



МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ  
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ  
«РОССИЙСКИЙ ЦЕНТР СУДЕБНО - МЕДИЦИНСКОЙ ЭКСПЕРТИЗЫ»  
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ  
(ФГБУ РЦСМЭ МИНЗДРАВА РОССИИ)  
125284, г. Москва, ул. Поликарпова, д.12/13 тел/факс +7 (495) 9452169; +7 (495) 9450097  
E-mail: [mail@rc-sme.ru](mailto:mail@rc-sme.ru)

Всего членов совета – 18 человек  
Присутствовали на заседании – 16 человек

**ВЫПИСКА**

из протокола № 2 от 18 июня 2019 г. заседания Ученого совета  
федерального государственного бюджетного учреждения  
«Российский центр судебно-медицинской экспертизы»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации

Председатель – директор Центра, доктор медицинских наук А.В.Ковалев  
Ученый секретарь – кандидат медицинских наук, доцент О.А.Панфиленко

**СЛУШАЛИ:**

ведущего научного сотрудника отдела специальных инновационных исследований, к.фарм.н.  
Орлову А.М., представившую на рассмотрение членам Ученого совета методические рекомендации:

- «Методика химико-токсикологического и судебно-химического анализа офлоксацина, линезолида и эфавиренза в вещественных доказательствах небиологического происхождения» (авторы: Чмелевская Н.В., Тютрина В.А., Илларионова Е.А.);

- «Методика химико-токсикологического и судебно-химического анализа абакавира, ламивудина и зидовудина в биологических жидкостях и внутренних органах» (авторы: Чмелевская Н.В., Гончикова Ю.А., Илларионова Е.А.);

- «Методика судебно-химического анализа офлоксацина, линезолида и эфавиренза в моче» (авторы: Чмелевская Н.В., Тютрина В.А., Илларионова Е.А.);

- «Судебно-химическое исследование волос, ногтевых срезов, крови, мочи, органов и тканей трупа на наличие психоактивных веществ, включая метаболиты/маркеры синтетических каннабимиметиков методом газовой хроматографии с масс-селективным детектированием» (авторы: Савчук С.А., Григорьев А.М.).

**ПОСТАНОВИЛИ:**

утвердить и рекомендовать к изданию и тиражированию методические рекомендации:

- «Методика химико-токсикологического и судебно-химического анализа офлоксацина, линезолида и эфавиренза в вещественных доказательствах небиологического происхождения» (авторы: Чмелевская Н.В., Тютрина В.А., Илларионова Е.А.);

- «Методика химико-токсикологического и судебно-химического анализа абакавира, ламивудина и зидовудина в биологических жидкостях и внутренних органах» (авторы: Чмелевская Н.В., Гончикова Ю.А., Илларионова Е.А.);

- «Методика судебно-химического анализа офлоксацина, линезолида и эфавиренза в моче» (авторы: Чмелевская Н.В., Тютрина В.А., Илларионова Е.А.);

- «Судебно-химическое исследование волос, ногтевых срезов, крови, мочи, органов и тканей трупа на наличие психоактивных веществ, включая метаболиты/маркеры синтетических каннабимиметиков методом газовой хроматографии с масс-селективным детектированием» (авторы: Савчук С.А., Григорьев А.М.).

П/п Председатель -

А.В.Ковалев

ВЫПИСКА ВЕРНА:

Ученый секретарь Российского  
центра судебно-медицинской экспертизы

О.А.Панфиленко



**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ  
«РОССИЙСКИЙ ЦЕНТР СУДЕБНО - МЕДИЦИНСКОЙ ЭКСПЕРТИЗЫ  
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ  
(125284, Москва, ул. Поликарпова, д. 12/13)**

**«Утверждаю»**  
Директор ФГБУ «РЦСМЭ»  
Минздрава России,  
Главный внештатный специалист  
по судебно-медицинской экспертизе  
Минздрава России  
доктор медицинских наук

\_\_\_\_\_ А.В. Ковалев  
«\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2019 г.

**Судебно-химическое исследование волос, ногтевых срезов, крови, мочи,  
органов и тканей трупа на наличие психоактивных веществ, включая  
метаболиты/маркеры синтетических каннабимиметиков методом  
газовой хроматографии с масс-селективным детектированием**

Информационное письмо

Москва  
2019

**Авторы:**

Савчук С.А. - главный научный сотрудник отдела специальных инновационных исследований ФГБУ «РЦСМЭ» Минздрава России, доктор химических наук;

Григорьев А.М. – эксперт-химик ГБУЗ МО «Бюро СМЭ», доктор химических наук.

Информационное письмо предназначено для качественного определения новых и известных психоактивных веществ, включая метаболиты/маркеры ряда синтетических каннабимиметиков в биологических объектах от живых лиц и трупов методом газовой хромато-масс-спектрометрии. Учитывая быстрое расширение списка целевых соединений, метод может быть в дальнейшем модифицирован.

**Рецензенты:**

А.К. Буряк - профессор, доктор химических наук, директор Института физической химии и электрохимии им. А. Н. Фрумкина РАН;

Р.А. Калёкин – доктор фармацевтических наук, главный научный сотрудник отдела специальных лабораторных исследований ФГБУ «РЦСМЭ» Минздрава России;

*Рекомендовано к изданию Ученым советом ФГБУ «РЦСМЭ» Минздрава России (протокол № от 2019 года).*

## **1. Введение и объекты анализа**

В настоящее время перечень психоактивных веществ, присутствующих в незаконном обороте постоянно расширяется [1-20]. Это приводит к необходимости разработки новых методик анализа, базирующихся на применении метода газовой хромато-масс-спектрометрии (ГХ-МС). Важнейшей частью методик являются непрерывно пополняемые библиотеки масс-спектров, содержащие информацию не только о нативных психоактивных веществах, но и об их метаболитах (биологических маркерах). Исследование сложных матриц, к которым относят волосы, срезы ногтевых пластин [21-26], ткани и биологические жидкости, измененные гниением, представляет собой сложную аналитическую проблему, для решения которой необходим комплексный методический подход, представленный в этом методическом письме.

Объекты анализа: волосы, срезы краев ногтевых пластин от живых лиц и трупов, или сами ногтевые пластины с пальцев рук и ног от трупов, кровь цельная или гемолизированная от живых лиц и трупов, моча, органы и ткани трупа.

## **2. Оборудование и материалы**

Метод исследования: газовая хроматография с масс-спектрометрическим детектированием.

### **2.1. Оборудование**

- Газовый хроматограф Agilent Technologies с масс-спектрометрами 5973, 5975, 5977; хромато-масс-спектрометры Shimadzu GC-MSQP 2010 Ultra, Маэстро  $\alpha$ -МС; или оборудование других производителей с аналогичными параметрами.

- Колонка HP-5ms или VF-5ms (Agilent, 30 м × 0.25 мм × 0.25 мкм).
- Центробежный вакуумный концентратор Eppendorf Concentrator plus (Eppendorf) или подобный; допускается применение иных испарителей.
- Одноканальные дозаторы переменного объема 20-200 мкл, 100-1000 мкл со сменными наконечниками (Eppendorf, Sartorius или подобные).
- Центрифуга CM-6MT (ELMI) или подобная.
- Ультразвуковая баня Sonorex Super RK 510H (Bandelin) или подобная.
- Мешалки и встряхиватели.

**2.2. Растворители и реактивы** (выбираются в зависимости от способов подготовки проб и дериватизации)

Квалификация не ниже х.ч.:

- кислота соляная ( $\geq 30\%$ );
- кислота ортофосфорная ( $\geq 85\%$ );
- кислота трихлоруксусная;
- кислота уксусная ледяная;
- натрия ацетат;
- натрия гидроксид;
- натрия дигидрофосфат;
- калия дигидрофосфат;
- аммиак водный ( $\geq 25\%$ );
- хлороформ;
- метиленхлорид;
- этилацетат;
- пиридин;
- диметилсульфоксид (осушенный);
- дифениламин.

Квалификация «for GC derivatization»:

- N,O-бис(триметилсилил)трифторацетамид, содержащий 1 об.% триметилхлорсилана (BSTFA + 1% TMS, далее BSTFA);
- Уксусный ангидрид;
- Трифторуксусный ангидрид (TFA);
- Пентафторпропионовый ангидрид (PFPA);
- Пентафторпропанол (PFPOH).

Квалификация «ReagentPlus»:

- иодометан.

Тетраметиламмония гидроксид, раствор в метаноле (25 об.%).

$\beta$ -Глюкуронидаза (тип HP-2, Sigma-Aldrich) или подобная.

Пепсин.

Трипсин.

Кератиназа.

Этанол, ректификат.

Молекулярные сита для обезвоживания растворителей.

Вода (бидистиллированная или деионизованная).

**2.2. Растворы** (выбираются в зависимости от способов подготовки проб и дериватизации)

- фосфатный буфер (0.8 М, рН 4.5)

### **2.3. Материалы**

Картриджи для твердофазной экстракции AccuBONDII EVIDEX, 3 мл/200 мг или SampliQ EVIDEX, 3 мл/200 мг (Agilent Technologies) или подобные.

Вакуумный штатив с мембранным насосом для твердофазной экстракции.

Универсальная индикаторная бумага (Erba Lachema, или подобная).

Полимерные пробирки (подобные пробиркам Eppendorf) и иная полимерная и стеклянная посуда.

## **3. Подготовка проб для анализа**

Психоактивные вещества, определяемые в биологических объектах, имеют разные свойства, предопределяющие процессы биотрансформации и, следовательно, выбор методики анализа.

Гидрофобные соединения преимущественно подвержены интенсивному метаболизму. Так, синтетические каннабимиметики (СК) или тетрагидроканнабинол (ТГК) могут экскретироваться с мочой только в виде метаболитов. В этом случае установление факта употребления таких веществ выполняют по наличию характерных метаболитов (биомаркеров). Частично метаболиты присутствуют в моче в свободной форме (метаболиты фазы I), и они могут быть обнаружены методом ГХ-МС. Однако, большей частью метаболиты фазы I связаны в конъюгаты, а для получения свободных форм требуется проведение деконъюгирования (гидролиза). Неизмененное соединение (вместе с его метаболитами) может быть обнаружено в крови, волосах, ногтях, тканях и органах.

