

PHÂN LẬP HỢP CHẤT FUB-AMB TRONG GIÁM ĐỊNH PHÁP Y CÁC MẪU CẦN SA TỔNG HỢP THU TẠI VIỆT NAM TỪ 2016 - 2018

Nguyễn Anh Tuấn*, Nguyễn Đăng Tiến**

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Nhóm cần sa tổng hợp, còn được gọi là "cỏ Mỹ" là nhóm ma túy có chứa nhiều chất rất nguy hiểm, làm phát sinh các hành vi vi phạm pháp luật, điển hình như chất FUB-AMB. Trong bài báo này hợp chất FUB-AMB lần đầu tiên tại Việt Nam, được phân lập và xác định cấu trúc bằng các phương pháp phân tích phổ học (UV, IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR). **Mục tiêu:** Phân lập và tinh khiết hóa hợp chất FUB-AMB dùng làm chất chuẩn định tính-định lượng. **Đối tượng và phương pháp:** Mẫu cần sa tổng hợp dạng cỏ Mỹ được thu thập trong các vụ án tại Việt Nam từ năm 2016 đến 2018, sau đó được đun cách thủy với methanol ở nhiệt độ 40°C thu được cao methanol. Phân lập các phân đoạn cao toàn phần thu được FUB-AMB bằng sắc ký cột hay sắc ký điều chế. **Kết quả:** Từ 10g cao methanol toàn phần thu được hợp chất FUB-AMB với độ tinh khiết 98,34% trên HPLC. **Kết luận:** Từ cao methanol toàn phần bằng kỹ thuật sắc ký đã phân lập được hợp chất FUB-AMB 98,34%. **Từ kết quả này** chất FUB-AMB có thể làm chất chuẩn trong kiểm nghiệm, góp phần xây dựng phương pháp phân tích các chất ma túy trong nhóm cần sa tổng hợp, hỗ trợ công tác điều tra, truy tố, xét xử tội phạm ma túy của cơ quan chức năng.

Từ khóa: Cần sa tổng hợp, FUB-AMB (FA), sắc ký cột, HPLC

SUMMARY

ISOLATION OF FUB-AMB FROM SYNTHETIC CANNABINOIDS IN HERBAL MIXTURES AT VIETNAM IN THE PERIOD OF 2016 - 2018

Backgrounds: Synthetic cannabinoids are currently the largest group of new psychoactive substances and one of the most recent synthetic cannabinoids that have appeared in Vietnam is FUB-AMB. In this **study**, the first FUB-AMB compound in Vietnam was isolated and structure determined by spectroscopic analytical methods (UV, IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR). **Subjects and methods:** Isolation and purity of FUB-AMB compounds used as working standard (substance). The samples of synthetic cannabinoids were collected from cases in Vietnam from 2016 to 2018, and then watered with methanol at 40°C, recovered solvent to get total methanol extract. Isolation of fractions from methanol extract by column chromatography to collect FUB-AMB. **Results:**

*Cao đẳng Bách khoa Nam Sài Gòn

**Phân viện Khoa học hình sự TPHCM

Chịu trách nhiệm chính: Nguyễn Anh Tuấn

Email: huynhtuan9000@gmail.com

Ngày nhận bài: 2/12/ 2020

Ngày phản biện khoa học: 14/1/2021

Ngày duyệt bài: 20/2/2021

FUB-AMB was collected from 10 g of total metanol extract with the purity were 98,34%. **Conclusions:** By chromatography methods, the compound FUB-AMB (1g) was isolated. From this result, FUB-AMB can be used as a standard substance in testing, contributing to the development of a method for analyzing narcotic drugs in the synthetic cannabinoids to support the drug crimes handling of the authorities.

