

СЫНБУЛАТОВ ИРЕК ВАДИМОВИЧ

**РАЗРАБОТКА МЕТОДИК ПРОБОПОДГОТОВКИ И ОБНАРУЖЕНИЯ
ПРОИЗВОДНЫХ ПИРРОЛИДИНОФЕНОНА В БИОЛОГИЧЕСКИХ
ЖИДКОСТЯХ**

3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия

АВТОРЕФЕРАТ

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

Самара 2021

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

Доктор фармацевтических наук, доцент **Воронин Александр Васильевич**

Официальные оппоненты:

Калёкин Роман Анатольевич – доктор фармацевтических наук, федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский центр судебно-медицинской экспертизы» Министерства здравоохранения Российской Федерации, лаборатория судебно-химических и химико-токсикологических исследований, заведующий лабораторией.

Люст Елена Николаевна – кандидат фармацевтических наук, доцент, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра токсикологической химии, доцент.

Ведущая организация: Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Пятигорск.

Защита диссертации состоится «__» _____ 2021 г. в __ часов на заседании диссертационного совета 21.2.061.06 при федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (443079, г. Самара, пр. Карла Маркса, 165Б).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке (443001, г. Самара, ул. Арцыбушевская, 171) и на сайте (<http://www.samsmu.ru/scientists/science/referats/>) федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Автореферат разослан «__» _____ 2021 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
кандидат фармацевтических наук, доцент

Жданова Алина Валитовна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. В настоящее время актуальной проблемой химико-токсикологического анализа и судебно-химической экспертизы является необходимость разработки методического и материально-технического обеспечения экспертных исследований производных пирролидинофенона в биологических жидкостях [Мелентьев А.Б. и др., 2016; Katselou M. et al., 2016].

Биологические жидкости (кровь и моча) являются многокомпонентными объектами анализа, которые содержат близкие по структуре соединения и компоненты биологической матрицы, способные маскировать присутствие целевых анализируемых веществ, и таким образом, влиять на достоверность результата исследования. Невысокий уровень концентрации производных пирролидинофенона в биологических жидкостях (в плазме крови до 200 нг/мл) и необходимость концентрирования практически исключают возможность применения жидкость-жидкостной экстракции для проведения пробоподготовки. Подготовка проб с применением ферментативного гидролиза и твердофазной экстракции позволяет добиться получения низких пределов обнаружения для нативных веществ и «маркерных» метаболитов (до 0,5 и 1,0 нг/мл для α -пирролидиновалерофенона и 3,4-метилендиоксипировалерона соответственно) при использовании малых объемов проб биологических жидкостей. Однако сложная техника пробоподготовки и дорогостоящие расходные материалы препятствуют широкому использованию этого метода в рутинной практике [Lehmann S. et al., 2018; Катаев С.С. и др., 2017].

Получению достоверных результатов при проведении скрининговых исследований методом тонкослойной хроматографии препятствуют низкие концентрации производных пирролидинофенона в биологических жидкостях, необходимость подготовки проб и отсутствие коммерческих стандартных образцов производных пирролидинофенона отечественного производства. Иммунохимические тест-системы имеют низкие пределы обнаружения синтетических катинонов (20 нг/мл в моче) и приемлемый уровень селективности, что позволяет использовать их для скрининга. Ограничением для их широкого использования в рутинной практике является недостаточное количество тест-систем, и возрастающая стоимость исследования. Метод газовой хроматографии с масс-селективным детектированием является оптимальным для проведения скрининга, однако невысокий уровень селективности пробоподготовки в ряде случаев негативно влияет на достоверность идентификации и метрологические характеристики метода количественного определения [Москалева Е.В. и др., 2017].

Для расширения перечня доступных в рутинной практике подходов к анализу производных пирролидинофенона необходимы альтернативные варианты скринингового исследования с применением комплекса биохимических показателей [Воронин А.В., 2019].