Гидрофильные соединения, к которым относятся, например, стимуляторы – производные фенэтиламина или катинона – подвержены метаболизму в меньшей степени. В этом случае установление факта употребления как правило, выполняют посредством обнаружения в биологических объектах неизмененного соединения и стадия гидролиза не является необходимой. Тем не менее, обнаружение метаболитов позволяет повысить достоверность выносимых заключений.

Подготовка проб вышеперечисленных биологических объектов требует применения широкого набора методик, включающих следующие стадии:

- первичная экстракция (для волос, ногтей, тканей и органов);
- гидролиз (при необходимости);
- экстракция (жидкостно-жидкостная, ЖЖЭ или твердофазная, ТФЭ);
- дериватизация (при необходимости).

Первичную экстракцию выполняют согласно частным методикам в зависимости от вида биообъекта.

Гидролиз конъюгатов может быть минеральным (кислотный или основной) и ферментативным. Кислотный гидролиз пригоден для наибольшего числа определяемых соединений (в т.ч. морфин, производные фентанила, синтетические каннабимиметики первых поколений и прочие соединения, являющиеся простыми эфирами глюкуроновой кислоты). Основной гидролиз ориентирован на деконъюгирование метаболитов-сложных эфиров (в т.ч. глюкуронидов 11-нор-дельта-9-карбокситГК и синтетических каннабимиметиков более новых поколений). Минеральный гидролиз отличается малой стоимостью, но нередко приводит к разрушению лабильных психоактивных веществ и их метаболитов (кокаин, бензодиазепины, современные нативные СК). Последние при кислотном и основном гидролизе образуют продукты, идентичные некоторым метаболитам/маркерам этих соединений. Ферментативный гидролиз более дорог, но позволяет сохранять лабильные соединения.

Способ экстракции, проводимой после гидролиза или непосредственно из биологических жидкостей и первичных экстрактов прочих объектов определяется характером целевых соединений. При кислотном характере соединений (в т.ч. 11-нор-дельта-9-карбокситГК, метаболиты современных СК и кокаина) предпочтительна экстракция из подкисленных растворов, при основном (в т.ч. морфин, стимуляторы фенэтиламинового и катинонового рядов) – из подщелоченных растворов. Как правило, кислотные экстракты более загрязнены соединениями биологической матрицы. ЖЖЭ является более дешевым и более распространенным способом, в то время как ТФЭ (в особенности, в катионообменном варианте) позволяет получать очень чистые экстракты. Для подготовки проб мочи при определении веществ группы фентанила (фентанил, 3-метилфентанил, карфентанил) наиболее эффективно использовать методику извлечения из слабоосновной среды смесью органических растворителей метиленхлорид, гептан, изорпопанол 7:2:1 с высаливанием без гидролиза.

Для дериватизации чаще всего применяют ацилирование (уксусным, трифторуксусным или пентафторпропионовым ангидридом, силилирование (BSTFA) и метилирование (иодометаном). Ацилирование удобно для определения аминов и спиртов (в т.ч. морфин, производные фенэтиламинового и катинонового рядов, метаболиты СК первых поколений). Триметилсилилирование позволяет определять спирты и карбоновые кислоты (в т.ч. морфин, 11-нор-дельта-9-карбокситГК, метаболиты кокаина и СК новых поколений), но ограничено пригодно при определении аминов. Метилирование применяется для определения подобных соединений (включая амины), но непригодно для дериватизации алифатических спиртов.

### **3.1. Подготовка проб мочи для анализа**

**3.1.1. Быстрый скрининг некоторых психоактивных веществ и их метаболитов без стадии гидролиза ( $\alpha$ -PVP и иные вещества, сходных по полярности).** Методический подход проведения экстракции в аналитической виале предложен Н.А. Крупиной.

- В стандартную виалу вместимостью 2 мл вносят 1660 мкл мочи и 270 мкл органического растворителя (этилацетат, бутилацетат, изоамилацетат) или смеси растворителей (гексан-этилацетат 7:1 или метилхлорид-гептан-изорпропанол 7:2:1).
- Виалу закрывают крышкой и встряхивают на вибромиксере 1 мин.
- Если не происходит разделения слоев, центрифугируют при 3000 об/мин в течение 3-х мин.
- Анализ подвергают органический слой из верхней части виалы. Для этого позиционируют иглу шприца автоинжектора таким образом, чтобы игла была погружена в органический слой и не опускалась ниже 4-5 мм от крышки виалы или 23 мм от дна виалы. Объем вводимой пробы 1 или 2 мкл.

- При необходимости дериватизации 200 мкл экстракта переносят в виалу со вставкой вместимостью 250-300 мкл, добавляют 30 мкл BSTFA, закрывают крышкой и выдерживают 15 мин при 80°C. 1 мкл дериватизированного экстракта вводят в хроматограф.

**3.1.2. Кислотный гидролиз с ЖЖЭ и силилированием<sup>1</sup>.** (выявление опиатов, производных фентанила и большинства иных психоактивных веществ основного характера).

Приготовление 5М раствора NaOH. К 2.0 г NaOH добавляют воду до объема 10 мл.

- К 3.0 мл пробы добавляют 0.3 мл соляной кислоты и нагревают при температуре 90-95°C в течение часа.
- Добавляют 0.65 мл 5М водного раствора NaOH, 300-500 мг бикарбоната натрия, 1-2 г натрия хлорида и экстрагируют 3 мл смеси метиленхлорид-гептан-изорпропанол 7:2:1.
- Центрифугируют 3 мин при 3000 об/мин, отделяют слой органической фазы, упаривают его в потоке воздуха или в вакуумном концентраторе при температуре не выше 45°C.
- К сухому остатку добавляют 50 мкл BSTFA и 100 мкл этилацетата, перемешивают и выдерживают в течение 15 мин при 70°C. После охлаждения 1 мкл полученного раствора вводят в хроматограф.

**3.1.3. Основной гидролиз с ЖЖЭ и силилированием<sup>2</sup>** (выявление 11-нор-дельта-9-карбокситГК и метаболитов/маркеров современных СК (амиды и сложные эфиры)).

Для основного гидролиза используют 5М водный раствор NaOH (200 г/л) или КОН (280 г/л).

Приготовление 5М раствора КОН. К 2.8 г КОН добавляют воду до

---

<sup>1</sup> Допустимо применение иных способов дериватизации в зависимости от целей анализа

<sup>2</sup> Допустимо применение иных способов дериватизации в зависимости от целей анализа

объема 10 мл.

Подготовка пробы.

- К 3 мл мочи добавляют 0.5 мл 5М раствора NaOH, выдерживают при 60°C в течение 20 минут.
- Гидролизат подкисляют до pH 2-3 добавлением 250-350 мкл соляной кислоты (контроль по индикаторной бумаге) и экстрагируют 3 мл смеси гексан-этилацетат (7:1) на орбитальном шейкере 5 мин.
- Центрифугируют 3 мин при 3000 об/мин, отбирают органическую фазу (верхний слой), упаривают досуха в токе воздуха или в вакуумном концентраторе при температуре не выше 45°C.
- К сухому остатку добавляют 50 мкл BSTFA и 100 мкл этилацетата, перемешивают и выдерживают в течение 15 мин при 70°C. После охлаждения 1 мкл полученного раствора вводят в хроматограф.

### **3.1.4. Моча, совмещенный гидролиз (кислотный и основной гидролиз и ЖЖЭ (предложен А.Л. Печниковым))**

Данный метод позволяет изолировать и обнаруживать метаболиты как кислотного, так и основного характера, являющиеся продуктами гидролиза конъюгированных форм с разным характером связи между агликоном и остатком глюкуроновой кислоты.

- К 2.5 мл мочи добавляют соляную кислоту (200 мкл, >30% масс.), перемешивают и нагревают при 90-95°C в течение 60 минут.
- К другой аликвоте мочи (2.5 мл) добавляют раствор NaOH (250 мкл, 10М), перемешивают и нагревают при 60°C в течение 20 минут.
- После охлаждения оба гидролизата смешивают и немедленно устанавливают pH 7 с помощью 1М NaOH или 1М HCl.
- Перед ЖЖЭ устанавливают pH объединенных гидролизатов около 8-8.5 с помощью примерно 40-50 мг твердого буфера (смеси натрия гидрокарбоната и натрия карбоната (2:1)).

- Смесь экстрагируют смесью метиленхлорид-гептан-изопропанол (3 мл, 7:2:1 об.) и отделяют органический экстракт в отдельный флакон.
- Устанавливают рН водной фазы около 2-3 с помощью HCl (1M) и экстрагируют смесью гексана и этилацетата (3 мл, 7:1 об.).
- Полученные экстракты объединяют и выпаривают в потоке воздуха при температуре не выше 45°C до объема около 50-100 мкл. Дальнейшее упаривание досуха производят без нагревания.
- Сухие остатки растворяют в этилацетате или дериватизируют. Конечный объем 200 мкл.

**3.1.5. Ферментативный гидролиз и ЖЖЭ** (для лабильных психоактивных веществ и метаболитов).

К 2.5 мл пробы добавляют 1 мл фосфатного буфера рН 4.5 и 50 мкл β-глюкуронидазы. Смесью тщательно перемешивают и инкубируют при 37°C в течение 8 ч, или при 50°C в течение 3 ч. Далее выполняют процедуры подстройки рН и экстракции из кислой или слабоосновной среды, аналогичные **3.1.2.** и **3.1.3.**

**3.1.6. ЖЖЭ из кислой среды** (для веществ кислого характера и их метаболитов, находящихся в моче преимущественно в свободной форме).

Все процедуры проводят согласно п. **3.1.2.**, за исключением гидролиза и последующей нейтрализации.

**3.1.7. ЖЖЭ из основной среды** (для веществ основного характера и их метаболитов, находящихся в моче преимущественно в свободной форме).

Все процедуры проводят согласно п. **3.1.3.**, за исключением гидролиза и последующей нейтрализации. Дериватизацию проводят при необходимости.

