

УДК 543

ПОДХОДЫ К ПОДГОТОВКЕ ПРОБ СЛОЖНЫХ БИОЛОГИЧЕСКИХ МАТРИЦ ПРИ СУДЕБНО-ХИМИЧЕСКОМ ОПРЕДЕЛЕНИИ КАРФЕНТАНИЛА

© 2025 г. М. Ш. Айгумов^{a,*}, С. А. Савчук^{b, c}

^aНоябрьский психоневрологический диспансер
просп. Мира, 37Б, Ноябрьск, 629806 Россия

^bАссоциация специалистов по химико-токсикологическому и судебно-химическому анализу
просп. Науки, 17, кор. 6, лит. А, пом. 95Н, Санкт-Петербург, 195220 Россия

^cИнститут физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина РАН
Ленинский просп., 31, корп. 4, Москва, 119071 Россия

*E-mail: aygumov.m@yandex.ru

Поступила в редакцию 03.07.2024 г.

После доработки 06.08.2024 г.

Принята к публикации 09.08.2024 г.

Сравниваются две процедуры пробоподготовки (жидкостная экстракция в неполярный растворитель и твердофазная экстракция) биологических тканей трупа, измененных гниением. Работа посвящена созданию экспрессного и простого способа пробоподготовки при определении карфентанила в образцах гнилостной ткани. ГХ-МС-анализ проводили на хроматографе с масс-спектрометрическим детектором Agilent 7820/5975 Маэстро (Rxi-5ms, Restek). Для ВЭЖХ-МС/МС-анализа использовали трехквадрупольный масс-спектрометрический детектор (LC-MS/MS Shimadzu 8050). Хроматографическое разделение осуществляли на колонке с обращенно-фазовым сорбентом Phenomenex Kinetex C18. В качестве объекта исследования выбрали гомогенаты печени, а в качестве альтернативы – продукты лизиса, полученные замораживанием/размораживанием образцов тканей печени. Пробоподготовку гомогенатов проводили методами жидкостной экстракцией гептаном и твердофазной экстракции. Сравнение результатов показало, что жидкости, содержащие продукты лизиса, являются оптимальным выбором для быстрой и эффективной пробоподготовки. При этом аналитический сигнал целевых веществ в 1.5–2 раза выше сигнала, полученного при исследовании гомогенатов тканей, при использовании как твердофазной, так и жидкостной экстракции.

Ключевые слова: карфентанил, продукты лизиса, хромато-масс-спектрометрия, жидкость-жидкостная экстракция, твердофазная экстракция.

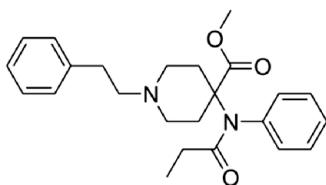
DOI: 10.31857/S0044450225020032 EDN: adwfit

Карфентанил, метиловый эфир 4-((1-оксо-пропил)-фениламино)-1-(2-фенилэтил)-4-пи-перидинкарбоновой кислоты, также известный как 4-карбометоксифентанил, является аналогом фентанила (схема 1) и относится к классу синтетических опиоидов [1].

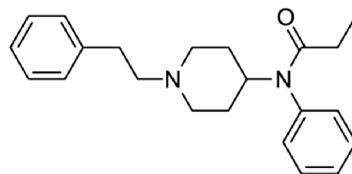
Карфентанил – это хорошо растворимая в воде прозрачная жидкость без отчетливого запаха [2]. Впервые карфентанил синтезирован компанией Janssen Pharmaceuticals в 1974 г. под торговой маркой Wildnil и одобрен в 1986 г. для применения в ветеринарии в качестве внутримышечного транквилизатора для крупных животных [3]. Карфентанил является наркотиком, клиническая эффективность которого в 10 000 раз превышает эффективность морфина и в 100 раз – фентанила [4, 5].

Симптомы воздействия опиоидов, в том числе и карфентанила, включают сужение зрачков, угнетение дыхания и психическое расстройство, головокружение, летаргию, седативный эффект, тошноту, рвоту, поверхностное или отсутствующее дыхание, холодную липкую кожу, слабый пульс, потерю сознания и сердечно-сосудистый коллапс [2].

Синтетических опиоиды получили широкое распространение по всему миру. Карфентанил был обнаружен при изъятии наркотиков в Латвии в 2013 г. [6]. В России в 2013 г. карфентанил также впервые идентифицирован в нелегально распространяемых смесях, продаваемых под видом героина [7]. В июле 2016 г. карфентанил появился на рынке рекреационных наркотиков в сочетании с героином в США. Впоследствии



Карфентанил



Фентанил

Схема 1. Структурные формулы фентамила и карфентамила.

это стало причиной большого числа передозировок и смертей [8]. Ежегодно регистрируются сотни смертельных случаев, связанных с употреблением карфентамила, в первую очередь в США [9, 10]. Только в 2016 г. в США зарегистрировано 42 000 смертей, связанных с употреблением фентамила и его аналогов [11].

