

9 17-2/196



Кислякова Яна Юрьевна

**Разработка методик хроматомасс-спектрометрического
определения наркотических средств, психотропных веществ и
лекарственных препаратов в биообъектах**

02.00.02 – Аналитическая химия

АВТОРЕФЕРАТ

**диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук**

Москва

2017 г.

Работа выполнена на кафедре физической и коллоидной химии
Федерального государственного автономного образовательного учреждения
высшего образования «Российский университет дружбы народов».

Научный руководитель:

кандидат химических наук, доцент

Шешко Татьяна Федоровна

Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение высшего
образования «Российский университет
дружбы народов».

Официальные оппоненты:

Савельева Елена Игоревна

доктор химических наук, заведующая
лабораторией аналитической токсикологии
ФГУП «НИИГПЭЧ» ФМБА России.

Шантроха Александр Викторович

доктор химических наук, главный научный
сотрудник ФГУП «Научный Центр
«Сигнал».

Ведущая организация:

**НИИ Фармации Первого МГМУ
им. И.М. Сеченова**

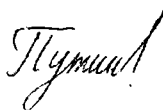
Защита состоится 08 июня 2017 г. в 16.00 часов на заседании
Диссертационного совета Д 212.131.10 на базе ФГБОУ ВО «Московский
технологический университет» по адресу: 119571, Москва, проспект Вернадского,
д. 86 (аудитория М-119).

Ваши отзывы на автореферат просим присылать по адресу: 119571, Москва,
пр. Вернадского, 86, ФГБОУ ВО «Московский технологический университет».

С текстом диссертации можно ознакомиться в библиотеке Московского
технологического университета по адресу: 119571, Москва, пр. Вернадского, д. 78 и
на сайте <https://www.mirea.ru/science-andinnovation/dissertation-tips/dissertation-council-d-212-131-10/>.

Автореферат диссертации разослан __. __. 2017 г.

Ученый секретарь
Диссертационного Совета



А.Ю. Путин

Актуальность: Одной из важнейших задач химико-токсикологического анализа (ХТА) и судебной медицины является обнаружение в биологических объектах экзогенных веществ, способных оказывать активное физиологическое воздействие на организм человека (далее ФАВ). Такие исследования необходимы, например, при проведении медицинского освидетельствования водителей на состояние наркотического опьянения, в ходе мониторинга употребления наркотических средств и психотропных веществ детьми школьного возраста, для установления причины летального исхода и при проведении оперативно-розыскных мероприятий, направленных на борьбу с незаконным оборотом наркотических средств и психотропных веществ.

Объекты исследования, представляющие наибольший интерес, – моча, кровь и волосы. После употребления вещества сохраняются в крови в среднем в течение 24-х часов, в моче – до 3х дней, а в волосах от месяца до нескольких лет, в зависимости от их длины. Основной недостаток мочи – содержание веществ преимущественно в виде метаболитов. Волосы же являются одним из наиболее перспективных биологических материалов химико-токсикологического исследования. Интерес к данному биообъекту обусловлен также тем, что он не требует особых условий хранения и содержащиеся в нем экзогенные вещества сохраняются достаточно долго, а также находятся преимущественно в нативном (неизменном) виде, что исключает необходимость поиска метаболитов. Однако анализ волос информативен лишь в случае многократного или хронического употребления экзогенных веществ.

Анализ мочи и крови позволяет определить даже однократное употребление человеком ФАВ, но в этом случае необходимо проводить определение как исходных соединений, так и их метаболитов. В некоторых же случаях ФАВ может полностью метаболизировать в организме человека. Поиск метаболитов зачастую затруднен ввиду отсутствия аналитических стандартов и образцов сравнения данных соединений.

Одной из наименее охваченных областей в ХТА волос является определение способа проникновения и удерживание экзогенных веществ в их структуре, что затрудняет определение условий пробоподготовки волос к инструментальному анализу. Поэтому для решения вопроса о выборе способов подготовки данного биообъекта к анализу, необходимо провести исследования степени и механизма адсорбции веществ на поверхности волос и установить характер их взаимодействия.

Основной проблемой обнаружения ФАВ в биообъектах является их низкое содержание, что требует применения высокочувствительных методов исследования. Одним из таких методов является хроматомасс-спектрометрия (ХМС), сочетающая хроматографию (газовую или жидкостную) и масс-спектрометрию. Наиболее широко в ХТА и судебной медицине применяется метод газовой хроматографии с масс-селективным детектированием (далее ГХ-МС). Он отлично подходит для скринингового анализа, однако, имеет ряд недостатков: низкая чувствительность, сложная и многоступенчатая пробоподготовка. Для анализа биообъектов методом ГХ-МС чаще всего используют масс-спектрометр с ионизацией электронным ударом и квадрупольным фильтром масс. Это позволяет проводить качественный и количественный анализ на наличие различных экзогенных веществ органической природы.

Более высокой чувствительностью и специфичностью обладает метод газовой хроматографии с tandemным масс-спектрометрическим детектированием (далее ГХ-МС/МС), он подходит как для скрининговых исследований, так и для направленного поиска веществ, хотя пробоподготовка остается такой же сложной. Альтернативным по селективности, но наиболее чувствительным методом является высокоэффективная жидкостная хроматография с tandemным масс-спектрометрическим детектированием (далее ВЭЖХ-МС/МС). Данный метод не требует такой сложной пробоподготовки, как ГХ-МС. ВЭЖХ-МС/МС, в отличие от ГХ-МС, используется как подтверждающий метод анализа, но для него не существует коммерчески доступных универсальных библиотек масс-спектров. Это приводит к необходимости создавать собственные методики, методы и библиотеки индивидуально под каждый прибор. Но благодаря высокой селективности tandemная масс-спектрометрия нашла широкое применение в ХТА и судебной медицине.

Использование ХМС для анализа волос диктует необходимость решения вопроса о выборе способа пробоподготовки этого твердого биообъекта, для чего также необходимо установить характер адсорбционного взаимодействия экзогенных веществ с матрицей волос.

Цель данной работы: разработка хроматомасс-спектрометрических методов исследования и определение оптимальных условий пробоподготовки для анализа наркотических средств, психотропных веществ и лекарственных препаратов (рис. 1) в объектах биологического происхождения.

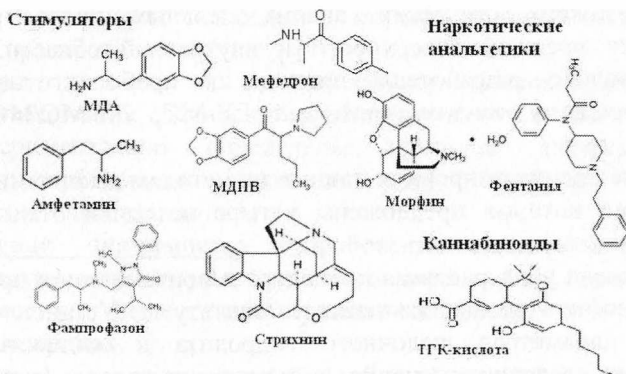


Рисунок 1. Структурные формулы некоторых наркотических средств, психотропных и лекарственных веществ, анализируемых в биообъектах методами ХМС.

Для достижения поставленной цели необходимо было решить ряд следующих **задач:**

1. Разработать методы извлечения наркотических средств (морфин, кодеин, «природные» и «синтетические» каннабиноиды), психотропных (амфетамин, метамфетамин, МДА, МДМА, МДЕА, МДПВ, РСР), сильнодействующих (фентанил, стрихнин) веществ и лекарственных препаратов (карбамазепин, амитриптилин) из матрицы волос.
2. Исследовать адсорбцию (1-пентил-1Н-индол-3-ил)-(4-этил-нафталин-1-ил)метанона (далее JWH-210) на поверхности измельченных волос и установить ее закономерности.
3. Разработать и апробировать новые подходы к экспрессному и эффективному экстракционному извлечению целевых веществ из биожидкостей (кровь, моча) для последующего хроматомасс-спектрометрического определения.
4. Оптимизировать инструментальные ХМС методы идентификации целевых веществ.
5. Определить метрологические характеристики разработанных методик анализа наркотических средств, психотропных, сильнодействующих веществ и лекарственных препаратов в биообъектах

Научная новизна: Впервые исследована адсорбция представителя синтетических каннабиноидов класса нафтоилиндола на темных и светлых образцах волос. На основании экспериментальных данных по адсорбции JWH-210 выбраны условия извлечения целевых аналитов из матрицы волос.

