



ANALYSIS OF THE FRAGMENTATION OF NEW-TYPE PHENETHYLAMINE DERIVATIVES FROM THE NBOME AND NBF GROUPS UNDER ELECTROSPRAY IONIZATION CONDITIONS USING HIGH RESOLUTION MASS SPECTROMETRY

Karolina SEKUŁA, Wioleta WRZESIENŃ-TOKARCZYK, Dariusz ZUBA

Institute of Forensic Research, Kraków, Poland

Abstract

The phenomenon of introducing new psychoactive substances onto the drug market has been continuously observed in recent years. New compounds are formed mainly by replacing known structural components with different chemical groups. Due to the structural similarity of the compounds, identifying new substances is often difficult and time consuming. If a new compound is not included in a mass spectra library, its structure may be determined based on the presence of some characteristic fragmentation ions. So far, fragmentation pathways have been determined for phenethylamine derivatives from the 2C group and the simplest derivatives from the NBOMe family. Therefore in this study, the fragmentation patterns of eight new-type phenethylamine derivatives from the NBOMe and NBF family using electrospray ionization were investigated. The analysis was carried out by liquid chromatography coupled to quadrupole – time-of-flight mass spectrometry (LC-QTOFMS). Thanks to the high mass accuracy of the applied technique, the performed study allowed us to determine the preferred decay routes of new phenethylamine derivatives. In the tested molecules, the bonds adjacent to the nitrogen atom were mainly cleaved, leading to the formation of characteristic ions derived from the benzyl group with appropriate substituents and ions corresponding to the phenethylamine core with attached substituents. Knowledge of the fragmentation pathways of phenethylamine derivatives from the NBOMe and NBF group can be very useful in determining the structure of novel psychoactive substances in forensic laboratories.

Keywords

Fragmentation; Phenethylamine derivatives; NBOMe; NBF; Electrospray; LC-QTOFMS.

Received 20 November 2019; accepted 9 March 2020

1. Introduction

New psychoactive substances (NPS), mainly referred to in Poland by the term “dopalacze” (boosters), are substitutes for commonly known drugs and constitute a group of substances that act on the central nervous system. Until the end of 2018, the European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction (EMCDDA) monitored over 730 new psychoactive substances, 56 of which were identified in Europe for

the first time in 2018 (European Drug Report 2018). Although synthetic cannabinoids and cathinones are the most popular among users, other groups of compounds, such as phenethylamines, synthetic opioids or benzodiazepine derivatives, also appear on the drug market every year. At present, the third largest group monitored by the EMCDDA is phenethylamine derivatives: 99 compounds (European Drug Report 2019; European information system and database on new drugs – Reporting forms, 2019). This class of sub-

stances is diverse and includes compounds with stimulating, psychodysleptic, empathogenic, anorectic and antidepressant effects (Zuba, Sekuła, Buczek, 2012).

The most popular phenethylamine derivatives are compounds referred to as the 2C family (Shulgin, Shulgin, 1991). These compounds share a common phenethylamine core with two methoxy groups in positions 2 and 5 of the aromatic ring and (all except the base 2C-H) an additional substituent, usually located in position 4 of the ring, which may be: a methoxy, alkylthiol or alkyl group, or a halogen atom (Gupta, Binda, Singh, 1982; Zuba et al., 2012).

The hallucinogenic properties of phenethylamines are caused by stimulation of serotonin receptors by these compounds (Ettrup et al., 2011; Nicholas, 2004; Poklis, Clay, Poklis, 2014; Zuba, Sekuła, 2012b). Research conducted after 2000 has shown that modifications in the structure of 2C family compounds affect their affinity for these receptors, and thus the activity of the compounds, i.e. the strength of the effect on the central nervous system (Braden, Parrish, Naylor, Nicholas, 2006, 2012; Silva, 2008; Zuba, Sekuła, 2012a). A. Shulgin (1991) confirmed in his research that compounds with substituents in positions 2, 4 and 5 of the benzene ring exhibited optimal hallucinogenic properties of phenethylamine derivatives. Moreover, it has been shown that the addition of an *N*-benzyl group to 2,5-dimethoxy- β -phenethylamine (2C-H) causes a 13-fold increase in the serotonin receptor binding affinity and an increase in its activity, while the substitution of an *N*-(2-methoxy)benzyl group to 2C-H causes a 190-fold increase in this affinity (Braden et al., 2006; Silva, 2008; Zuba, Sekuła, 2012b). The class of *N*-(2-methoxy)benzyl derivatives of the 2C family has been named the 25-NBOMe or NBOMe group, and the many times stronger hallucinogenic action of these compounds led to an increase in their popularity on the drug market after 2010 (NBOMe Series, 2019; Zuba, Sekuła, 2012a, 2012b). Initially, NBOMe compounds with a substituted halogen atom in the 4th position of the benzene ring began to appear, and later compounds with an alkyl substituent.

In the following years, other new 25-NBOMe derivatives appeared on the illegal market. Various fragments of the structure of these compounds were modified – both the phenethylamine core and the *N*-benzyl ring. As regards the changes in the *N*-benzyl ring, an example may be the 25-NBF or NBF derivatives, which contain – instead of an *N*-methoxybenzyl group – an *N*-fluorobenzyl moiety. These derivatives include, for example, the compounds 25I-NBF, 25C-NBF and 25B-NBF. The structural similarity of NBF derivatives to NBOMe and studies on their af-

finity for serotonin receptors suggest that these compounds may have similar properties and a similar but slightly weaker action on the central nervous system (Braden et al., 2006; Kim, 2019; Nicholas, 2012).

The compound 25I-NBF was first identified in 2014 in Slovenia on blotter paper soaked in this substance (the blotter paper also contained 25I-NBOMe). In subsequent years, the presence of this compound was mainly ascertained on blotter papers (alone or in a mixture with other compounds from the NBOMe group), but also in powder. In turn, 25C-NBF was first identified in 2016 in Slovenia in white powder and in France in a liquid sample, as well as in a form that is untypical for this group of substances, i.e. in white tablets (in 2017 in Sweden). Another analog from this group, 25B-NBF, was identified for the first time in yellow tablets seized in Sweden in 2016. There are no scientific reports on potential risks associated with the intake of compounds from the NBF family, nor on their dosage or effects on the organism (European information system and database on new drugs – Substances, 2019; Kim, 2019).

Another example of NBOMe derivatives, which have been formed as the result of modification of the *N*-benzyl ring, is a compound with the acronym 30C-NBOMe and the 25I-NBOMe imine analog. The compound 30C-NBOMe has certain structural similarities to 25C-NBOMe, but instead of a methoxy substituent in position 2 of the *N*-benzyl group, it has three methoxy groups in positions 3, 4 and 5 of this ring. This compound was first identified in 2013 in Sweden, where 102 blotter papers containing this substance were seized. The dosage and effects of this compound are unknown (European information system and database on new drugs – Substances, 2019). In turn, the 25I-NBOMe imine analog differs from the parent compound in that there is a double bond between the nitrogen atom and the carbon atom in the *N*-benzyl group. There is no information available on use and/or abuse of this substance.

Other new 25-NBOMe derivatives in which the change in structure concerns the phenethylamine core are compounds with the acronyms 4-EA-NBOMe, 3,4-DMA-NBOMe and 25iP-NBOMe. The structure of 4-EA-NBOMe is partly similar to that of 4-EA (4-ethylamphetamine), whereas 3,4-DMA-NBOMe has a structure similar to 3,4-DMA (3,4-dimethoxyamphetamine). The first reports on the identification of these derivatives come from 2014 from Germany, where they were seized in the form of white substances. There is no information on the action and dosage of these compounds (Caspar, Meyer, Westphal, Weber, Maurer, 2018; European information system and

database on new drugs – Substances, 2019). Another derivative, called 25iP-NBOMe, has a substituted isopropyl group in the para position of the ethylbenzene ring. This substance was first identified in white powder in 2013 in Finland. The compound is taken sublingually at doses ranging from 0.25 mg (minimum dose) to 1.5 mg (25iP-NBOMe – Basic information, 2019).

