

## ОБНАРУЖЕНИЕ БРОМДИГИДРОХЛОРФЕНИЛБЕНЗОДИАЗЕПИНА (ФЕНАЗЕПАМА) И ЕГО МЕТАБОЛИТА В БИОЛОГИЧЕСКОМ ОБЪЕКТЕ ПРИ СВЕРХНИЗКИХ КОНЦЕНТРАЦИЯХ

А. А. Волкова<sup>1,2</sup>, Р. А. Калёкин<sup>1,2</sup>✉, Н. Е. Москалева<sup>1,3</sup>, О. Г. Асташкина<sup>1,4</sup>, А. М. Орлова<sup>1</sup>, П. А. Маркин<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> Российский центр судебно-медицинской экспертизы, Москва, Россия

<sup>2</sup> Российский университет дружбы народов, Москва, Россия

<sup>3</sup> Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова, Москва, Россия

<sup>4</sup> Бюро судебно-медицинской экспертизы, Москва, Россия

В экстремальных ситуациях важна роль достоверного обнаружения психотропных веществ при минимальных терапевтических концентрациях, что позволит проводить адекватную реанимационную терапию. В медицинской практике широко используют группу производных бензодиазепинов, среди которых бромдигидрохлорфенилбензодиазепин (феназепам). Помимо положительного клинического эффекта феназепам обладает большим числом побочных эффектов, способных привести к отравлениям вплоть до летального исхода. Целью исследования было разработать методику обнаружения метаболитов феназепама методом ВЭЖХ-ТМС высокого разрешения для целей и задач судебно-медицинской экспертизы при наличии сверхнизких концентраций в моче. В исследовании использовали мочу шести пациентов (мужчин и женщин в возрасте 28–40 лет), принимавших феназепам в минимальных терапевтических концентрациях в разовых случаях, по назначению врача. По результатам исследования разработаны оптимальные условия хроматографирования аналитов после пробоподготовки мочи, с временем удерживания феназепама  $7,05 \pm 0,06$  мин, выявлены характерные ионы ( $m/z$ ) 179, 183, 206, 242, 271, 285, 320, 348 (основной) для идентификации феназепама.

**Ключевые слова:** феназепам, бромдигидрохлорфенилбензодиазепин, 3-гидроксифеназепам, высокоэффективная жидкостная хроматография, судебно-химическое исследование, химико-токсикологический анализ, моча

**Вклад авторов:** А. А. Волкова, Р. А. Калёкин, А. М. Орлова, О. Г. Асташкина — сбор данных, написание статьи; А. А. Волкова, Р. А. Калёкин, Н. Е. Москалева, П. А. Маркин — проведение экспериментальной части исследования.

**Соблюдение этических стандартов:** исследование спланировано и проведено с соблюдением требований Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (2000 г.) и последующих ее пересмотров; все участники подписали добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

✉ **Для корреспонденции:** Роман Анатольевич Калёкин  
ул. Поликарпова, д. 12/13, г. Москва, 125284, Россия; himija@rc-sme.ru

**Статья получена:** 23.02.2022 **Статья принята к печати:** 11.03.2022 **Опубликована онлайн:** 25.03.2022

**DOI:** 10.47183/mes.2022.007

## DETECTION OF ULTRA-LOW CONCENTRATIONS OF BROMODIHYDROCHLOROPHENYLBENZODIAZEPINE (PHENAZEPAM) AND ITS METABOLITES IN BIOLOGICAL OBJECTS

Volkova AA<sup>1,2</sup>, Kalekin RA<sup>1,2</sup>✉, Moskaeva NE<sup>1,3</sup>, Astashkina OG<sup>1,4</sup>, Orlova AM<sup>1</sup>, Markin PA<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> Russian Center of Forensic Medical Expertise, Moscow, Russia

<sup>2</sup> Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia

<sup>3</sup> Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia

<sup>4</sup> Bureau of Forensic Medical Examination, Moscow, Russia

In extreme situations, reliable detection of the minimum therapeutic concentrations of psychotropic substances is important, since this allows one to provide adequate resuscitation. The group of benzodiazepine derivatives, which includes bromodihydrochlorophenylbenzodiazepine (phenazepam), is widely used in clinical practice. Along with the positive clinical effect, phenazepam has numerous side effects, capable of causing poisoning, even death. The study was aimed to develop the method for detection of the phenazepam metabolites by high-resolution HPLC–TMS suitable for achieving the aims and objectives of forensic medical expertise in case of the ultra-low urine substance concentrations. Urine of six patients (males and females aged 28–40), who were prescribed phenazepam and took the drug at minimum therapeutic concentrations on an ad hoc basis, was used during the study. Optimum conditions for the analyte chromatography after the urine sample preparation were defined with the phenazepam retention time of  $7.05 \pm 0.06$  min; specific ions ( $m/z$ ) 179, 183, 206, 242, 271, 285, 320, 348 (main) were defined for identification of phenazepam.