**3.1.8. Определение оксибутирата**

- В полимерную пробирку вместимостью 2 мл вносят 200-250 мг NaCl 500 мкл мочи и 1000 мкл ацетонитрила.
- Встряхивают на вибромиксере 1 мин.
- Центрифугируют при 8000-14000 об/мин в течение 3-х минут или охлаждают при -20°C в течение 10 мин.
- Органический слой отбирают и упаривают досуха.
- К сухому остатку добавляют 30 мкл BSTFA и 70 мкл этилацетата, перемешивают и выдерживают в течение 15 мин при 70°C. 1 мкл полученного раствора вводят в хроматограф.

### **3.2. Подготовка проб цельной крови**

**3.2.1. Гидролиз (кислотный или основной) и ЖЖЭ.** Для определения большинства психоактивных веществ можно использовать методы пробоподготовки мочи включающие, кислотный или основной гидролиз и ЖЖЭ. Для анализа отбирают 1 мл крови, добавляют 2 мл воды и перемешивают. Дальнейшую обработку проводят согласно п.п. **3.1.2.** и **3.1.3.** В отличие от мочи, где СК присутствуют только в виде метаболитов/маркеров, в крови возможно обнаружение нативных веществ или продуктов термической деградации, образовавшихся при курении. Процедура гидролиза приводит к разрушению нативных форм СК нового поколения (амиды и сложные эфиры) с образованием соответствующих метаболитов/маркеров.

### **3.2.2. ЖЖЭ из кислой или основной среды**

Для определения большинства психоактивных веществ можно использовать методы пробоподготовки мочи включающие ЖЖЭ и (при необходимости) дериватизацию. Для анализа отбирают 1 мл крови, добавляют 2 мл воды и перемешивают. Дальнейшую обработку проводят согласно п.п. **3.1.5.** и **3.1.6.**

**3.2.3. Извлечение ацетонитрилом с высаливанием** (для плазмы, сыворотки, цельной крови, в том числе гемолизованной).

- В полиэтиленовую пробирку вместимостью 2.0 мл вносят 300 мг NaCl, 800 мкл крови и 800 мкл ацетонитрила. Встряхивают на вибромиксере 1 мин.
- Центрифугируют при 8000-14000 об/мин в течение 3-х минут.
- Органический слой отбирают и упаривают досуха.
- Сухой остаток растворяют в 150 мкл этилацетата и 1 мкл раствора вводят в хроматограф.
- При необходимости дериватизации к сухому остатку добавляют 30 мкл BSTFA и 70 мкл этилацетата, перемешивают и нагревают в течение 15 мин при 70°C. После охлаждения 1 мкл смеси вводят в хроматограф.

Методика подготовки проб крови методом твердофазной экстракции дана в п.п. 3.3.1.3.

### **3.3. Подготовка органов и тканей для анализа**

**3.3.1. Подготовка проб крови, а также желчи, гомогенатов органов и тканей методами твердофазной и жидкость/жидкостной экстракции**

#### **3.3.1.1 Отбор, гомогенизация, осаждение белковой фракции**

- Измельчают 10-50 г пробы.
- В стеклянную пробирку с завинчивающейся крышкой вместимостью 9 мл помещают 2 г измельченной пробы или 2 мл крови или желчи, добавляют 6 мл 6% трихлоруксусной кислоты.
- Экстрагируют 10-15 мин на ультразвуковой бане и 5 мин на орбитальном шейкере.
- Центрифугируют при 3000 об/мин в течение 5 мин.
- Надосадочную жидкость переносят в центрифужную пробирку.
- Добавляют порциями 0.6 мл 22% раствора карбоната натрия (до pH 6.0,

контроль по индикаторной бумаге), избегая пенообразования. При необходимости корректируют рН с помощью 50% раствора фосфорной кислоты.

### **3.3.1.2. Жидкостно-жидкостная экстракция**

- В пробирку объемом 10 мл вносят 3 г хлорида натрия, гидрокарбонат натрия на кончике шпателя и 3 мл экстракта.
- Экстрагируют смесью метиленхлорид-гептан-изопропанол (7:2:1, 3 мл) в течение 5 мин на орбитальном шейкере.
- Центрифугируют при 3000 об/мин 5 мин.
- Отделяют органический слой и упаривают в вакуумном концентраторе или переносят в алюминиевый колпачок и упаривают в токе воздуха при температуре не выше 45<sup>0</sup>С.
- Сухой остаток растворяют в 150-300 ацетонитрила и 1 мкл раствора вводят в хроматограф или дериватизируют.
- При необходимости дериватизации сухой остаток перемешивают со смесью 40 мкл BSTFA и 80 мкл этилацетата и выдерживают в течение 15 мин при 70<sup>0</sup>С провести. 1 мкл охлажденной смеси вводят в хроматограф.

### **3.3.1.3. Твердофазная экстракция (основные вещества)**

#### **Приготовление растворов для ТФЭ.**

- 0.1М K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (рН 6.0). 1.74 г фосфата калия двузамещенного безводного растворить в 100 мл деионизованной воды. Установить рН 6.0 с помощью фосфорной кислоты.
- 0.1М натрия ацетат (рН 4.5). 0.82 г растворить в 100 мл деионизованной воды. Установить рН 4.5 с помощью ледяной уксусной кислоты.

#### **Очистка и кондиционирование сорбента**

Картридж для твердофазной экстракции устанавливают в вакуумный штатив с мембранным насосом, обеспечивающим вакуум 20 мм.рт.ст. Скорость потока жидкости через картридж не выше 2.5 мл/мин. Через картридж пропускают:

- 3 мл метанола;
- 3 мл 0.1М  $K_2HPO_4$  (рН 6.0);

#### **Загрузка пробы**

- К 3 мл пробы мочи или надосадочной жидкости (кровь, желчь, ткани см. ниже) добавляют 3 мл 0.1М  $K_2HPO_4$  (рН 6.0) и пропускают через картридж.

#### **Промывка картриджа**

- 3.0 мл деионизованной воды;
- 3.0 мл 0.1М HCl;
- пропускают 3 мл метанола;

#### **Элюирование**

- пропускают через картридж 2 мл смеси растворителей дихлорметан-изопропанол- $NH_4OH$  (78:20:2) без использования вакуума;

Элюаты упаривают досуха в вакуумном концентраторе или в токе воздуха при температуре не выше 45<sup>0</sup>С. Сухой остаток растворяют в 150-300 мкл ацетонитрила и раствор вводят в хроматограф. При необходимости дериватизации проводят силилирование с BSTFA (см. п. 3.3.1.2).

### **3.3.2. Методика подготовки проб органов и тканей трупа с использованием биологических жидкостей – продуктов криодеструкции.**

Выбор объекта исследования предложен А.Л. Печниковым [1, 2]. Метод пригоден для определения нативных форм синтетических каннабимиметиков, стимуляторов, анестетиков, а также морфина, кодеина, бензодиазепинов, фенobarбитала, метадона с метаболитами, веществ амфетаминового ряда, кокаина с метаболитами, фентанила и его аналогов.

### **3.3.2.1. Отбор пробы биологической жидкости с продуктами криодеструкции**

Отбирают ткани печени, почки, мышцы или мозга (10-50 г). Образцы замораживают при  $-20^{\circ}\text{C}$ , выдерживают в течение ночи, после чего размораживают при комнатной температуре. При этом образуется жидкость, являющаяся смесью межклеточной и внутриклеточной жидкости со следами капиллярной крови.

*Примечание.* Если собранной жидкости недостаточно для анализа, то перед замораживанием объектов можно ввести шприцем небольшие объемы деионизованной воды в анализируемые объекты и провести повторный цикл заморозки/разморозки.

### **3.3.2.2. Жидкостно-жидкостная экстракция 1** (для определения веществ группы фентанилов) в продуктах криодеструкции

- В пластиковый флакон помещают 8-10 мл собранной биологической жидкости.
- Добавляют 20 мл деионизованной воды, 2 мл 10М NaOH, выдерживают 20 мин при комнатной температуре.
- Гидролизат экстрагируют 20 мл гексана или гептана.
- Центрифугируют при 3000 об/мин. Если не удастся разделить слои, к пробам добавляют по каплям 100-200 мкл этанола 95%.
- Органический слой отбирают и упаривают досуха, добавляют 150 мкл этилацетата или ацетонитрила, 1 мкл вводят в хроматограф.
- При необходимости дериватизации к сухому остатку добавляют смесь 30 мкл BSTFA и 70 мкл этилацетата, перемешивают и выдерживают в течение 15 мин при  $70^{\circ}\text{C}$ . После охлаждения 1 мкл смеси вводят в хроматограф.

### **3.3.2.3. Жидкостно-жидкостная экстракция 2** (для определения анестетиков и веществ группы фентанила в гомогенатах тканей и органов)

- К 10 мл гомогената добавляют 20 мл деионизованной воды, 2 мл 10М NaOH и выдерживают 20 мин при комнатной температуре.

- Гидролизат экстрагируют 20 мл гексана или гептана.
- Центрифугируют при 3000 об/мин. Если не удастся разделить слои, предварительно к пробам добавляют по каплям 100-200 мкл этанола 95%.
- Органический слой отбирают и упаривают досуха, при этом образуется плохо упариваемый органический вязкий осадок липидных фракций оранжевого цвета непригодный для анализа.
- Целевые компоненты, прежде всего вещества группы фентанила, экстрагируют кислым водным раствором. Для этого жировой слой переносят в виалу вместимостью 4 мл, добавляют 2 мл 0.1М HCl и экстрагируют на вибромиксере 1 мин.
- Водный слой отделяют, доводят до pH 7-9 водным раствором аммиака и экстрагируют 2 мл гексана или гептана.
- Органический слой отбирают и упаривают досуха. Сухой остаток дериватизируют или растворяют в 150 мкл этилацетата ацетонитрила. 1 мкл раствора вводят в хроматограф.
- При необходимости дериватизации к сухому остатку добавляют смесь 30 мкл BSTFA и 70 мкл этилацетата и нагревают в течение 15 мин при 70°C. После охлаждения 1 мкл раствора вводят в хроматограф.

### **3.3.2.5. Твердофазная экстракция биологической жидкости, содержащей продукты криодеструкции**

Образующуюся в результате криодеструкции межклеточную и внутриклеточную жидкость со следами капиллярной крови (8-15 мл) собирают и готовят для анализа методом твердофазной экстракции согласно п. 3.3.1.3.