New NBOMe derivatives are controlled in many European countries. In Poland, until mid-2018, these compounds were legally treated as new psychoactive substances, and the products which included them as ingredients, were considered “substitutes”. Criminal responsibility for possession, dealing and production of such substances was lower than in the case of so-called “classical drugs”. In accordance with the amendment to the Act on Counteracting Drug Addiction of 20 July 2018 (2018) and the Regulation of the Minister of Health of 17 August 2018 on the list of psychotropic substances, narcotic drugs and new psychoactive substances (2018), the so-called generic law was introduced. Among other things, general groups of compounds (that act on the central nervous system), which are classified as new psychoactive substances, were defined. The NBOMe derivatives discussed in this paper (except for the 25I-NBOMe imine analog), in accordance with the definitions contained in the above mentioned Act and Regulation, are classified as 2-phenylethylamine derivatives (I-NPS group) and are subject to legal control, and the criminal responsibility for dealing in them is currently the same as in the case of classical drugs. Within the meaning of these regulations, the 25I-NBOMe imine analog is still classified as a substitute substance.

In view of the dynamic development of the drug market and the constantly emerging new psychoactive substances (which are analogs, homologs or isomers of compounds available on the illicit market), it is necessary to apply and continuously develop analytical methods and techniques used to identify these substances. Undoubtedly, in addition to the nuclear magnetic resonance (NMR) method, high-resolution mass spectrometry (HRMS) is helpful in identification analysis of NPS, because it makes possible to determine the exact mass of the studied compounds and their fragments and thus to precisely assign an ion with a specific m/z value to a given fragment.

Since there is often a lack of mass spectra of new psychoactive substances in the available libraries, the structure of such compounds can be determined based on the presence of characteristic fragmentation ions. Up till now the decay routes of compounds from the 2C family and the simplest derivatives from the NBOMe group have been described (Sekula, Zuba,

2013; Zuba et al., 2012; Zuba, Sekula, 2012a; Zuba, Sekula, Buczek 2013). It has been shown, among other things, that the mechanisms of fragmentation of NBOMe compounds coincide to the ways of fragmentation of their corresponding phenethylamine derivatives without an *N*-(2-methoxy)benzyl group. For example, under similar conditions 25D-NBOMe fragments analogously to 2C-D; 25E-NBOMe – analogously to 2C-E; and 25G-NBOMe – analogously to 2C-G (Zuba, Sekula, 2012a).

However, in this study we have analyzed the fragmentation pathways of eight different previously unstudied compounds from the NBOMe group, in which the phenethylamine core (compounds 25iP-NBOMe, 3,4-DMA-NBOMe and 4-EA-NBOMe) or the *N*-benzyl ring (compounds from the NBF group, a compound with the acronym 30C-NBOMe or the 25I-NBOMe imine analog) were subjected to structural modifications. The structures of the analyzed substances are presented in Fig. 1, while their full chemical names are given in Table 1. Liquid chromatography coupled with mass spectrometry, using a hybrid combination of quadrupole and time-of-flight analyzer with electrospray ionization (LC-ESI-QTOFMS), was applied in the analyses.

2. Materials and methods

2.1. Materials and reagents

Reference standards used in the study: 25iP-NBOMe, 3,4-DMA-NBOMe, 4-EA-NBOMe, the 25I-NBOMe imine analog, 30C-NBOMe, 25B-NBF, 25C-NBF and 25I-NBF were obtained from Cayman Chemical Company (Ann Arbor, MI, USA). Solutions of these substances at a concentration of 1.0 mg/ml were prepared with the use of methanol, except for the 25I-NBOMe imine analog, which was prepared in ethyl acetate. Working solutions at a concentration of 1.0–2.0 $\mu\text{g/ml}$ prepared by appropriate dilution with 0.1 % aqueous formic acid solution were used for analysis.

Acetonitrile (purity for LC-MS, LiChrosolv[®]), methanol (purity for HPLC, 99.9%), ethyl acetate (purity for LC, LiChrosolv[®]) and formic acid (for ACS analysis, purity 98–100%) were purchased from Merck KGaA (Darmstadt, Germany). Water was deionized using Nanopure Diamond apparatus (Barnstead, Dubuque, IA, USA).

2.2. Method

The analyses were carried out by liquid chromatography coupled with hybrid quadrupole time-of-flight mass spectrometry (LC-QTOFMS). A chromatograph series 1200, and 6520 Accurate-Mass QTOFMS mass spectrometer by Agilent Technologies (Santa Clara, CA) were used.

Chromatographic separation was carried out on an Ascentis Express C18 column (7.5 cm × 2.1 mm; 2.7 μm) produced by Supelco, thermostated at 35°C.

The mobile phase flowing through the column in a phase composition gradient system at a rate of 0.3 ml/min was a mixture of 0.1 % formic acid in water (A, v/v) and acetonitrile (B, v/v). The following gradient program was used (in relation to the percentage content of component B): 0 min – 5%, 11 min – 33%, 15 min – 37%, 15.2 min – 5%, 21 min – 5%. Chromatograms of phenethylamine derivatives are presented in Fig. 2, while relative retention times of the tested compounds determined in relation to the retention time of caffeine are given in Table 2.

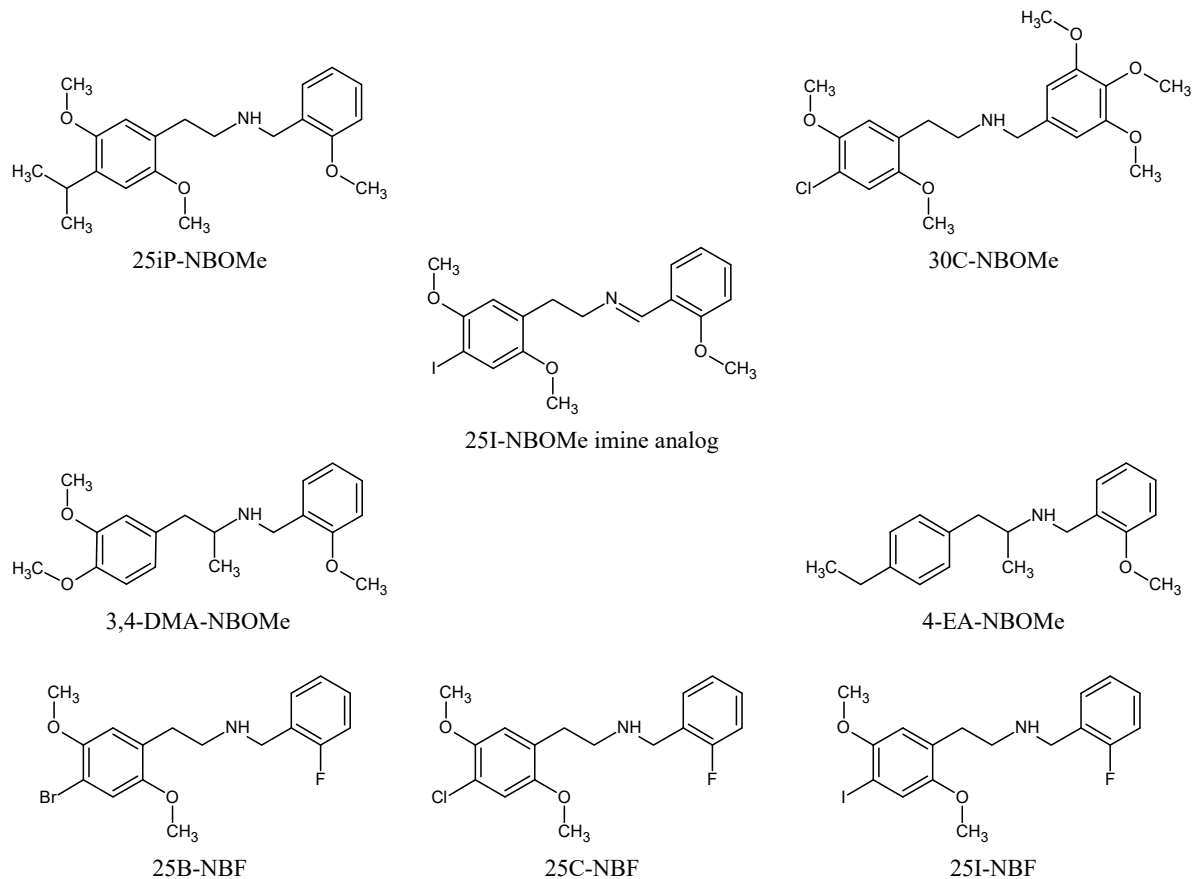


Fig. 1. Chemical structures of new-type phenethylamine derivatives.