Таким образом, выбор оптимального способа пробоподготовки биологических жидкостей, методов предварительного исследования с использованием биохимических профилей крови при анализе производных пирролидинофенона является важной научной задачей специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Степень разработанности темы. В многочисленных работах, посвященных исследованию производных пирролидинофенона и их метаболитов в биологическом материале приводятся методики пробоподготовки, анализа и отдельные этапы их разработки [Дворская О.Н. и др., 2017; Marinetti L., 2013; Saito T. et al., 2013]. В данных работах отсутствуют аналитические приемы, направленные на повышение уровня селективности исследования на этапе пробоподготовки анализируемого объекта. Авторы предлагают увеличивать селективность определения при регистрации аналитического сигнала, что связано с применением дорогостоящего оборудования для газовой и жидкостной хроматографии с тандемной масс-спектрометрией [Swoortwood M. et al., 2013]. В связи с этим совершенствование этапа пробоподготовки и применение альтернативных скрининговых вариантов исследования необходимы для повышения доказательности результатов и упрощения процедуры судебно-химического анализа производных пирролидинофенона.

Цель исследования. Целью настоящей диссертационной работы является разработка комплексного подхода к пробоподготовке и обнаружению производных пирролидинофенона в биологических жидкостях для судебно-химической экспертизы.

Для достижения поставленной цели необходимо решить следующие **задачи**:

1. Поиск модельных химических соединений для производных пирролидинофенона и их маркерных метаболитов методами компьютерного моделирования.

2. Получение сорбентов на основе производных акриловой кислоты с заданными параметрами селективности по отношению к производным пирролидинофенона.

3. Определение физико-химических характеристик полученных синтетических сорбентов на основе производных акриловой кислоты.

4. Разработка методик пробоподготовки биологических жидкостей на производные пирролидинофенона с применением сорбента на основе

производных акриловой кислоты и определение их метрологических характеристик.

5. Обоснование применения комплекса судебно-биохимических показателей трупной крови для скрининга летальных отравлений производными пирролидинофенона.

6. Создание компьютерной базы данных судебно-биохимических показателей крови при летальных отравлениях производными пирролидинофенона и разработка математической модели для характеристики данного вида отравления.

Научная новизна. В ходе исследования выявлены, обобщены и систематизированы основные проблемы в практике судебно-химической экспертизы производных пирролидинофенона.

Впервые предложены химические соединения, моделирующие физико-химические, структурные и биологические свойства производных пирролидинофенона.

Получен сорбент на основе производных акриловой кислоты для селективного изолирования производных пирролидинофенона и их маркерных метаболитов из плазмы крови и мочи.

Изучены физико-химические и структурные характеристики полимерных сорбентов на основе производных акриловой кислоты.

Впервые показано, что применение комплекса судебно-биохимических показателей трупной крови является дополнительным альтернативным способом определения производных пирролидинофенона на этапе скрининга в судебно-химической экспертизе.

На основе судебно-биохимических показателей получены математические модели летальных отравлений производными пирролидинофенона.

Теоретическая и практическая значимость.

Теоретическая значимость результатов исследования заключается в выборе и применении модельных химических соединений для использования в лабораторных исследованиях без юридических ограничений, которые распространяются на наркотические средства и психотропные вещества. Предложен вариант скринингового исследования на производные пирролидинофенона, основанный на использовании судебно-биохимических показателей крови.

Путем молекулярного импринтинга на основе производных акриловой кислоты получены полимерные сорбенты, имеющие высокий уровень селективности к производным пирролидинофенона. Получен приоритет на изобретение «Способ получения селективного сорбента для твердофазной экстракции производных пирролидона из биологических жидкостей» (заявка

№2020131209 от 21.09.2020). Исследованы физико-химические характеристики полученных сорбентов.

По результатам исследования подготовлено информационное письмо «Получение сорбента на основе молекулярно импринтированного полимера для пробоподготовки при судебно-химических и химико-токсикологических исследованиях биологических жидкостей на производные пирролидинофенона», утвержденное ФГБУ «Российский центр судебно-медицинской экспертизы» Минздрава России и рекомендованное к применению в практике судебно-химической экспертизы (протокол №4 от 27.10.2020 г.).

Предложены методики пробоподготовки биологических жидкостей с применением сорбента на основе производных акриловой кислоты на производные пирролидинофенона, которые обеспечивают селективность процедуры анализа и низкие величины пределов обнаружения. Данные методики целесообразно использовать в экспертной практике для пробоподготовки при исследовании биологических жидкостей методом газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием.