Химико-токсикологический анализ цельных волос разделен на исследование внешней поверхности и внутренней области. Изучены и экспериментально разработаны подходы к пробоподготовке волос к инструментальному анализу методами ГХ-МС, ГХ-МС/МС и ВЭЖХ-МС/МС.

Впервые проанализированы данные по методам деконтаминации волос, на основании которых предложены четыре методики отмытки внешней поверхности волос.

Предложена универсальная процедура деконтаминации при подготовке волос к химико-токсикологическому анализу. Установлено влияние изменения параметров щелочного гидролиза и жидкость-жидкостной экстракции на степени извлечения наркотических средств (морфин, кодеин, «природные» и «синтетические» каннабиноиды), психотропных (амфератмин, метамфетамин, МДА, МДМА, МДЕА, МДПВ, РСР), сильнодействующих (фентанил, стрихнин) веществ и лекарственных препаратов (карбамазепин, амитриптилин) из матрицы волос.

Впервые проведен анализ внешней поверхности волос на наличие синтетических каннабиноидов различных классов. Определены условия хроматографического разделения и детектирования каннабиноидов классов 3-нафтоилиндола, индол-3-карбоксилаты и индазол-3-карбоксамида методом ГХ-МС/МС. Предложены органические растворители, позволяющие избежать процессы метилирования целевых аналитов в инжекторе прибора.

Определены условия хроматографического разделения и детектирования каннабиноидов классов 3-нафтоилиндола, индол-3-карбоксилаты и индазол-3-карбоксамида методом ГХ-МС/МС. Для каждой группы синтетических каннабиноидов предложено выделять характеристический фрагментарный ион. Далее в режиме «Product ion» проводить скрининговый поиск фрагментов новых представителей каннабимиметиков на хроматограммах проб волос. Выбраны органические растворители для пробоподготовки волос, позволяющие избежать метилирования целевых аналитов в инжекторе прибора.

Показано, что применение ГХ-МС метода не позволяет одновременно идентифицировать наркотическое средство морфин и метаболит кодеина – норкодеин в моче ввиду незначительного отличия их масс-спектров, поэтому определены наиболее информативные ионы и энергии соударения для идентификации морфина, кодеина и норкодеина методом ВЭЖХ-МС/МС в режиме SRM. На основе результатов анализа проб мочи людей, принимавших кодеин и морфин, предложены критерии дифференциации

употребления наркотического средства морфин и кодеинсодержащих лекарственных препаратов.

Предложены подходы к экспрессному высокоэффективному извлечению органических соединений из биологических жидкостей (моча, кровь). Экспериментально определены критерии дифференциации употребления морфина и кодеина по результатам химико-токсикологического анализа мочи.

Практическая значимость: Разработаны высокочувствительные методики хромато-масс-спектрометрического определения наркотических средств, психотропных веществ и лекарственных препаратов в различных биологических матрицах.

Разработанные в ходе данной работы методики химической идентификации ФАВ различных классов в объектах биологического происхождения методами ГХ-МС, ГХ-МС/МС и ВЭЖХ-МС/МС (см. Приложение) успешно применяются в практике Института криминалистики Центра специальной техники ФСБ России.

Внедрение данных методик позволяет проводить криминалистические экспертизы объектов биологического происхождения на современном научно-техническом уровне.

Основные положения, выносимые на защиту:

Результаты исследования адсорбции JWH-210 на образцах измельченных темных и светлых волос, доказывающие наличие хемосорбции экзогенных веществ матрицей волос.

Разработка эффективных способов пробоподготовки волос, мочи и крови к инструментальному анализу.

Разработка методик обнаружения стимуляторов, анальгетиков, галлюциногенов, антидепрессантов, а также «природных» и «синтетических» каннабиноидов в волосах методами ГХ-МС, ГХ-МС/МС и ВЭЖХ-МС/МС.

Разработка методик экспрессного обнаружения наркотических средств, психотропных веществ и лекарственных препаратов в биологических жидкостях методом ВЭЖХ-МС/МС.

Критерии дифференцирования случаев употребления кодеина и опиатов по результатам анализа мочи разработанными методиками.

Достоверность результатов обеспечивается применением поверенного оборудования, валидированных аналитических процедур, обеспечивающих воспроизводимость и правильность экспериментальных данных и подтверждается соответствием полученных результатов современным теоретическим представлениям.

Апробация результатов исследования. Результаты работы докладывались на следующих конференциях:

Всероссийская научная конференция молодых ученых «Медико-биологические аспекты химической безопасности», Санкт-Петербург, 2013.

Всероссийская конференция молодых ученых, аспирантов и студентов с международным участием по химии и наноматериалам «Менделеев-2013», «Менделеев-2014», Санкт-Петербург, (2013, 2014).

Молодежная научно-техническая конференция «Наукоемкие химические технологии - 2013», Москва, МИТХТ, 2013.

Всероссийская научная молодежная школа-конференция «Химия под знаком Сигма: исследования, инновации, технологии», Омск, 2014.

International conference of young scientists on chemistry «Mendeleev-2015», St. Petersburg, 2015.

Публикации. Основное содержание работы отражено в 21 печатной работе, в том числе в 6 научных статьях в журналах, рекомендуемых ВАК, 6 тезисах докладов на международных и российских конференциях и 9 методиках.

Структура и объем работы. Работа изложена на 147 страницах машинописного текста, включающего 38 таблиц и 58 рисунков. Диссертация состоит из введения, двух глав, выводов и списка цитируемых источников, включающего 146 наименования.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Во введении обоснована актуальность и практическая значимость работы, сформулированы цели и задачи исследования. В **первой** главе «Литературный обзор» изложены особенности изучаемых биологических объектов и анализируемых в них веществ, а также представлены основные этапы подготовки и инструментального анализа данных биообъектов.

Во **второй** главе представлены условия проведения исследований: аппаратура, материалы и реагенты, использованные в работе.

Использовали следующее **оборудование**: ГХ-МС систему, состоящую из газового хроматографа «5890», оборудованного системой автоматического ввода пробы, соединенного с одноквадрупольным масс-спектрометром «5975С» фирмы «Agilent Technologies» (США); ВЭЖХ-МС/МС системы, состоящие из: 1. Высокоэффективного жидкостного хроматографа «Accela», оборудованного системой автоматического ввода пробы, с тройным квадрупольным масс-анализатором «TSQ Quantum Access MAX» фирмы «Thermo Scientific» (США), и 2. Высокоэффективного жидкостного хроматографа серии 1200 фирмы «Agilent Technologies» (США), оборудованного системой автоматического ввода пробы и

соединенного с трехквადрупольным масс-селективным детектором TSQ Quantum фирмы "Thermo Scientific" (США); ГХ-МС/МС систему, состоящую из газового хроматографа модели «7890», оборудованного системой автоматического ввода пробы, соединенного с квадрупольным масс-спектрометром модели «7000А» фирмы «Agilent Technologies» (США).

Разделение проводили на хроматографических колонках: 1. ВЭЖХ: Hypersil Gold Biphenyl размером 75х4.6мм, с диаметром частиц сорбента 3.5мкм «Thermo Scientific» (США); Hypersil Gold Biphenyl размером 50х4.6мм, с диаметром частиц сорбента 1.9мкм «Thermo Scientific» (США); Zorbax Eclipse Plus C18 размером 2.1 мм х 150 мм с диаметром частиц сорбент 1.8 мкм (Agilent, США). 2. ГХ: HP-5MS и DB-5MS размерами 30 м х 0.25 мм, толщина неподвижной фазы 0.25 мкм (Agilent, США).