Table 1

Abbreviations of new-type phenethylamine derivatives used in the paper

25B-NBF	2-(4-bromo-2,5-dimethoxyphenyl)- <i>N</i> -[(4-fluorophenyl)methyl]ethanamine
25C-NBF	2-(4-chloro-2,5-dimethoxyphenyl)- <i>N</i> -[(4-fluorophenyl)methyl]ethanamine
25I-NBF	<i>N</i> -(2-fluorobenzyl)-2-(4-iodo-2,5-dimethoxyphenyl)ethanamine
25I-NBOMe imine analog	(<i>E</i>)- <i>N</i> -[2-(4-iodo-2,5-dimethoxyphenyl)ethyl]-1-(2-methoxyphenyl)methanimine
25iP-NBOMe	2-(4-isopropyl-2,5-dimethoxyphenyl)- <i>N</i> -[(2-methoxyphenyl)methyl]ethanamine
30C-NBOMe	2-(4-chloro-2,5-dimethoxyphenyl)- <i>N</i> -[(3,4,5-trimethoxyphenyl)methyl]ethanamine
3,4-DMA-NBOMe	1-(3,4-dimethoxyphenyl)- <i>N</i> -[(2-methoxyphenyl)methyl]propan-2-amine
4-EA-NBOMe	1-(4-ethylphenyl)- <i>N</i> -[(2-methoxyphenyl)methyl]propan-2-amine

Table 2
Relative retention times of the investigated compounds

Compound	Relative retention time [min]
25I-NBOMe imine analog	1.76
3,4-DMA-NBOMe	1.94
25C-NBF	2.32
30C-NBOMe	2.34
25B-NBF	2.39
25I-NBF	2.52
4-EA-NBOMe	2.64
25iP-NBOMe	2.94

The electrospray ionization (ESI) with positive ion monitoring was used. Mass spectra were recorded in the range 50–1000 m/z . Nitrogen at a temperature of 300°C and flow rate of 10 l/min was used as a drying gas and as a nebulizing gas at a pressure of 45 psi. The capillary voltage was 3000 V and the skimmer voltage was 65 V. The quadrupole worked in two modes: MS and MS/MS with a tolerance of m/z values of the selected ion: $\Delta m/z = 1.3$. The fragmentor voltage was 100 V or 240 V and the collision energy was 15 eV. In order to minimize the error of mass determination during the analysis, spectra were automatically corrected by measuring the reference compound HP-921 – hexakis(1H,1H,3H-tetrafluoropropoxy)phosphazine ($[M+H]^+ = 922.0098$ Da). Data collection and analysis were performed using MassHunter software from Agilent Technologies (version B.06.00).

3. Results

In the first step of the study, new-type phenethylamine derivatives were analyzed in the MS mode at low fragmentor voltage for the applied spectrometer model ($U = 100$ V). Ions originating from protonated molecules $[M+H]^+$ (**0**) were obtained and their masses were determined with high accuracy ($\Delta m = -0.3$ – 2.0 ppm). Only for the 25I-NBOMe imine analog, no pseudomolecular ion was recorded at 100 V fragmentor voltage, while fragmentation ions were present on the spectrum. In the case of this compound, the analysis was repeated using a fragmentor voltage of 50 V and 20 V; however, no ion originating from the protonated molecule was observed at these voltages either. Spontaneous fragmentation of the 25I-NBOMe imine analog was certainly caused by the presence of a double bond in this compound. On the other hand, for phenethylamine derivatives containing a chlorine atom (30C-NBOMe and 25C-NBF) or a bromine atom (25B-NBF) in their structure, a characteristic isotopic distribution for these elements was recorded in the case of $[M+H]^+$ ions. The results of the analyses of the investigated compounds using the QTOFMS method are presented in Table 3.

In the next step, phenethylamine derivatives were analyzed to determine their fragmentation pathways (Fig. 3). Thus, experiments were conducted in the MS mode with a higher fragmentor voltage of 240 V. During the analyses, it turned out that the most intense ions observed in the spectra originated from

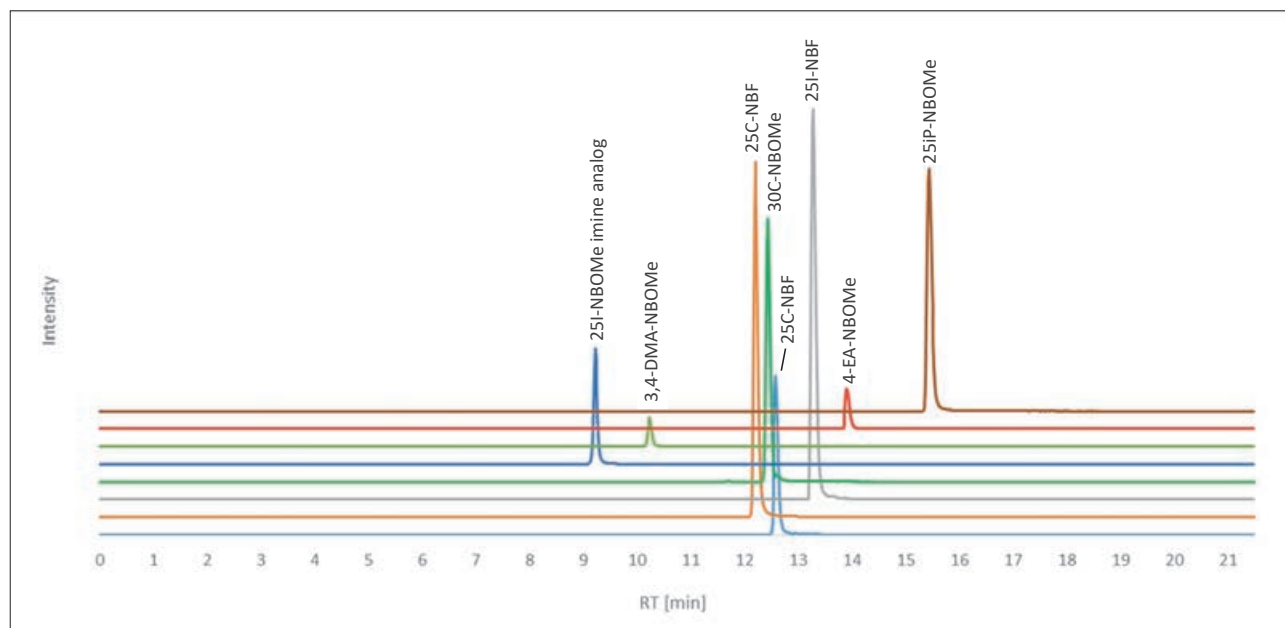


Fig. 2. Chromatograms of the investigated compounds.

Table 3
The ions observed for the investigated phenethylamine derivatives under QTOFMS

Compound	Ion	Measured m/z value	Proposed formula	Calculated m/z value	Δm [ppm]
25iP-NBOMe	0	344.2219	$C_{21}H_{30}NO_3^+$	344.2220	-0.3
	1	222.1488	$C_{13}H_{20}NO_2^+$	222.1489	-0.5
	2	207.1381	$C_{13}H_{19}O_2^+$	207.1380	0.5
	3	–	–	–	–
	4	121.0643	$C_8H_9O^+$	121.0649	5.0
30C-NBOMe	5	91.0545	$C_7H_7^+$	91.0543	2.2
	0	396.1580	$C_{20}H_{26}ClNO_5^+$	396.1572	2.0
	1	–	–	–	–
	2	–	–	–	–
	3	–	–	–	–
25I-NBOMe imine analog	4	181.0851	$C_{10}H_{13}O_3^+$	181.0859	-4.4
	5	91.0545	$C_7H_7^+$	91.0943	2.2
	0	–	–	–	–
	1	308.0145	$C_{10}H_{15}INO_2^+$	308.0142	1.0
	2	290.9880	$C_{10}H_{12}IO_2^+$	290.9876	1.4
3,4-DMA-NBOMe	3	164.0828	$C_{10}H_{12}O_2^+$	164.0837	-5.5
	4	119.0490	$C_8H_7O^+$	119.0491	-0.8
	5	91.0545	$C_7H_7^+$	91.0943	2.2
	0	316.1910	$C_{19}H_{25}NO_3^+$	316.1907	0.9
	1	194.1177	$C_{11}H_{16}NO_2^+$	194.1176	0.5
4-EA-NBOMe	2	179.1068	$C_{11}H_{15}O_2^+$	179.1067	0.6
	3	–	–	–	–
	4	121.0647	$C_8H_9O^+$	121.0649	1.7
	5	91.0547	$C_7H_7^+$	91.0543	-4.4
	0	284.2010	$C_{19}H_{25}NO^+$	284.2009	0.4
25B-NBF	1	162.1271	$C_{11}H_{16}N^+$	162.1277	-3.7
	2	147.1168	$C_{11}H_{15}^+$	147.1168	0.0
	3	–	–	–	–
	4	121.0644	$C_8H_9O^+$	121.0649	4.1
	5	91.0544	$C_7H_7^+$	91.0543	-1.1
25C-NBF	0	368.0661	$C_{17}H_{19}BrFNO_2^+$	368.0656	1.4
	1	258.0118	$C_{10}H_{13}BrNO_2^+$	258.0124	-2.3
	2	243.0015	$C_{10}H_{12}BrO_2^+$	243.0015	0.0
	3	164.0828	$C_{10}H_{12}O_2^+$	164.0837	-5.5
	4	109.0449	$C_7H_6F^+$	109.0448	0.9
25I-NBF	5	–	–	–	–
	0	324.1165	$C_{17}H_{19}ClFNO_2^+$	324.1161	1.2
	1	214.0630	$C_{10}H_{13}ClNO_2^+$	214.0629	0.5
	2	199.0522	$C_{10}H_{12}ClO_2^+$	199.0520	0.5
	3	164.0826	$C_{10}H_{12}O_2^+$	164.0837	-6.7
25I-NBF	4	109.0449	$C_7H_6F^+$	109.0448	0.9
	5	–	–	–	–
	0	416.0519	$C_{17}H_{19}FINO_2^+$	416.0517	0.5
	1	305.9984	$C_{10}H_{13}INO_2^+$	305.9985	-0.3
	2	290.9880	$C_{10}H_{12}IO_2^+$	290.9876	1.4
25I-NBF	3	164.0825	$C_{10}H_{12}O_2^+$	164.0837	-7.3
	4	109.0450	$C_7H_6F^+$	109.0448	1.8
	5	–	–	–	–