Создана компьютерная база данных «Судебно-биохимические профили крови для построения математических моделей отравлений производными пирролидинофенона» (№2020621295 от 24.07.2020 г.) и предложен алгоритм скрининга производных пирролидинофенона на основе комплекса судебно-биохимических показателей крови.

Личный вклад автора. Результаты экспериментальных исследований, представленные в диссертации, получены автором лично, либо при его непосредственном участии. Автором проведен компьютерный поиск модельных химических соединений для производных пирролидинофенона, получены сорбенты на основе акриловой кислоты и диаллиламина и определены их характеристики, разработаны методики пробоподготовки биологических жидкостей, выполнена статистическая обработка экспериментальных данных, сформирована база данных судебно-биохимических показателей при летальных отравлениях производными пирролидинофенона для построения математических моделей.

Связь задач исследования с планом научно-исследовательской работы. Диссертационная работа выполнена в соответствии с планом научно-исследовательской работы ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России «Химико-фармацевтические, биотехнологические, фармакологические и организационно-экономические исследования по разработке, анализу и применению фармацевтических субстанций и лекарственных препаратов» (№ государственного учета АААА-А19-119051490148-7).

Публикации. Опубликовано 16 научных работ, в том числе 4 работы в изданиях, включенных в Перечень ВАК РФ, 1 работа в издании, индексируемом в SCOPUS. Получено 1 свидетельство о государственной регистрации базы данных.

Издано 1 информационное письмо для химиков-экспертов «Получение сорбента на основе молекулярно импринтированного полимера для пробоподготовки при судебно-химических и химико-токсикологических исследованиях биологических жидкостей на производные пирролидинофенона», утвержденное ФГБУ «Российский центр судебно-медицинской экспертизы» Минздрава России.

Внедрение результатов исследования. Разработанное по результатам исследования информационное письмо «Получение сорбента на основе молекулярно импринтированного полимера для пробоподготовки при судебно-химических и химико-токсикологических исследованиях биологических жидкостей на производные пирролидинофенона» издано ФГБУ «Российский центр судебно-медицинской экспертизы» Минздрава России. Методики пробоподготовки биологических жидкостей при исследовании на производные пирролидинофенона апробированы и внедрены в практическую деятельность филиала №3 ФГКУ «111 Главного государственного центра судебно-медицинских и криминалистических экспертиз Минобороны России» (акт внедрения от 15.12.2020 г.), Пермского краевого бюро судебно-медицинской экспертизы (акт апробации от 17.12.2020 г.), Пермского краевого клинического наркологического диспансера (акт апробации от 15.12.2020). Результаты, полученные в ходе проведения диссертационного исследования, применяются в образовательной деятельности Пермской государственной фармацевтической академии (акт внедрения от 14.12.2020 г.), Курском государственном медицинском университете (акт внедрения от 16.12.2020 г.), Южно-Уральском государственном медицинском университете (акт внедрения от 25.12.2020 г.).

Методология и методы исследования. Методология исследования включает анализ и обобщение отечественных и зарубежных литературных данных, оценку актуальности работы, постановку цели и задач, выполнение эксперимента по созданию специфичного сорбента и методики изолирования производных пирролидинофенона из биологических жидкостей с использованием современных инструментальных физико-химических методов.

Использованы методы компьютерного моделирования на платформах Swiss Institute of Bioinformatics, ChemAxon Pass, синтеза полимерных сорбентов с применением молекулярного импринтинга, определения физико-химических свойств сорбентов (метод Брунауэра-Эммета-Теллера, метод

Баррета-Джойнера-Халенды), твердофазной экстракции (сорбции), фотоэлектроколориметрии, спектрофотометрии, газо-жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием.

Для статистической обработки полученных результатов использовали обработку выборок методами вариационной статистики, регрессионный и дискриминантный анализы.

Положения, выдвигаемые на защиту:

1. Результаты исследований по выбору модельных химических соединений для производных пирролидинофенона и их маркерных метаболитов методами компьютерного моделирования.

2. Результаты исследований по созданию полимерных сорбентов на основе производных акриловой кислоты с заданными параметрами селективности к производным пирролидинофенона.

3. Результаты определения физико-химических характеристик синтетических полимерных сорбентов на основе производных акриловой кислоты.

4. Результаты исследований по разработке методик пробоподготовки биологических жидкостей при исследовании на производные пирролидинофенона и определения метрологических характеристик.