Концентрация карфентамила в крови при смертельных отравлениях может колебаться в широких пределах от 0.1 до 4 нг/мл [9, 10, 12]. Газовую хроматографию и высокоеффективную жидкостную хроматографию в сочетании с масс-спектрометрией (ВЭЖХ-МС) наиболее часто используют при определении карфентамила в биологических пробах в связи с их высокой чувствительностью и специфичностью. Метод ГХ-МС разработан и апробирован для определения карфентамила в двух образцах сердечной крови. Автор работы [13] указывает, на слишком низкие концентрации большинства аналогов фентамила и их метаболитов в биологических жидкостях, для того чтобы можно было гарантировать их обнаружение методом ГХ-МС. Шофф и соавт. [12] опубликовали данные, согласно которым в 134 положительных пробах на карфентанил в 104 из них, первоначально исследованных методом ГХ-МС, получены отрицательные результаты. Высокоэффективная жидкостная хроматография с ионизацией при атмосферном давлении (API) – один из первых методов, с помощью которого удалось обнаружить различные запрещенные аналоги фентамила, включая карфентанил и его метаболит нор-карфентанил [14]. Методом ВЭЖХ-МС (ионная ловушка) успешно выявили карфентанил в 134 пробах как отдельно, так и в комбинации с другими наркотиками [15]. Метод ВЭЖХ-МС/МС с электрораспылительной ионизацией (ESI) наиболее широко используется при определении карфентамила и других синтетических опиоидов [16, 17]. Масс-спектрометрия высокого разрешения (qTOF, orbitrap) имеет потенциальные преимущества для идентификации неизвестных соединений без наличия эталонного стандарта, но эта технология недоступна в большинстве лабораторий судебной экспертизы [13].

Распространение карфентамила в нелегальном обороте представляет собой серьезную

проблему как для химико-токсикологических лабораторий наркологических диспансеров и больниц, так и для судебно-химических лабораторий бюро судебно-медицинских экспертиз. Прежде всего, карфентанил не обнаруживается при рутинном скрининге с использованием стандартных методов анализа. Кроме того, из-за низких принимаемых доз ожидаемые концентрации в биологических образцах находятся на уровне от нг/мл до пг/мл или от нг/г до пг/г, что требует оснащения лабораторий высокочувствительным аналитическим оборудованием.

В данной работе описана методика обнаружения карфентамила в образцах печени человека как с использованием стандартного метода ГХ-МС, имеющегося в каждой профильной лаборатории, так и с использованием методов ВЭЖХ-МС/МС и ВЭЖХ-МС-qTOF.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Реагенты. Использовали ацетонитрил (HPLC-gradient grade, ≥ 99.9 %, Sigma-Aldrich, США); метanol (HPLC-gradient grade, J.T.Baker, США); воду, полученную с применением системы Milli-Q (Millipore, Франция); гептан х. ч. (АО “ЭКОС-1”, Россия); трихлоруксусную кислоту (≥ 99.0 %, Sigma-Aldrich, США); натрия гидроксид х. ч. (АО “ЭКОС-1”, Россия); соляную кислоту х. ч. (АО “Башкирская садовая компания”, Россия), аммиак водный ос. ч. (Сигма-Тек, Россия); дихлорметан х. ч. (Компонент-Реактив, Россия); изопропиловый спирт ос. ч. (АО “ЭКОС-1”, Россия).

Пробоподготовка образцов печени. Объектами для исследования были три образца печени с признаками гниения.

Приготовление гомогенатов. В лабораторный блендер помещали 10–30 г тканей печени и измельчали в течение 2 мин.

Жидкостная экстракция гомогенатов печени. Во флакон емк. 50 мл последовательно добавляли 10 мл гомогената печени, 10 мл дистиллированной воды, 2 мл насыщенного раствора гидроксида натрия, перемешивали в течение 5 мин и добавляли 10 мл гептана, перемешивали и центрифугировали 5 мин при 8000 об/мин,

отбирали всю надосадочную жидкость и упарили в токе воздуха. К сухому осадку добавляли 2 мл 0.1 М HCl, центрифугировали 5 мин при 3000 об/мин, отбирали надосадочную жидкость, после чего доводили pH раствора до 8–9 и экстрагировали 3 мл гептана, центрифугировали 5 мин при 3000 об/мин, отбирали верхний слой и упаривали в токе воздуха, сухой остаток растворяли в 100 мкл ацетонитрила.

Твердофазная экстракция гомогенатов печени. Для экстракции использовали картриджи для твердофазной экстракции Bond Elut Certify емк. 3 мл, масса сорбента 130 мг.

Во флаконы емк. 50 мл добавляли 10 мл гомогената печени и 8 мл 6 %-ной трихлоруксусной кислоты, после чего проводили экстракцию в течение 15 мин в ультразвуковой ванне. Образцы центрифугировали в течение 5 мин при 12–14 тыс. об/мин. Надосадочную жидкость отбирали и доводили pH до 6.

Патрон кондиционировали путем последовательного пропускания через него 3 мл метанола и 3 мл 0.1 М фосфатного буферного раствора, далее в патрон загружали 3 мл пробы, промывали 2 мл воды очищенной и 2 мл 0.1 М HCl, патрон сушили 10 мин при полном вакууме. Сорбированные аналиты элюировали 2 мл смеси дихлорметан–изопропиловый спирт–раствор аммиака (78 : 20 : 2). Собранный элюент упаривали досуха, после чего к сухому остатку добавляли 500 мкл ацетонитрила и анализировали.

Приготовление и сбор продуктов лизиса. Для исследования отбирали образцы ткани печени от 10 до 50 г. Образцы замораживали при –20 °C, размораживали при комнатной температуре. Далее собирали жидкость, образующуюся при размораживании и являющуюся смесью межклеточной и внутриклеточной жидкости со следами капиллярной крови.