**Keywords:** phenazepam, bromodihydrochlorophenylbenzodiazepine, 3-hydroxyphenazepam, high-performance liquid chromatography, forensic chemistry research, chemical toxicological analysis, urine

**Author contribution:** Volkova AA, Kalekin RA, Orlova AM, Astashkina OG — data acquisition, manuscript writing; Volkova AA, Kalekin RA, Moskaeva NE, Markin PA — experimental procedure.

**Compliance with ethical standards:** the study was planned and conducted in accordance with the requirements of the Declaration of Helsinki of the World Medical Association (2000) and subsequent revisions thereto; the informed consent was submitted by all study participants.

✉ **Correspondence should be addressed:** Roman A. Kalekin  
Polikarpova, 12/13, Moscow, 125284, Russia; himija@rc-sme.ru

**Received:** 23.02.2022 **Accepted:** 11.03.2022 **Published online:** 25.03.2022

**DOI:** 10.47183/mes.2022.007

В экстремальных ситуациях важна роль достоверного обнаружения психотропных веществ при минимальных терапевтических концентрациях, что позволит проводить адекватную реанимационную терапию. В настоящее время производные бензодиазепинов являются одними из наиболее распространенных психотропных средств, которые применяют при тревожных расстройствах и других психосоматических состояниях. Наиболее мощный из бензодиазепинов и часто используемый в медицинской практике [1–5] бромдигидрохлорфенилбензодиазепин (феназепам) помимо положительного клинического эффекта обладает большим числом побочных действий [6], которые при неправильном медицинском применении или с немедицинскими целями могут привести к отравлениям вплоть до летального исхода [7–9].

Бромдигидрохлорфенилбензодиазепин — анксиолитическое средство (транквилизатор) бензодиазепинового ряда. Оказывает анксиолитическое, седативно-снотворное, противосудорожное и центральное миорелаксирующее действие. Химическое название — 7-бром-5-(орто-хлорфенил)-2,3-дигидро-1Н-1,4-бензодиазепин-2-он; молекулярная формула —  $C_{15}H_{10}BrClN_2O$ ; наиболее известно на территории РФ под торговым названием «феназепам». Лекарственная форма — таблетки по 0,5; 1,0 и 2,5 мг [10] и в виде раствора 1 мг/мл по 0,5 и 1,0 мл [11]. Является рецептурным лекарственным средством (отпуск по рецепту формы № 148–1/у-88), в 2021 г. поставлен на предметно-количественный учет (ПКУ) при отпуске как сильнодействующее вещество. Для феназепама риск лекарственной зависимости и синдром отмены был и остается достаточно высоким, чем обусловлены случаи отравления, а наличие побочных эффектов, например галлюцинации, эйфория и другие, определяют потенциальную возможность злоупотребления этим препаратом [1, 9].

Феназепам применяют в небольших количествах, так как он оказывает высокий терапевтический эффект, а его возможность потенцирования эффекта во много раз другими веществами предполагает его низкие концентрации в биологических объектах организма. Поскольку немедицинское применение, комбинация с другими психотропными средствами и алкоголем и наличие побочных эффектов могут привести к наступлению острого и летального отравления феназепамом, разработка методики обнаружения и идентификации его сверхнизких концентраций современными методами в биологических объектах до настоящего времени остается актуальной задачей судебно-химического и химико-токсикологического исследования. Одновременное обнаружение метаболитов феназепама и действующего вещества в нативном виде (бромдигидрохлорфенилбензодиазепин) позволяет достоверно утверждать о применении его пациентом/потерпевшим и отсутствии ложноположительного результата при подлоге в виде добавления его в биологический объект. Из неинвазивных наиболее распространенным биологическим объектом в клинических лабораториях (в том числе в химико-токсикологических) является биологическая жидкость — моча [12, 13].

В настоящее время высокоэффективную жидкостную хроматографию — тандемную масс-спектрометрию (ВЭЖХ-ТМС) успешно применяют в качестве надежного селективного и чувствительного метода для скрининга, идентификации и количественной оценки малых молекул [14–16]. Цель исследования — разработать методику обнаружения феназепама и его основного

метаболита методом ВЭЖХ-ТМС высокого разрешения (ВР) с использованием технологии Orbitrap для целей и задач судебно-медицинской экспертизы при наличии сверхнизких концентраций в биологическом объекте (моча).

## ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

У пациентов ( $n = 6$ ) отбирали образцы мочи утром натощак через  $8 \pm 1$  ч после приема терапевтических концентраций феназепама (1 мг в таблетированной форме) по назначению врача при психосоматических расстройствах. Критерии включения пациентов: первичный прием препарата, позволяющий избежать депонирования и увеличения концентрации в организме человека. Критерии исключения: коморбидные пациенты с текущими назначениями психотропных препаратов; заболевания почек; лица старше 45 лет и моложе 25 лет. Средний возраст пациентов обоего пола составлял  $34 \pm 6$  лет. Забор проб биологической жидкости производили неинвазивным способом, добровольно с согласия пациентов и на анонимных условиях.

Исследовали действующее вещество бромдигидрохлорфенилбензодиазепин лекарственного препарата «Феназепам» (ЛП-005121-191018) после очистки от вспомогательных веществ. Для исследования были получены рабочие образцы (РО) — спиртовой раствор с содержанием 1 мг/мл исследуемого вещества.

Для работы использовали: ВЭЖХ-ТМС с высоким разрешением и технологию Orbitrap [15, 16]; масс-спектрометр Orbitrap Exploris 120 MS (ThermoFisher Scientific; США), представляющий собой автономный прибор OrbitrapTM с источником ионизации при атмосферном давлении (ИАД) для высокопроизводительных задач масс-спектрометрии (МС) с жидкостной хроматографией (ЖХ).

Поскольку при направлении на судебно-медицинскую экспертизу для химико-токсикологического исследования симптоматика побочных эффектов у феназепама ярко выражена для производных бензодиазепина, пробоподготовку проводили по общепринятой схеме для соединений производных бензодиазепинов. Изолирование феназепама проводили в двух вариациях: 1) без проведения гидролиза: нативную мочу объемом 5 мл подщелачивали гидроксидом натрия (3–6 мл) до pH 10; 2) после солянокислого гидролиза методом жидкостно-жидкостной экстракции: к 5 мл утренней мочи добавляли 5 мл концентрированной соляной кислоты и нагревали в закрытой пробирке на кипящей водяной бане в течение часа (кислотный гидролиз). Далее нейтрализовали, подщелачивая 60%-м гидроксидом натрия (3–6 мл) до pH 10. Затем в обоих вариантах экстрагировали дважды хлороформом по 10 мл в делительной воронке при умеренном ручном встряхивании в течение 3 мин. После отстаивания хлороформ сливали в выпарительную чашку и упаривали досуха на водяной бане, сухой остаток растворяли в 0,5 мл ацетонитрила и отправляли на исследование.

## Условия хроматографирования ВЭЖХ-ТМС ВР

Программное обеспечение — Thermo Scientific Xcalibur 4.4 (Thermo Scientific; США); колонка TF Accucore PhenylHexyl column (100 × 2,1 мм, 2,6 мм), температура колонки 30 °С.

Предварительно разработали комбинированную подвижную фазу. Для повышения экспрессности анализа

Таблица 1. Градиент подвижной фазы

Время, мин	Скорость потока подвижной фазы, мл/мин	Подвижная фаза А, %	Подвижная фаза В, %
0	0,5	99,0	1,0
1,0	0,5	99,0	1,0
10,0	0,5	1,0	99,0
11,5	0,5	1,0	99,0
12,0	0,5	99,0	1,0
13,5	0,5	99,0	1,0

и уменьшения ширины хроматографических пиков использовали разные градиенты по составу подвижной фазы и изменяли скорость ее подачи. Подвижная фаза представлена в градиентном режиме: подвижная фаза А — 2 мМ раствор аммония формиата 0,1%-й муравьиной кислоты (рН 3,0) в воде и подвижная фаза В — 2 мМ раствор аммония формиата 0,1% муравьиной кислоты в смеси ацетонитрила и метанола (1 : 1). Скорость потока — 0,5 мл/мин. Градиентный режим представлен в табл. 1.

Детектирование проводили в режиме информационно зависимой фрагментации. Режим полного сканирования с обнаружением ddMS2 следующий: диапазон сканирования — 100–1000 m/z; RF Lens 50%, сбор данных с высоким разрешением Orbitrap 120 000 FWHM. Режим диапазона сканирования автоматический. Автоопределение времени инъекции ионов в ловушку. Порог интенсивности для фрагментации — 2000. Обнаружение вершины — 30%, изолирующее окно — 1 m/z, режим энергии столкновения — ступенчатый, тип энергии столкновения — абсолютный. Энергия диссоциации (HCD) — 15, 30, 45%. Разрешение для фрагментов — 30 000. Для оптимизации условий качественного и количественного анализа уточнение окон обнаружения проводили рутинным для лаборатории методом. Режим исключения ионов осуществляли после получения одного спектра за 3 с.