5. Компьютерная база данных «Судебно-биохимические профили крови для построения математических моделей отравлений производными пирролидинофенона».

6. Математическая модель летальных отравлений производными пирролидинофенона.

Степень достоверности научных положений определяется представительностью и достоверностью первичных аналитических данных; корректностью сбора информации; использованием современных физико-химических методов анализа и статистических методов исследования; репрезентативностью выборки; апробацией и подтвержденным внедрением результатов в практику. Обработки результатов исследований проведена методом статистического анализа данных. Сформулированные в диссертации выводы аргументированы и логически вытекают из результатов анализа и четко аргументированы.

Апробация результатов. Основные положения и результаты работы доложены на научно-практических конференциях: III Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Проблемы злоупотребления лекарственными препаратами и новым психоактивными веществами» (Пермь, 2017), «Научные достижения молодых ученых XXI века в рамках приоритетных направлений стратегии научно-технологического развития страны (Самара, 2017, 2018, 2019), VIII Всероссийская научная

конференция студентов и аспирантов с международным участием «Молодая фармация – потенциал будущего» (Санкт-Петербург, 2018), научно-практическая конференция студентов и молодых ученых «Актуальные вопросы современной медицины и фармации» (Витебск, 2020), международный научный форум «Наука и инновации – современные концепции» (Москва, 2020), I Межвузовская научно-практическая конференция с международным участием «Синтез наук как основа развития медицинских знаний» (Самара, 2020).

Объем и структура работы. Диссертационная работа изложена на 145 страницах, состоит из введения, обзора литературы, 4 глав собственных исследований, общих выводов, списка литературы и приложения. Содержит 25 таблиц, 33 рисунка. Список литературы состоит из 130 источников, в том числе 92 на иностранных языках.

Во **введении** обоснована актуальность темы, определены цель и задачи исследования, научная новизна и практическая значимость.

В **главе 1** представлен обзор литературы по основным методам пробоподготовки и исследования производных пирролидинофенона в судебно-химической экспертизе. В качестве одного из подходов к пробоподготовке твердофазной экстракцией отмечено использование в качестве сорбентов молекулярно импринтированных полимеров.

Глава 2 включает в себя описание объектов и методов, используемых при проведении экспериментальных исследований.

В **главе 3** обосновано использование лекарственного вещества фенилпиретама в качестве модельного соединения для производных пирролидинофенона.

В **главе 4** изложены способ получения, структурные и функциональные характеристики молекулярно импринтированного сорбента на основе производных акриловой кислоты.

В **главе 5** представлены результаты определения основных параметров методики пробоподготовки биологических жидкостей (крови, мочи) методом твердофазной экстракции с применением полученного молекулярно импринтированного сорбента на производные пирролидинофенона.

В **главе 6** обосновано применение комплекса судебно-биохимических показателей и представлены разработанные математические модели для скрининга летальных отравлений производными пирролидинофенона.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Компьютерный поиск химических соединений – аналогов свойств для производных пирролидинофенона

В результате поиска на платформах ZINC, PubChem, DrugBank в качестве потенциальных модельных химических соединений выбраны лекарственные вещества, содержащие в структуре пирролидиновый цикл – пирацетам, фенилпирацетам, пидотимод, бриварацетам, леветирацетам.

В таблице 1 представлены результаты расчета физико-химических свойств производных пирролидинофенона и лекарственных веществ, содержащих пирролидиновый цикл.

Таблица 1 – Физико-химические свойства производных пирролидинофенона и лекарственных веществ, содержащих пирролидиновый цикл (расчет на платформе ChemAxon Pass)

Исследуемые соединения	pK _b	logD			Растворимость в воде, мкг/мл
		Значение pH			
		1,7	6,5	8,0	
α-ПВП	6,20	-0,14	1,96	3,11	153,0
3,4-МДПВ	6,69	-0,51	2,11	2,91	63,9
Метаболит α-ПВП	15,54	2,41	2,41	2,41	57,0
Метаболит 3,4-МДПВ	15,54	2,04	2,04	2,04	24,1
Фенилпирацетам	16,00	-0,19	-0,19	-0,19	3230,0
Пидотимод	10,43	-1,3	-4,13	-4,77	7372,0
Бриварацетам	15,12	0,66	0,66	0,66	671,0
Пирацетам	15,98	-1,68	-1,68	-1,68	95479,0
Леветирацетам	15,56	-0,59	-0,59	-0,59	17796,0