Жидкостная экстракция продуктов лизиса. В пластиковый флакон помещали 1.5–3 мл собранной биологической жидкости и экстрагировали 3 мл гексана. Центрифугировали 3 мин при 3500 об/мин, органический слой отбирали и упаривали досуха, добавляли 500 мкл этилацетата и анализировали.

Оборудование для ГХ-МС-анализа. Применили газовый хроматограф с масс-селективным детектором Agilent 7820/5975 Маэстро с колонкой Rxi-5ms (Restek, 30 м × 0.25 мм × 0.25 мкм).

Условия газохроматографического разделения: газ-носитель гелий, скорость потока через колонку 1.3 мл/мин, температурная программа: 50 °C (0.5 мин), с последующим температурным градиентом 99 °C/мин до 100 °C с изотермической выдержкой 1 мин, с последующим температурным градиентом 15 °C/мин до 280 °C с изотермической выдержкой в течение 30 мин.

Время удерживания дифениламина (BC) 9.26 ± 0.01 мин. Объем вводимой пробы 1 мкл.

Условия масс-спектрометрического детектирования. Скрининговое детектирование карфентамила выполняли в режиме мониторинга выбранных ионов (SIM) по характерному иону *m/z* 303. Для подтверждающего детектирования использовали метод SIM, содержащий 13 ионов, наиболее специфичных для карфентамила.

Оборудование для ВЭЖХ-МС/МС-анализа. Использовали прибор ВЭЖХ-МС/MC Shimadzu LCMS-8050 (Shimadzu, Япония) с высокоэффективным жидкостным хроматографом Nexera X2 UHPLC и трехквадрупольным масс-спектрометрическим детектором.

Условия ВЭЖХ-МС/МС-анализа. Хроматографическое разделение осуществляли на колонке Phenomenex Kinetex C18 (2.1 мм × 100 мм, 2.6 мкл) с использованием предколонки SecurityGuard ULTRA Cartridges UHPLC. В качестве подвижной фазы А применяли 0.1 %-ный водный раствор муравьиной кислоты, в качестве подвижной фазы Б – 0.1 %-ный раствор муравьиной кислоты в ацетонитриле. Разделение осуществляли в градиентном режиме элюирования. Анализ занимал 15 мин, с 0 до 7.5 мин содержание фазы Б увеличивали с 5 до 95% и поддерживали постоянным 2.5 мин, далее с 10.01 мин в течение 5 мин колонку уравновешивали 95%-ной подвижной фазой А. Температура термостата колонки при анализе составляла 40 °C, скорость потока 0.3 мл/мин. Объем инъекции 5 мкл.

Применили ионизацию электрораспылением (ESI). Использовали рекомендуемые производителем параметры настройки масс-спектрометра: поток через распылитель (nebulizing gas flow) – 3 л/мин, поток осушающего газа (drying gas flow) – 10 л/мин, поток нагреваемого газа (heating gas flow) – 10 л/мин, температура осушающего газа (DL temp) – 250 °C, температура интерфейса – 400 °C.

Хромато-масс-спектры регистрировали с использованием программного обеспечения Lab-Solutions.

Оборудование для анализа методом масс-спектрометрии высокого разрешения (MCBP). Использовали прибор Bruker maXis Impact 2. Условия: ионизация: ESI(+) 2500 V, диапазон сканирования: *m/z* 30–1000, режим: чередование Full scan TOF MS (4 эВ) с bbCID (25 эВ +/– 6 эВ). Для обработки результатов использовали программу TASQ 1.4. Применили базу данных точных масс Target Screener 3.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Три трупа были найдены в квартире без видимых повреждений с гнилостными изменениями. Рядом находился пакет с порошком,

содержащим карфентанил. При первичном судебно-химическом исследовании с использованием стандартных регламентированных процедур судебно-химического анализа обнаружить карфентанил не удалось.

Особенности пробоподготовки. Для жидкостной экстракции гомогенатов печени в качестве экстрагентов выбрали неполярные липофильные растворители гептан или гексан. Использование этих растворителей позволяет, с одной стороны, уменьшить степень экстракции фоновых полярных соединений, а с другой стороны, возможны загрязнения экстракта липидами. Для предотвращения этого эффекта жиры предварительно гидролизуют в щелочной среде, что позволяет получать чистые экстракты таких образцов, как кровь и гомогенаты тканей, которые потенциально могут содержать эти мешающие вещества. Однако, несмотря на проведенный гидролиз, содержание большого количества липидов в одном из исследуемых образцов вызвало большие трудности при анализе.