Key words: Synthetic cannabinoids, FUB-AMB, column chromatography, HPLC

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Từ năm 2016 đến 2018, Viện Khoa học Hình sự đã phát hiện ra nhiều hợp chất cần sa tổng hợp mới ở Việt Nam và một trong những chất gần đây nhất phát hiện trong cỏ Mỹ là FUB-AMB, chất này gây ảo giác và có tác dụng độc hại như gây ức chế hô hấp, ngừng tim, thiếu máu não, co giật. Sau khi danh sách cấm các hợp chất cần sa tổng hợp mới, bao gồm FUB-AMB được Chính phủ ban hành trong danh mục các chất ma túy cần kiểm soát theo Nghị định số 73/2018/NĐ-CP, và Nghị định số 60/2020/NĐ-CP của chính phủ^[1], một trong những khó khăn lớn nhất trong công tác thụ lý các vụ án ma túy là thiếu chất chuẩn phục vụ cho công tác kiểm nghiệm.

Trên thế giới, hợp chất FUB-AMB được xác định qua các nghiên cứu của Cơ quan phòng chống tội phạm liên minh Châu Âu; tổ chức y tế thế giới; Samuel D. Banister và cộng sự và Ivo D. Ivanov bằng phương pháp sắc ký khí ghép với đầu dò phổ khối (GC-MS) là phương pháp thường được sử dụng để phân tích các mẫu FUB-AMB^{[2][3][7]}. Đầu dò khối phổ là đầu dò vạm vỡ, có thể đồng thời định danh nhanh và định lượng chính xác được hàm lượng FUB-AMB, hệ thống máy GC-MS được trang bị tại các phòng thí nghiệm giám định ma túy tại Việt Nam nên tạo thuận lợi cho công tác phân tích. Tuy nhiên, chuẩn FUB-AMB ở Việt Nam thì không có sẵn, phải mua từ nước ngoài với giá thành rất cao và về tính pháp lý rất khó mua hợp chất này, vì thế, gây không ít khó khăn cho công tác kiểm nghiệm. Xuất phát từ các lý do trên, nghiên cứu này được thực hiện tại Phân Viện Khoa học Hình sự TP. HCM nhằm phân lập và xác định cấu trúc cũng như tinh khiết hóa FUB-AMB từ cỏ Mỹ thu được trong các vụ án về ma túy ở Việt Nam nhằm sử dụng chất phân lập này như chất chuẩn định tính, định lượng trong các phòng thí nghiệm giám định trên toàn quốc.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu. Nguồn gốc: Mẫu "cỏ Mỹ" thu thập từ các vụ ản tại Việt Nam từ năm 2016 đến 2018.

Mô tả: Mẫu "cỏ Mỹ" được đóng gói dưới dạng các gói thực vật khô, cắt nhỏ, tẩm mùi thơm đặc trưng, nhưng thực chất "cỏ Mỹ" là hỗn hợp cây cỏ được tẩm ướp hoạt chất ma túy cần sa tổng hợp.

2.2. Hóa chất, dung môi

Bản mỏng trắng sẵn pha thường silica gel F254 (Merck), chất hấp phụ silica gel pha thường (cỡ hạt 40-63 μm , Merck). Dung môi n-hexan, ethyl acetat (EtOAc), cloroform (CHCl_3), methanol (MeOH), nước cất (H_2O).

2.3. Thiết bị, dụng cụ

- Đèn UV 2 bước sóng 254 nm và 365 nm (Vilber Lourmat CN-15-CL).

- Máy đo phổ bức xạ UV - Vis Cintra 10e tại Phân viện khoa học hình sự TP. HCM.

- Máy đo phổ hồng ngoại (IR) FT-IR Spectrophotometer (Perkin Elmer, Mỹ) tại Viện Khoa học Vật liệu Ứng dụng - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

- Máy đo phổ khối Agilent Máy GC/MS Agilent 7890B tại Phân viện khoa học hình sự TP. HCM - Máy đo phổ cộng hưởng từ hạt nhân ($^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$) Bruker AM500 FT-NMR tại Đại học Khoa học tự nhiên TP. HCM.

- Máy sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) Shimadzu LC – 20AD/PDA tại Viện kiểm nghiệm thuốc TP. HCM.

- Máy phân tích nhiệt lượng vi sai DSC Q200 V24.9 Build 121 Viện Khoa học Vật liệu Ứng dụng - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ VN

- Cột sắc ký và các dụng cụ thủy tinh phòng thí nghiệm.