В **третьей** главе приведены результаты исследования взаимодействия (1-пентил-1Н-индол-3-ил)-(4-этилнафталин-1-ил)метанона с поверхностью волос. Литературные данные по проведению адсорбционных экспериментов веществ на волосах крайне редки, что делает проведенные исследования уникальными.

Для исследований был выбран (1-пентил-1Н-индол-3-ил)-(4-этилнафталин-1-ил)метанон (известный как JWH-210). Данное соединение представляет практический интерес в области химико-токсикологического анализа, так как входит в состав курительных смесей типа «Spice» и способно как адсорбироваться на поверхности прикорневой области волос из дыма, предварительно растворяясь в пото-жировых выделениях кожи, так и проникать в структуру волоса из кровотока в результате курения смесей. Исследование адсорбции проводили методом ГХ-МС. Адсорбцию проводили из метанольных растворов JWH-210 различных концентраций на черных и русых волосах людей, не употребляющих наркотических средств и психотропных веществ. Применение метанольных растворов адсорбата моделирует процесс адсорбции экзогенных веществ в структуру волоса из пото-жировых выделений кожи.

В результате проведенных исследований были рассчитаны величины адсорбции (1-пентил-1Н-индол-3-ил)-(4-этилнафталин-1-ил)метанона на темных и светлых волосах из растворов различных концентраций. Для каждого уровня концентраций адсорбата были определены скорости W его адсорбции, характеризующую силу центров (табл. 1).

Таблица 1. Результаты анализа кинетических зависимостей адсорбции JWH-210 на темных (Т) и светлых (С) волосах.

Исходная концентрация адсорбата, мкг/мл	Скорость на первом типе центров адсорбции (быстрая), ммоль/(г*мин)		Скорость на втором типе центров адсорбции (средняя), ммоль/(г*мин)		Скорость на третьем типе центров адсорбции (медленная), ммоль/(г*мин) $\times 10^3$		N равновесная, ммоль/г	
	Т	С	Т	С	Т	С	Т	С
50	2.47	2.55	1.95	0.18	2.98	2.44	0.27	0.27
100	2.11	2.30	1.52	0.08	2.44	1.63	0.33	0.33
250	2.38	2.60	0.24	0.07	4.88	4.07	0.70	0.57
500	2.36	2.60	0.50	0.04	1.90	1.08	2.87	1.54
750	2.52	2.66	2.28	1.52	4.34	2.71	7.94	5.56
1000	3.04	4.69	2.41	2.17	5.15	3.25	33.96	28.54

По величине скорости адсорбции центры делятся на быстрые, медленные и средние. Адсорбция на быстрых центрах носит физический характер и может быть связана с пористостью адсорбента. Адсорбция на средних центрах, вероятно, характеризуется электростатическим притяжением природного компонента волос – кератина с молекулой адсорбата (рис. 2), а на медленных – хемосорбцией основного компонента волос – меланина с молекулой адсорбата, путем образования водородных связей между кетонной группой в молекуле JWH-210 и карбоксильными или NH-группами меланина (рис. 2).

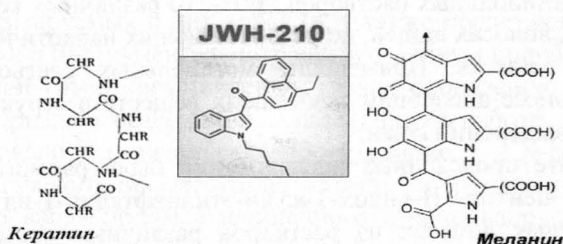


Рисунок 2. Структурные формулы адсорбата (JWH-210) и фрагментов компонентов матрицы волос (кератин и меланин)

Скорость быстрой адсорбции на светлых волосах выше, чем на темных. Данный факт можно объяснить различной пористостью измельченных темных и светлых волос, полученной вследствие их измельчения в

криомельнице. На рис. 3 представлены их фотографии, полученные при 120 кратном увеличении, из которых видно, что пористость измельченных белых волос выше, чем темных.

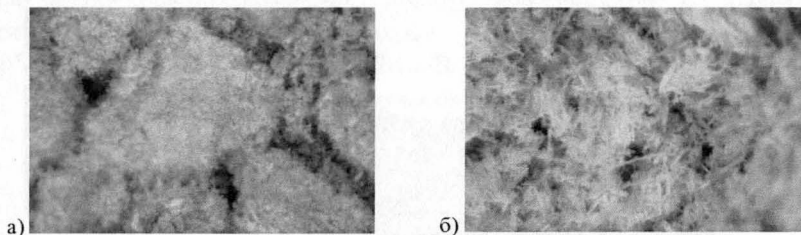


Рисунок 3. Фотография измельченных в криомельнице темных (а) и светлых (б) волос (масштаб 1:120).

Исследование показало, что размер пор темных волос составляет $8,68 \cdot 10^{-8}$ м, а светлых – $12,84 \cdot 10^{-8}$ м. Площадь поверхности измельченных темных волос составляет $1,13 \text{ м}^2/\text{г}$, а светлых – $2,47 \text{ м}^2/\text{г}$. Полученные результаты хорошо коррелируют с данными по адсорбции JWH-210 на исследуемых образцах: если пористость больше, то скорость быстрой адсорбции выше (см. рис. 4).

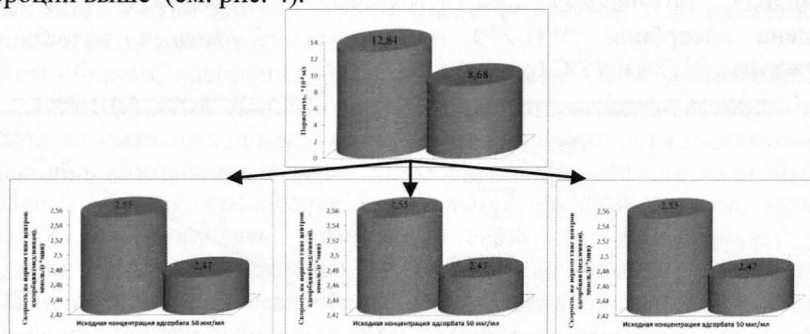


Рисунок 4. Диаграммы пористости (верхний) и скоростей медленной адсорбции при различных исходных концентрациях адсорбата (нижние) для темных (красный цвет) и светлых (синий цвет) волос.

Экспериментальные данные по адсорбции JWH-210 на поверхности волос были обработаны в линейных координатах данных уравнений Лэнгмюра, Фрейндлиха, Темкина и Дубинина-Радушкевича.

Установлено, что с наибольшим коэффициентом корреляции адсорбции целевого вещества как на светлых, так и на темных волосах описывается моделью Фрейндлиха (рис. 5).

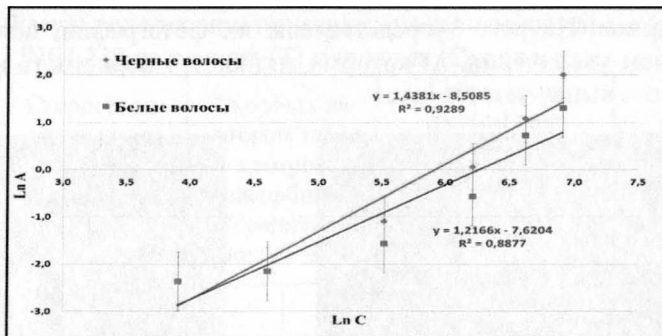


Рисунок 5. Изотермы адсорбции (1-пентил-1Н-индол-3-ил)(4-этилнафталин-1-ил)метанона на темных и светлых волосах, построенные в линейных координатах Фрейндлиха.

Полученные изотермы описывают сильное межмолекулярное взаимодействие в веществе сорбата, из чего следует, что связь экзогенных веществ со структурой волос характеризуется преимущественно хемосорбцией.

Согласно литературным данным, подтверждением хемосорбции является пересечение в одной точке линейных изотерм уравнения Фрейндлиха, полученных при различных температурах. Для этого проведена адсорбция JWH-210 на темных и светлых волосах при температурах 21, 36 и 45°C (рис. 6).