*Примечание.* Жидкость, содержащая продукты криодеструкции, является предпочтительным объектом для экстракции методом ТФЭ, тогда как при использовании этого метода для подготовки проб гомогенатов органов наблюдали снижение эффективности экстракции из-за загрязнения

фильтров картриджей по сравнению с результатами исследования биологической жидкости, содержащей продукты криодеструкции, полученной от того же объекта.

### **3.4. Подготовка волос и срезов ногтевых пластин для анализа**

Волосы и ногтевые пластины, являясь придатками кожи и имеют сходное строение. Поверхностные слои обоих видов структур (кутикула) – чешуйчатые, рыхлые. Это отмирающие кератиновые слои, которые постоянно обновляются за счёт роста внутреннего кератинового слоя (кортекса). Необходимые элементы для обновления приходят с кровотоком. Мелкие капиллярные кровеносные сосуды питают луковицу волоса и соответствующие структуры ногтевых пластин. Интересующие нас ксенобиотики, включая стимуляторы, наркотические и лекарственные вещества (преимущественно психоактивные) приходят также с кровотоком, "встраиваются" в кератиновые матрицы и фиксируются в ней. В рыхлых приповерхностных слоях эта фиксация слабеет и целевые вещества покидают поверхность волос и ногтевых пластин легко, тогда как из глубины их извлечь трудно, вследствие хорошей фиксации.

Психоактивные вещества могли попасть на поверхность волос или ногтевых пластин извне случайно. Например, если кто-то рядом курил каннабис или спайсы, целевые вещества в виде аэрозолей могли попасть на поверхность волос или ногтевых пластин человека, который не употреблял подобные вещества. Поэтому перед анализом отмывают поверхность волос и ногтевых срезов от внешних загрязнений. Следует отметить, что целевые вещества, находящиеся в кутикуле, также могут быть извлечены из приповерхностных слоев и смыты вместе с поверхностными загрязнениями. Для того, чтобы дифференцировать поверхностные загрязнения и объемные содержания целевых веществ, присутствующих в приповерхностных и внутренних слоях волоса или ногтевой пластины, целесообразно делать не

менее пяти последовательных смывов, и полученные смывы подвергать анализу. С каждым смывом интенсивность целевого вещества должна уменьшаться и в последнем смыве быть незначительной. После чего можно применять методы активного извлечения, например, кислый или основной гидролиз, или извлечение в метанол с обработкой ультразвуком. При получении положительного результата, по интенсивности пиков целевых компонентов существенно (в 20-50 раз) превышающим интенсивности пиков этих же веществ в смывах, надежно судить о наличии в организме таких веществ. При получении отрицательного результата после проведения кислого или основного гидролиза, или извлечения в метанол с обработкой ультразвуком, исследуемый образец признается отрицательным, а вещества, определенные в смывах, являются поверхностными загрязнениями.

Одним из критериев достоверности является снижение интенсивностей пиков определяемых веществ от смыва к смыву. При обнаружении хаотично меняющихся интенсивностей в последовательных смывах и в финальных экстрактах, необходимо проверить прибор на наличие «химической памяти» по определяемым веществам.

**Примечание 1:** Получить более специфичные и достоверные данные по наличию психоактивных веществ на поверхности и в объеме придатков кожи можно при комплексном исследовании волос и срезов краев ногтевых пластин, отобранных как с пальцев рук, так и с пальцев ног испытуемых. Особенный интерес представляют ногтевые срезы, отобранные с пальцев ног, поскольку они в наименьшей степени загрязнены целевыми компонентами.

**Примечание 2:** кератиновые матрицы волос и ногтевых пластин имеют разную плотность и скорость роста. Поэтому содержания идентифицируемых веществ в волосах, срезах ногтевых пластин с пальцев рук и ног, отобранных у одного лица, могут различаться.

**Примечание 3:** Волосы и ногтевые срезы помещают в пластиковый флакон с коническим дном вместимостью 50 мл. Все стадии подготовки

пробы: получение пяти смывов, измельчение ножницами (до получения отрезков 1-3 мм), гидролиз с последующей экстракцией или обработку ультразвуком в метаноле выполняют в этом же флаконе, что снижает вероятность лабораторного загрязнения пробы. Стеклоянные флаконы не рекомендуется использовать для ультразвуковой обработки, так как есть вероятность их разрушения под действием ультразвука.

#### **3.4.1. Отбор образцов волос и ногтевых срезов (пластин)**

- Для анализа требуется от 20 до 300 мг волос и/или ногтевых срезов (пластин).
- У трупа для анализа отбирают ногтевые пластины целиком.
- Волосы отбирают с волосистой части головы или с других частей тела. Скорость накопления целевых аналитов зависит от скорости роста волос (1 см в месяц для волос волосистой части головы).

#### **3.4.2. Получение и анализ метанольных смывов**

- В пластиковые флаконы с коническим дном помещают 20-300 мг неизмельченных волос, ногтевых срезов/пластин. Волосы, ногтевые срезы/пластины с пальцев рук и ног анализируют отдельно (не объединяют объекты).
- Во флакон добавляют от 1.5 до 3.0 мл метанола, так чтобы органический слой покрывал анализируемый объект и встряхивают не интенсивно 1 мин.
- Отбирают органический слой и переносят его в алюминиевый колпачок для упаривания.
- Во флакон вносят следующую порцию метанола и повторяют процедуру. Всего получают пять последовательных смывов.
- Полученные смывы упаривают досуха. Сухой остаток дериватизируют или растворяют в 150 мкл ацетонитрила и анализируют.
- При необходимости дериватизации к сухому остатку добавляют 30 мкл

BSTFA и 70 нагревают в течение 15 мин при 70°C. После охлаждения 1 мкл раствора вводят в хроматограф.

### **3.4.3. Измельчение волос и ногтевых срезов**

После получения пяти смывов волосы и ногтевые срезы помещают в пластиковый флакон с коническим дном вместимостью 50 мл и измельчают остроконечными хирургическими ножницами внутри флакона.

Измельченные волосы и ногтевые срезы подвергают кислому или основному гидролизу или экстрагируют метанолом при обработке ультразвуком.

### **3.4.4. Ферментативный гидролиз (общие наркотики)**

Выбранные условия pH соответствуют наибольшей активности ферментов. Для пепсина pH 2.2, для трипсина pH 8.0, для кератиназы pH 6.5.

- К измельченным волосам (ногтевым срезам) добавляют 1 мл водного раствора пепсина, трипсина или кератиназы.
- Инкубируют при 40°C в течение 12 часов.
- Обрабатывают 1 час на ультразвуковой бане.
- Центрифугируют в течение 5 минут 14000 об/мин.
- Надосадочную жидкость отделяют и экстрагируют методом ТФЭ согласно п. 3.3.1.3.

### **3.4.5. Кислотный гидролиз (общие наркотики)**

К навеске волос добавляют 1 мл 5М HCl и выдерживают 45 мин при 90°C.

### **3.4.6. Основной гидролиз (ТГК, современные СК)**

К навеске волос добавляют 1 мл 2М КОН и выдерживают 40 мин при 50°C с обработкой ультразвуком.

**Примечание:** Многие СК, присутствующие в волосах в нативном виде, разрушаются при основном гидролизе с образованием продуктов, тождественных метаболитам/маркерам этих веществ.

#### **3.4.7. ЖЖЭ для основных гидролизатов (ТГК, современные СК)**

- В пробирку объемом 10 мл вносят 3 г хлорида натрия, гидрокарбонат натрия на кончике шпателя (40-50 мг) и 1 мл гидролизата волос.
- Добавляют 3 мл смеси метиленхлорид-гептан-изопропанол (7:2:1) и экстрагируют 10 мин на орбитальном шейкере.
- Центрифугируют при 3000 об/мин 5 мин.
- Отделяют органический слой, переносят его в пробирку объемом 4 мл или в металлический колпачок TOX-LAB для упаривания и упаривают в токе горячего воздуха. К сухому остатку добавляют 70 мкл этилацетата, встряхивают на вибромиксере до растворения (2-3 сек) и 1 мкл раствора вводят в хроматограф.

**3.4.8. Твердофазная экстракция (для кислых гидролизатов, общие наркотики).** Выполняют 3.3.1.2.

**Примечание:** методы пробоподготовки п.п. 3.1., 3.2., 3.3 пригодны для ВЭЖХ-МС/МС анализа. В этом случае дериватизацию не проводят. К сухому остатку после упаривания добавляют последовательно 200 мкл ацетонитрила и 200 мкл деионизованной воды, 5 мкл вводят в жидкостный хроматограф.

#### **3.5. Методы дериватизации**

Преимущественным способом является триметилсилилирование.

**3.5.1. Триметилсилилирование.** К сухому остатку добавляют 30 мкл смеси BSTFA и 70 мкл этилацетата и перемешивают. Смесь нагревают в течение 15 мин при 70°C. После охлаждения смесь вводят в хроматограф.

Пригодно для дериватизации спиртов, тиолов, карбоновых и иных кислот.

Малопригодно для аминов и азотсодержащих гетероциклических соединений ввиду лабильности продуктов.

**3.5.2. Ацетилирование.** Выполняют в 100 мкл смеси уксусного ангидрида и пиридина (1:1) в течение 30 мин при 70°C. Далее раствор упаривают досуха при температуре не выше 45°C (возможно использование вакуумного концентратора), остаток растворяют в 100 мкл этилацетата и вводят в хроматограф.

Пригодно для дериватизации спиртов, аминов.

Малопригодно для дериватизации азотсодержащих гетероциклических соединений.

**3.5.3. Трифторацетилирование.** К сухому остатку добавляют 100 мкл трифторуксусного ангидрида и этилацетата (1:1), перемешивают и нагревают 20 мин при 40°C. После охлаждения смесь упаривают досуха. Сухой остаток растворяют в 100 мкл осушенного этилацетата и раствор вводят в хроматограф.

Пригодно для дериватизации ароматических спиртов, аминов.

Малопригодно для дериватизации алифатических спиртов, азотсодержащих гетероциклических соединений.