2.4. Phương pháp nghiên cứu

Chiết xuất và phân lập. Lựa chọn dung môi chiết xuất FUB – AMB: Methanol, ethyl acetat, acetonitril, dicloromethan là các dung môi hòa tan tốt FUB - AMB để chiết được hoàn toàn chất phân tích từ nền mẫu cỏ Mỹ, loại bỏ tối đa ảnh hưởng của nền mẫu, chất phân tích bền trong môi trường pha mẫu.

Mẫu cỏ Mỹ được sấy khô ở nhiệt độ 50°C , rồi được nghiền nhỏ thành bột mịn (2,1kg)

rồi cách thủy với methanol (3 lần, mỗi lần 5 lít). Dịch chiết được lọc qua giấy lọc và gộp lại, cô dịch chiết bằng cất quay dưới áp suất giảm thu được 300g cao methanol.

Cao toàn phần (10g) được hòa với lượng tối thiểu với methanol, trộn với silcagel và tiến hành sắc ký cột với chất hấp phụ silicagel pha thường, giải hấp bằng dung môi 100 % n-hexan; 100% CHCl_3 và hệ dung môi n-hexan: ethyl acetat (tỷ lệ 9:1 và 8:2) thu được 4 phân đoạn ký hiệu là 1 \rightarrow 4. Các phân đoạn sau khi tinh chế thu được hợp chất đặt tên là FA (1g).

Xác định cấu trúc các chất phân lập

- Kiểm tra độ tinh khiết của hợp chất phân lập được bằng SKLM và HPLC.

- Xác định cấu trúc của hợp chất FA tinh khiết phân lập được bằng các phương pháp phổ nghiệm như UV, IR, MS, NMR.

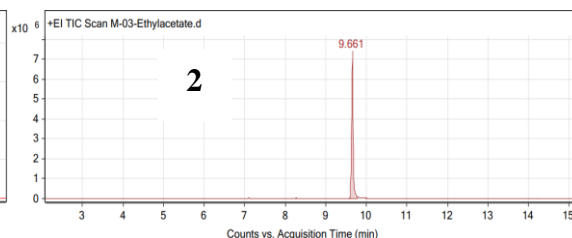
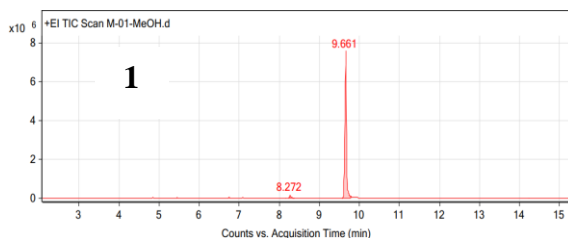
III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

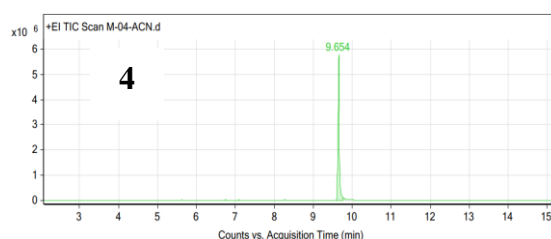
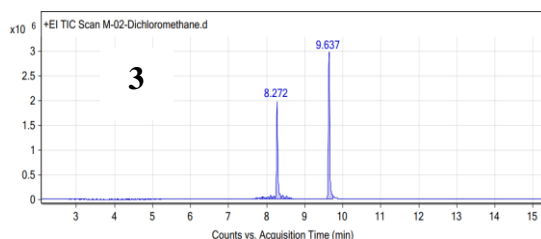
3.1. Kết quả chiết xuất và phân lập. Cân khoảng 0,01g cân sa tổng hợp rồi hòa với 5 ml dung môi, vortex 5 phút, sau đó siêu âm 10 phút, lọc qua màng lọc $0,45\mu\text{m}$. Thực hiện cùng điều kiện với 4 loại dung môi: methanol, ethyl acetat, acetonitril, dicloromethan, kết quả diện tích pic trên GC/MS tại thời gian lưu 9,6 phút được trình bày như bảng 1. Từ đó, lựa chọn dung môi methanol cho quá trình chiết mẫu do cho kết quả diện tích pic lớn nhất.