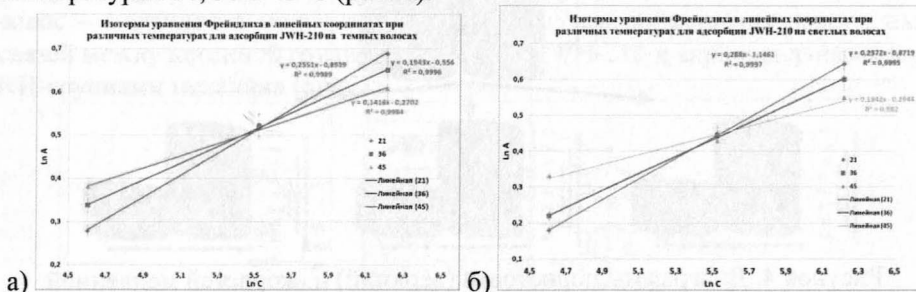


Рисунок 6. Изотермы уравнения Фрейндлиха.

Из рис. 6 видно, что в обоих случаях изотермы адсорбции при всех трех температурах пересекаются в одной точке, что служит косвенным подтверждением хемосорбционного взаимодействия JWH-210 с поверхностью волос.

Хемосорбция органических веществ на волосах, как полагают многие исследователи, основана на химическом взаимодействии аминогрупп веществ основной природы с карбоксильными группами меланина: 1. чем

богаче волосы этим пигментом, тем большее количество вещества хемосорбируется на них; 2. чем основность адсорбата больше, тем выше адсорбция. На фотографии измельченных темных волос, полученной с помощью микроскопа в режиме 240 кратного увеличения (рис. 7), выделены предположительные пигментированные центры, отвечающие за хемосорбцию экзогенных веществ в матрице волос.

Предположительные центра адсорбции темных волос

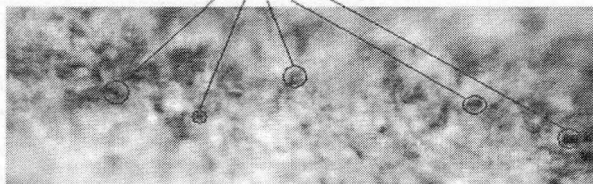


Рисунок 7. Фотография темных волос, полученная при 240 кратном увеличении.

По адсорбции пиридина определено количество кислотных центров поверхности, которое для темных волос составило $3,5 \times 10^{-4}$ моль/г, для светлых – $1,9 \times 10^{-4}$ моль/г. Полученные данные доказывают, что предельная адсорбция JWH-210 на темных волосах (33,96 мкмоль/мг) выше, чем на светлых (28,54 мкмоль/мг), что объясняет различие их кислотности, связанной с содержанием в них меланина.

Таким образом, адсорбция JWH-210 из раствора на реальных образцах волос, моделирующая процесс попадания экзогенных соединений в их структуру из кровотока, доказывает образование химических связей данных соединений с компонентами волос. Следовательно, для извлечения веществ из волос требуется проведение специальной пробоподготовки, которая позволила бы разрушать химические связи адсорбат-адсорбент для проведения десорбции экзогенных ФАВ из структуры данного биообъекта.

Разработка методов извлечения целевых веществ из матрицы волос, оптимизация инструментальных ХМС методов идентификации целевых веществ и проведение валидации разработанных методик анализа наркотических средств и психотропных веществ в волосах изложены в **четвертой** главе.

С точки зрения ХТА исследование волос делится на следующие этапы:

- Анализ внешней поверхности.
- Промывка от внешних загрязнений.
- Анализ внутренней области волос.

Внешний смыв с волос проводится для установления факта контакта с целевыми экзогенными веществами. Например, при судебном

делопроизводстве для доказательства контакта с наркотическими средствами и психотропными веществами.

Проведена серия экспериментов по определению условий проведения внешнего смыва методом ГХ-МС. В качестве анализируемых веществ были использованы: МДМА (экстази), кокаин, морфин, кодеин, тетрагидроканнабинол (ТГК, основной компонент марихуаны), героин и синтетические каннабиноиды (AB-Fubinaca, AM-2201, JWH-210).

Экспериментальное сравнение эффективности четырех основных схем внешнего смыва (табл. 2), в которых были использованы метанол, ацетонитрил и смесь гексан:этилацетат в объемном соотношении 5:1 показало, что самые низкие степени извлечения целевых аналитов наблюдались для схемы 4 (табл. 3), в которой использовалась выдержка в смеси гексан:этилацетат (5:1, v/v) с последующим перерастворением сухого остатка в ацетонитриле.

Таблица 2. Описание схем внешнего смыва волос

Номер этапа	1 схема	2 схема	3 схема	4 схема
1	Выдерживание в 5 мл метанола в ультразвуковой бане при комнатной температуре в течение 30 мин	Выдерживание в 5 мл ацетонитрила в ультразвуковой бане при комнатной температуре в течение 30 мин	Выдерживание в 5 мл метанола в ультразвуковой бане при комнатной температуре в течение 30 мин	Выдерживание в 5 мл смеси гексан:этилацетат (5:1) в ультразвуковой бане при комнатной температуре в течение 30 мин
2	Отбор органического слоя в чистые пробирки и упаривание в токе азота при температуре 50°C			
3	Перерастворение сухого остатка в 100 мкл метанола	Перерастворение сухого остатка в 100 мкл ацетонитрила	Перерастворение сухого остатка в 100 мкл ацетонитрила	Перерастворение сухого остатка в 100 мкл ацетонитрила

Наиболее высокие степени – для схем 1 (выдержка в метаноле с последующим перерастворением сухого остатка в метаноле) и 2 (выдержка в ацетонитриле с последующим перерастворением сухого остатка в ацетонитриле). Несмотря на то, что метанол (α_1 , табл. 3) продемонстрировал большую эффективность, чем ацетонитрил (α_2 , табл. 3), для перерастворения сухого остатка, содержащего синтетические каннабиноиды, применение метанола нежелательно, так как возможно образование в инжекторе хроматографа метилированных артефактов целевых соединений. Идентификация таких артефактов затруднена ввиду изменения массы родительского иона и отсутствия их спектров в

библиотеках. В связи с этим нами была выбрана схема 2 для исследования внешней поверхности волос.

Таблица 3. Степени извлечение целевых аналитов с внешней поверхности волос по предложенным схемам

Схема №	Степень извлечения, %								
	МДМА	Кокаин	Кодеин	Морфин	ТГК	Героин	AB-FUBINACA	AM-2201	JWH-210
1	50.1	77.5	67.3	92.4	61.7	71.4	79.0	94.6	65.0
2	36.5	74.3	60.1	45.9	54.3	73.5	72.0	82.6	53.8
3	28.6	54.7	38.8	33.4	34.2	55.1	44.2	54.0	36.9
4	н.д.	21.2	11.2	11.7	17.6	24.1	21.1	24.1	16.0

Следующий этап анализа волос – промывка от внешних загрязнений. В настоящее время разработаны несколько различных способов деконтаминации волос и каждая лаборатория придерживается своего способа. Не существует стандартного общепринятого метода отмывки волос от внешних и пото-жировых загрязнений. В литературе отсутствуют данные по экспериментальной оценке эффективности различных способов деконтаминации, что делает исследования уникальными и необходимыми для унификации данного процесса. Исследования проводили методом ГХ-МС на модельных образцах волос, искусственно загрязненных амфетамином.

Анализ изменения содержания искусственного внешнего загрязнителя (амфетамина) между всеми предложенными схемами отмывки показал, что самым эффективным является последовательное перемешивание на орбитальном шейкере по 30 мин в 4 мл деионизированной воды с добавлением 5 мг додецилсульфата натрия, 4 мл метанола, 4 мл хлороформа и 4 мл метанола.

Такой способ отмывки является оптимальным и достаточным для дальнейшего проведения химико-токсикологического анализа внутренней области волос.

