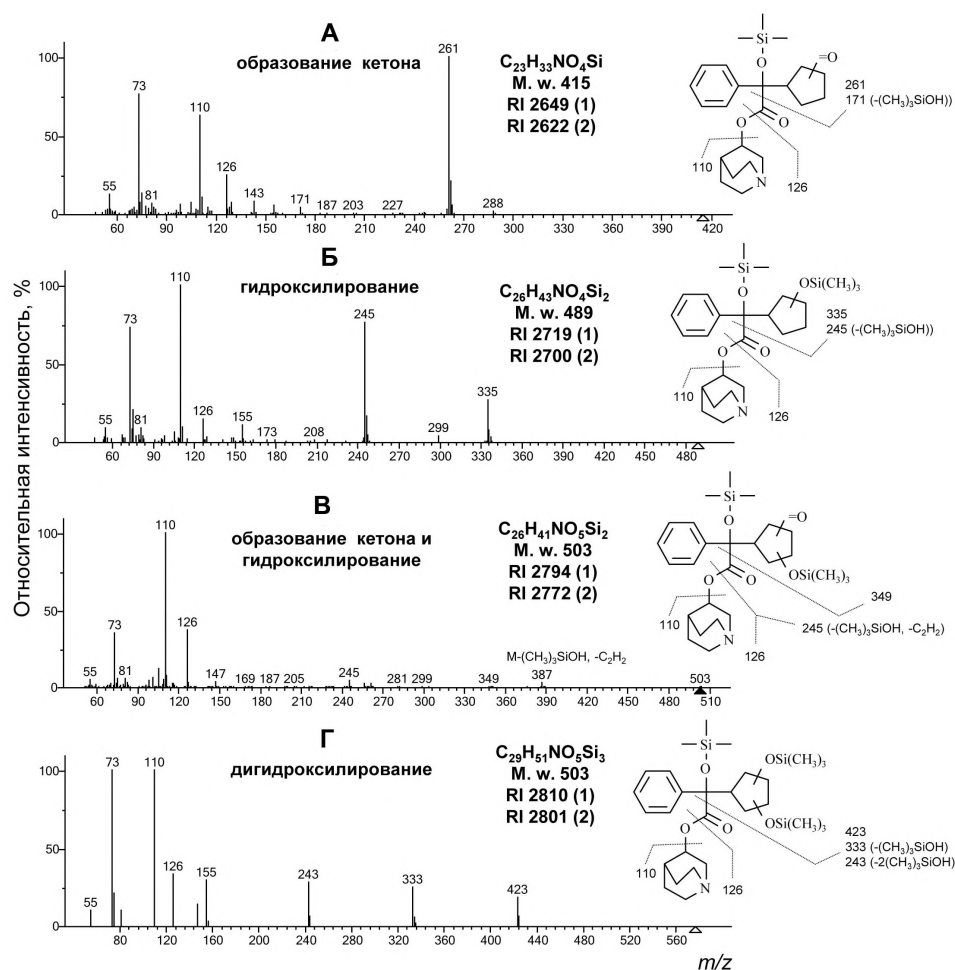


Рисунок 6 – ГХ-МС (ЭИ) масс-спектры метаболитов EA-3167 (TMC) и предполагаемые структуры.
M.w. – моноизотопная молекулярная масса; RI – индексы удерживания для двух температурных программ
(данные авторов)

использования в качестве маркеров по критериям интенсивности хроматографических пиков и сравнительной простоты структур.

Пути фрагментация двух оставшихся веществ – продукта гидрокселирования и образования кетогруппы, а также дигидрокселирования цикlopентильного остатка (рисунки 6В и 6Г соответственно) проходят так же, как и у рассмотренных выше веществ. Масс-спектры всех рассмотренных веществ содержат пики ионов, образованных элиминированием триметилсиланола.

Заключение

В спиртосодержащих напитках, доставленных из зоны проведения специальной военной операции, был обнаружен ряд наркотических веществ, оборот которых запрещен в РФ. Кроме того, в напитках идентифицировали EA-3167, редкое психоак-

тивное вещество, являющееся структурным аналогом инкапаситанта BZ, входящего в список 2 КЗХО. В одном из напитков концентрация EA-3167 составила 910 мкг/мл; вещество также было найдено в промывных водах желудка, доставленных вместе со спиртосодержащими жидкостями. Было найдено, что EA-3167 подвержен интенсивному метаболизму. В моче крыс, экспонированных EA-3167, обнаружили ряд метаболитов фазы I, являющихся продуктами моно- и дигидрокселирования алифатических остатков исходного вещества, а также образования карбонильных групп. Исходное вещество, продукты его моногидрокселирования и образования карбонильной группы на цикlopентильном остатке были найдены наиболее удобными маркерами для подтверждения отравления методами газовой и жидкостной хроматомасс-спектрометрии.