#### **3.5.4. Получение пентафторпропионильных производных.**

К сухому остатку добавляют 50 мкл пентафторпропионового ангидрида (PFPA) и 25 мкл пентафторпропанола (PFPOH), выдерживают 40<sup>0</sup> мин при 90<sup>0</sup>С, упарить остаток реагента растворить в 100 мкл этилацетата. 1 мкл раствора вводят в хроматограф.

Пригодно для комбинированной дериватизации ароматических спиртов, кислот, аминов.

Малопригодно для дериватизации алифатических спиртов, азотсодержащих гетероциклических соединений

**3.5.5. Метилирование.** Сухой остаток растворяют в смеси 200 мкл осушенного диметилсульфоксида и 5 мкл раствора тетраметиламмония гидроксида в метаноле (25 об.%). Смесь перемешивают в течение 2 мин, добавляют 20 мкл иодометана и снова перемешивают в течение 10 мин. К смеси добавляют 2 мл водного раствора аммиака (0.1 М) и экстрагируют 3 мл этилацетата. Органический слой промывают 2 мл раствора аммиака и упаривают досуха. Остаток растворяют 100 мкл этилацетата и раствор вводят в хроматограф.

Пригодно для дериватизации ароматических спиртов, кислот, аминов (включая азотсодержащие гетероциклические соединения).

Непригодно для дериватизации алифатических спиртов.

#### **4. Рекомендованные программы обработки результатов ГХ-МС анализа, библиотеки масс-спектров и ассоциированные с ними условия хроматографического разделения и масс-спектрометрического детектирования**

**4.1. Рекомендованные программы обработки результатов ГХ-МС анализа.** При проведении исследований биологических объектов в рамках химико-токсикологического исследования и судебно-химического анализа (ХТИ и СХА) методом ГХ-МС рекомендуется применять следующие программы, предназначенные для поиска масс-спектров и автоматизированной идентификации соединений.

**1. AMDIS – Automated Mass Spectral Deconvolution and Identification System.** Автоматизированная система масс-спектральной деконволюции хроматограмм и идентификации выделенных масс-спектров. AMDIS предоставляется как часть полного пакета базы данных NIST MS, так и демонстрационной базы данных NIST. Кроме того, AMDIS можно загрузить как отдельную программу.

**2. NIST MS Search Program** – Система поиска веществ по масс-спектрам и иным характеристикам. Предоставляется как часть полного пакета базы данных MS NIST, так и демонстрационной базы данных NIST.

**4.2. Рекомендованные библиотеки масс-спектров.** Для решения задач в рамках ХТИ и СХА исследований биологических объектов методом ГХМС, как правило, недостаточно использования одной библиотеки.

При проведении нецелевых скрининговых исследований для исключения и идентификации широкого круга веществ рекомендуется последовательное или параллельное применение нескольких библиотек самых последних версий (выпусков), содержащих наиболее актуальную информацию о спектрах новых психоактивных веществ (NPS), их метаболитов и дериватов.

При проведении целевого анализа допускается использование отдельных специализированных библиотек более старых версий (выпусков), только при условии наличия в них спектров и характеристик целевых определяемых веществ.

Для получения всесторонне обоснованных и достоверных результатов рекомендуется применение следующих библиотек масс-спектров электронной ионизации:

**1. NIST** – коммерческая библиотека общего назначения Национального института стандартов США (NIST). Версия 2017 года (NIST 17) содержит четыре масс-спектральных библиотеки и метод библиотеки индексов удерживания (RI)/GC. Есть две библиотеки EI: mainlib (267376 спектров) и replib (39246 спектров).

Обновление: раз в 3 года.

Страна происхождения: США

**Преимущества:** *Большое число спектров. Высокое качество библиотеки.*

**Ограничения:** *Неспециализированная библиотека. Отсутствие спектров многих метаболитов и дериватов веществ, имеющих токсикологическое значение и многих новых синтетических психоактивных веществ. Длинный цикл обновления.*

**2. The Mass Spectral Library of Drugs, Poisons, Pesticides, Pollutants and their Metabolites, 5th Edition (MPW5e)** – коммерческая масс-спектральная библиотека лекарств, ядов, пестицидов, загрязнителей и их метаболитов, 5-е издание, 2017 год. Содержит 10430 масс-спектров и индексов удерживания ГХ, включая 7800 метаболитов.

Обновление: раз в 3 года.

Страна происхождения: ФРГ.

**Преимущества:** *Большое число спектров веществ, имеющих токсикологическое значение, ориентированность на ХТИ и СХА. Наличие спектров метаболитов и дериватов. Высокое качество библиотеки.*

**Ограничения:** *Отсутствие спектров многих новых синтетических психоактивных веществ, длинный цикл обновления.*

**3. Designer Drugs (DD2018)** — коммерческая масс-спектральная библиотека «дизайнерских наркотиков», фармацевтических препаратов, боевых отравляющих веществ, и связанных с ними веществ. Включает 26459 масс-спектров 20381 химического соединения с подробной информацией и химической структурой для каждой записи.

Обновление: 1 раз в год.

Страна происхождения: ФРГ.

**Преимущества:** *Большое число спектров новых психоактивных веществ, ориентированность на ХТИ и СХА. Наличие спектров метаболитов и дериватов. Высокое качество библиотеки.*

**Ограничения:** *Малое число метаболитов и дериватов.*

**4. EKBDRUGS (MS LIBRARY EKBDRUGS)** – коммерческая специализированная экспертная электронная библиотека масс-спектров, предназначенная для идентификации наркотических средств и психотропных веществ методом ГХ-МС. Содержит масс-спектры электронной ионизации низкого разрешения контролируемых веществ, их дериватов и сопутствующих соединений, информацию об основных синонимах, химических наименованиях, структурных формулах соединений и их газохроматографических индексах удерживания. База данных обновляется по мере сбора и накопления новых данных.

Страна происхождения: РФ.

**Автор:** Шевырин Вадим Анатольевич *vadim.shevyrin@gmail.ru*

**Преимущества:** *Большое число спектров контролируемых в РФ веществ. Высокое качество библиотеки. Производится в России - национальный продукт. Регулярное обновление и пополнение.*

**Ограничения:** *Ориентированность на исследование вещественных доказательств.*

**5. ИПС «АИПСИН АнтиНаркотики»** – предназначена для информационного обеспечения деятельности в сфере контроля за оборотом наркотических веществ и прекурсоров. Позволяет решать задачи о статусе государственного контроля обнаруженных соединений и отнесении их к производным. Содержащаяся информация охватывает почти весь доступный на сегодняшний день объем экспертных знаний по наркотическим и психотропным веществам. ИПС содержит закрытую библиотеку масс-спектров «AIPSIN MS Database» (23182 спектра) и собственную спектральную поисковую систему. Возможно подключение внешних библиотек.

Библиотека пополняется и обновляется не менее 6 раз в год.

Страна происхождения: Республика Беларусь, Минск

**Руководитель проекта:** Юрченко Руслан Александрович  
*yurchenko@aipsin.com*

**Преимущества:** *Большое число спектров контролируемых в РФ веществ. Высокое качество библиотеки. Регулярное обновление и пополнение. Решение задач о статусе контроля и отнесении к производным. Обширная база знаний (методики, условия анализа, публикации и т.п.).*

**Ограничения:** *Закрытость спектральной библиотеки. Ориентированность на исследование вещественных доказательств, а не биологических объектов. Отсутствие спектров многих метаболитов и их дериватов.*

**6. SUDMED MASS SPECTRA (SUDMED MS)** – некоммерческая специализированная экспертная библиотека масс-спектров электронной ионизации, предназначенная в первую очередь для предварительной и подтверждающей идентификации новых синтетических психоактивных веществ и их метаболитов (синтетических каннабимиметиков, дизайнерских наркотиков) методами ГХ-МС в виде различных дериватов. Библиотека создана в октябре 2013 года профессиональным экспертным сообществом РФ. Является электронным приложением к информационным письмам ФГБУ ННЦ НАРКОЛОГИИ и методическим письмам ФГБУ «РЦСМЭ» Минздрава России. Последняя сборка содержит 2260 спектров.

Библиотека пополняется и верифицируется профессиональным экспертным сообществом 4-6 раз в год по мере сбора и накопления новых спектров.

*Распространяется свободно через сайт [sudmed-ms.ru](http://sudmed-ms.ru)*

Страна происхождения: РФ.

**Руководитель проекта:** Печников Александр Леонидович,  
*petchikov@gmail.ru*

**Преимущества:** *Наибольшее число спектров метаболитов новых психоактивных веществ и их дериватов. Оперативность обновления. Ориентированность на специфику ХТИ и СХА. Производится Российским профессиональным сообществом - национальный продукт. Доступность.*

**Ограничения:** *Ориентированность на специфику ХТИ и СХА, ориентированность на метаболиты новых психоактивных веществ.*

**7. Cann\_Metab** – некоммерческая специализированная экспертная библиотека масс-спектров электронной ионизации и индексов удерживания, предназначенная в первую очередь для предварительной и подтверждающей идентификации новых синтетических психоактивных веществ и их метаболитов. Идентификация всех веществ, представленных в библиотеке (свободные формы), подтверждена методом ЖХ-МС/МС с регистрацией точных масс.

Страна происхождения: РФ

**Автор:** Григорьев Андрей Михайлович, [chrzond4250@yandex.ru](mailto:chrzond4250@yandex.ru)

**Преимущества:** *В библиотеки включены только практически значимые анализы. Включает индексы удерживания целевых веществ и рекомендованные параметры хроматографического и масс-спектрометрического детектирования. Ориентированность на специфику ХТИ и СХА. Доступность.*

**Ограничения:** *Структурные формулы, приведенные в библиотеке NIST (Cann\_Metab), не являются точными. Локализация приобретенных функциональных групп (гидроксильных и карбонильных), а также двойных связей в пределах остатка, как правило, неизвестна. Исключение составляют только карбоксилированные и деметилированные метаболиты.*

**8. Pub\_sav50** – некоммерческая специализированная экспертная библиотека масс-спектров электронной ионизации в формате MSP с фиксированными временами удерживания (RTL) для колонки HP-5ms (Agilent, 30 м × 0.25 мм × 0.25 мкм) и двумя методами хроматографического разделения: SCREEN и DOAS с разным температурным градиентом для определения среднелетучих и труднолетучих веществ. Методы хроматографического разделения и алгоритмы идентификации, аффилированные с библиотекой, запатентованы [1-3] и опубликованы в периодической научной печати и монографии [4]. По библиотеке и методам анализа имеется более 50 актов внедрения за период с 1999 по 2019 г.г.