При твердофазной экстракции из трихлоруксусных извлечений присутствие большого количества липидов привело к быстрому загрязнению фритов (входных фильтров) твердофазных картриджей и остановке процесса. Для твердофазной экстракции полученных 8 мл трихлоруксусных извлечений использовали четыре картриджа. При жидкостной экстракции гомогената этого образца гептаном после высушивания экстракта наблюдали слой липидов характерного оранжевого цвета, который невозможно анализировать без дополнительной обработки. Для дополнительной обработки использовали реэкстракцию целевых компонентов 0.1 М HCl. Так как содержащие азот вещества группы фентанилов образуют гидрохлориды, удалось селективно извлечь карфентанил в подкисленную водную среду и затем экстрагировать карфентанил этилацетатом

при доведении pH водного извлечения до значения 9.0. При жидкостной экстракции продуктов лизиса, полученных из этого же образца замораживанием/размораживанием, не наблюдали проблем, связанных с мешающим влиянием липидной фракции как при твердофазной экстракции, так и при жидкостной экстракции гептаном. Метод исследования продуктов лизиса описан в работе [18]. Следует также отметить, что при анализе двух других образцов проблемы с образованием липидной фракции и с образованием липидных осадков отсутствовали, экстракцию продуктов лизиса удалось успешно осуществить. На рис. 1 сравниваются интенсивности пиков карфентанила в масс-спектрах образцов, полученных при жидкостной и твердофазной экстракции гомогенатов печени и жидкостей продуктов лизиса. Как видно, наиболее интенсивные отклики получены при анализе продуктов лизиса при использовании как жидкостной, так и твердофазной экстракции по сравнению с гомогенатами. Следует также отметить, что подготовка образцов гомогенатов гораздо более трудоемка и занимает больше времени, чем анализ жидкостей – продуктов лизиса.

При сравнении результатов жидкостной экстракции гексаном и твердофазной экстракции можно заключить, что для гомогенатов печени жидкостная экстракция гептаном эффективнее твердофазной экстракции, а для продуктов лизиса получены сходные результаты для обоих способов пробоподготовки.

Результаты ГХ-МС-анализа в режиме SIM. Известно, что вещества группы фентанила, а также ЛСД являются наиболее сложными аналитами при проведении судебно-химического анализа. По сравнению с героином карфентанил употребляют в дозах в 1000 раз меньших, что приводит к необходимости повышения чувствительности детектирования. В газовой

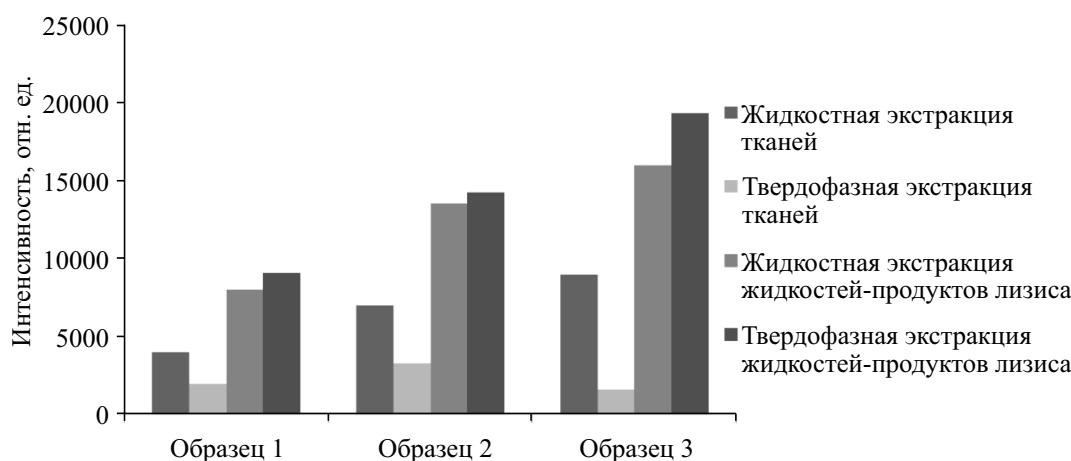


Рис. 1. Интенсивность пиков карфентанила в масс-спектрах образцов экстрактов печени от трупов 1, 2 и 3 по выбранному иону с m/z 303 при разных вариантах пробоподготовки.

хроматографии для этого используют режим мониторинга выбранных ионов (SIM), который позволяет повысить чувствительность примерно на порядок величины, так как при этом выполняется сканирование трех характерных ионов вместо полного диапазона сканирования.

Результаты ГХ-МС анализа в режиме SIM по характерному для карфентанила иону с m/z 303 представлены на рис. 2. Как видно, на SIM-хроматограмме образца 2 присутствует значительное количество фоновых соединений, которые не позволяют надежно идентифицировать карфентанил по времени удерживания. В двух других образцах этот эффект отсутствует, несмотря на то, что образец 3 содержит большое количество липидов. Все три хроматограммы получены при анализе гептановых экстрактов продуктов лизиса. Для более надежной идентификации малых содержаний карфентанила в присутствии значительных содержаний соэкстрагирующихся веществ предприняли следующее. Так как при анализе в режиме SIM не удается получить полный масс-спектр, который можно использовать для масс-спектрометрической идентификации, использовали метод детектирования большего числа выбранных ионов, что позволило получить практически полный масс-спектр, содержащий все диагностически значимые ионы карфентанила, в том числе и минорные. Ниже приведены массовые числа ионов, выбранных для подтверждающего детектирования карфентанила в режиме SIM:

m/z : 303, 304, 305, 335, 275, 247, 243, 187, 154, 158, 276, 244, 105.

Масс-спектр SIM-SCAN – совокупность SIM-ионов, позволяющая получить масс-спектрометрический профиль, пригодный для библиотечной идентификации. На рис 3 представлены результаты библиотечной идентификации SIM-SCAN-спектра карфентанила наиболее сложного образца 1. Сравнение интенсивностей откликов пиков карфентанила в исследуемых образцах при детектировании одного иона и 13 ионов показало, что снижение интенсивностей составляет не более 20–25%.