the cleavage of bonds adjacent to the nitrogen atom. As a result, fragments of value $m/z = 121.0648$ and $m/z = 91.0542$ corresponding to ions $C_8H_9O^+$ (**4**) and $C_7H_7^+$ (**5**), originating from the *N*-(2-methoxybenzyl) group for compounds: 25iP-NBOMe; 3,4-DMA-NBOMe and 4-EA-NBOMe, as well as a fragment of value $m/z = 109.0448$ corresponding to ion $C_7H_6F^+$ (**4**) originating from the *N*-(2-fluorobenzyl) group for compounds: 25B-NBF; 25C-NBF and 25I-NBF, were recorded. The same type of decay was observed for the 25I-NBOMe imine analog and 30C-NBOMe, but due to a slightly different chemical structure of these compounds from the other substances, for the 25I-NBOMe imine analog, a $C_8H_7O^+$ (**4**) ion was recorded at $m/z = 119.0491$, whereas for the compound 30C-NBOMe, a $C_{10}H_{13}O_3^+$ (**4**) ion was observed at $m/z = 181.0859$. This fragment corresponded to the *N*-(3,4,5-trimethoxybenzyl) group and it was the most intense ion in the spectrum for the compound 30C-NBOMe. As a consequence of the cleavage of the bond between the nitrogen atom and the benzyl group of the investigated derivatives, a fragment originating from the part of the molecule remaining after the breaking off of the benzyl group (**1**) was also recorded; nevertheless, the intensity of these ions was low. Ions of $m/z = 222.1489$ (25iP-NBOMe), $m/z = 194.1176$ (3,4-DMA-NBOMe), $m/z = 162.1277$ (4-EA-NBOMe), $m/z = 258.0124$ (25B-NBF), $m/z = 214.0629$ (25C-NBF), $m/z = 305.9985$ (25I-NBF) and $m/z = 308.0142$ (25I-NBOMe imine analog) corresponded to this fragmentation process. An ion with $m/z = 308.0142$ corre-

sponding to the fragment $C_{10}H_{15}INO_2^+$ was the most intense ion in the spectrum of the 25I-NBOMe imine analog.

The second preferred fragmentation of the analyzed molecules occurred between the nitrogen atom and the phenethylamine core with attached substituents (Fig. 3). As a result of such fragmentation, ions (**2**) were recorded at $m/z = 207.1380$ (for 25iP-NBOMe), $m/z = 179.1067$ (for 3,4-DMA-NBOMe), $m/z = 147.1168$ (for 4-EA-NBOMe), $m/z = 243.0015$ (for 25B-NBF), $m/z = 199.0520$ (for 25C-NBF) and $m/z = 290.9876$ (for 25I-NBF and the imine derivative of 25I-NBOMe). Only for 30C-NBOMe there was no adequate fragment observed at the applied parameters of the method (MS mode, fragmentor voltage 240 V), which was most likely caused by the presence of two additional methoxy groups at the benzene ring affecting molecule stabilization.

Moreover, for phenethylamine derivatives containing a halogen atom in their structure (25B-NBF, 25C-NBF, 25I-NBF and the 25I-NBOMe imine analog), the fragment $C_{10}H_{12}O_2^+$ (**3**) with $m/z = 164.0837$ was observed, originating from the phenethylamine core with attached substituents (**2**) reduced by halogen radical. However, the mentioned ion was not present in the spectrum recorded for the compound 30C-NBOMe.

In the next step of the study, fragments originating from the phenethylamine core with attached substituents (**2**) were fragmented in a collision cell (fragmentor voltage 240 V, collision energy 15 eV). The per-

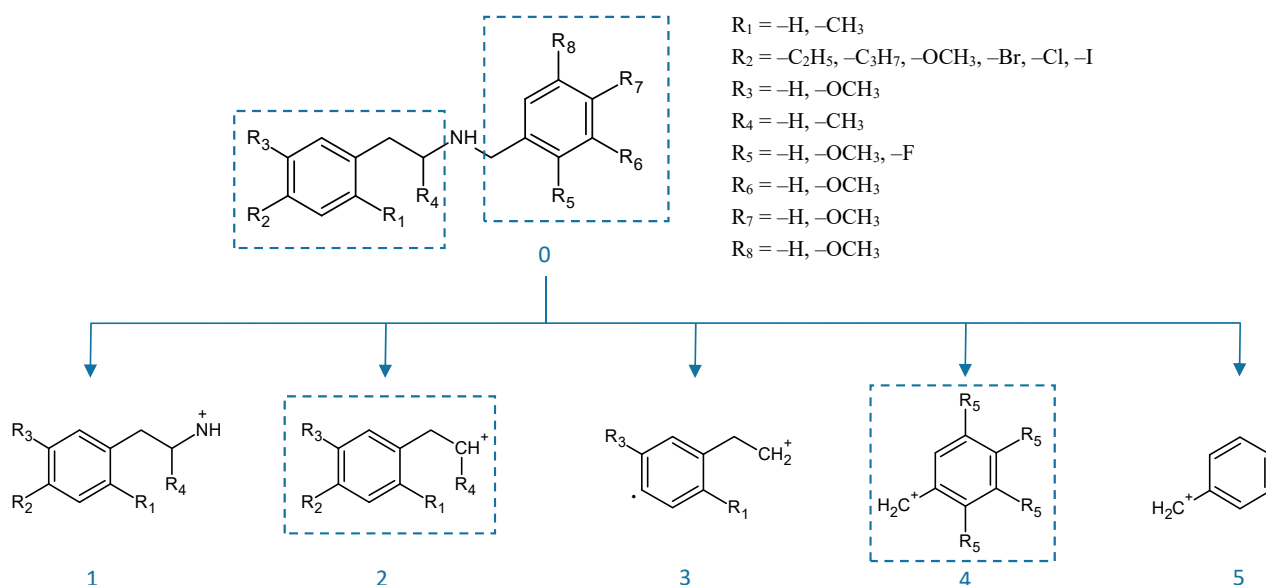


Fig. 3. Preferred fragmentation of new-type phenethylamine derivatives from the NBOMe and NBF family (the most abundant fragmentation ions are marked with dashed lines).

formed analyses showed that the decay of these fragments occurred adequately to the corresponding compounds from 2C family; i.e., the fragment of 25B-NBF with $m/z = 243.0015$ fragmented in the same way as the compound 2C-B; the fragment of 25I-NBF with $m/z = 290.9876$ fragmented in the same way as the compound 2C-I, etc. This fragmentation was mainly based on cleaving methyl and methoxy groups from the structure of phenethylamine derivatives. However, the recorded MS/MS spectra were not distinguished by the presence of specific, characteristic high intensity ions, so it was difficult to indicate the preferred decay of this fragment of the molecule. On the other hand, for the compound 30C-NBOMe, the $C_{10}H_{13}O_3^+$ ion of $m/z = 181.0859$ (**4**) was subjected to further fragmentation, because the fragment corresponding to the phenethylamine core with attached substituents was not observed in a spectrum recorded in MS mode for this derivative. After analysis, it turned out that a CH_4 molecule was cleaved from the $C_{10}H_{13}O_3^+$ moiety, resulting in the formation of a fragment of $m/z = 165.0546$, probably containing a methylenedioxy ring formed between two previously existing methoxy groups. Further cleavage of the hydroxyl group resulted in a fragment of $m/z = 148.0519$.