В работе использовали систему, оснащенную источником ионизации со следующими параметрами: тип ионного источника — H-ESI; напряжение электроспрея — положительная ионизация 3500 V; напряжение электроспрея — отрицательная ионизация 2500 V. Распыляющий газ — азот 50 отн. ед., вспомогательный газ — азот 13 отн. ед. Температура капилляра — 280 °C; температура испарителя — 350 °C. Встроенная подстройка массы — EASY-IC™ (флуорантрен).

Идентификацию нативного соединения феназепам и его метаболита после хроматографирования проводили

при использовании библиотек масс-спектрометрической информации: TRACEFINDER 5.1 SP1; TOXFINDER 1.0; EFS\_HRAM\_Compound\_Database; Toxicology\_HRAM\_Compound\_Database; Thermo Scientific™ mzVault HRAM MS/MS spectral library; COMPOUND DISCOVERER 3.1; MzCloud.

Полученные результаты обрабатывали статистически с использованием *t*-критерия Стьюдента. Различия считали достоверными при доверительной вероятности  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Применение выбранного режима сканирования позволило получить максимальную чувствительность (ввиду отсутствия потерь в процессе соударительной ионизации), что необходимо при оценке временных окон обнаружения, так как при оптимизации метода на быстрое разделение могли возникнуть ложноотрицательные результаты из-за низкой скорости сканирования, в то время как ее существенное повышение могло привести к значительному падению интенсивности сигналов, что очень важно при определении метаболитов при низких (терапевтических) концентрациях в биологических жидкостях (моче). Условия хроматографирования — комбинированный градиент подвижной фазы и температурный режим позволили уменьшить количество коэлюирующихся соединений из мочи и обеспечили получение достоверных результатов (рис. 1 и 3).

При изолировании после гидролиза наблюдали только пик феназепам ( (2-амино,5-бром)-2'-хлорбензофенон не обнаружили), а без гидролиза — феназепам и 3-гидроксифеназепам.

На представленных хроматограммах идентифицирован феназепам и его метаболит 3-гидроксифеназепам по избранному иону. Обнаружение проводили по временам удерживания с последующей идентификацией после

Таблица 2. Результаты хроматографирования мочи методом ВЭЖХ-ТМС ВР

Вещество	Элементарная композиция	Теоретическая масса протонированного иона, m/z	Наблюдаемая масса протонированного иона, m/z	Время удерживания, мин (n = 6)	Статистические параметры времени удерживания*
Феназепам	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> BrClN <sub>2</sub> O	349,61	348,97	a = 7,05 (6,98; 7,05; 6,95; 7,15; 7,06; 7,11)	$\sigma^2 = 0,00572$ ; $\sigma = 0,07563$ ; V = 1,07 %; A/m <sub>a</sub> = -0,07035; E/m <sub>a</sub> = -2,14563; ā = 0,05667
3-Гидроксифеназепам	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> BrClN <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	365,61	364,97	a = 6,77 (6,65; 6,88; 6,77; 6,85; 6,70; 6,77)	$\sigma^2 = 0,00756$ ; $\sigma = 0,08695$ ; V = 1,28 %; A/m <sub>a</sub> = -0,08377; E/m <sub>a</sub> = -2,12896; ā = 0,06333

Примечание:  $\sigma^2$  — дисперсия,  $\sigma$  — среднеквадратическое отклонение; V — коэффициент вариации; A/m<sub>a</sub> — отношение показателя асимметрии к его ошибке; E/m<sub>a</sub> — отношение показателя эксцесса к его ошибке; ā — среднее линейное отклонение.