Следующий этап анализа волос – исследование внутренней области, которое и позволяет сделать вывод об употреблении того или иного вещества. Для извлечения веществ из волос существует два метода – механическое измельчение (ножницами или с помощью шаровой мельницы) с длительной выдержкой в растворителе и щелочной гидролиз. В случае механического измельчения происходит потеря образца и степень деструкции не постоянна. Применение щелочного гидролиза позволяет полностью перевести твердые образцы волос в раствор.

Условия щелочного гидролиза в литературе очень разнятся, поэтому проведен эксперимент по подбору таких параметров гидролиза как концентрация щелочи (0,5, 1,0, 1,5, 2,0, 2,5 и 5 моль/л), время (0,5, 1,0, 1,5, 2,0 и 3,0 часа) и температура (40, 50, 60, 70 и 80°C) выдержки для таких классов веществ как стимуляторы ЦНС, анальгетики, галлюциногены и антидепрессанты. Эффективность параметров гидролиза определяли по рассчитанным степеням извлечения (см. рис 8).

Оценка зависимости степеней извлечения аналитов от концентрации щелочи, показала, что для всех групп веществ оптимальным является раствор 1,5 N КОН в воде. Максимальная степень извлечения для стимуляторов ЦНС достигается при гидролизе в течение 1 часа, а при увеличении времени гидролиза наблюдается резкое уменьшение степеней их извлечения, что может быть связано с деструкцией анализируемых веществ при длительном взаимодействии с щелочью. Для антидепрессантов максимальные степени извлечения соответствуют полторачасовой выдержке в щелочи, а для галлюциногенов и анальгетиков – при часовой.

Оптимальным температурным режимом щелочной деструкции волос для всех групп веществ выбрано термостатирование при 60°C.

Таким образом, в качестве универсального метода пробоподготовки волос выбран гидролиз в 1,5 N водном растворе КОН при 60°C в течение часа.

Для извлечения целевых аналитов из гидролизата выбран универсальный экстрагент путем сравнения степеней извлечения анализируемых веществ для наиболее часто применяемых в практике ХТА растворителей: метилтретбутилового эфира, хлороформа, диэтилового эфира и смеси гексан:этилацетат (2:1) (см. табл. 4).

Таблица 4. Степени выхода целевых аналитов

Экстрагент Название вещества	Метилтрет- бутиловый эфир	Хлороформ	Диэтиловый эфир	Гексан : этилацетат 2:1 (v:v)
Стимуляторы				
Амфетамин ТФА	68,6 %	15,3 %	46,4 %	78,4 %
Метамфетамин ТФА	33,6 %	6,0 %	47,1 %	46,5 %
МДА ТФА	33,1 %	8,6 %	12,7 %	32,9 %
МДМА ТФА	56,8 %	3,0 %	55,2 %	54,4 %
МДЕА ТФА	12,4 %	7,1 %	11,1 %	14,4 %
Фампрофазон	31,4 %	22,7 %	29,0 %	31,3 %

Анальгетики				
Кодеин	40,6 %	16,8 %	22,0 %	58,1 %
Галлюциногены				
РСР	53,1 %	50,2 %	55,5 %	63,5 %
Антидепрессанты				
Амитриптилин	34,4 %	20,3 %	24,2 %	26,2 %
Карбамазепин	56,0 %	8,4 %	60,8 %	61,4 %

Из таблицы 4 видно, что смесь гексан : этилацетат (2:1, v:v) является наиболее эффективным экстрагентом. Инструментальный анализ целевых соединений в волосах проводили после получения трифторуксусных производных методом ГХ-МС в режиме выбранных ионов (SIM), условия которого разработаны экспериментально.

Разработанная методика химической идентификации стимуляторов, анальгетиков, галлюциногенов и антидепрессантов в волосах методом ГХ-МС [10] прошла процедуру валидации (табл. 5), удовлетворяет требованиям СОНТ (всемирное общество анализа волос) и успешно применяется в экспертной практике Института Криминалистики Центра специальной техники ФСБ России (акт внедрения).

Таблица 5. Метрологические характеристики разработанной методики (P=0,95, N=30)

Название вещества	Введено, C_0 , нг/мг	Найдено, $C+\Delta C$, нг/мг	S	S_r
Амфетамин	15,0	14,6±0,8	1,22	0,08
МДМА	20,0	18,9±1,2	2,57	0,14
Кодеин	10,0	9,6±0,6	0,90	0,09
РСР	10,0	9,7±0,4	1,1	0,11
Амитриптилин	10,0	9,8±1,0	1,03	0,10
Карбамазепин	25,0	25,2±1,3	3,2	0,12

С целью сокращения времени анализа волос на наличие стимуляторов и галлюциногенов и повышения чувствительности использован метод ВЭЖХ-МС/МС, что позволило исключить стадию дериватизации при подготовке волос к анализу. Использование разработанных условий детектирования целевых аналитов в режиме мониторинга единичных реакций (SRM), позволило повысить селективность и чувствительность по анализируемым веществам.

В результате валидации методики химической идентификации стимуляторов и галлюциногенов в волосах методом ВЭЖХ-МС/МС [16] (табл. 6) установлено, что предел детектирования для всех классов веществ составляет 10 пг/мг, что в 10 раз превышает рекомендованный СОНТ. Общее время анализа стимуляторов и галлюциногенов в волосах согласно данной методике составляет 4 часа, что делает ее экспрессной.

Таблица 6. Метрологические характеристики разработанной методики
($P=0,95$, $N=10$)

Название вещества	Введено, C_0 , пг/мг	Найдено, $C+\Delta C$, пг/мг	S	S_r
Амфетамин	10,0	9,2±1,4	1,25	0,14
МДМА	10,0	8,9±1,2	1,17	0,13

Одним из наиболее актуальных на сегодняшний день классов веществ, представляющих интерес для анализа во внутренней области волос являются каннабиноиды, которые делятся на «природные» – компоненты гашиша и марихуаны (тетрагидроканнабинол (ТГК), каннабинол и каннабидиол») и «синтетические», так называемые каннабимиметики, входящие в состав курительных смесей Spice.

В случае с «природными» каннабиноидам в волосах будут содержаться ТГК и его основной метаболит 11-нор- Δ^9 -тетрагидроканнабиноловая кислота (ТГКК). Оба вещества труднолетучие и химически не устойчивые, поэтому выбран ВЭЖХ-МС/МС метод и экспериментально определены условия их SRM детектирования.

Для пробоподготовки волос как в случае стимуляторов ЦНС, галлюциногенов, анальгетиков и антидепрессантов выбраны щелочной гидролиз с последующей жидкость-жидкостной экстракцией (ЖЖЭ). Однако ввиду химической неустойчивости ТГК и ТГКК подобраны более мягкие условия гидролиза: выдержка в 1,0 N растворе КОН при 95°C в течение 15 минут. Ввиду высокой липофильности анализируемых веществ для их экстракции из гидролизата установлено эффективное соотношение растворителей в смеси гексан:этилацетат на примере ТГКК (см. рис. 9).