4. Conclusions

The performed analyses allowed us to determine the fragmentation pathways of new-type phenethylamine derivatives using electrospray ionization quadrupole time-of-flight mass spectrometry (ESI-QTOFMS). Thanks to the high accuracy of mass determination using the method applied, it was possible to precisely match an ion of a defined m/z value to a specific fragment of the structure of a given molecule. It turned out that the preferred decays of the investigated compounds from the NBOMe and NBF group concerned bonds adjacent to the nitrogen atom, leading to the formation of characteristic ions originating from the benzyl group with appropriate substituents and fragments corresponding to the phenethylamine core with the attached substituents. The main decay routes of the analyzed compounds did not deviate from the way of fragmentation of other phenethylamine derivatives from the 2C and NBOMe family (Zuba, Sekula, 2012a, 2012b). Only the fragmentation of the compound 30C-NBOMe, containing in its structure three methoxy groups substituted to the benzyl moiety was partially different from the other compounds, mainly because of the absence of an ion originating from the phenethylamine core with attached substituents.

Knowledge of the fragmentation pathways of phenethylamine derivatives from the NBOMe and NBF groups can be very useful in identifying new psychoactive substances whose mass spectra are often not included in available libraries. The structure of a new compound can then be determined on the basis of the presence of certain specific, characteristic fragmentation ions whose masses are recorded with high accuracy.

References

1. *25iP-NBOMe – Basic information* (2019). Retrieved August 20, 2019 from <http://drugs.tripsit.me/25ip-nbome>.
2. Braden, M. R., Parrish, J. C., Naylor, J. C., Nichols, D. E. (2006). Molecular interaction of serotonin 5-HT_{2A} receptor residues Phe339^(6.51) and Phe340^(6.52) with superpotent N-benzyl phenethylamine agonists. *Molecular Pharmacology*, 70(6), 1956–1964.
3. Caspar, A. T., Meyer, M. R., Westphal, F., Weber, A. A., Maurer, H. H. (2018). Nanoliquid chromatography-high-resolution mass spectrometry for the identification of metabolites of the two new psychoactive substances N-(ortho-methoxybenzyl)-3,4-dimethoxyamphetamine and N-(ortho-methoxybenzyl)-4-methylmethamphetamine. *Talanta*, 188, 111–123.
4. Ettrup, A., Hansen, M., Santoni, M. A., Paine, J., Gillings, N., Palner, M., Lehel, S., Herth, M. M., Madsen, J., Kristensen, J., Begtrup, M., Knudsen G. M. (2011). Radiosynthesis and in vivo evaluation of a series of substituted 11C-phenethylamines as 5-HT_{2A} agonist PET tracers. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*, 38(4), 681–693.
5. *European information system and database on new drugs – Reporting forms* (2019). Retrieved with password 20 August 2019 from <https://ednd.emcdda.europa.eu/html.cfm/index6555EN.html>.
6. *European information system and database on new drugs – Substances* (2019). Retrieved with password 20 August 2019 from <https://ednd.emcdda.europa.eu/html.cfm/index7246EN.html>.
7. *Europejski raport narkotykowy* (2018). Retrieved 20 August 2019 from http://www.emcdda.europa.eu/system/files/publications/8585/20181816_TDAT18001PLN_PDF.pdf.
8. *Europejski raport narkotykowy* (2019). Retrieved 20 August 2019 from http://www.emcdda.europa.eu/system/files/publications/11364/20191724_TDAT19001PLN_PDF.pdf.
9. Gupta, S. P., Bindal, M. C., Singh, P. (1982). Quantitative structure-activity studies on hallucinogenic mescaline analogs using modified first order valence connectivity. *Arzneimittelforschung*, 32(10), 1223–1225.

10. Kim, J. H., Kim, S., Lee, J., In, S., Cho, Y. Y., Kang, H. C., Lee, J. Y., Lee, H. S. (2019). In vitro metabolism of 25B-NBF, 2-(4-Bromo-2,5-Dimethoxyphenyl)-N-(2-Fluorobenzyl)ethanamine, in human hepatocytes using liquid chromatography-mass spectrometry. *Molecules*, 24(4), 818.
11. *NBOMe Series* (2019). Retrieved 20 August 2019 from <http://www.erowid.org/chemicals/nbome/>.
12. Nichols, D. E. (2004). Hallucinogens. *Pharmacology and Therapeutics*, 101(2), 131–181.
13. Nichols, D. E. (2012). Structure-activity relationships of serotonin 5-HT_{2A} agonists. *WIREs Membrane Transport and Signaling*, 1, 559–579. DOI: 10.1002/wmts.42.
14. Poklis, J. L., Clay, D. J., Poklis, A. (2014). High-performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry for the determination of nine hallucinogenic 25-NBOMe designer drugs in urine specimens. *Journal of Analytical Toxicology*, 38(3), 113–121.
15. Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 17 sierpnia 2018 r. w sprawie wykazu substancji psychotropowych, środków odurzających oraz nowych substancji psychoaktywnych (2018). *Dziennik Ustaw*, poz. 1591.
16. Sekuła, K., Zuba, D. (2013). Structural elucidation and identification of a new derivative of phenethylamine using quadrupole time-of-flight mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 27, 2081–2090.
17. Shulgin, A., Shulgin, A. (1991). *Phenethylamines I have known and loved: A chemical love story*. Berkeley, CA: Transform Press.
18. Silva, M. E. (2008). Theoretical study of the interaction of agonists with the 5-HT_{2A} receptor. PhD thesis. University of Regensburg, Germany.
19. Ustawa z dnia 20 lipca 2018 r. o zmianie ustawy o przeciwdziałaniu narkomanii oraz ustawy o Państwowej Inspekcji Sanitarnej (2018). *Dziennik Ustaw*, poz. 1490.
20. Zuba, D., Sekuła, K. (2012a). Analytical characterization of three hallucinogenic N-(2-methoxy)benzyl derivatives of the 2C-series of phenethylamine drugs. *Drug Testing and Analysis*, 5, 634–645.
21. Zuba, D., Sekuła, K. (2012b). Identification and characterization of 2,5-dimethoxy-3,4-dimethyl-b-phenethylamine (2C-G) – a new designer drug. *Drug Testing and Analysis*, 5, 549–559.
22. Zuba, D., Sekuła, K., Buczek, A. (2013). 25C-NBOMe – new potent hallucinogenic substance identified on the drug market. *Forensic Science International*, 227(1–3), 7–14.
23. Zuba, D., Sekuła, K., Buczek, A. (2012). Identification and characterization of 2,5-dimethoxy-4-nitro-b-phenethylamine (2C-N) – a new member of 2C-series of designer drug. *Forensic Science International*, 222, 298–305.

Corresponding author

dr Karolina Sekuła
Institute of Forensic Research
ul. Westerplatte 9
PL 31-033 Kraków
e-mail: ksekula@ies.gov.pl

ANALIZA FRAGMENTACJI NOWYCH POCHODNYCH FENETYLOAMINY Z GRUPY NBOME I NBF POD WPLYWEM JONIZACJI PRZEZ ELEKTROROZPYLANIE Z WYKORZYSTANIEM SPEKTROMETRII MAS WYSOKIEJ ROZDZIELCZOŚCI

1. Wprowadzenie

Nowe substancje psychoaktywne (NPS), określane w Polsce głównie terminem „dopalacze”, stanowią zamienniki powszechnie znanych narkotyków oraz tworzą grupę substancji o działaniu na ośrodkowy układ nerwowy. Europejskie Centrum Monitorowania Narkotyków i Narkomanii (EMCDDA) do końca 2018 roku monitorowało ponad 730 nowych substancji psychoaktywnych, z których 56 wykryto w Europie po raz pierwszy w 2018 roku (Europejski Raport Narkotykowy, 2018). Mimo iż największą popularnością wśród użytkowników cieszą się głównie syntetyczne kannabinoidy oraz katynony, to inne grupy związków, takie jak fenetyloaminy, syntetyczne opioidy czy pochodne benzodiazepiny, także pojawiają się każdego roku na rynku narkotykowym. Obecnie trzecią pod względem liczności grupą monitorowaną przez EMCDDA są pochodne fenetyloaminy – 99 związków (Europejski Raport Narkotykowy, 2019; European information system and database on new drug – Reporting forms, 2019). Klasa tych substancji jest różnorodna i obejmuje związki o działaniu stymulującym, psychodysleptycznym, empatogennym, anorektycznym i przeciwdepresyjnym (Zuba, Sekuła, Buczek, 2012).