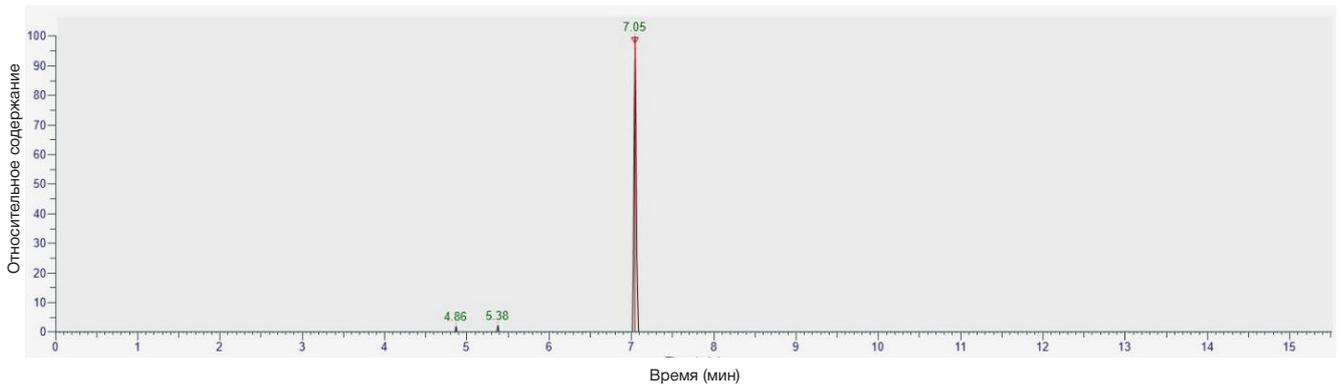


Рис. 1. Хроматограмма хлороформного экстракта мочи фенезапема в режиме SIM по иону  $m/z$  348

анализа характерных ионов масс-спектров данных соединений. Статистическая обработка значений времени удерживания приведена в табл. 2.

В организме фенезапам метаболизируется до 3-гидроксифенезапема. Доля нативного фенезапема, который выводится, составляет 47–89%, поэтому определение возможно и рекомендуется проводить по фенезапаму.

При идентификации кроме времени удерживания значимым фактором являются спектральные характеристики исследуемых веществ (рис. 2).

Провели статистическую обработку полученных данных и валидационную оценку (табл. 3) по параметрам: «оценка переноса аналита», «определение интерференционных эффектов», «подавление/повышение ионизации» [17]. Параметры валидационных характеристик соответствуют критериям приемлемости.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Полученные полные спектры исследованных веществ с диссоциацией масс-спектров ионов, характерных фрагментам молекулы в различных функциональных группах, позволяют выделить характерные ионы для фенезапема: 179, 183, 206, 242, 271, 285, 320, 348 (основной)  $m/z$ .

Согласно данным, представленным в табл. 3, можно выделить для каждого исследуемого соединения характерный ион, однако идентификацию необходимо проводить не менее чем по пяти. При исследовании возможно выполнение анализа в режиме селективного ионного мониторинга (SIM) по заданным ионам. Для фенезапема наиболее интенсивным в масс-спектрах является ион с  $m/z$  348. Следует отметить, что ионы, находящиеся в «неинформативном» диапазоне (т. е.