Важным условием пробоподготовки методом твердофазной экстракции (ТФЭ) в варианте селективного взаимодействия является перевод анализируемых соединений в молекулярную (неионизированную) форму. Следует отметить, что 99% от общего количества α-пирролидиновалерофенона (α-ПВП) и 3,4-метилendioксипировалерона (3,4-МДПВ) находится в молекулярной форме при значении pH водной фазы 8-9. Потенциальные модельные соединения (фенилпирацетам, бриварацетам, пирацетам, леветирацетам) находятся в неионизированной форме во всем диапазоне значений pH водной фазы, что соответствует поведению молекул метаболитов α-ПВП и 3,4-МДПВ.

Значение коэффициента распределения в системе н-октанол/вода logD фенилпирацетама -0,19 при значении pH 8,0, обеспечивает переход нативных α-ПВП и 3,4-МДПВ в неионизированную форму и указывает на его амфифильные свойства. Значение logD бриварацетама 0,66 при значении pH 8,0 свидетельствует о слабых липофильных свойствах, а леветирацетам обладает слабой гидрофильностью.

Оценка схожести потенциальных модельных химических соединений производным пирролидинофенона проведена путем расчета *in silico* структурных дескрипторов. В ряду исследуемых соединений пирацетам и леветирацетам наименее способны к Ван-дер-Ваальсовым взаимодействиям. Фенилпирацетам (23,07 Å³) и бриварацетам (22,69 Å³) имеют наибольшую поляризуемость. Площадь поверхности молекул фенилпирацетама и

бриварацетама составляет 395,23 Å² и 431,93 Å² соответственно, а площадь поверхности молекул производных пирролидинофенона находится в диапазоне значений 435-490 Å². По величине площади поверхности молекул наиболее близки к производным пирролидинофенона молекулы фенилпиретама и бриварацетама, но последний не подходит по растворимости.

Таким образом, расчет физико-химических свойств и структурных дескрипторов производных пирролидинофенона и лекарственных веществ, содержащих пирролидиновый цикл, показал, что в ряду исследуемых соединений наиболее адекватным аналогом свойств для вышеуказанной группы наркотических средств является фенилпиретам.

Молекулярный докинг с белками-переносчиками серотонина дофамина показал, что, производные пирролидинофенона и лекарственные вещества, содержащие пирролидиновый цикл, взаимодействуют с рецепторами в одном сайте связывания белка (рис. 1).