**Автор:** Савчук Сергей Александрович, *serg-savchuk@yandex.ru*

1. Савчук С.А. Система удаленной идентификации и распознавания объектов сложного состава Патент на изобретение (19)RU(11) 77474 (13) (51) МПК G06K 17/00 (2006.01). Дата начала срока действия патента 15.07.2008. Опубликовано 20.10.2008 Бюл. №29.
2. Савчук С.А., Чибисова М.В., Апполонова С.А. Анохин Л.А., Способ выявления неизвестных веществ в биологических жидкостях пациентов, принимавших наркотические или психоактивные вещества Патент на изобретение RU 2419788. Опубликовано 18.05.2011 г.
3. Савчук С.А., Апполонова С.А. Способ идентификации наркотических и психоактивных веществ в биологических жидкостях Патент на изобретение RU 2390771 C1 МПК G01N 30/86 (2006 01) приоритет от 05 февраля 2009 г. Опубликовано 27.05.2010 бюл. 15.
4. С.А Савчук, Г.М. Григорьев. Хромато-масс-спектрометрический анализ в наркологической и токсикологической практике. М. 2013, URSS. «Либроком» 224 с.

**9. RF-Des\_drug** – некоммерческая специализированная экспертная электронная библиотека масс-спектров, предназначенная для идентификации наркотических средств и психотропных веществ методом ГХ-МС. Содержит

масс-спектры электронной ионизации низкого разрешения контролируемых веществ. Структура новых психоактивных веществ, включенных в библиотеку, подтверждена методом ЯМР.

Страна происхождения: РФ. Свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2015620778.

Распространяется свободно через сайт <http://rfdesdrug.ru/>

**Автор:** Васильев Андрей Борисович [goldnayk@mail.ru](mailto:goldnayk@mail.ru)  
[av@heveltech.ru](mailto:av@heveltech.ru)

**Преимущества:** Большое число спектров контролируемых в РФ веществ. Высокое качество библиотеки. Производится в России - национальный продукт

**Ограничения:** Ориентированность на исследование вещественных доказательств.

### **4.3. Условия хроматографического разделения и масс-спектрометрического детектирования, ассоциированные с библиотеками масс-спектров**

Могут быть использованы методы хроматографического разделения, позволяющие выполнить идентификацию веществ как по абсолютным временам, так и по индексам удерживания.

#### **4.3.1. Условия хроматографического разделения и масс-спектрометрического детектирования, ассоциированные с библиотеками масс-спектров Cann\_Metab**

**Условия хроматографирования:**

- температура инжектора 270°C;
- температура интерфейса 280°C;
- температурные программы работы колонок:

Режим 1

Oven Ramp	°/min	Next °C	Hold, min
Initial		50	0.5
Ramp 1	99	100	1
Ramp 2	60	320	13

## Режим 2

Oven Ramp	°/min	Next °C	Hold, min
Initial		50	0.5
Ramp 1	99	100	1
Ramp 2	35	300	18

- режим испарителя – без сброса пробы (splitless);
- режим колонки (газ-носитель гелий) – постоянство давления (constant pressure);
- объем вводимой пробы – 0.2 мкл. Возможно введение больших объемов, однако, это приводит к сокращению службы колонки.

**Обнаружение (качественное определение) метаболитов.**

Автоматизированное обнаружение выполняют с помощью программы AMDIS в режиме использования индексов удерживания (Use Retention Index Data) при рекомендуемых параметрах:

- Minimum match factor: 40;
- RI window: 20 + 0;
- Match factor penalties (Level: Weak, Maximum penalty: 20; No RI in library: 10);
- Low и High m/z: Auto;
- Threshold: Off;
- Component width: 12;
- Adjacent peak subtraction: One;
- Resolution: Medium;
- Sensitivity: Very High;
- Shape requirements: Low;

- Column bleed: 207.

### Применение режимов элюирования (ГХ) и способов деконъюгирования

Соединение	Брутто-формула	ГХ	Деконъюгир.	Соединение	Брутто-формула	ГХ	Деконъюгир.
4F-MDMB-BINACA	C19H26FN3O3	2	О, Ф, (К)	CP47,497 C8*	C22H36O2	2	Ф
5F-ABICA	C19H26FN3O2	2	О, Ф, (К)	FDU-PB22	C26H18FN02	2	О, Ф
5F-AB-PINACA	C18H25FN4O2	2	О, Ф, (К)	FUB-PB22	C25H17FN2O2	2	О, Ф
5F-AKB-48	C23H30FN3O	1	К, Ф	JWH-018	C24H23NO	1	К, Ф
5F-MDMB-PICA	C21H29FN2O3	2	О, Ф, (К)	JWH-073	C23H21NO	1	К, Ф
5F-MDMB-PINACA	C20H28FN3O3	2	О, Ф, (К)	JWH-203	C21H22ClNO	2	К, Ф
5F-MMB-PINACA	C19H26FN3O3	2	О, Ф, (К)	JWH-210	C26H27NO	1	К, Ф
5F-MMB-PINACA	C19H26FN3O3	2	О, Ф, (К)	JWH-250	C22H25NO2	2	К, Ф
5F-PB-22	C23H21FN2O2	2	О, Ф, (К)	JWH-251	C22H25NO	2	К, Ф
AB-001	C24H31NO	2	К, Ф	MDMB-BINACA	C19H27N3O3	2	О, Ф
AB-CHMINACA	C20H28N4O2	2	О, Ф, (К)	MDMB-CHMICA	C23H32N2O3	2	К, Ф
AB-FUBINACA	C20H21FN4O2	2	О, Ф, (К)	MDMB-CHMINACA	C22H31N3O3	2	О, Ф, (К)
AB-PINACA	C18H26N4O2	2	О, Ф, (К)	MDMB-FUBINACA	C22H24FN3O3	2	О, Ф, (К)
ADB-FUBINACA	C21H23FN4O2	2	О, Ф, (К)	MN-18	C23H23N3O	1	К, Ф
AKB-48	C23H31N3O	1	К, Ф	PB-22	C23H22N2O2	2	О, Ф, (К)
AM-2201	C24H22FNO	2	К, Ф	RCS-4	C21H23NO2	2	К, Ф
AM-2233	C22H23IN2O	2	О, Ф	SDB-005	C23H22N2O2	2	К, О, Ф
AM-694	C20H19FINO	2	-	THJ-2201	C23H21FN2O	1	К, Ф
APINAC	C23H30N2O2	2	К, О, Ф	TMCP-CHMIN	C23H31NO	2	К, Ф
BB-22	C25H24N2O2	2	О, Ф	UR-144	C21H29NO	2	К, Ф
CBL-2201	C24H22FNO2	2	О, Ф	XLR-11	C21H28FNO	2	К, Ф

Примечание. Деконъюгир. – способ деконъюгирования: кислотный (К), основной (О) и ферментативный (Ф). (К) – способы деконъюгирования, приводящие к потерям метаболитов некоторых групп. ГХ – режим анализа

Линейные индексы удерживания измерены в двух температурных режимах (Режим 1 и Режим 2) при постоянной скорости потока носителя (constant flow, 1 мл/мин). Это объясняется значительным различием удерживания аналитов и необходимостью поддержания достаточной эффективной чувствительности. Температурная зависимость индекса удерживания положительная.

**Настройки масс-спектрометра:**

- режим: сканирование (SCAN);
- диапазон сканирования  $m/z$ : 29-650 Da;
- порог детектирования: 0.

**4.3.2. Условия хроматографического разделения и масс-спектрометрического детектирования, ассоциированные с библиотеками масс-спектров Pub\_sav50**

**Условия ГХ-МС анализа.** Хроматографический шприц перед анализом и после анализа промывают двумя растворителями (толуолом, ацетоном или хлороформом, ацетонитрилом), по 5 раз каждым растворителем.

**Метод 1 “SCREEN”.** Температурная программа термостата колонок: начальная температура 100°C с изотермической выдержкой в течение 1 мин, с последующим температурным градиентом 35°C/мин до 300°C с изотермической выдержкой 15 мин. Анализ в режиме постоянного давления (Constant Pressure). В качестве газа носителя используют гелий марки «А». Температура испарителя хроматографа составляет 270°C, аналитического интерфейса (хроматограф/масс-спектрометр) 280°C. Пробу вводят в режиме с делением потока (splitless).

Времена удерживания определяемых соединений получают по методу фиксации времен удерживания (Retention Time Locking, RTL). Настройку метода RTL осуществляют по дифениламину, меняя давление в узле ввода таким образом, чтобы время удерживания дифениламина в выбранных условиях хроматографирования составило  $5.54 \pm 0.03$  мин.

**Метод 2 “DOAS”.** Температурная программа термостата колонок: начальная температура 50°C с изотермической выдержкой в течение 0.5 мин, с последующим температурным градиентом 99°C/мин до 100°C и

изотермической выдержкой 1 мин, с последующим температурным градиентом 15°C/мин до 280°C и изотермической выдержкой 30 мин. Анализ в режиме постоянного давления (Constant Pressure). В качестве газа носителя используют гелий марки «А». Температура испарителя хроматографа составляет 270°C, аналитического интерфейса (хроматограф/масс-спектрометр) 280°C. Пробу вводят в режиме с делением потока (splitless). Настройку метода RTL осуществляют по дифениламину, меняя давление в узле ввода таким образом, чтобы время удерживания дифениламина в выбранных условиях хроматографирования составило 9.26±0.03 мин.

**Условия масс-спектрометрического детектирования.** Для многокомпонентной идентификации веществ по используют режим сканирования по полному ионному току (SCAN), при количественном анализе также используют режим сканирования по полному ионному току, а в случае необходимости определения с пределом обнаружения ниже 50 нг/мл используют режим мониторинга по выбранным ионам (SIM).

**Анализ в режиме сканирования по полному ионному току.** “Задержка на растворитель” (время включения катодов и анализатора после прохождения по колонке фронта растворителя) – через 3 мин после ввода пробы.