С целью подтверждения результатов, полученных с применением метода ГХ-МС, исследовали экстракти методом ВЭЖХ-МС/МС на ВЭЖХ-хроматографе Shimadzu 8050 в data-зависимом режиме с получением полного спектра ионов-продуктов. Ниже приведены данные по детектированию карфентанила в режиме MRM (условия: ион-предшественник ($M+H$)⁺ m/z 395.4, режим регистрации положительных ионов, длительность регистрации селективного перехода (dwell time) – 10 мс, длительность задержки при переходе от одного селективного перехода к другому (pause time) – 1 мс, скорость

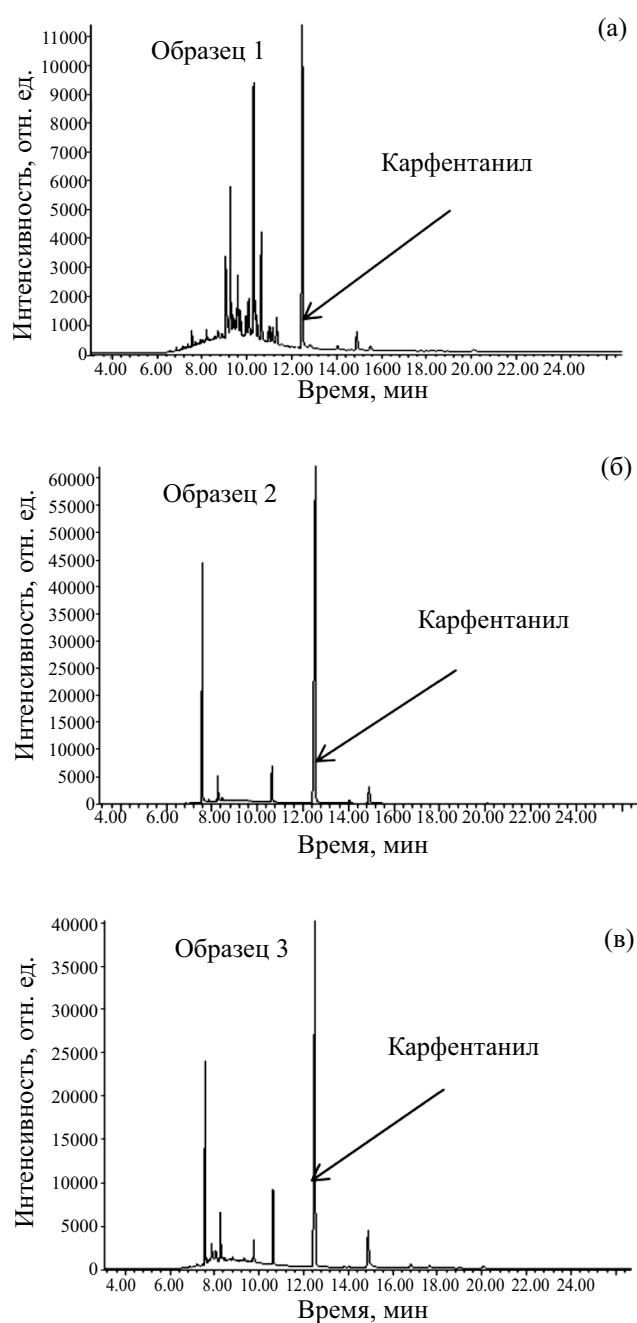


Рис. 2. Результаты идентификации карфентанила в гептановых экстрактах продуктов лизиса образцов 1–3 в режиме SIM по выбранному иону с m/z 303.

сканирования (scan speed) – 5000 Да/с, переключение в data-зависимый режим при достижении интенсивности 3000 отн. ед.):

Ион-продукт, m/z	246.00	335.00	188.00	134.00
Энергия соударений, эВ	–30.0	–30.0	–30.0	–30.0

По результатам ВЭЖХ-МС/МС-анализа во всех трех пробах подтвердили наличие карфентанила. На рис. 4 показана хроматограмма

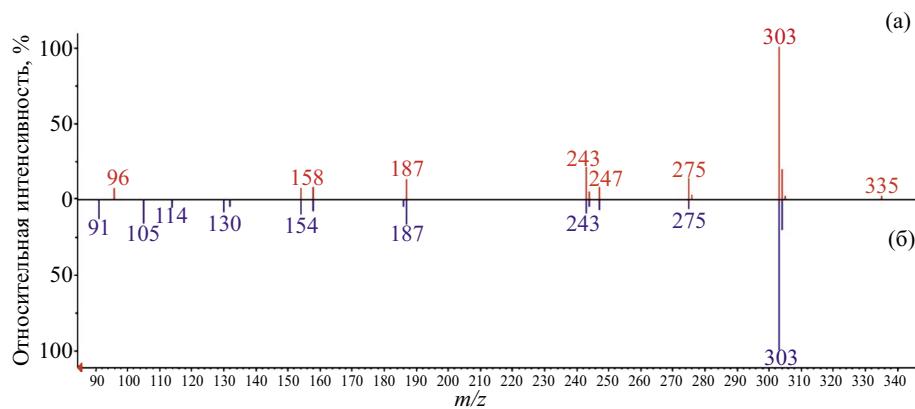


Рис. 3. (а) Профиль ионов карфентанила, зарегистрированных в режиме SIM, образца 1 (см. выше); (б) библиотечный спектр карфентанила.