Pochodnymi fenetyloaminy cieszącymi się największą popularnością jest grupa związków nazwanych rodziną 2C (Shulgin, Shulgin, 1991). Związki te posiadają wspólny szkielet fenetyloaminy z dwiema grupami metoksyłowymi w pozycjach 2 i 5 pierścienia aromatycznego oraz (wszystkie oprócz bazowego 2C-H) dodatkowy podstawnik, zwykle umieszczony w pozycji 4 pierścienia, który mogą stanowić: grupa metoksylova, alkilotiolowa, alkilowa lub atom halogenowca (Gupta, Binda, Singh, 1982; Zuba i in., 2012).

Halucynogenne właściwości fenetyloamin są spowodowane stymulacją receptorów serotoninowych przez te związki (Ettrup i in., 2011; Nicholas, 2004; Poklis, Clay, Poklis, 2014; Zuba, Sekuła, 2012b). Na podstawie badań przeprowadzonych po roku 2000 stwierdzono, że modyfikacje struktury związków z rodziny 2C wpływają na ich powinowactwo do tychże receptorów, a tym samym na aktywność związku, czyli na siłę oddziaływania na ośrodkowy układ nerwowy (Braden, Parrish, Naylor, Nicholas, 2006, 2012; Silva, 2008; Zuba, Sekuła, 2012a). A. Shulgin (1991) w swych badaniach potwierdził, że optymalne właściwości halucynogenne pochodnych fenetyloaminy wykazują związki z podstawnikami w pozycjach 2, 4 i 5 pierścienia benzenowego. Ponadto

udowodniono, że dodanie grupy *N*-benzylowej do 2,5-dimetoksy- β -fenetyloaminy (2C-H) powoduje 13-krotny wzrost powinowactwa wiązania do receptora serotoninowego i zwiększenie jego aktywności, natomiast podstawienie grupy *N*-(2-metoksy)benzylowej do 2C-H powoduje 190-krotny wzrost tego powinowactwa (Braden i in., 2006; Silva, 2008; Zuba, Sekuła, 2012b). Klasa pochodnych *N*-(2-metoksy)benzylowych rodziny 2C została nazwana grupą 25-NBOME lub NBOME, a wielokrotnie silniejsze działanie halucynogenne tych związków doprowadziło do wzrostu ich popularności na rynku narkotykowym po 2010 roku (NBOME Series, 2019; Zuba, Sekuła, 2012a, 2012b). Na początku zaczęły pojawiać się związki NBOME z podstawionym atomem halogenowca w pozycji 4 pierścienia benzenowego, a później związki z podstawnikiem alkilowym.

W kolejnych latach w nielegalnym obrocie pojawiły się inne, nowe pochodne 25-NBOME. Modyfikacjom poddane zostały różne fragmenty struktury tych związków, zarówno szkielet fenetyloaminy, jak i pierścień *N*-benzylowy. Jeśli chodzi o zmiany w obrębie pierścienia *N*-benzylowego, przykładem mogą być pochodne nazwane 25-NBF lub NBF, które zawierają – zamiast grupy *N*-metoksybenzylowej – ugrupowanie *N*-fluorobenzylowe. Należą do nich np. związki 25I-NBF, 25C-NBF oraz 25B-NBF. Podobieństwo strukturalne pochodnych NBF do NBOME oraz badania nad ich powinowactwem do receptorów serotoninowych sugerują, że związki te mogą charakteryzować się zbliżonymi właściwościami i podobnym, lecz nieco słabszym działaniem na ośrodkowy układ nerwowy (Braden i in., 2006; Kim, 2019; Nicholas, 2012).

Związek 25I-NBF zidentyfikowano po raz pierwszy w 2014 roku w Słowenii w kartoniku nasączonym tą substancją (kartonik zawierał dodatkowo 25I-NBOME). W kolejnych latach obecność tego związku stwierdzano głównie w kartonikach (samodzielnie lub w mieszaninie z innymi związkami z grupy NBOME), ale także w proszku. Z kolei 25C-NBF zidentyfikowano początkowo w 2016 roku w Słowenii w białym proszku oraz we Francji w próbce cieczy, a także w nietypowej jak dla tej grupy związków postaci, tj. w białych tabletkach (w 2017 roku w Szwecji). Inny analog z omawianej grupy, jakim jest 25B-NBF, zidentyfikowano po raz pierwszy w żółtych tabletkach zabezpieczonych w Szwecji w 2016 roku. Brak jest doniesień naukowych dotyczących potencjalnych zagrożeń związanych z przyjmowaniem związków z rodziny NBF, a także ich dawkowania

oraz efektów działania na organizm (European information system and database on new drug – Substances, 2019; Kim, 2019).

Kolejnym przykładem pochodnych NBOMe, które powstały w wyniku modyfikacji pierścienia *N*-benzylowego, jest związek o akronimie 30C-NBOMe oraz iminowa pochodna 25I-NBOMe. Związek 30C-NBOMe ma pewne podobieństwa strukturalne do 25C-NBOMe, jednak zamiast podstawnika metoksyowego w pozycji 2 ugrupowania *N*-benzylowego posiada 3 grupy metoksyowe w pozycjach 3, 4 i 5 tego pierścienia. Związek ten zidentyfikowano po raz pierwszy w 2013 roku w Szwecji, gdzie zabezpieczono 102 kartoniki zawierające tę substancję. Dawkowanie oraz efekty działania tego związku nie są znane (European information system and database on new drug – Substances, 2019). Natomiast iminowa pochodna 25I-NBOMe różni się od związku macierzystego tym, iż w ugrupowaniu *N*-benzylowym pomiędzy atomem azotu a atomem węgla występuje podwójne wiązanie. Brak jest dostępnych informacji o przypadkach stosowania i/lub odurzaniu się tą substancją.

Do innych nowych pochodnych 25-NBOMe, u których zmiana struktury dotyczy szkieletu fenetyloaminy można zaliczyć związki o akronimach 4-EA-NBOMe, 3,4-DMA-NBOMe oraz 25iP-NBOMe. Struktura 4-EA-NBOMe jest częściowo zbliżona do 4-EA (4-etyloamfetaminy), natomiast 3,4-DMA-NBOMe ma budowę podobną do 3,4-DMA (3,4-dimetoksyamfetaminy). Pierwsze doniesienia o identyfikacji tych pochodnych pochodzą z 2014 roku z Niemiec, gdzie zabezpieczono je w postaci białych substancji. Brak jest informacji na temat efektów działania i dawkowania tych związków (Caspar, Meyer, Westphal, Weber, Maurer, 2018; European information system and database on new drug – Substances, 2019). Kolejna pochodna, nazwana 25iP-NBOMe, ma w pozycji para pierścienia etylobenzenowego podstawianą grupę izopropylową. Substancja ta została pierwszy raz zidentyfikowana w białym proszku w 2013 roku w Finlandii. Związek ten przyjmowany jest podjęzykowo w dawkach od 0,25 mg (dawka minimalna) do 1,5 mg (25iP-NBOMe – Basic information, 2019).