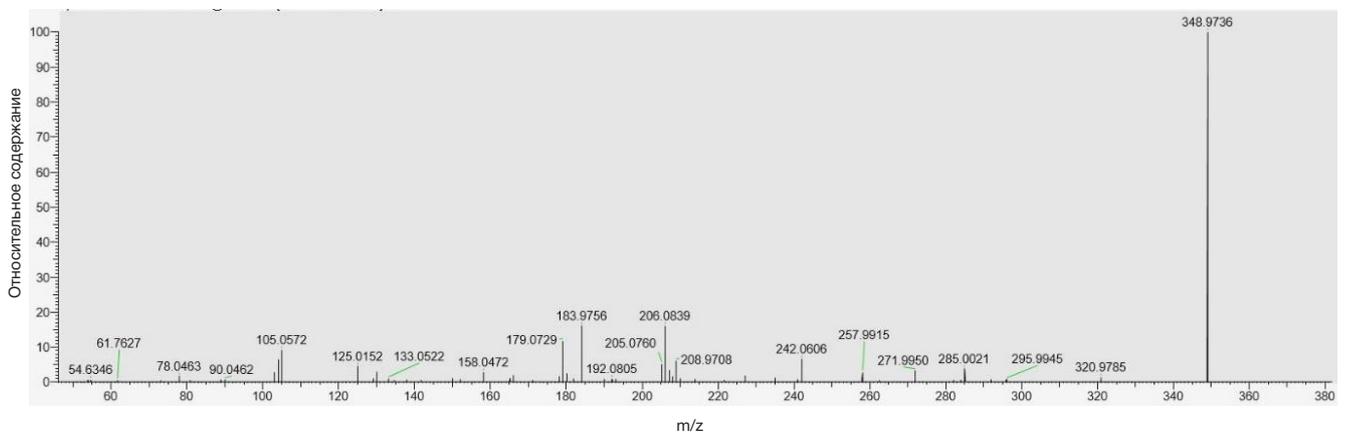


Рис. 2. Масс-спектр фенезапема

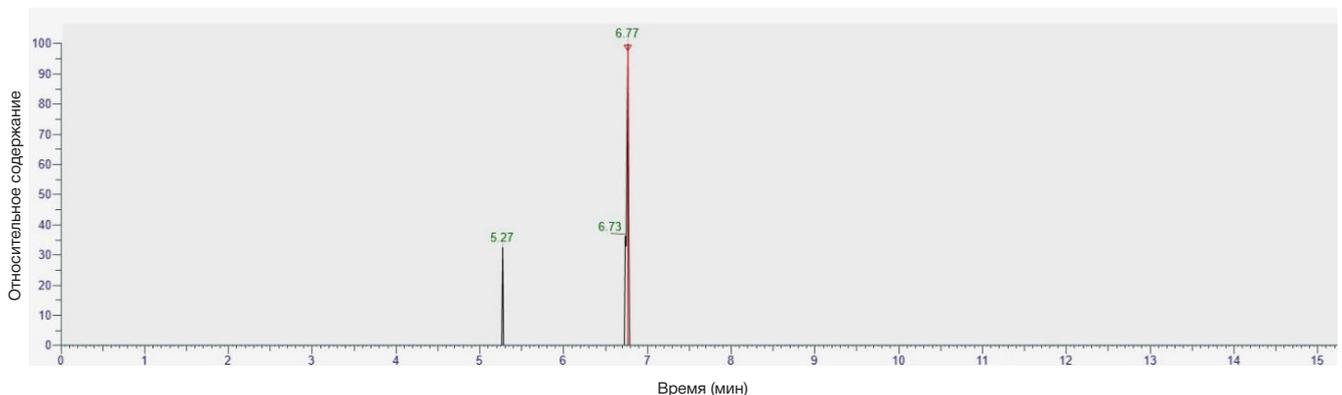


Рис. 3. Хроматограмма хлороформного экстракта мочи 3-гидроксифенезапема в режиме SIM по иону  $m/z$  348

Таблица 3. Оценка параметров валидационных характеристик при идентификации феназепама и его метаболита методом ВЭЖХ-ТМС ВР

Параметр	Результат
Оценка переноса аналита	«Переноса» аналита для 10 нг/мл не происходит
Определение интерференционных эффектов	Отсутствуют интерференционные эффекты внутри группы лекарственных препаратов — метаболиты других агонистов бензодиазепиновых рецепторов (клобазам, залеплон, феназепам)
Подавление/повышение ионизации	от -4,1 до 1,1% RSD < 11%

менее 150 а.е.м.), присутствуют в обоих изучаемых соединениях, поэтому на результаты идентификации сильно влияют компоненты матрицы исследуемого образца и «фона» хроматографической колонки. Следовательно, рекомендовано оптимально использовать для идентификации данные более 150 а.е.м.

## ВЫВОДЫ

Разработана методика идентификации феназепама в извлечениях из мочи методом ВЭЖХ-ТМС с ВР с использованием технологии Orbitrap для установления

факта наличия феназепама в сверхнизких концентрациях в биологических объектах человека (на примере мочи) для использования в судебно-химическом и химико-токсикологическом исследованиях. Обнаружено и установлено время удерживания метаболита 3-гидроксифеназепама после перорального приема и определены характерные ионы для использования при идентификации. Проведена валидационная оценка разработанной методики по параметрам: «оценка переноса аналита», «определение интерференционных эффектов», «подавление/повышение ионизации», по которым она соответствует критериям приемлемости.