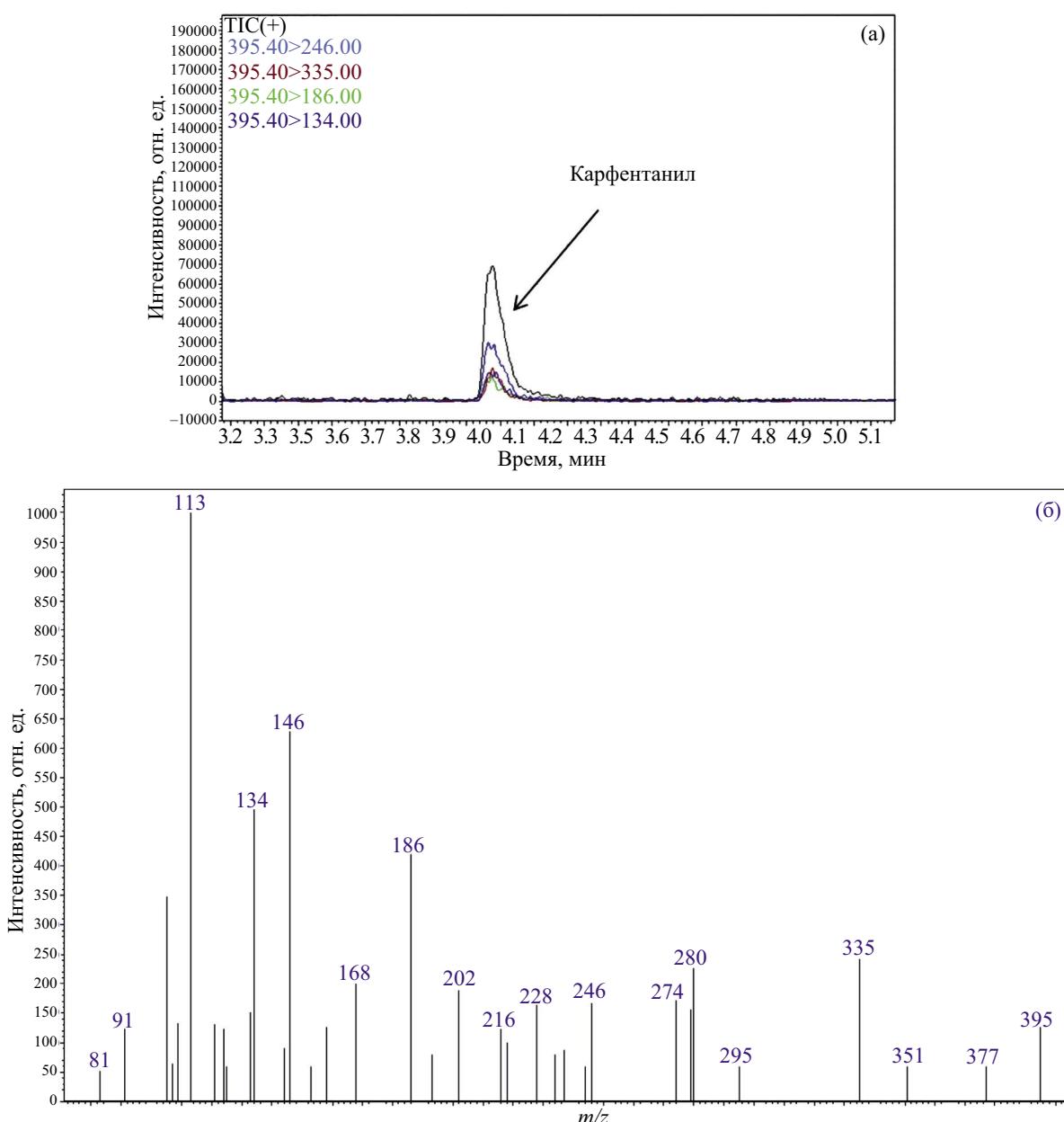


Рис. 4. (а) Масс-хроматограммы в режиме MRM гептанового экстракта продуктов лизиса образца печени трупа 1; (б) масс-спектр карфентанила при энергии соударений 30 эВ.

в режиме МРМ и полный масс-спектр карфентанила, обнаруженного в образце 1.

Результаты также подтверждены методом MCBP на приборе Bruker maXis Impact 2. Рис. 5 иллюстрирует результаты обнаружения карфентанила методом MCBP в образце 1.

* * *

Сравнение двух способов пробоподготовки (жидкостной и твердофазной экстракции) образцов гомогенатов трупной печени, измененной гниением, и жидкостей продуктов лизиса, полученных из образцов той же печени, показало, что продукты лизиса являются предпочтительным объектом анализа, позволяют провести экспрессную пробоподготовку методом жидкостной экстракции неполярным растворителем с эффективностью не ниже, чем при твердофазной экстракции. По сравнению с продуктами лизиса гомогенаты печени являются более сложными объектами, требующими дополнительных стадий исследования, что усложняет, удорожает и увеличивает продолжительность процедуры подготовки проб. Использование метода ГХ-МС для подтверждающей идентификации с использованием

расширенного набора выбранных ионов оказалось весьма эффективным: результаты подтверждены методом жидкостной хроматографии с использованием трехквадрупольного масс-спектрометрического детектора и масс-спектрометрического детектора высокого разрешения.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Данная работа финансировалась за счет средств бюджета Ноябрьского психоневрологического диспансера. Никаких дополнительных грантов на проведение или руководство данным конкретным исследованием получено не было.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все биологические материалы, используемые в работе, являются обезличенными биологическими пробами. Пробы были изъяты из морозильной камеры химико-токсикологической лаборатории перед их утилизацией и для своего использования не требуют разрешения этического комитета.