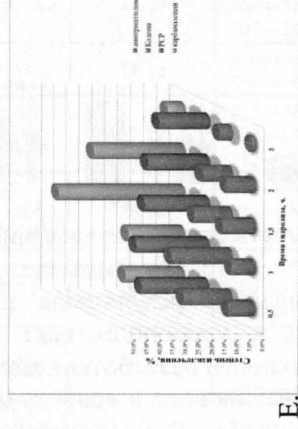
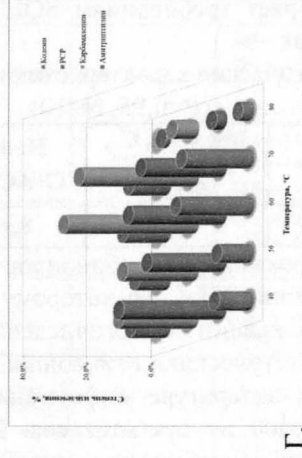
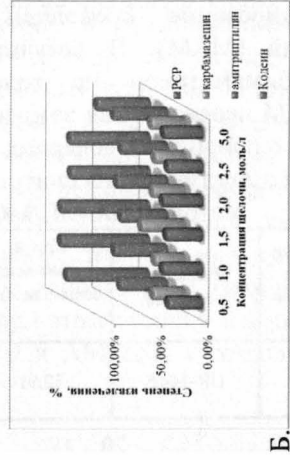
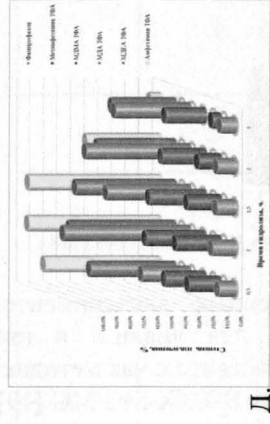
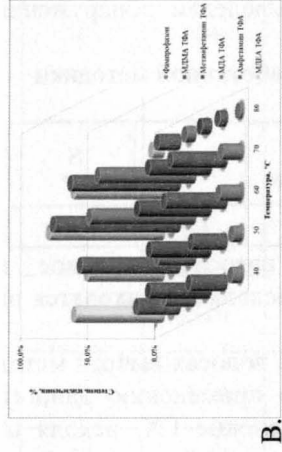
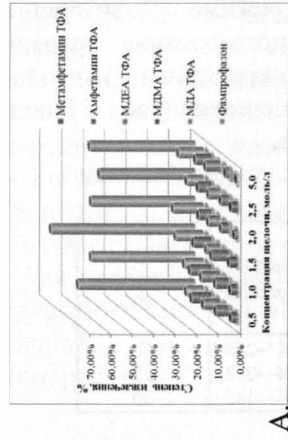


Рисунок 8. Зависимость степени извлечения целевых аналитов от концентрации щелочи (А, Б), температуры (В, Г) и времени (Д, Е) гидролиза

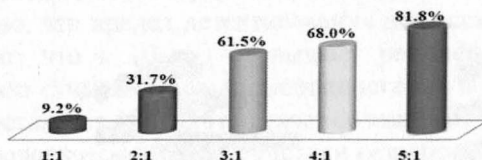


Рисунок 9. Зависимость степени извлечения ТГКК от соотношения гексан:этилацетат

На основании анализа результатов проведенных экспериментов оптимизирован подход к пробоподготовке волос для анализа в них «природных» каннабиноидов и разработана высокочувствительная методика анализа природных каннабиноидов в волосах методом ВЭЖХ-МС/МС [19]. Проведение валидации (табл. 7) полученной методики показало, что ее уровень ПД удовлетворяет требованиям SOHT к пределам обнаружения каннабиноидов в волосах.

Таблица 7. Метрологические характеристики разработанной методики (P=0,95, N=10)

Название вещества	Введено, C_0 , пг/мг	Найдено, $C \pm \Delta C$, пг/мг	S	S_r
ТГКК	10,0	$8,9 \pm 1,1$	1,33	0,15

Анализ синтетических каннабиноидов в волосах – новое и перспективное направление ХТА, по которому исследования находятся на начальной стадии и публикации немногочисленны.

Для анализа «синтетических» каннабиноидов в волосах выбран метод ГХ-МС/МС, так как в литературе информация по применению данного метода для анализа волос не представлена. Применение ГХ, исходя из структуры синтетических каннабиноидов, весьма актуально, т.к. не требуют дериватизации. Детектирование проводили в режиме мониторинга множественных реакций (MRM). В результате исследования условий детектирования каннабимиметиков не только определены наиболее характеристические MRM переходы для каждого соединения (табл. 8), но и сделано предположение о природе их дочерних ионов.

Таблица 8. Условия детектирования синтетических каннабиноидов методом ГХ-МС/МС

№ сегмента	Начальное время сканирования, мин	Название вещества	Время удерживания вещества, мин	MRM-переходы	Энергия соударения, эВ
1	12.00	UR-144F	12.91	304→233 304→213 304→145	20 20 30

2	13.00	AB-PINACA-F	13.32	304→233 304→213 304→145	20 20 30
		AB-PINACA	14.18	330→215 330→145	20 30
3	16.00	AB-CHMINACA	17.72	312→241 312→145 312→117	20 30 40
4	18.05	AB-FUBINACA	18.13	324→253 324→145 324→109	20 30 30
5	18.60	THJ-2201	18.70	360→285 360→271 360→215	20 20 40
		AM-2201	18.83	360→284 360→270 360→342	20
6	23.00	AM-2233	23.98	458→400 458→260	20
		JWH-210	24.06	369→341 369→312 369→270 369→195	20
7	24.60	PB-22	24.22	358→214 358→144 358→116	20 40 40
		NM-2201	24.73	375→232 375→144 375→116	20 40 40
8	25.00	PB-22F	25.10	376→232 376→144 376→116	20 40 40
9	25.90	AM-1220	26.06	382→324 382→184 382→227	20
10	26.50	QCBL-BZ-F	27.52	396→252 396→109	20 30

При сравнении масс-спектров и предложенных ионных реакций установлено, что для каждой группы синтетических каннабиноидов существует один общий фрагментарный ион. Для индазол-3-карбоксамидов – с $m/z = 145$, а 3-нафтоиндиолов – $m/z = 270$. Исходя из этого, для каждой группы синтетических каннабиноидов можно выделить характеристический диагностический ион и с помощью режима «Product ion scan» проводить скрининговый поиск данных фрагментов на хроматограммах проб предположительно содержащих неизвестные аналоги каннабимиметиков.

Для пробоподготовки волос использовали методику, разработанную для природных каннабиноидов, при этом степени извлечения AB-PINACA, AB-Chminaca, NM-2201, JWH-210 и AM-2201 находились в пределах 50-65% (см. рис. 10).

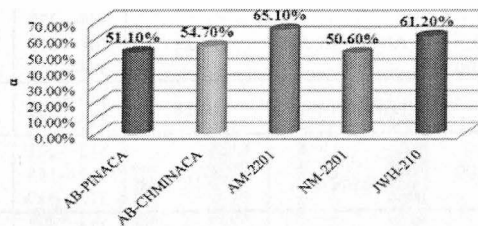


Рисунок 10. Эффективность извлечения синтетических каннабимиметиков из волос

Общая продолжительность анализа внутренней области волос по разработанной методике химической идентификации синтетических каннабиноидов различных классов в волосах методом ГХ-МС/МС [20] составляет 2,5 часа, что делает ее весьма экспрессной. ПД по данным соединениям не представлены в рекомендациях СОНТ. Результаты валидации методики представлены в таблице 9.

Таблица 9. Метрологические характеристики разработанной методики (P=0,95, N=10)

Название вещества	Введено, C ₀ , пг/мг	Найдено, C+ΔC, пг/мг	S	S _r
AB-Pinaca	10,0	10,5±1,1	1,60	0,15
AB-Chminaca	10,0	9,8±0,8	1,25	0,13
AM-2201	25,0	23,2±2,9	3,95	0,17
JWH-210	20,0	18,1±1,8	2,76	0,15

Все разработанные методики анализа волос рассмотрены на НТС, утверждены руководством Института криминалистики Центра специальной техники ФСБ России и успешно применяются в практической деятельности Института. С помощью них проанализировано более трехсот образцов волос и полученные результаты использованы в ходе экспертной деятельности.

Пятая глава посвящена разработкам высокочувствительных методик анализа целевых веществ в биожидкостях.

В связи с тем, что анализ волос информативен только в случае многократного употребления ФАВ, альтернативными биообъектами, позволяющими обнаружить экзогенные вещества в организме человека, являются моча и кровь. Существует много методик анализа веществ в данных биообъектах, выбраны наименее охваченные области.

Разработка методики химико-токсикологического определения амфетамина в крови методом ВЭЖХ-МС/МС. В ходе работы проведено сравнение эффективности методов выделения веществ из матрицы крови. Первый метод представлял собой твердофазную экстракцию на сорбенте C18. Второй метод – кислотный гидролиз с последующей жидкость-жидкостной экстракцией смесью растворителей хлороформ : изопропанол (9:1). Третий

метод сочетал жидкостную и дисперсионную твердофазную экстракции (метод Quechers). Для этого использованы модельные образцы крови, полученные путем добавления 5 мкл стандартного метанольного раствора амфетамина с концентрацией 10 мкг/мл к 1 мл цельной бланковой крови.