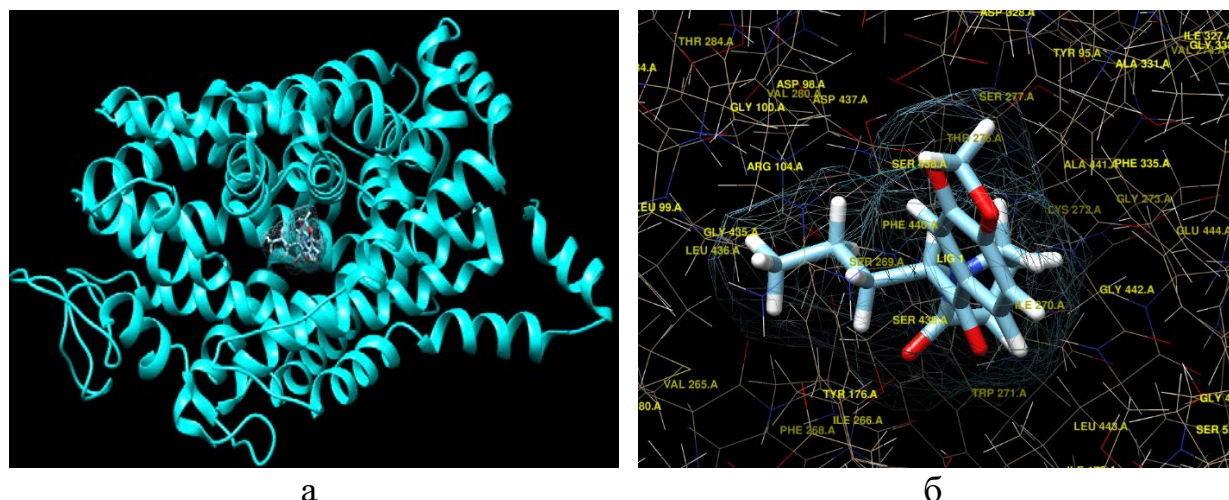


Рисунок 1 – Визуализация докинга на примере взаимодействия 3,4-МДПВ с белком-переносчиком серотонина: расположение сайта связывания в «структурной мишени» (а); структура сайта связывания с обозначением аминокислотных остатков (б).

В таблице 2 представлены результаты докинга молекул исследуемых веществ с белками-переносчиками серотонина и дофамина. Значения свободной энергии связывания серотонина и дофамина являются реперными точками, позволяющими интерпретировать полученные результаты.

Таблица 2 – Результаты докинга производных пирролидинофенона и лекарственных веществ содержащих пирролидиновый цикл с белками-переносчиками серотонина и дофамина (по данным платформы Swiss Dock)

Исследуемые соединения	Свободная энергия связывания, ΔG, Дж/моль
------------------------	---

	Белок-переносчик серотонина	Белок-переносчик дофамина
3,4-МДПВ	-34273,85	-70821,43
Метаболит 3,4-МДПВ	-32038,68	-69692,26
Фенилпирacetам	-31517,69	-68629,88
α -ПВП	-30672,48	-68551,98
Метаболит α -ПВП	-30201,09	-62561,09
Бриварацетам	-29845,91	-59385,91
Серотонин	-28970,68	-
Дофамин	-	-65126,54
Пирacetам	-28368,26	-59368,26
Леветирацетам	-27462,01	-60319,01

Производные пирролидинофенона обладают меньшими значениями свободной энергии связывания по отношению к показателям серотонина и могут заместить его в сайте связывания. Более низким значением свободной энергии связывания обладают фенилпирacetам и бриварацетам, следовательно среди исследуемых модельных соединений их аффинность к белку-переносчику серотонина выше.

Фенилпирacetам имеет свободную энергию связывания, сопоставимую с значением этого параметра α -ПВП и метаболита 3,4-МДПВ. Результаты докинга исследуемых веществ с белком-переносчиком дофамина показали, что все производные пирролидинофенона (кроме метаболита α -ПВП) обладают большим сродством к рецептору по сравнению с дофамином. Из числа модельных соединений только фенилпирacetам имеет значение свободной энергии связывания (-68629,88 Дж/моль) меньшее, чем показатель дофамина (-65126,54).

На основании оценочных функций установлен высокий уровень аффинности производных пирролидинофенона и фенилпирacetам к рецепторам – белкам-переносчикам серотонина и дофамина, что свидетельствует об идентичности пространственно-структурных характеристик данных соединений. Аналитическая модель взаимодействия «сорбент-анализируемое вещество» является аппроксимацией биологической модели взаимодействия «лиганд (анализируемое вещество)-сайт связывания».

Получение и определение характеристик молекулярно импринтированного сорбента на основе производных акриловой кислоты для изолирования производных пирролидинофенона из биологических жидкостей

Для синтеза полимерных сорбентов готовили полимеризационные смеси, состоящие из функциональных мономеров – метакриловой кислоты (МАК) и диаллиламина (ДАА); структурного мономера – акриламида (АА); темплата – фенилпирacetам; сшивающего агента – N,N'-метилен-бис-акриламида

(МБАА); инициаторов радикальной полимеризации – аммония персульфата и N,N,N',N'-тетраметилэтилендиамина (ТМЭД) (табл. 3).

Таблица 3 – Состав композиций для получения молекулярно импринтированных сорбентов на основе производных акриловой кислоты

Образец, №	МАК, %	АА, %	ДАА, %	МБАА, %	фенилпирацетам, %
1	11	11	11	56	11
2	11	22	11	44	11
3	11	33	11	33	11
4	11	44	11	22	11
5	11	56	11	11	11

Предложены три варианта методики синтеза сорбентов, которые отличаются полярностью применяемого растворителя для полимеризационной среды и способом инициации радикальной полимеризации (табл. 4).