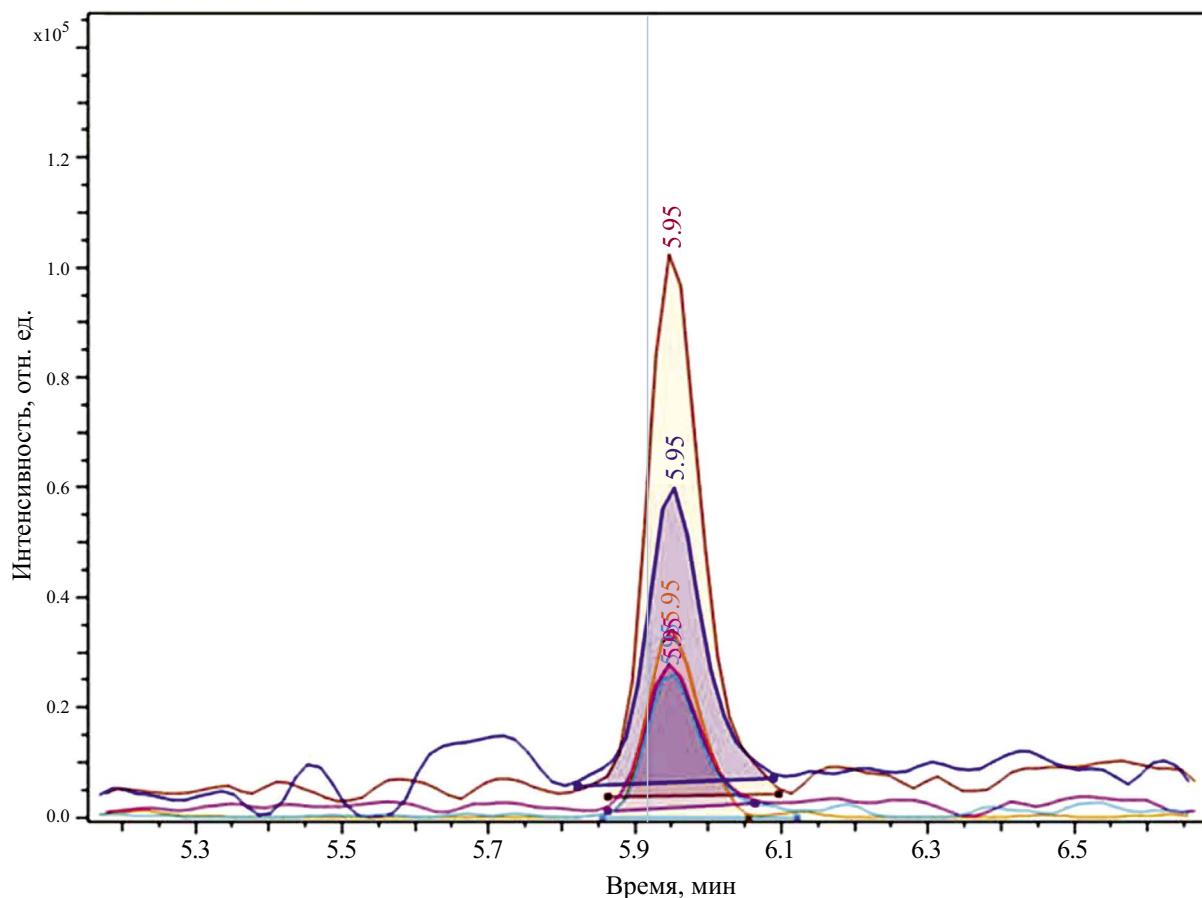


Рис. 5. Хроматографический профиль гептанового экстракта продуктов лизиса образца печени трупа 1. Результаты получены на масс-спектрометре Bruker maXis Impact 2.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы данной работы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Leen J.L.S., Juurlink D.N.* Carfentanil: A narrative review of its pharmacology and public health concerns // *Can. J. Anaesth.* 2019. V. 66. № 4. P. 414.
2. *Kreeger T.J., Arnemo J., Raath J.P.* Handbook of Wildlife Chemical Immobilization, Int. Ed. Fort Collins: Wildlife Pharmaceuticals, 1999. C. 36.
3. *Stanley T. H., Egan T. D., Van Aken H.* A Tribute to Dr. Paul A. J. Janssen: Entrepreneur Extraordinaire, Innovative Scientist, and Significant Contributor to Anesthesiology // *Anesth. Analg.* (Philadelphia, PA, U. S.). 2008. V. 106. № 2. P. 451.
4. *Lust E.B., Barthold C., Malesker M.A., Wichman T.O.* Human health hazards of veterinary medications: Information for emergency departments // *J. Emerg. Med.* 2011. V. 40. № 2. P. 198.
5. *George A.V., Lu J.J., Pisano M.V., Metz J., Erickson T.B.* Carfentanil – An ultra potent opioid // *Am. J. Emerg. Med.* 2010. V. 28. № 4. P. 530.
6. *Charlotte D., English L., Stewart C., Edgington M., Mcveigh J., Bellis M.* Annual Report to the European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction (EMCDDA) 2012 Edition. Liverpool: Liverpool John Moores University, 2013. C. 47.
7. *Мелентьев А. Б., Камаев С. С., Дворская О. Н.* Дизайнерские наркотики. Метаболизм и подходы к анализу в биологических средах Москва: Издво “Перо”, 2016. 326 с.
8. United Nations Office on Drugs and Crime “Recommended Methods for The Identification and Analysis of Fentanyl and Its Analogues in Biological Specimens, Manual for Use by National Drug Analysis Laboratories”. Vienna: United Nations, 2018. 69 c.
9. *Hikin L., Smith P.R., Ringland E., Hudson S., Morley S.R.* Multiple fatalities in the North of England associated with synthetic fentanyl analogue exposure: Detection and quantitation a case series from early 2017// *Forensic Sci. Int.* 2018. V. 282. P. 179.
10. *Swanson D.M., Hair L.S., Strauch Rivers S.R., Smyth B.C., Brogan S.C., Ventoso A.D. et al.* Fatalities involving carfentanil and furanyl fentanyl: Two case reports // *J. Anal. Toxicol.* 2017. V. 41. № 6. P. 498.
11. *Concheiro M., Chesser R., Pardi J., Cooper G.* Postmortem toxicology of new synthetic opioids // *Front. Pharmacol.* 2018. V. 9. P. 1210.
12. *Shoff E.N., Zaney M.E., Kahl J.H., Hime G.W., Boland D.M.* Qualitative identification of fentanyl analogs and other opioids in postmortem cases by UHPLC-ion trap-MSn // *J. Anal. Toxicol.* 2017. V. 41. № 6. P. 484.
13. *Marchei E., Pacifici R., Mannocchi G., Marinelli E., Busardò F.P., Pichini S.* New synthetic opioids in biological and non-biological matrices: A review of current analytical methods // *TrAC, Trends Anal. Chem.* 2018. V. 102. P. 1.