Nowe pochodne NBOMe są kontrolowane w wielu europejskich krajach. W Polsce do połowy roku 2018 związki te pod względem prawnym traktowane były jako nowe substancje psychoaktywne, a preparaty, w skład których wchodziły – jako środki zastępcze. Odpowiedzialność karna za posiadanie, handel i wytwarzanie takich substancji była mniejsza niż w przypadku tzw. „klasycznych narkotyków”. Zgodnie z nowelizacją Ustawy o przeciwdziałaniu narkomanii z dnia 20 lipca 2018 roku (2018) oraz Rozporządzeniem Ministra Zdrowia z dnia 17 sierpnia 2018 roku w sprawie wykazu substancji psychotropowych, środków odurzających oraz nowych substancji psychoaktywnych (2018) wprowadzone zostało tzw. prawo generyczne. Zdefiniowane zostały

m.in. ogólne grupy związków (o działaniu na ośrodkowy układ nerwowy), które zaliczane są do nowych substancji psychoaktywnych. Omawiane w niniejszej pracy pochodne NBOMe (z wyjątkiem iminowej pochodnej 25I-NBOMe) zgodnie z definicjami zawartymi w ww. Ustawie i Rozporządzeniu zaliczane są do pochodnych 2-fenetyloaminy (grupa I-NPS) i objęte są kontrolą, a odpowiedzialność karna za obrót nimi jest obecnie taka, jak w przypadku klasycznych narkotyków. W rozumieniu tych przepisów iminowa pochodna 25I-NBOMe nadal jest zaliczana do środków zastępczych.

W związku z dynamicznym rozwojem rynku narkotykowego oraz stale pojawiającymi się nowymi substancjami o działaniu psychoaktywnym (które stanowią analogi, homologi lub izomery dostępnych w nielegalnym obrocie związków) konieczne jest stosowanie oraz ciągły rozwój metod i technik analitycznych służących identyfikacji tych substancji. Niewątpliwie pomocna w analizie identyfikacyjnej NPS, poza metodą magnetycznego rezonansu jądrowego (NMR), jest wysokorozdzielcza spektrometria mas (HRMS), która umożliwia określenie dokładnej masy badanych związków i ich fragmentów, a dzięki temu pozwala na precyzyjne przypisanie jonu o określonej wartości *m/z* do danego fragmentu.

Ze względu na to, że w dostępnych bibliotekach często brak jest widm masowych nowych substancji o działaniu psychoaktywnym, strukturę takich związków można określać w oparciu o obecność charakterystycznych jonów fragmentacyjnych. Dotychczas opisane zostały sposoby rozpadu związków z rodziny 2C oraz najprostszych pochodnych z grupy NBOMe (Sekula, Zuba, 2013; Zuba i in., 2012; Zuba, Sekula, 2012a; Zuba, Sekula, Buczek, 2013). Udowodniono m.in., że mechanizmy rozpadu związków NBOMe odpowiadają sposobom fragmentacji odpowiednich dla nich pochodnych fenetyloaminy bez ugrupowania *N*-(2-metoksy)benzylowego. Przykładowo 25D-NBOMe w podobnych warunkach fragmentuje w analogiczny sposób jak 2C-D, 25E-NBOMe – jak 2C-E, a 25G-NBOMe – jak 2C-G (Zuba, Sekula, 2012a).

W przedstawionych w niniejszej pracy badaniach przeanalizowano natomiast sposoby fragmentacji ośmiu różnych dotąd niebadanych związków z grupy NBOMe, w których modyfikacjom strukturalnym został poddany szkielet fenetyloaminy (związki 25iP-NBOMe, 3,4-DMA-NBOMe oraz 4-EA-NBOMe) lub pierścień *N*-benzylowy (związki z grupy NBF, związek o akronimie 30C-NBOMe czy iminowa pochodna 25I-NBOMe). Wzory badanych substancji przedstawiono na ryc. 1, natomiast ich pełne nazwy chemiczne podano w tabeli 1. W badaniach wykorzystano metodę chromatografii cieczowej sprzężonej ze spektrometrią mas z zastosowaniem hybrydowego połączenia kwadrupola i analizatora czasu przelotu z jonizacją przez elektrorozpylanie (LC-ESI-Q-TOFMS).

2. Materiały i metody

2.1. Materiały i odczynniki

Stosowane w badaniach substancje wzorcowe: 25iP-NBOMe, 3,4-DMA-NBOMe, 4-EA-NBOMe, iminowa pochodna 25I-NBOMe, 30C-NBOMe, 25B-NBF, 25C-NBF oraz 25I-NBF zostały pozyskane w firmie Cayman Chemical Company (Ann Arbor, MI, USA). Roztwory tych wzorców o stężeniu 1,0 mg/ml przygotowano z użyciem metanolu, poza wzorcem iminowej pochodnej 25I-NBOMe, który został sporządzony w octanie etylu. Do analiz wykorzystywano roztwory robocze o stężeniu 1,0–2,0 µg/ml przygotowane przez odpowiednie rozcieńczenie 0,1% wodnym roztworem kwasu mrówkowego.

Acetonitryl (czystość do LC-MS, LiChrosolv®), metanol (czystość do HPLC, 99,9%), octan etylu (czystość do LC, LiChrosolv®) oraz kwas mrówkowy (do analizy ACS, czystość 98–100%) zakupiono w firmie Merck KGaA (Darmstadt, Niemcy). Wodę dejonizowano z użyciem aparatu Nanopure Diamond (Barnstead, Dubuque, IA, USA).

2.2. Metoda

Analizy prowadzono metodą chromatografii ciekłej sprzężonej ze spektrometrią mas z połączeniem hybrydowym kwadrupola i analizatora czasu przelotu (LC-QTOFMS). Do badań użyto chromatograf serii 1200 oraz spektrometr mas 6520 Accurate-Mass QTOFMS firmy Agilent Technologies (Santa Clara, CA).

Rozdzielenie chromatograficzne prowadzono na kolumnie Ascentis Express C18 (7,5 cm × 2,1 mm; 2,7 µm) firmy Supelco termostатовanej w temperaturze 35°C. Fazę ruchomą przepływającą przez kolumnę w systemie gradientu składu fazy z szybkością 0,3 ml/min stanowiła mieszanina 0,1% kwasu mrówkowego w wodzie (A, v/v) i acetonitrylu (B, v/v). Użyto następującego programu gradientowego (w odniesieniu do procentowej zawartości składnika B): 0 min – 5%, 11 min – 33%, 15 min – 37%, 15,2 min – 5%, 21 min – 5%. Chromatogramy pochodnych fenetyloaminy przedstawiono na ryc. 2, natomiast względne czasy retencji badanych związków ustalone w stosunku do czasu retencji kofeiny podano w tabeli 2.

Zastosowaną metodą jonizacji było rozpylanie w polu elektrycznym (ESI) z monitorowaniem dodatnich jonów. Widma mas rejestrowane były w zakresie 50–1000 m/z . Azot o temperaturze 300°C i natężeniu przepływu 10 l/min został użyty jako gaz osuszający oraz jako gaz rozpylający o ciśnieniu 45 psi. Napięcie kapilary wynosiło 3000 V, a skimmera 65 V. Kwadrupol pracował w dwóch trybach: MS oraz MS/MS z tolerancją wartości m/z wybranego jonu $\Delta m/z = 1,3$. Napięcie

fragmentora wynosiło 100 V lub 240 V, a energia kolizji – 15 eV. W celu zminimalizowania błędów wyznaczenia masy w trakcie analizy widma były automatycznie korygowane przez pomiar związku referencyjnego HP-921 – heksakis(1H,1H,3H-tetrafluoropropoksy)fosfazen ($[M+H]^+ = 922,0098$ Da). Zbieranie i analizę danych prowadzono za pomocą oprogramowania MassHunter firmy Agilent Technologies (wersja B.06.00).

3. Wyniki

W pierwszym etapie badań przeprowadzono analizy nowych pochodnych fenetyloaminy w trybie MS przy niskim napięciu fragmentora dla zastosowanego modelu spektrometru ($U = 100$ V). Na zarejestrowanych widmach obecne były jony pochodzące od protonowanych cząsteczek $[M+H]^+$ (**0**), których masy wyznaczono z dużą dokładnością ($\Delta m = -0,3$ – $2,0$ ppm). Tylko dla iminowej pochodnej 25I-NBOMe nie zarejestrowano jonu pseudomolekularnego przy napięciu fragmentora 100 V, natomiast na widmie obecne były jony fragmentacyjne. W przypadku tego związku analizy powtórzono, stosując napięcie fragmentora równe 50 V i 20 V, natomiast także przy takich parametrach jon pochodzący od protonowanej cząsteczki nie był obserwowany. Spontaniczny rozpad iminowej pochodnej 25I-NBOMe spowodowany był z pewnością obecnością wiązania podwójnego w cząsteczce tego związku. Z kolei dla pochodnych fenetyloaminy zawierających w swojej strukturze atom chloru (30C-NBOMe i 25C-NBF) lub atom bromu (25B-NBF) zarejestrowano charakterystyczny rozkład izotopowy dla tych pierwiastków w przypadku jonów $[M+H]^+$. Wyniki analiz badanych związków za pomocą metody QTOFMS przedstawiono w tabeli 3.