Таблица 4 – Зависимость выхода при синтезе молекулярно импринтированных сорбентов от типа растворителя и способа активации полимеризации

Методика	Выход, %				
	Образец №1	Образец №2	Образец №3	Образец №4	Образец №5
Методика 1 (протонный растворитель + аммония персульфат и ТМЭД)	92	89	87	86	83
Методика 2 (апротонный растворитель + аммония персульфат и ТМЭД)	34	31	27	25	24
Методика 3 (протонный растворитель + УФ-свет)	-	-	-	-	-

При фотохимическом иницировании (*методика 3*) отмечали полное отсутствие полимеризации. Выход полимеров при использовании апротонного растворителя деметилсульфоксида для полимеризационной среды находился в диапазоне 24-34 %. При использовании воды очищенной и иницировании с помощью аммония персульфата и ТМЭД выход увеличивался примерно в 3 раза. Таким образом, для синтеза молекулярно импринтированных сорбентов на основе производных акриловой кислоты использовали методику синтеза, предполагающую введение молекулы-шаблона – фенилпирацетама в состав предполимеризационного комплекса в среде полярного протонного растворителя (воды очищенной).

Таблица 5 – Параметры селективности молекулярно импринтированных сорбентов на основе производных акриловой кислоты различного состава

Анализируемое вещество	Параметр									
	<i>IF</i>	<i>PP, %</i>	<i>IF</i>	<i>PP, %</i>	<i>IF</i>	<i>PP, %</i>	<i>IF</i>	<i>PP, %</i>	<i>IF</i>	<i>PP, %</i>
	Образец №1		Образец №2		Образец №3		Образец №4		Образец №5	
Фенилпирacetам	1,3	100,0	1,7	100,0	2,2	100,0	3,4	100,0	6,4	100,0
Морфин	1,1	82,5	1,3	85,3	1,5	87,5	1,7	12,8	2,6	16,4
Кодеин	1,3	86,6	1,2	81,3	1,2	81,2	1,4	8,5	1,8	9,7
Верапамил	1,1	84,2	1,1	84,5	1,2	83,2	1,1	9,5	1,2	7,5
Эфедрин	1,3	83,7	1,5	85,3	1,7	84,4	1,6	9,3	1,2	8,1
Баклофен	1,2	87,9	1,5	82,8	1,9	86,7	2,1	13,7	2,3	15,3
Доксиламин	1,2	88,2	1,3	75,1	1,1	88,1	1,3	9,1	1,9	10,6
Амитриптилин	1,3	84,2	1,4	84,5	1,3	83,2	1,7	9,5	1,2	7,5
Циннаризин	1,2	83,7	1,5	85,3	1,8	84,4	1,6	9,3	1,1	8,1

Способность образцов сорбентов к перекрестному реагированию с лекарственными веществами других химических групп оценена по значению импринтинг фактора *IF* и коэффициента перекрестного реагирования (*PP, %*) (табл. 5).

Статистически достоверное различие значений импринтинг фактора *IF* позволяет сделать заключение о целесообразности использования образца сорбента №5 для разработки методики пробоподготовки методом ТФЭ при исследовании производных пирролидинофенона.

Удерживающий вариант ТФЭ предполагает стадию нанесения пробы анализируемого вещества с последующим элюированием (десорбцией). При нанесении на сорбент фенилпирacetама в количестве 500 нг-15 мг на 100 мг, определена предельная обменная емкость молекулярно импринтированного сорбента на основе производных акриловой кислоты, которая составила $14 \pm 2\%$.

В ИК-спектре исследуемого образца присутствуют ряд характерных полос поглощения (рис. 2):

- 3350 см^{-1} – полоса поглощения средней интенсивности, характеризующая N-H валентные колебания во вторичных аминах;
- 3200 см^{-1} – полоса поглощения, характеризующая N-H валентные колебания в первичных амидах;
- 2900 см^{-1} – полоса поглощения, характеризующая валентные колебания N-H в ассоциированной группе NH_2 ;
- 1660 см^{-1} – полоса пропускания, характеризующая валентные колебания связи C=O в карбонильных группах;
- 1450 см^{-1} – полоса поглощения, определяющая -N=N- валентные колебания.