14. *Wang L., Bernert J.T.* Analysis of 13 fentanils, including sufentanil and carfentanil, in human urine by liquid chromatography-atmospheric-pressure ionization-tandem mass spectrometry// *J. Anal. Toxicol.* 2006. V. 30. № 5. P. 335.
15. *Shoff E.N., Zaney M.E., Kahl J.H., Hime G.W., Boland D.M.* Qualitative identification of fentanyl analogs and other opioids in postmortem cases by UHPLC-ion trap-MSn// *J. Anal. Toxicol.* 2017. V. 41. № 6. P. 484.
16. *Sofalvi S., Schueler H.E., Lavins E.S., Kaspar C.K., Brooker I.T., Mazzola C.D. et al.* An LC–MS–MS method for the analysis of carfentanil, 3-methylfentanyl, 2-furanyl fentanyl, acetyl fentanyl, fentanyl and norfentanyl in postmortem and impaired-driving cases // *J. Anal. Toxicol.* 2017. V. 41. № 6. P. 473.
17. *Papsun D., Isenschmid D., Logan B.K.* Observed carfentanil concentrations in 355 blood specimens from forensic investigations // *J. Anal. Toxicol.* 2017. V. 41. № 9. P. 777.
18. *Савчук С.А., Григорьев А.М.* 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. Москва: РЦСМЭ МЗ РФ, 2019. 42 с.

APPROACHES TO SAMPLE PREPARATION OF COMPLEX BIOLOGICAL MATRICES FOR THE FORENSIC CHEMICAL DETERMINATION OF CARFENTANIL

M. Sh. Aigumov^{a,*}, S. A. Savchuk^{b,c}

^a*Noyabrsk Psychoneurological Dispensary
Noyabrsk, Russia*

^b*Association of Specialists in Chemical-toxicological and Forensic Chemical Analysis
St. Petersburg, Russia*

^c*The Institute of Physical Chemistry and Electrochemistry RAS (IPCE RAS)
Moscow, Russia*

*E-mail: aygumov.m@yandex.ru

Abstract. Two sample preparation procedures (liquid extraction into nonpolar solvent and solid-phase extraction) of cadaver biological tissues altered by putrefaction are compared. The work is devoted to the creation of a rapid and simple sample preparation method for the determination of carfentanil in putrefactive tissue samples. GC-MS analysis was performed on an Agilent 7820/5975 Maestro mass-selective chromatograph (Rxi-5ms, Restek). A three-quadrupole mass spectrometric detector (LC-MS/MS Shimadzu 8050) was used for HPLC-MS/MS analysis. Chromatographic separation was carried out on a column with reversed-phase sorbent Phenomenex Kinetex C18. Liver homogenates were chosen as the object of study, and alternatively, lysis products obtained by freezing/thawing of liver tissue samples. Sample preparation of homogenates was carried out by heptane liquid extraction and solid-phase extraction methods. Comparison of the results showed that liquids containing lysis products are the optimal choice for fast and efficient sample preparation. The analytical signal of target substances is 1.5-2 times higher than the signal obtained in the study of tissue homogenates using both solid-phase and liquid-phase extraction.

Keywords: carfentanil, lysis products, chromatography-mass spectrometry, liquid-liquid extraction, solid-phase extraction.