- Температура источника ионов: 230°C
- Температура анализатора: 150°C
- Диапазон масс  $m/z$ : 41-650 а.е.м.
- Напряжение на умножителе: результат, полученный при автоматической настройке по перфторбутиламину в режиме ATUNE.

**Анализ в режиме мониторинга по выбранным ионам (SIM).** Детектирование в режиме SIM выполняют в случаях, когда концентрация определяемых веществ ниже 25-50 нг/мл, при этом достоверность полученных результатов будет существенно ниже, поскольку полный спектр не фиксируется. В качестве характеристичных ионов могут быть выбраны:

базовый ион масс-спектра, молекулярный ион определяемого соединения или фрагментный ион наибольшей интенсивности. Выбранные ионы должны быть специфичны для определяемого соединения и не содержаться в фоне. Наиболее специфичный (целевой, target) ион используют для количественного определения, два других иона используют для подтверждения правильности идентификации.

**Анализ в режиме регистрации “SIM-SPECTRUM”.** Детектирование в режиме SIM существенные ограничения, поскольку не позволяет регистрировать полный спектр вещества, пригодный для библиотечной идентификации. В этом случае заключение о наличии определяемого вещества в пробе выполняют по соответствию измеренного и библиотечного времен удерживания, а также по соотношению площадей детектируемых трех фрагментных ионов. Однако, во многих случаях для подтверждения наличия вещества в пробе необходим именно полный спектр, который невозможно получить при детектировании малых концентраций. Для решения этой проблемы используют регистрацию в режиме “SIM-SPECTRUM”, что позволяет обеспечить сканирование полного спектра целевого вещества с чувствительностью близкой к чувствительности детектирования в режиме мониторинга выбранных ионов (SIM). Для этого создают SIM метод, в который вносят не только интенсивные фрагменты масс-спектра, но и минорные, а также изотопные ионы, составляющие масс-спектр вещества. Современные версии масс-спектрометрических детекторов позволяют регистрировать до 50 значений  $m/z$  в одном сегменте без потери чувствительности детектирования, что достаточно для регистрации полного масс-спектра, который складывается из ионов, выбранных для мониторинга в режиме SIM.

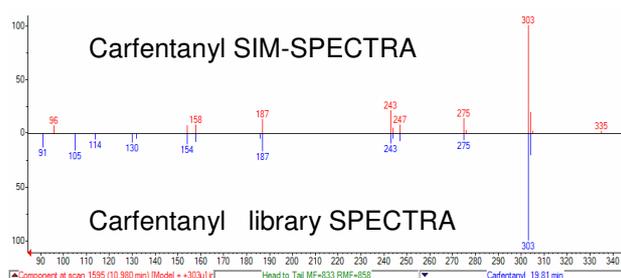
Подобный подход наиболее эффективен для надежной идентификации малых концентраций веществ, имеющих неспецифичные масс-спектры с

одним интенсивным ионом. К подобным веществам относится карфентанил, имеющий в масс-спектре только один интенсивный ион  $m/z$  303 и ряд других веществ, в структуре которых присутствует атом азота в алифатическом остатке (в т.ч. вещества групп фенэтиламинов и катинонов, дифенгидрамин, амитриптилин).

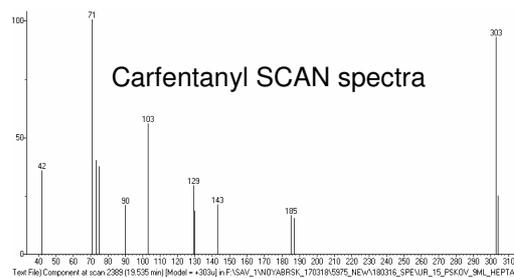
Пример сравнения масс-спектров карфентанила, регистрируемых в

SIM	303	304	305	335	275	247	243	187	154	158	276	244	105	0.00	0.00
SIM	259	260	261	230	216	203	215	202	172	159	160	145	146	257	110
SIM	245	189	188	132	131	130	118	96	91	93	77	79	0.00	0.00	0.00

экстракте мочи в режиме SIM-SPECTRUM и SCAN приведены на рис. 1а и 1в, соответственно.



GC-MS SIM-SPECTRUM (а)



GC-MS SCAN (б)

На рис. 1 видно, что масс-спектр, полученный в режиме полного сканирования не пригоден для библиотечной идентификации, тогда как масс-спектр, полученный при анализе того же экстракта на том же приборе в режиме SIM-SPECTRUM пригоден для идентификации, совпадение библиотечного и идентифицируемого спектров составило 83%.

**Таблица 1.** Метод SIM-SPECTRUM для определения карфентанила, 3-метилфентанила и фентанила в одном сегменте

### Примечания к таблице 1.

Метод: SCREEN, время удерживания дифениламина 5.54 мин.

m/z 303<sup>+</sup> базовый ион для карфентанила. Время удерживания карфентанила 10.64 мин.

m/z 259<sup>+</sup> базовый ион для 3-метилфентанила. Время удерживания изомеров 3-метилфентанила: 9.69 min (iso 1), 9.98 min (iso 2)

m/z 245<sup>+</sup> базовый ион для фентанила. Время удерживания фентанила 10.64 мин.

## **5. Рекомендации по масс-спектрометрической идентификации целевых веществ с помощью системы AMDIS**

**5.1. Для автоматической идентификации** применяют библиотеки в формате MSP (MSL), содержащие времена или индексы удерживания определяемых соединений, полученные при использовании методов п. 5.2. При отрицательном результате идентификации используют более подробные библиотеки в формате AMDIS (п.4.2.), не ассоциированные с хроматографическими методами. В этом случае при положительном результате идентификации желательно подтвердить ее правильность наличием метаболитов исследуемого вещества, либо анализом биологической пробы, содержащей идентифицируемое вещество или определением стандартного вещества.

### **5.2. Общие процедуры идентификации**

При обработке ион-хроматограмм система AMDIS выполняет ряд процедур, относящихся к получению чистых (свободных от фона) масс-спектров всех пиков, присутствующих на хроматограмме. Каждый полученный спектр сравнивается со спектрами, содержащимися в поисковой библиотеке. В случае подобия зарегистрированного и библиотечного спектров, AMDIS определяет соответствие измеренного удерживания и библиотечной записи. Наконец, вычисляется степень соответствия характеристик, измеренных для обнаруженного вещества и записанных в библиотеке – величина Net. В качестве характеристики удерживания (в

зависимости от библиотеки) могут применяться как алкановые индексы, так и фиксированные времена. При этом значение Net должно быть не менее 60, при значении purity (процент целевого компонента в общем ионном токе, включающим фон) 1% и выше, соответственно. Т.е. более интенсивный пик дает более выраженный масс-спектр, в большей степени совпадающий с библиотечным. При отсутствии времен или индексов удерживания возможны ошибки идентификации, вызванные малой специфичностью масс-спектров многих веществ. Важным моментом идентификации является проверка совпадения профиля минорных и изотопных ионов, а также наличие молекулярного иона (если присутствует в библиотечном спектре). В спектрах невысокой интенсивности должно совпадать не менее 2/3 минорных ионов. В спектрах высокой интенсивности совпадение, которое оценивают визуально, должно быть полным.

**5.3. Оценка результатов автоматизированного поиска** при оценке результатов автоматизированного поиска по библиотекам рекомендуется учитывать, в том числе, принципы, изложенные в SOFT/AAFS Forensic Laboratory Guidelines – 2006 (п. 8.2.10): «В рутинной практике интерпретация спектров полного сканирования масс ГХ/МС-ЕІ выполняется с помощью программного обеспечения прибора в качестве полуавтоматического поиска по библиотекам. Качество совпадения или «соответствия» может отражать фактор, который генерируется, либо в виде отношения, либо в процентах, где 1,0 или 100% являются «идеальными» совпадениями. Тем не менее, такие «коэффициенты соответствия (Match Factor)» должны использоваться только в качестве ориентиров и не являются достаточно надежными для использования в качестве окончательного фактора идентификации. Окончательный анализ «совпадения библиотек» должен выполнять токсиколог с большим опытом интерпретации масс-спектров; опыт и критическое суждение необходимы. Интерпретация, как минимум, должна основываться на следующих принципах.

Чтобы совпадение считалось «положительным», все основные и диагностические ионы, присутствующие в известном (эталонном) спектре, должны присутствовать в «неизвестном». Иногда ионы, которые находятся в контрольных спектрах, могут отсутствовать в «неизвестном» из-за низкой общей интенсивности масс-спектра. Если дополнительные ионы присутствуют в «неизвестном», хорошей практикой является попытка определить, являются ли дополнительные ионы коэлюирующим веществом или «фоном», таким как фон колонки или масло диффузионного насоса. Исследование восстановленных ионных хроматограмм подозреваемого коэлюирующего вещества относительно основных ионов из контрольного спектра поможет определить это».

**5.4. Особенности идентификации синтетических каннабимиметиков (библиотека Cann\_Metab).** СК подвержены очень быстрому и почти полному метаболизму. Содержание их метаболитов максимально в ранних (первых) образцах мочи, отобранных в течение 2-5 часов после приема. Далее концентрация метаболитов быстро снижается (примерно в 10-20 раз для второго отбора мочи через 4-7 часов после приема). Время уверенного обнаружения метаболитов в моче определяется принятой дозой и видом каннабимиметика и составляет примерно 1-3 сут. после приема. Обнаружение метаболитов в сыворотке крови возможно, по-видимому, в течение 5-8 часов после приема. Быстрое наступление смерти после приема СК нередко приводит к отсутствию метаболитов в моче; в то время как исходное соединение может быть обнаружено в крови, органах и тканях трупа.

Поскольку СК обладают различным психофизиологическим действием, то их дозировка в курительных смесях также различается. Это ведет и к вариациям в содержании метаболитов в моче. В этом случае рекомендуется пользоваться Режимом 2 и возможно, увеличивать объем вводимой пробы.

## **6. Последовательность выполнения измерений, контроль ложноположительных и ложноотрицательных результатов (библиотека Pub\_sav50)**

Последовательность выполнения измерений на хроматографе с масс-селективным детектором при анализе экстрактов биологических проб (мочи).