Список источников/References

1. Ellison DH. *Handbook of Chemical and Biological Warfare Agents*. 2nd ed. New York: CRC Press, Taylor & Francis Group; 2008. 762 p.
2. Sternbach LH, Kaiser S. Antispasmodics. II. Esters of Basic Bicyclic Alcohols. *J Am Chem Soc*. 1952;74(9):2219–21.
<https://doi.org/10.1021/ja01129a020>
3. Palmer WG. *Field-Water Quality Standards for BZ. Technical Report*. U S Army Biomedical Research & Development Laboratory. Fort Detrick, 1990. Available from: <https://apps.dtic.mil/sti/citations/ADA220896>
4. Григорьев АМ, Фатеенков ВН. Современные психоактивные вещества и их обнаружение в биомедицинских пробах. *Вестник войск РХБ защиты*. 2022;6(4):320–41.
Grigoryev AM, Fateenkov VN. Modern Psychoactive Substances and Their Detection in Biomedical Samples. *Journal of NBC Protection Corps*. 2022;6(4):320–41. EDN: EUKKMS.
<https://doi.org/10.35825/2587-5728-2022-6-4-320-341>
5. Rzeszotarski WJ, Gibson RE, Eckelman WC, et al. Analogs of 3-quinuclidinyl benzilate. *J Med Chem*. 1982;25(9):1103–6.
<https://doi.org/10.1021/jm00351a020>
6. Gibson RE, Rzeszotarski WJ, Eckelman WC, Jagoda EM, Weckstein DJ, Reba RC. Differences in affinities of muscarinic acetylcholine receptor antagonists for brain and heart receptors. *Biochem Pharmacol*. 1983;32(12):1851–6.
[https://doi.org/10.1016/0006-2952\(83\)90049-7](https://doi.org/10.1016/0006-2952(83)90049-7)
7. He Liu, Xiang-yu Han, Bo Wu, Bo-hua Zhong, Ke-liang Liu. Synthesis and crystal structure of quinuclidin-3-yl 2-cyclopentyl-2-hydroxy-2-phenylacetate. *J Chem Res*. 2005;(12):787–8.
<https://doi.org/10.3184/030823405775147068>
8. Flanagan RJ, Cuypers E, Maurer HH, Whelpton R. *Fundamentals of analytical toxicology*. New York: John Wiley & Sons, Ltd; 2020. 599 p.
9. Maurer HH. Screening Procedures for Simultaneous Detection of Several Drug Classes Used for High Throughput Toxicological Analyses and Doping Control. A Review. *Comb Chem High Throughput Screen*. 2000;3(6):467–80.
<https://doi.org/10.2174/1386207003331355>
10. Maurer HH, Chapter 12. Forensic screening with GC-MS. In: Bogusz MJ, Eds. *Handbook of Analytical Separations*. Amsterdam: Elsevier; 2008;6:425–45. [https://doi.org/10.1016/S1567-7192\(06\)06012-8](https://doi.org/10.1016/S1567-7192(06)06012-8)
11. Drummer OH. Chromatographic screening techniques in systematic toxicological analysis. *J Chromatogr A*. 1999;733(1-2):27–45.
[https://doi.org/10.1016/S0378-4347\(99\)00265-0](https://doi.org/10.1016/S0378-4347(99)00265-0)
12. Li Z, Huang X, Wang X, Ren J, Xu B, Luo C, et al. Establishment and application of a screening method for 354 organic toxicants in blood and urine with high-performance liquid chromatography-high-resolution orbitrap mass spectrometry. *Anal Bioanal Chem*. 2023;415(3):493–507.
<https://doi.org/10.1007/s00216-022-04432-6>
13. Byrd GD, Paule RC, Sander LC, Sniegowski LT, White E, Bausum HT. Determination of 3-quinuclidinyl Benzilate (QNB) and Its Major Metabolites in Urine by Isotope-Dilution Gas-Chromatography Mass-Spectrometry. *J Anal Toxicol*. 1992;16:182–7.
<https://doi.org/10.1093/jat/16.3.182>
14. Zhang D, Luo G, Ding X, Lu C. Preclinical experimental models of drug metabolism and disposition in drug discovery and development. *Acta Pharm Sin B*. 2012;2(6):549–61.
<https://doi.org/10.1016/j.apsb.2012.10.004>
15. Costa A, Sarmento B, Seabra V. An evaluation of the latest in vitro tools for drug metabolism studies. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*. 2014;10(1):103–19.
<https://doi.org/10.1517/17425255.2014.857402>
16. Граник ВГ. *Метаболизм экзогенных соединений*. М.: Вузовская книга; 2015. 526 с.
Granik VG. *Metabolism of exogenous compounds*. Moscow: «Vuzovskaya Kniga»; 2015. 526 с.
17. Заикина ОЛ, Шилов ВВ, Лодягин АН, Глушков СИ, Григорьев АМ. Установление структур свободных и глюкуронидированных метаболитов α-пирролидиноалерофенона в моче человека методом жидкостной хромато-масс спектрометрии при измерении точных масс. *Журн аналит химии*. 2019;74(5):381–96.
<https://doi.org/10.1134/S0044450219020130>
Zaikina OL, Shilov VV, Lodyagin AN, Glushkov SI, Grigoryev AM. Determination of the structures of free and glucuronidated metabolites of α-pyrrolidinoaleroophenone in human urine by liquid chromatography-mass spectrometry for measuring accurate masses. *Journal of Analytical Chemistry*. 2019;74(5):381–96.
<https://doi.org/10.1134/S0044450219020130>