## Литература

- Дорофеева О. А. Клинико-фармакологические закономерности терапевтического действия разных лекарственных форм феназепама у больных с тревожными расстройствами. Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук. Москва, 2009. 24 с.
- Калёкин Р. А. Судебно-медицинская (химическая) оценка нейролептиков. Судебно-химическое исследование и токсикологическая характеристика нейролептиков производных бензамида. LAP LAMBERT. Academic Publishing GmbH & Co., 2012; 110 с.
- Калёкин Р. А., Саломатин Е. М., Калёкина В. А., Волкова А. А. Лабораторная диагностика отравлений нейролептиками производными бензамида в наркологии: возможности и проблемы. Наркология. 2008; 7 (4–76): 33–37.
- Калёкин Р. А., Саломатин Е. М., Калёкина В. А., Волкова А. А. Проблемы и ошибки в судебно-химических исследованиях на наркотические и психотропные вещества. В сборнике: В. В. Колкутин, редактор. О проблемных вопросах в организации производства судебно-медицинских экспертиз. Материалы Всероссийской научно-практической конференции. 2009; с. 313–317.
- Калёкин Р. А., Саломатин Е. М., Калёкина В. А. Перспективы разработки судебно-химического и химико-токсикологического анализа нейролептиков замещенных бензамидов. В сборнике: В. А. Клевно, редактор. Современные проблемы медико-криминалистических, судебно-химических и химико-токсикологических исследований. Сборник материалов Всесоюзной научно-практической конференции, посвященной памяти профессора Ю.М. Кубицкого. 2007; с. 212–218.
- Инструкция по медицинскому применению лекарственного препарата Феназепам ЛП-005121-191018.
- Орлова А. М., Калёкин Р. А., Волкова А. А., Невмятова С. Р., Полушкина Н. В. Обнаружение клобазам в моче методом тонкослойной хроматографии. Вестник ВГУ, Химия. Биология. Фармация. 2021; 4: 18–24.
- Орлова А. М., Калёкин Р. А., Савчук С. А. Особенности исследования прегабалина для целей и задач судебно-химических и химико-токсикологических исследований. Судебная медицина. 2018; 4 (S1): 109.
- Порсева Н. Ю., Дворская О. Н. Правовые аспекты оборота снотворных препаратов, способных вызывать лекарственную зависимость. Современные проблемы науки и образования. 2015; 3: 242.
- Инструкция по медицинскому применению лекарственного препарата Феназепам Р №003672/01-160609.
- Инструкция по медицинскому применению лекарственного препарата Феназепам ЛСР-001772/09-100309.
- Орлова А. М., Калёкин Р. А., Павлова А. З. Судебно-медицинская экспертиза вещественных доказательств и возможности исследования прегабалина при судебно-химическом и судебно-токсикологическом исследовании в комбинации с другими сильнодействующими веществами. Судебно-медицинская наука и практика. Материалы научно-практической конференции молодых ученых и специалистов. (28 ноября, 2018). М.: АНО ИЦ, ЮрИнфоЗдрав, 2019; 13: 97–100.
- Калёкин Р. А., Павлова А. З., Орлова А. М., Булыгина И. Е. К вопросу установления факта отравления психотропными и сильнодействующими веществами в биологических объектах неинвазивного отбора. Актуальные вопросы судебной медицины и общей патологии. Матер. науч. прак. конф. Декабрьские чтения в РУДН (21 декабря, 2018). М., 2019; с. 80–84.
- Калёкин Р. А., Саломатин Е. М., Калёкина В. А., Волкова А. А. Дифференциация нейролептиков группы производных бензамидов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). В сборнике: Материалы Всероссийского совещания судебно-медицинских экспертов по применению правил и медицинских критериев определения степени тяжести вреда, причиненного здоровью человека. 2008; с. 226–8.
- Heifer AG, Michely JA, Weber AA, Meyer MR, Maurer HH. Liquid chromatography-high resolution-tandem mass spectrometry using Orbitrap technology for comprehensive screening to detect drugs and their metabolites in blood plasma. *Analytica Chimica Acta*. 2017; 965: 83–95. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.aca.2017.03.002>.
- Heifer AG, Michely JA, Weber AA, Meyer MR, Maurer HH. Orbitrap technology for comprehensive metabolite-based liquid chromatographic-high resolution-tandem mass spectrometric urine drug screening — exemplified for cardiovascular drugs. *Analytica Chimica Acta*. 2015; 891: 221–33.
- Барсегян С. С., Саломатин Е. М., Плетенева Т. В., Максимова Т. В., Долинкин А. О. В сборнике: Р. А. Калёкин, редактор.

Методические рекомендации по валидации аналитических методов, используемых в судебно-химическом и химико-

токсикологическом анализе биологического материала. Методические рекомендации. М.: ПЦСМЭ, 2014.