- 1. Контроль фона прибора.** Перед началом работы анализ растворителя (этилацетата) по методу SCREEN для контроля фона прибора по определяемым веществам.
- 2. Положительный контроль.** Анализ контрольной мочи (QC) содержащей известные введенные содержания определяемых веществ на уровне 100 нг/мл по методу DOAS.
- 3. Отрицательный контроль.** Анализ контрольной мочи (BLANK) не содержащей определяемых веществ по методу DOAS.
- 4. Контроль фона прибора между пробами.** Между пробами выполняют анализ растворителя (этилацетата) по методу SCREEN для контроля фона прибора по определяемым веществам.

### **Список литературы**

1. Sobolevsky T., Prasolov I., Rodchenkov G. Detection of JWH-018 metabolites in smokingmixture post-administration urine // Forensic Sci Int. 2010. V. 200. P. 141-147.
2. Grigoryev A., Savchuk S., Melnik A., Moskaleva N., Dzhurko J., Ershov M., Nosyrev A., Vedenin A, Izotov B, Zabirowa I, Rozhanets V. Chromatography–Mass Spectrometry Studies on the Metabolism of Synthetic Cannabinoids JWH-018 and JWH-073, Psychoactive Components of Smoking Mixtures // J. Chromatogr. B. 2011. V. 879. P. 1126-1136.
3. Григорьев А.М., Савчук С.А., Мельник А.А., Ершов М.Б., Джурко Ю.А., Веденин А.Н., Носырев А.Е., Изотов Б.Н., Рожанец В.В. Установление факта приема синтетического каннабиноида JWH-018 хромато-масс-

спектрометрическими методами // Журн. аналит. химии. 2012. Т. 67 С. 995-1004.

4. Изотов Б.Н., Савчук С.А., Григорьев А.М., Мельник А.А., Носырев А.Е., Джурко Ю.А., Забирова И.Г., Суркова Л.А., Листвина В.П., Самойлик Л.В., Рожанец В.В. Синтетические каннабиноиды в растительных смесях «Spice». Идентификация метаболитов JWH-018 как маркеров употребления в биологических жидкостях крыс и человека // Наркология. 2011. № 2. С. 73-84.

5. Grigoryev A., Savchuk S., Melnik A., Simonov A, Rozhanets V. Gas and liquid chromatography–mass spectrometry studies on the metabolism of the synthetic phenylacetylindole cannabimimetic JWH-250, the psychoactive component of smoking mixtures // J. Chromatogr. B. 2011. V. 879. P. 2519-2526.

6. Григорьев А.М., Мельник А.А., Савчук С.А., Симонов А.Б., Изотов Б.Н., Носырев А.Е., Рожанец В.В. Хромато-масс-спектрометрическая идентификация метаболитов синтетического каннабимиметика JWH-250 в биологических жидкостях человека и крыс // Наркология. 2012. № 6. С. 75-86.

7. Grigoryev A., Kavanagh P., Melnik A. The detection of the urinary metabolites of 3-[(adamantan-1-yl)carbonyl]-1-pentylindole (AB-001), a novel cannabimimetic, by gas chromatography-mass spectrometry // Drug Test. Anal. 2012. V. 4. P. 519-524.

8. The identification of the urinary metabolites of 3-(4-methoxybenzoyl)-1-pentylindole (RCS-4), a novel cannabimimetic, by gas chromatography/mass spectrometry / Kavanagh P., Grigoryev A., Melnik A., Simonov A. Journal of Analytical Toxicology 2012 36 303-311.

9. The detection of the urinary metabolites of 1-[(5-fluoropentyl)-1H-indol-3-yl]-(2-iodophenyl)methanone (AM-694), a high affinity cannabimimetic, by gas chromatography – mass spectrometry Grigoryev A., Kavanagh P., Melnik A. / Drug Testing and Analysis 2012 DOI 10.1002/dta.1336

10. UR-144 in products sold via the Internet: Identification of related compounds and characterization of pyrolysis products. / Kavanagh P., Grigoryev A., Savchuk S., Mikhura I., Formanovsky A. Drug Testing and Analysis 2013 DOI: 10.1002/dta.1456

11. Grigoryev A., Kavanagh P., Melnik A., Savchuk S., Simonov A. Gas and liquid chromatography-mass spectrometry detection of the urinary metabolites of UR-144 and its major pyrolysis product // J. Anal. Toxicol. 2013. V. 37. P. 265-276.

12. Kavanagh P., Grigoryev A., Melnik A., Savchuk S., Simonov A., Rozhanets V. Detection and tentative identification of urinary phase I metabolites of phenylacetylindole cannabидентиmimetics JWH-203 and JWH-251, by GC-MS and LC-MS/MS // J. Chromatogr. B. 2013. V. 934. P. 102-108.

13. Темердашев А.З., Григорьев А.М., Рыбальченко И.В. Эволюция новых наркотических средств и методы их определения // Журн. аналит. химии. 2014. Т. 69. № 9. С. 899-926.

14. Grigoryev A., Kavanagh P., Pechnikov A. Human urinary metabolite pattern of a new synthetic cannabimimetic, methyl 2-(1-(cyclohexylmethyl)-1H-indole-3-carboxamido)-3,3-dimethylbutanoate // Forensic Toxicol. 2016. V. 34. P. 316-328.

15. Kavanagh P., Grigoryev A., Krupina N. Detection of metabolites of two synthetic cannabimimetics, MDMB-FUBINACA and ADB-FUBINACA, in authentic human urine specimens by accurate mass LC-MS: a comparison of intersecting metabolic patterns // Forensic Toxicol. 2017. V. 35. P. 284-300.

16. 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. DOI: 10.1002/dta.2668.

17. Григорьев А.М., Савчук С.А., Джурко Ю.А., Мельник А.А., Симонов А.Б., Рожанец В.В. Обнаружение метаболитов синтетических каннабимиметиков в биологических объектах. В сб. "Актуальные вопросы судебно-химических и химико-токсикологических исследований", Материалы межрегиональной научно-практической конференции. Екатеринбург, 2011 г. С. 42-49.

18. Хромато-масс-спектрометрический анализ в наркологической и токсикологической практике / Савчук С.А., Григорьев А.М. М.: URSS, 2013, 224 с.

19. Shevyrin V., Melkozerov V., Nevero A., Eltsov O., Shafran Yu. Analytical characterization of some synthetic cannabinoids, derivatives of indole-3-carboxylic acid // Forensic Sci. Int. 2013. Vol. 232. P. 1-10.

20. Uchiyama N., Matsuda S., Kawamura M., Kikura-Hanajiri R., Goda Y. Two new-type cannabimimetic quinolinyl carboxylates, QUPIC and QUCHIC, two new cannabimimetic carboxamide derivatives, ADB-FUBINACA and ADBICA, and five synthetic cannabinoids detected with a thiophene derivative a-PVT and an opioid receptor agonist AH-7921 identified in illegal products // Forensic Toxicol. – 2013. – Vol. 31. – P. 223–240.

21. Uchiyama N., Matsuda S., Wakana D., Kikura-Hanajiri R., Goda Y. New cannabimimetic indazole derivatives, N-(1-amino-3-methyl-1-oxobutan-2-yl)-1-pentyl-1H-indazole-3-carboxamide (AB-PINACA) and N-(1-amino-3-methyl-1-oxobutan-2-yl)-1-(4-fluorobenzyl)-1H-indazole-3-carboxamide (AB-FUBINACA) identified as designer drugs in illegal products // Forensic Toxicol. – 2013. – Vol. 31. – P. 93–100.

22. Катаев С.С., Зеленина Н.Б., Дворская О.Н. Идентификация маркеров каннабимиметиков РВ-22 и РВ-22F в моче методом ГХ-МС // Бултеровские сообщения. – 2013. – Т.34.– №4. – С. 116 – 122.

23. Катаев С.С., Зеленина Н.Б., Дворская О.Н. Идентификация метаболитов каннабимиметика АВ-PINACA в моче методом ГХ-МС // Бутлеровские сообщения. – 2013. – Т.35.– №9. – С. 131 – 138.

24. Савчук С.А., Никитина Н.М., Зулаева А.С., Несмеянова Н.И., Константинова С.Д. Применение методов ГХ-МС и ВЭЖХ-МС/МС для определения наркотических веществ в волосах // Наркология. – 2012. – №10. – С. 72-79.

25. Шевырин В.А., Мелкозеров В.П., Моржерин Ю.Ю. Идентификация и аналитические характеристики двух новых синтетических каннабиноидов - производных индазола // Бутлеровские сообщения. – 2012. – Т.30. – №4. – С.93-98.

26. Савчук С.А., Гофенберг М.А., Никитина Н.М., Надеждин А.В., Тетенова Т.Ю. Определение маркеров синтетических каннабимиметиков РВ-РВ-22F, АВ-PINACA, АВ-FUBINACA в волосах и моче методом ГХ-МС. Наркология №11 2013 с.60-66

27. Гизетдинова Л. А., Мингазов А. А., Нугманова Р. Р., Дернова О. А., Пиляева А. Р., Савчук С. А. Хромато-масс-спектрометрическое определение нового наркотического средства метоксетамина и синтетических каннабимиметиков РВ22, РВ22F, АВ-PINACA, АВ-FUBINACA, FUB-РВ-22 в биологических жидкостях и образцах волос в Набережночелнинском наркологическом диспансере Наркология №3. 66—73 стр.

28. Савчук С.А., Никитина Н.М, Бондарь И.В., Надеждин А.В, Тетенова Е.Ю. , Ковинька М.А., Богинская Д.Д. Оптимизация методов пробоподготовки волос для анализа наркотических веществ методом газовой хроматографии с масс-селективным детектированием. Наркология №1 2014 С.97-98.

29. Скребкова К.А., Савчук С.А. Хроомато-масс-спектрометрическое исследование краев ногтевых пластин в лаборатории Курганского областного наркологического диспансера. Наркология. 2014. Т. 13. № 11 (155). С. 42-53.

30. Савчук С.А., Скребкова К.А., Никитина Н.М., Тумурова Л.В., Самышкина Н.В., Надеждин А.В., Тетенова Е.Ю. Дифференциация поверхностных загрязнений и объемных содержаний психоактивных веществ в волосах и срезах краев ногтевых пластин. Наркология. 2015. Т. 14. № 3 (159). С. 72-82.