Bảng 1. Kết quả xử lý với bốn loại dung môi

Dung môi	Khối lượng cân (g)	Diện tích pic ($\mu\text{V}\cdot\text{min}$)
Methanol	0,0104	21.352.718,53
Ethyl acetat	0,0105	20.519.707,73
Acetonitril	0,0104	15.093.683,49
Dicloromethan	0,0106	7.418.441,01

Điều kiện sắc ký: Cột HP – 5ms Ultra Inert $60^\circ\text{C} - 325^\circ\text{C}$ (30m x $250\mu\text{m}$ x $0,25\mu\text{m}$). Khí mang: khí Heli, tốc độ dòng: 1,2 mL/phút. Detector MS, chế độ Scan nhiệt độ detector: 280°C . Nhiệt độ tiêm mẫu: 280°C , tỷ lệ chia dòng 1:10, thể tích tiêm: 1 μL . Chương trình nhiệt: Nhiệt độ ban đầu 150°C lưu giữ trong 1 phút, tăng lên 290°C , tốc độ tăng nhiệt là $30^\circ\text{C}/\text{phút}$, lưu giữ trong 4 phút.





Hình 1. Sắc ký đồ của mẫu cỏ Mỹ với 4 loại dung môi
(**1.** Methanol; **2.** Ethylacetat; **3.** Dicloromethan; **4.** Acetonitril)

Sau khi chiết với methanol và tiến hành sắc ký cao methanol trên cột sắc ký thu được 4 phân đoạn. Các phân đoạn từ 1 đến 4 được kiểm tra tinh khiết trên SKLM.

Tại phân đoạn n-hexan – ethylacetat (8:2) (phân đoạn số 4) sau khi cô quay thu hồi dung môi thu được tinh thể hình kim đặt tên là FA. Hợp chất FA được tinh chế bằng cách rửa tinh thể với dung môi methanol lạnh sau đó hòa với dung môi thích hợp và để kết tinh ở nhiệt độ phòng.

Với khối lượng 1g hợp chất FA được kiểm tra độ tinh khiết bằng HPLC với đầu dò PDA tại Viện kiểm nghiệm thuốc thành phố Hồ Chí Minh cho kết quả độ tinh khiết là 98,34%.

3.2. Kết quả xác định cấu trúc hợp chất phân lập

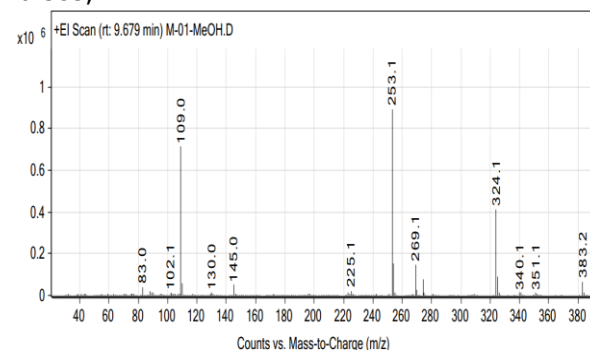
- Sắc ký lớp mỏng: với hệ dung môi n-hexan – ethylacetat (8:2); trên bản mỏng silica gel F254 (Merck), hợp chất FA cho một vết có hình tròn, màu sắc hơi tím. Phát hiện vết ở UV 254nm, UV 365nm trên ba hệ dung môi khác nhau như hình 4.