18. Grigoryev A, Kavanagh P, Labutin A, Pechnikov A, Dowling G, Shevyrin V, Krupina N. Tentative identification of the metabolites of (1-(cyclohexylmethyl)-1H-indol-3-yl)-(2,2,3,3-tetramethylcyclopropyl) methanone, and the product of its thermal degradation, by in vitro and in vivo methods. *Drug Test Anal.* 2019;11(9):1387–402.
<https://doi.org/10.1002/dta.2668>

Вклад автора / Author contribution

Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE. Наибольший вклад распределен следующим образом: **А.М. Григорьев** – формирование концепции статьи, написание текста рукописи; **В.А. Яшкир** – редактирование текста рукописи; **В.И. Крылов** – составление рисунков; **Н.А. Колосова** – доработка текста, работа с табличным материалом; **В.Н. Фатеенков** – доработка текста, окончательное утверждение версии рукописи для публикации / All authors confirm that they meet the International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE) criteria for authorship. The most significant contribution were as follows: **A.M. Grigoryev** – elaboration of the concept of the paper, writing of the article; **V.A. Jashkir** – editing of the article; **V.I. Kryliv** – prepared the figures, **N.A. Kolosova** – revision of the text, tabular work; **V.N. Fateenkov** – editing of the article, approval of the final version of the article for publication.

Сведения о рецензировании / Peer review information

Статья прошла двустороннее анонимное «слепое» рецензирование двумя рецензентами, специалистами в данной области. Рецензии находятся в редакции журнала и в РИНЦе / The article has been doubleblind peer reviewed by two experts in the respective field. Peer reviews are available from the Editorial Board and from Russian Science Citation Index database.

Об авторах/ Authors

Григорьев Андрей Михайлович. Старший научный сотрудник. Доктор химических наук.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5971-5989>

Яшкир Вадим Анатольевич. Старший научный сотрудник. Кандидат химических наук.

Крылов Владислав Игоревич. Научный сотрудник.

Колосова Наталья Александровна. Старший научный сотрудник. Кандидат биологических наук.

Фатеенков Владимир Николаевич. Начальник отдела. Кандидат военных наук, доцент, профессор АВН.

Контактная информация для всех авторов: 27nc_1@mil.ru

Контактное лицо: Григорьев Андрей Михайлович; 27nc_1@mil.ru

Federal State Budgetary Establishment “27 Scientific Centre Named after Academician N.D. Zelinsky” of the Ministry of Defence of the Russian Federation. Entuziastov Passage, 19, Moscow 111024, Russian Federation.

Andrej M. Grigoryev. Senior Researcher. Dr Sci. (Chem).

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5971-5989>

Vadim A. Jashkir. Senior Researcher. Cand. Sci. (Chem).

Vladislav I. Krylov. Researcher.

Nataliya A. Kolosova. Senior Researcher. Cand. Sci. (Chem).

Vladimir N. Fateenkov. Chief of the Department. Cand. Sci. (Mil.). Professor AMS.

Contact information for all authors: 27nc_1@mil.ru

Contact person: Andrey M. Grigoryev; 27nc_1@mil.ru