## References

1. Dorofeeva OA. Kliniko-farmakologicheskie zakonomernosti terapevticheskogo dejstviya raznykh lekarstvennykh form fenazepamа u bol'nyx s trevozhnymi rasstrojstvami. Avtoreferat dissertacii na soiskanie uchenoj stepeni kandidata medicinskix nauk. Moskva, 2009; 24 s. Russian.
2. Kalekin RA. Sudebno-medicinskaya (ximicheskaya) ocenka nejroleptikov. Sudebno-ximicheskoe issledovanie i toksikologicheskaya charakteristika nejroleptikov proizvodnyx benzamida. LAP LAMBERT. Academic Publishing GmbH & Co., 2012; 110 s. Russian.
3. Kalekin RA, Salomatin EM, Kalekina VA, Volkova AA. Laboratornaya diagnostika otravlenij nejroleptikami proizvodnymi benzamidami v narkologii: vozmozhnosti i problemy. Narkologiya. 2008; 7 (4–7): 33–37. Russian.
4. Kalekin RA, Salomatin EM, Kalekina VA, Volkova AA. Problemy i oshibki v sudebno-ximicheskix issledovaniyax na narkoticheskie i psixotropnye veshhestva. V sbornike: V. V. Kolkutin, redaktor. O problemnyx voprosax v organizacii proizvodstva sudebno-medicinskix ehkspertiz. Materialy Vserossijskoj nauchno-prakticheskoy konferencii. 2009; s. 313–317. Russian.
5. Kalekin RA, Salomatin EM, Kalekina VA. Perspektivy razrabotki sudebno-ximicheskogo i ximiko-toksikologicheskogo analiza nejroleptikov zameshennyx benzamidov. V sbornike: V. A. Klevno, redaktor. Sovremennye problemy mediko-kriminalisticheskix, sudebno-ximicheskix i ximiko-toksikologicheskix ehkspertnyx issledovaniy. Sbornik materialov Vsesoyuznoj nauchno-prakticheskoy konferencii, posvyashhennoj pamyati professora Yu.M. Kubickogo. 2007; s. 212–218. Russian.
6. Instrukciya po medicinskomu primeneniyu lekarstvennogo preparata Fenazepam LP-005121-191018. Russian.
7. Orlova AM, Kalekin RA, Volkova AA, Nevmyatova SR, Polushkina NV. Obnaruzhenie klobazama v moche metodom tonkoslojnoj xromatografii. Vestnik VGU, Ximiya. Biologiya. Farmaciya. 2021; 4: 18–24. Russian.
8. Orlova AM, Kalekin RA, Savchuk SA. Osobennosti issledovaniya pregabalina dlya celej i zadach sudebno-ximicheskix i ximiko-toksikologicheskix issledovaniy. Sudebnaya medicina. 2018; 4 (S1): 109. Russian.
9. Porseva NYu, Dvorskaya ON. Pravovye aspekty oborota snotvornyx preparatov, sposobnyx vyzvat' lekarstvennyuyu zavisimost'. Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya. 2015; 3: 242. Russian.
10. Instrukciya po medicinskomu primeneniyu lekarstvennogo preparata Fenazepam R #003672/01-160609. Russian.
11. Instrukciya po medicinskomu primeneniyu lekarstvennogo preparata Fenazepam LSR-001772/09-100309. Russian.
12. Orlova AM, Kalekin RA, Pavlova AZ. Sudebno-medicinskaya ehkspertiza veshhestvennyx dokazatel'stv i vozmozhnosti issledovaniya pregabalina pri sudebno-ximicheskome i sudebno-toksikologicheskom issledovanii v kombinacii s drugimi sil'nodejstvuyushhimi veshhestvami. Sudebno-medicinskaya nauka i praktika. Materialy nauchno-prakticheskoy konferencii molodyx uchenyx i specialistov. (28 noyabrya, 2018). M.: ANO IC, YurInfoZdrav, 2019; 13: 97–100. Russian.
13. Kalekin RA, Pavlova AZ, Orlova AM, Bulygina IE. K voprosu ustanovleniya fakta otravleniya psixotropnymi i sil'nodejstvuyushhimi veshhestvami v biologicheskix ob'ektax ne invazivnogo otbora. Aktual'nye voprosy sudebnoj mediciny i obshhej patologii. Mater. nauch. prak. konf. Dekabr'skie chteniya v RUDN (21 dekabrya, 2018). M., 2019; s. 80–84. Russian.
14. Kalekin RA, Salomatin EM, Kalekina VA, Volkova AA. Differenciatsiya nejroleptikov grupy proizvodnyx benzamidov metodom vysokoehkfektivnoj zhidkostnoj xromatografii (VEhZhX). V sbornike: Materialy Vserossijskogo soveshhaniya sudebno-medicinskix ehkspertov po primeneniyu pravil i medicinskix kriteriev opredeleniya stepeni tyazhesti vreda, prichinennogo zdorov'yu cheloveka. 2008; s. 226–8. Russian.
15. Helfer AG, Michely JA, Weber AA, Meyer MR, Maurer HH. Liquid chromatography-high resolution-tandem mass spectrometry using Orbitrap technology for comprehensive screening to detect drugs and their metabolites in blood plasma. Analytica Chimica Acta. 2017; 965: 83–95. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.aca.2017.03.002>.
16. Helfer AG, Michely JA, Weber AA, Meyer MR, Maurer HH. Orbitrap technology for comprehensive metabolite-based liquid chromatographic-high resolution-tandem mass spectrometric urine drug screening — exemplified for cardiovascular drugs. Analytica Chimica Acta. 2015; 891: 221–33.
17. Barsegyan SS, Salomatin EM, Pleteneva TV, Maksimova TV, Dolinkin AO. V sbornike: R. A. Kalyokin, redaktor. Metodicheskie rekomendacii po validacii analiticheskix metodik, ispol'zuemyx v sudebno-ximicheskome i ximiko-toksikologicheskom analize biologicheskogo materiala. Metodicheskie rekomendacii. M.: RCSMEh, 2014. Russian.