- Phổ UV/MeOH có 2 đỉnh hấp thụ cực đại tại bước sóng 209nm và 299nm^[5]

- Phổ IR/KBr, số sóng (cm⁻¹): 3422 (w) N-H amin; 1740 (s) C=O amid; 1674 (s) C=N vòng

indazol; 1534 (s) C=O ester; 1218 (s) C-N; 1181 (s) C-F; 781 (m) C-H vòng thơm ^{[5][6]}

- Phổ MS (Hình 5): phổ FA cho các mảnh có m/z = 109,0; m/z = 253,1; m/z = 269,1; m/z = 324,2 và m/z 383,2 hoàn toàn phù hợp với công thức phân tử C₂₁H₂₂FN₃O₃, có số khối chính xác là 383,2.^[5]



Hình 2. Phổ GC-MS của hợp chất FA

- Phổ NMR: Hợp chất FA được đo phổ NMR (DMSO, 500 MHz) và so sánh với dữ liệu phổ tương ứng của FUB-AMB (CDCl₃, 500 MHz) trong tài liệu tham khảo. Kết quả cho thấy các dữ liệu phổ NMR của FA hoàn toàn phù hợp với FUB-AMB (Bảng 2).

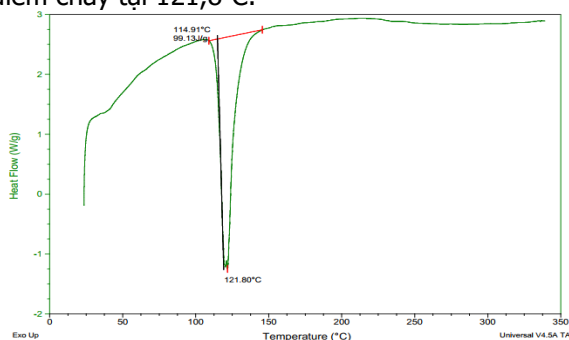
Bảng 2. So sánh dữ liệu phổ ¹³C-NMR, ¹H-NMR của FA và FUB-AMB

Vị trí	FA		FUB - AMB (Samuel D. Banister) ^[4]	
	¹³ C-NMR (125 MHz)	¹ H-NMR (500MHz)	¹³ C-NMR (75 MHz)	¹ H-NMR (300MHz)
1'	162.6	-	162.6	-
3	136.9	-	137.5	-
3a	122.4	-	123.1	-
4	121.7	8.15, 1H, J = 8 Hz	123.0	8.36, 1H, J = 7.8 Hz
5	122.7	7.29, 1H, t, J = 7 Hz	123.5	7.0, 2H, t, J = 7.8 Hz
6	127.0	7.45, 1H, m	127.2	-
7	110.5	7.78, 1H, J = 8.5 Hz	109.6	7.5, 1H, J = 9.0 Hz
7a	140.5	-	140.9	-
1''	51.8	5.78, 2H, s	53.1	5.61, 2H, s
2''	132.9	-	131.9	-
3''/7''	129.4	7.32 – 7.35, 2H, m	129.1	7.27 – 7.42, 2H, m
				7.31, 1H, d, J = 8.5, 2.1 Hz
4''/6''	115.5	7.14 – 7.18, 2H, m	116.0	7.19 – 7.23, 2H, m
				7.15, 1H, J = 7.9 Hz

5''	161.2	-	162.5	-
1'''	171.9	-	172.7	-
2'''	57.3	4.45, 1H, dd, J = 7, 1 Hz	56.9	4.83, 1H, dd, J = 8.7, 5.1 Hz
3'''	29.9	2.26, 1H, m	31.8	2.3, 1H, m J = 6.6 Hz
4'''	19.0	0.97, 3H, d, J = 6.5 Hz	19.3	1.05, 6H, t, J = 5.4 Hz
5'''	18.6	0.95, 3H, d, J = 6.5 Hz	18.2	
OCH ₃	51.6	0.945 – 0.977, 3H, m	52.3	3.78, 3H, s
CONH	-	7.78, 1H, J = 8.5 Hz		7.5, 1H, J = 9.0 Hz

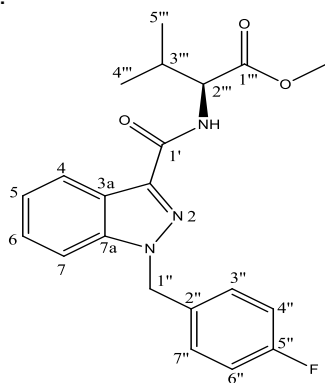
Chú thích s: singlet, d: doublet, m: multiplet

- Phổ DSC: Kết quả xác định nhiệt độ nóng chảy bằng phương pháp DSC cho thấy FA có điểm chảy tại 121,8°C.