W kolejnym etapie pochodne fenetyloaminy poddały się badaniom mającym na celu określenie sposobu ich fragmentacji (Ryc. 3). W związku z powyższym eksperymenty prowadzono w trybie MS przy wyższym napięciu fragmentora wynoszącym 240 V. W wyniku przeprowadzonych analiz okazało się, że najbardziej intensywne jony obserwowane na widmach pochodziły z rozpadu wiązań sąsiadujących z atomem azotu. W konsekwencji zarejestrowano fragmenty o wartości $m/z = 121,0648$ i $m/z = 91,0542$ odpowiadające jonom $C_8H_9O^+$ (**4**) i $C_7H_7^+$ (**5**), pochodzące z grupy *N*-(2-metoksybenzylowej) dla związków: 25iP-NBOMe; 3,4-DMA-NBOMe i 4-EA-NBOMe, oraz fragment o wartości $m/z = 109,0448$ odpowiadający jonowi $C_7H_6F^+$ (**4**) pochodzącemu z grupy *N*-(2-fluorobenzylowej) dla związków: 25B-NBF; 25C-NBF oraz 25I-NBF. Ten sam typ rozpadu obserwowany był dla iminowej pochodnej 25I-NBOMe oraz 30C-NBOMe, przy czym z uwagi na nieco odmienną budowę chemiczną tych związków od pozostałych substancji dla iminowej pochodnej 25I-NBOMe zarejestrowano

jon $C_8H_7O^+$ (**4**) o wartości $m/z = 119,0491$, natomiast dla związku 30C-NBOMe obserwowany był jon $C_{10}H_{13}O_3^+$ (**4**) przy wartości $m/z = 181,0859$. Fragment ten odpowiadał grupie *N*-(3,4,5-trimetyloksybenzylowej) i był najbardziej intensywnym jonem na widmie dla związku 30C-NBOMe. Konsekwencją pęknięcia wiązania między atomem azotu a grupą benzylową badanych pochodnych była również rejestracja fragmentu pochodzącego od części cząsteczki pozostającej po odszczepieniu grupy benzylowej (**1**), niemniej jednak intensywność tych jonów była niska. Rozpadowi temu odpowiadały jony o wartości $m/z = 222,1489$ (25iP-NBOMe), $m/z = 194,1176$ (3,4-DMA-NBOMe), $m/z = 162,1277$ (4-EA-NBOMe), $m/z = 258,0124$ (25B-NBF), $m/z = 214,0629$ (25C-NBF), $m/z = 305,9985$ (25I-NBF) oraz $m/z = 308,0142$ (iminowa pochodna 25I-NBOMe). Jon o wartości $m/z = 308,0142$ odpowiadający fragmentowi $C_{10}H_{15}INO_2^+$ był najbardziej intensywnym jonem na widmie iminowej pochodnej 25I-NBOMe.

Drugi preferowany rozpad analizowanych cząstek zachodził między atomem azotu a szkieletem fenetyloaminy z przyłączonymi podstawnikami (Ryc. 3). W wyniku takiej fragmentacji zarejestrowano jony (**2**) o wartości $m/z = 207,1380$ (dla 25iP-NBOMe), $m/z = 179,1067$ (dla 3,4-DMA-NBOMe), $m/z = 147,1168$ (dla 4-EA-NBOMe), $m/z = 243,0015$ (dla 25B-NBF), $m/z = 199,0520$ (dla 25C-NBF) oraz $m/z = 290,9876$ (dla 25I-NBF oraz iminowej pochodnej 25I-NBOMe). Tylko dla związku 30C-NBOMe przy zastosowanych parametrach metody (tryb MS, napięcie fragmentatora 240 V) nie zaobserwowano adekwatnego fragmentu, czego powodem była najprawdopodobniej obecność dwóch dodatkowych grup metoksylowych przy pierścieniu benzenowym wpływająca na stabilizację cząsteczki.

Ponadto dla pochodnych fenetyloaminy zawierających w swojej strukturze atom halogenowca (25B-NBF, 25C-NBF, 25I-NBF oraz iminowej pochodnej 25I-NBOMe) obserwowany był fragment $C_{10}H_{12}O_2^+$ (**3**) o wartości $m/z = 164,0837$ pochodzący ze szkieletu fenetyloaminy z przyłączonymi podstawnikami (**2**) pomniejszonego o rodnik halogenowca. Adekwatny jon nie był natomiast obecny na widmie zarejestrowanym dla związku 30C-NBOMe.

W następnym etapie badań fragmenty pochodzące ze szkieletu fenetyloaminy z przyłączonymi podstawnikami (**2**) zostały poddane fragmentacji w celi kolizyjnej (napięcie fragmentatora 240 V, energia kolizji 15 eV). Przeprowadzone analizy pokazały, że rozpad tych fragmentów zachodził adekwatnie do odpowiedników tych pochodnych, tzn. np. fragment 25B-NBF o masie $m/z = 243,0015$ rozpadał się w taki sam sposób jak związek 2C-B, fragment 25I-NBF o masie $m/z = 290,9876$ ulegał rozpadowi tak samo jak związek 2C-I itd. Fragmentacja ta polegała w głównej mierze na odszczepieniu poszczególnych grup metyloowych i metoksylowych ze struk-

tury pochodnych fenetyloaminy. Zarejestrowane widma MS/MS nie wyróżniały się jednak obecnością konkretnych, charakterystycznych jonów o dużej intensywności, dlatego trudno wskazać miejsce preferowanego rozpadu tego fragmentu cząsteczki. Natomiast dla związku 30C-NBOMe dalszej fragmentacji poddano jon $C_{10}H_{13}O_3^+$ o wartości $m/z = 181,0859$ (**4**), ponieważ fragment odpowiadający szkieletowi fenetyloaminy z przyłączonymi podstawnikami nie był obserwowany w trybie MS dla tej pochodnej. Po przeprowadzonej analizie okazało się, że z ugrupowania $C_{10}H_{13}O_3^+$ odszczepieniu ulegała cząsteczka CH_4 , powodując utworzenie fragmentu o wartości $m/z = 165,0546$ zawierającego prawdopodobnie pierścień metylenodioksylowy utworzony między dwiema wcześniej istniejącymi grupami metoksyloowymi. Dalsze odszczepienie grupy hydroksylowej powodowało powstanie fragmentu o wartości $m/z = 148,0519$.

4. Wnioski

Przeprowadzone badania pozwoliły na ustalenie ścieżek fragmentacji nowych pochodnych fenetyloaminy przy zastosowaniu spektrometrii mas z połączeniem kwadrupola i analizatora czasu przelotu z jonizacją przez elektrorozpylanie (ESI-QTOFMS). Dzięki dużej dokładności wyznaczenia masy za pomocą użytej metody możliwe było precyzyjne dopasowanie jonu o określonej wartości m/z do konkretnego fragmentu struktury danej cząsteczki. Okazało się, że preferowane rozpady badanych związków z grupy NBOMe i NBF dotyczyły wiązań sąsiadujących z atomem azotu, prowadząc do powstania charakterystycznych jonów pochodzących od grupy benzylowej z odpowiednimi podstawnikami oraz fragmentów odpowiadających szkieletowi fenetyloaminy z przyłączonymi podstawnikami. Główne ścieżki fragmentacji analizowanych związków nie odbiegały od sposobu rozpadu innych pochodnych fenetyloaminy z rodziny 2C i NBOMe (Zuba, Sekuła, 2012a, 2012b). Jedynie rozpad związku 30C-NBOMe zawierającego w swojej strukturze trzy ugrupowania metoksylowe podstawione do grupy benzylowej był częściowo odmienny od pozostałych związków i różnił się przede wszystkim brakiem jonu pochodzącego od szkieletu fenetyloaminy z przyłączonymi podstawnikami.

Znajomość ścieżek fragmentacji pochodnych fenetyloaminy z grupy NBOMe i NBF może być bardzo przydatna w identyfikacji nowych substancji psychoaktywnych, których widma masowe często nie są ujęte w dostępnych bibliotekach. Struktura nowego związku może być określana wówczas na podstawie obecności pewnych konkretnych, charakterystycznych jonów fragmentacyjnych, których masy zarejestrowane są z dużą dokładnością.