В результате твердофазной экстракции на сорбенте C18 степень извлечения амфетамина ($\alpha_{\text{амф}}$) составила 34%, кислотного гидролиза с последующей ЖЖЭ – 67 %, а методом Quechers – 72 % (см. рис. 11). Столь низкая $\alpha_{\text{амф}}$ в случае ТФЭ может быть связана либо с «проскоком» целевого вещества на этапе промывки, либо со сложностью сорбции амфетамина на кратридже, вызванной связыванием вещества с липидами матрицы. Применение метода Quechers по сравнению с кислотным гидролизом не только дает более высокую степень извлечения амфетамина из крови, но и позволяет существенно сократить время подготовки проб к инструментальному анализу.



Рисунок 11. Диаграмма степени извлечения амфетамина из матрицы крови по трем методикам.

Инструментальный анализ проводили методом ВЭЖХ-МС/МС, для чего экспериментально подобраны условия SRM сканирования и эффективного разделения амфетамина и компонентов матрицы крови.

С целью проведения метрологического контроля полученной методики были определены следующие параметры:

- линейный диапазон калибровочной кривой – от 10 до 250 нг/мл (см. рис. 10);
- предел детектирования – 10 нг/мл (см. рис. 12).

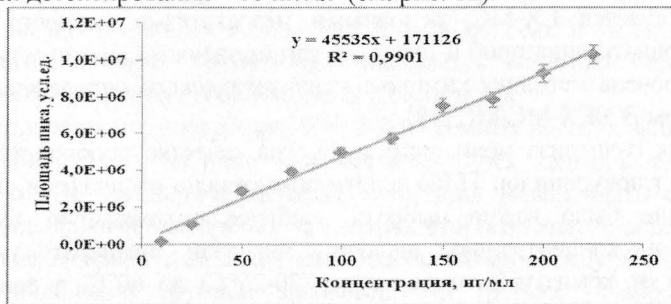


Рисунок 12. Калибровочная кривая содержания амфетамина в крови.

Обнаружение морфина и кодеина в моче. Поиск способов отличия употребления морфина и кодеинсодержащих препаратов. В экспертной практике нередко возникает задача отличить употребление лекарственных препаратов, содержащих кодеин, и прием опиатов (морфина) по результатам химико-токсикологического анализа мочи. В ходе исследований определены недостатки применения метода ГХ-МС для определения морфина и кодеина в моче. Поэтому разработана высокочувствительная методика определения морфина, кодеина и норкодеина в моче методом ВЭЖХ-МС/МС. Экспериментально определены параметры SRM детектирования целевых аналитов и условия их хроматографического отделения от матрицы мочи.

С помощью этих методик проведен анализ серии образцов проб мочи людей, употреблявших морфин и кодеин (более 100 образцов) и определены критерии дифференцирования отличия употребления кодеина и опиатов по результатам анализа мочи. Дополнительно исследована возможность процесса перехода кодеина в морфин и обратно в биологической матрице мочи с различным значением pH при моделировании хранения образцов в условиях пониженной температуры (-4°C).

В результате проведенных исследований на хроматограммах проб с морфином для всех значений pH пиков кодеина обнаружено не было. Аналогичная ситуация наблюдалась и для проб с кодеином. Следовательно, при хранении проб мочи в холодильнике взаимопревращения морфина и кодеина не происходит ни при каких значениях pH.

На основании проведенных исследований определены следующие показатели употребления кодеинсодержащих препаратов:

1. Отношение концентраций общего морфина и общего кодеина в моче находится в диапазоне 0,02-4,0.
2. Концентрация морфина в моче не превышает 800 нг/мл.
3. В пробе детектируется норкодеин, причем его содержание сравнимо с концентрацией кодеина.

Определение ТГК-кислоты в моче с использованием метода

ВЭЖХ-МС/МС. Одной из актуальных задач ХТА является обнаружение метаболита природных каннабиноидов – ТГКК в моче. В настоящее время для этого применяется ГХ-МС, основными недостатками которого являются сложная дериватизация проб и низкая чувствительность. Поэтому разработана и валидирована методика химико-токсикологического определения ТГКК в моче методом ВЭЖХ-МС/МС [18].

Условия гидролиза мочи, применяемого в качестве пробоподготовки для разрушения глюкуронидов ТГК-кислоты значительно отличаются, поэтому на данном этапе было важно выбрать наиболее оптимальную температуру гидролиза и концентрацию щелочи. Диапазон температур гидролиза варьируется от комнатной температуры ($20-25^{\circ}\text{C}$) до 60°C , а концентрация щелочи (KOH или NaOH) от 1N до 10N.

В результате проведенного исследования оказалось, что наибольшая площадь пика ТГК-кислоты получается при выдерживании пробы в течение 20 минут при температуре 60°C с добавлением 5N KOH.

Для выделения ТГК-кислоты из пробы мочи после гидролиза используют жидкость-жидкостную или твердофазную экстракцию при значениях pH среды от 2 до 5. Наиболее распространенным экстрагентом для ЖЖЭ данного вещества является смесь гексана с этилацетатом в различных соотношениях. Для ТФЭ используются картриджи C18 Ser-Pac или их аналоги. Отметим, что метод жидкость-жидкостной экстракции является более дешевым и простым в исполнении. Поэтому проведен эксперимент по определению наиболее эффективного соотношения гексан:этилацетата. Анализ хроматограмм показал, что наиболее оптимальным является соотношение растворителей 5:1, т.к. с увеличением количества этилацетата в смеси увеличивается количество мешающих компонентов матрицы, а с его понижением уменьшается количество выделяемой ТГК-кислоты.

Предел обнаружения данной методики составил 1 нг/мл.

В результате апробации данной методики проанализировано свыше 100 образцов мочи добровольцев. На рисунке 13 представлена хроматограмма положительного образца мочи, полученного в процессе апробации.

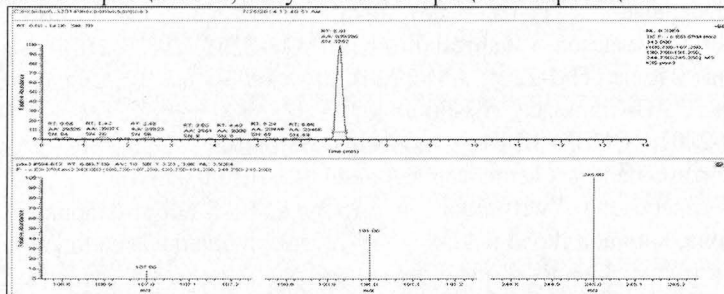


Рисунок 13. Хроматограмма и масс-спектр ТГКК в моче

Основные результаты и выводы

1. Изучена адсорбция (1-пентил-1Н-индол-3-ил)(4-этилнафталин-1-ил)метанона на измельченных темных и светлых волосах и установлены ее закономерности: наиболее точно она описывается моделью Фрейндлиха, которая характеризует гетерогенность поверхности волос.

2. Определено, что адсорбция JWH-210 на темных волосах выше, чем на светлых и обнаружено наличие как минимум трех центров адсорбции. Предположено, что на первых центрах адсорбция может быть связана с пористостью адсорбента. Адсорбция на центрах второго типа характеризуются дисперсионным и ориентационным взаимодействиями между СО-группами кератина и индольной группой адсорбата. На третьих – образованием водородных связей между атомом кислорода в молекуле JWH-210 и

карбоксильными или NH-группами меланина.

3. Экспериментально определены условия щелочной деструкции (выдержка в 1,5 N водном растворе КОН при 60°C в течение часа) и жидкость-жидкостной экстракции (гексан : этилацетат (2:1, v:v) для извлечения стимуляторов, анальгетиков, галлюциногенов и антидепрессантов из матрицы волос с максимальными степенями извлечения ($20\% \leq \alpha \leq 90\%$).