Hình 3. Phổ DSC của hợp chất FA

Nhận xét: Từ kết quả trên, các dữ liệu phổ đều cho thấy cấu trúc sản phẩm phân lập hoàn toàn phù hợp với cấu trúc của FUB-AMB có công thức cấu tạo như hình 7.



Hình 4. Công thức cấu tạo của FA

IV. BÀN LUẬN

Khi nghiên cứu cấu trúc và độ tan của FUB-AMB, nhận thấy hợp chất này tan tốt nhất trong MeOH nên lựa chọn dung môi MeOH để chiết cao toàn phần từ mẫu cỏ Mỹ. Bước tiếp theo, đề tài đã khảo sát được các hệ dung môi có độ phân cực khác nhau để tách FUB-AMB trên sắc ký cột, khảo sát pha động để kiểm tra các phân đoạn trên sắc ký lớp mỏng. Tinh thể từ phân đoạn dự đoán có chứa FUB-AMB đã được xác định độ tinh khiết trên HPLC/PDA cho kết quả

trên 98%. Cấu trúc của hợp chất phân lập cũng đã được khẳng định bằng phương pháp phổ học như UV – Vis, IR, GC-MS, DSC trong đó phổ NMR đã được biện giải và so sánh với các tài liệu tham khảo cho kết quả hợp chất phân lập được là FUB-AMB. Sản phẩm FUB-AMB có độ tinh khiết trên 98% nên được sử dụng như chất chuẩn làm việc để phục vụ cho các bước nghiên cứu tiếp theo trong việc xây dựng và thẩm định quy trình định lượng các mẫu cỏ Mỹ tại Việt Nam.

V. KẾT LUẬN

Trong những năm 2016 – 2018, các chất ma túy trong cần sa tổng hợp thường gặp trong các vụ án là hợp chất FUB-AMB. Phân tích các dữ kiện phổ và so sánh với những tài liệu đã công bố, hợp chất FA được phân lập là FUB-AMB. Đề tài đã phân lập được một chất bột màu trắng tan tốt trong MeOH, ethyl acetat, acetonitil, không tan trong nước có công thức phân tử C₂₁H₂₂FN₃O₃ có độ tinh khiết 98,34% góp phần phong phú thêm nguồn chất chuẩn để kiểm nghiệm các hợp chất trong các mẫu vật chứa cần sa tổng hợp.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- 1. Nghị định Sửa đổi**, bổ sung Danh mục các chất ma túy và tiền chất ban hành kèm theo Nghị định số 73/2018/NĐ-CP ngày 15 tháng 5 năm 2018 của Chính phủ quy định các danh mục chất ma túy và tiền chất, 60/2020/NĐ-CP, ngày 29 tháng 5 năm 2020.
- 2. Ivo D. Ivanov (2019)**, "A case of 5f-ADB / FUB-AMB abuse: drug-induced or drug-related death", Forensic Science International, pp 372 – 377.
- 3. Prevention of and Fight against Crime programme (2015)**, "Analytical report: FUB-AMB (C₂₁H₂₂FN₃O₃)", European Commission.
- 4. Samuel D. Banister (2016)**, "Pharmacology of Valinate and tert-Leucinate Synthetic Cannabinoids 5F-AMBICA, 5F-AMB, 5F-ADB, AMB-FUBINACA, MDMB-FUBINACA, MDMB-CHMICA, and Their Analogues", ACS Chemical Neuroscience, pp 1241–1254
- 5. The New Zealand Ministry of Health (2018)**, AB-FUBINACA and AMB FUBINACA: Report to the Expert Advisory Committee on Drugs, pp 1 – 13.
- 6. World Health Organization (2018)**, Critical Review Report: FUB-AMB, pp 5 – 19.