4. Оптимизированы условия ГХ-МС метода для отделения целевых аналитов от матрицы волос и их идентификации в режиме SIM, позволяющие в два раза повысить селективность и чувствительность анализа.

5. Впервые создана методика химической идентификации стимуляторов, анальгетиков, галлюциногенов и антидепрессантов в волосах методом ГХ-МС с пределом детектирования целевых соединений на уровне не менее 10 нг/мг.

6. Определены условия ВЭЖХ-МС/МС метода для эффективного отделения стимуляторов и галлюциногенов от матрицы волос и их идентификации, позволившие исключить дополнительную стадию пробоподготовки – дериватизацию.

7. Разработана методика подтверждающего анализа стимуляторов и галлюциногенов в волосах методом ВЭЖХ-МС/МС, позволяющая определять целевые вещества на уровне не менее 100 пг/мг.

8. Впервые создана методика идентификации синтетических каннабиноидов классов 3-нафтоилиндола (AM-2201, JWH-210), нафталин-3-карбонилиндазолы (THJ-2201, AM-1220), индазол-3-карбоксамиды (AB-Pinasa, AB-Pinasa-F, AB-Chminasa, AB-Fubinasa) и индол-3-карбоксилаты (PB-22, PB-22F, NM-2201, QCBL-BZ-F) в волосах методом ГХ-МС/МС с пределом детектирования целевых веществ на уровне не менее 0,5 нг/мг.

9. Разработана методика идентификации тетра-гидроканнабинола, каннабинола, каннабидиола и 11-нор- Δ^9 -тетрагидроканнабиноловой кислоты в волосах методом ВЭЖХ-МС/МС, позволяющая определять целевые вещества на уровне не менее 50 пг/мг.

10. Оптимизирована методика химической идентификации амфетамина в цельной крови методом ВЭЖХ-МС/МС, предел обнаружения аналита которой составил 10 нг/мл.

11. С помощью разработанных методик определения морфина, кодеина и норкодеина в моче выявлены критерии дифференциации употребления наркотического средства морфин и лекарственных препаратов, содержащих кодеин.

12. Определены наилучшие условия пробоподготовки и параметры для детектирования метаболита тетрагидроканнабинола в моче методом ВЭЖХ-МС/МС, позволившие разработать методику экспресс обнаружения 11-нор- Δ^9 -тетрагидроканнабиноловой кислоты в моче с пределом детектирования 1 нг/мл.

13. Проведена апробация всех разработанных методик на объектах криминалистической экспертизы. Разработанные методики введены в

экспертную практику Института криминалистики Центра специальной техники ФСБ России.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. **Я.Ю. Мордакова.** Изучение адсорбции (1-пентил-1Н-индол-3-ил)(4-этилнафталин-1-ил)метанона на волосах человека / Мордакова Я.Ю., Шешко Т.Ф., Серов Ю.М. // Journal of Siberian Federal University. Chemistry 3 (2014 7), стр. 431-438.
2. А.Е. Земцов. «Сравнительная оценка эффективности способов очистки поверхности волос от внешних загрязнителей для проведения химико-токсикологических исследований» / Земцов А.Е., **Мордакова Я.Ю.**, Шешко Т.Ф., Серов Ю.М. // Журнал «Омский научный вестник», 2015, № 1(137), стр. 240-243.
3. **Я.Ю. Кислякова.** Идентификация органических соединений различных классов в волосах человека методом ГХ-МС/МС / Кислякова Я.Ю., Шешко Т.Ф., Серов Ю.М.// Бутлеровские сообщения, 2015, Т.41 № 3 стр. 132-140.
4. **Я.Ю. Кислякова.** Исследование условий для извлечения лекарственных препаратов из волос и их анализа методом хромато-масс-спектрометрии / Кислякова Я.Ю., Шешко Т.Ф., Серов Ю.М. // Химия в интересах устойчивого развития, 2016, Т. 24 № 1 стр. 103-110.
5. **Я.Ю. Мордакова.** Спецтема. Секретно. / Мордакова Я.Ю., Калашников В.А. // Научно-технический сборник Института Криминалистики ЦСТ ФСБ России, М., № 40, 2014, стр. 48-58.
6. **Я.Ю. Кислякова.** Спецтема. Секретно. / Кислякова Я.Ю., Гусева Е.Б., Грибкова С.Е., Калашников В.А. // Научно-технический сборник Института криминалистики ЦСТ ФСБ России, М., № 43, 2016, стр. 46-56.
7. **Я.Ю. Мордакова.** Создание методики химико-токсикологического определения амфетамина в крови методом ВЭЖХ-МС/МС / Я.Ю. Мордакова, М.О. Антонова // Материалы всероссийской научной конференции молодых ученых «Медико-биологические аспекты химической безопасности», г. СПб, 2013, стр. 192-193.
8. **Я.Ю. Мордакова.** Анализ (±)-1-фенилпропан-2-аминa и (±)-1-(бензо[α] [1,3]диоксол-5-ил)-N-метилпропан-2-аминa в волосах человека методом ВЭЖХ-МС/МС / Я.Ю. Мордакова, Т.Ф. Шешко, Ю.М. Серов// Материалы VII всероссийская конференция молодых учёных, аспирантов и студентов с международным участием по химии и наноматериалам «Менделеев-2013», г. СПб, 2013, стр. 132.
9. **Я.Ю. Мордакова.** Применение ВЭЖХ-МС/МС для анализа диуретиков в моче / Мордакова Я.Ю, Шешко Т.Ф., Серов Ю.М. // Материалы V Молодежная научно-техническая конференция «НАУКОЕМКИЕ ХИМИЧЕСКИЕ ТЕХНОЛОГИИ-2013», г. Москва, 2013, стр. 70.
10. **Я.Ю. Мордакова.** Применение хромато-масс-спектрометрии для

анализа трициклических антидепрессантов в волосах / Мордакова Я.Ю., Шешко Т.Ф., Серов Ю.М. // Материалы VIII всероссийская конференция молодых учёных с международным участием по химии «Менделеев-2014», г. СПб, 2014, стр. 307.

11. **Я.Ю. Мордакова.** Изучение адсорбции (1-пентил-1Н-индол-3-ил)(4-этилнафталин-1-ил)метанона на волосах человека / Мордакова Я.Ю., Шешко Т.Ф., Серов Ю.М. // Материалы IV Всероссийской научной молодежной школы-конференции «Химия под знаком Сигма: исследования, инновации, технологии», г. Омск, 2014 г., стр. 282-283.

12. **Y.Y. Kislyakova.** Hair surface analysis using gas chromatography – mass-spectrometry / Kislyakova Y.Y., Sheshko T.F., Serov Y.M // IX International conference of young scientists on chemistry „Mendeleev- 2015”, St. Petersburg, 2015, p. 386.

БЛАГОДАРНОСТИ

Автор благодарен членам диссертационного совета МТУ № 212.131.10 за возможность представить диссертационную работу.

Автор глубоко признателен своему научному руководителю к.х.н., доценту Шешко Т.Ф. и заведующему кафедры физической и коллоидной химии д.х.н., профессору Серову Ю.М. за постоянное внимание, терпение и поддержку при выполнении данной работы.

Автор благодарит официальных оппонентов за внимание, проявленное к диссертационной работе.

Автор выражает искреннюю благодарность к.х.н, доценту кафедры химической технологии и биотехнологии Омского государственного технического университета Земцову А.Е. и д.х.н, профессору Ягдовскому В.Д. за помощь в интерпретации результатов исследований.

Автор считает своим приятным долгом поблагодарить сотрудников кафедры физической и коллоидной химии РУДН за поддержку и ценные рекомендации.

Кислякова Яна Юрьевна

Разработка методик хроматомасс-спектрометрического определения наркотических средств, психотропных веществ и лекарственных препаратов в биообъектах

Формат 60×90/16 Тираж 100 экз. Подписано в печать 03.04.2017

Заказ № 530