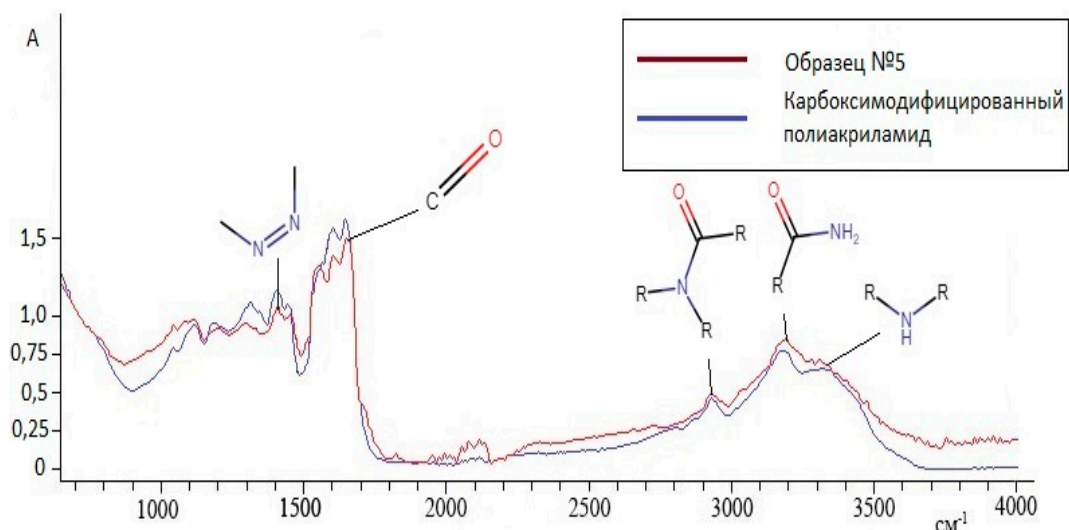


Рисунок 2 – ИК-спектр образца молекулярно импринтированного сорбента на основе производных акриловой кислоты (образец №5)

Методом сканирующей электронной микроскопии проведен анализ макроструктуры поверхности исследуемого образца сорбента. Установлено, что структурными единицами сорбента являются частицы неправильной формы с размером от 50 до 170 мкм с выраженной неоднородностью их поверхности.

Методом низкотемпературной сорбции/десорбции азота показана потенциальная возможность образования полимолекулярного слоя вещества на границе раздела фаз. В структуре сорбента количественно преобладают мезопоры (2-50 нм), их относительное содержание составляет 83,25% по объему и 89,96% по площади поверхности.

Определены структурные и функциональные характеристики полученного молекулярно импринтированного сорбента на основе производных акриловой кислоты. Размер частиц составляет 50-170 мкм, значение удельной площади поверхности пор – 7,25 м²/г, средний диаметр пор – 31 нм (310 Å). Импринтинг фактор *IF*, характеризующий селективность взаимодействия целевого анализируемого вещества с сорбентом для фенилпирацетама равен 6,4. Значение коэффициента перекрестного реагирования с опиатами, верапамилом, эфедрином, баклофеном, доксиламином, амитриптилином и циннаризином находится в диапазоне значений 7,5-16,0%.

Разработка и апробация методики пробоподготовки биологических жидкостей методом твердофазной экстракции на производные пирролидинофенона

Целью разработки методики пробоподготовки биологических жидкостей на производные пирролидинофенона методом ТФЭ с применением селективных полимерных сорбентов является повышение селективности процедуры анализа на этапе подготовки пробы, а не на этапе регистрации аналитического сигнала (измерения). В качестве селективного сорбента в методе ТФЭ выбран образец молекулярно импринтированного сорбента, следующего состава: 11% МАК, 56% АА, 11% ДАА, 11% МБАА.

На основании проведенных исследований на модельных водных растворах фенилпиретама определены следующие параметры методики ТФЭ:

- эффективный элюент для десорбции фенилпиретама с молекулярно импринтированного сорбента – спирт изопропиловый;
- оптимальный объем пробы 1 мл;
- максимальная степень извлечения из водных растворов (не менее 80%) в интервале концентраций фенилпиретама 100,0-6000,0 нг/мл.

Параметры пробоподготовки методом ТФЭ, определенные на водных растворах фенилпиретама, использованы для процедуры пробоподготовки модельных биологических жидкостей (крови, мочи).

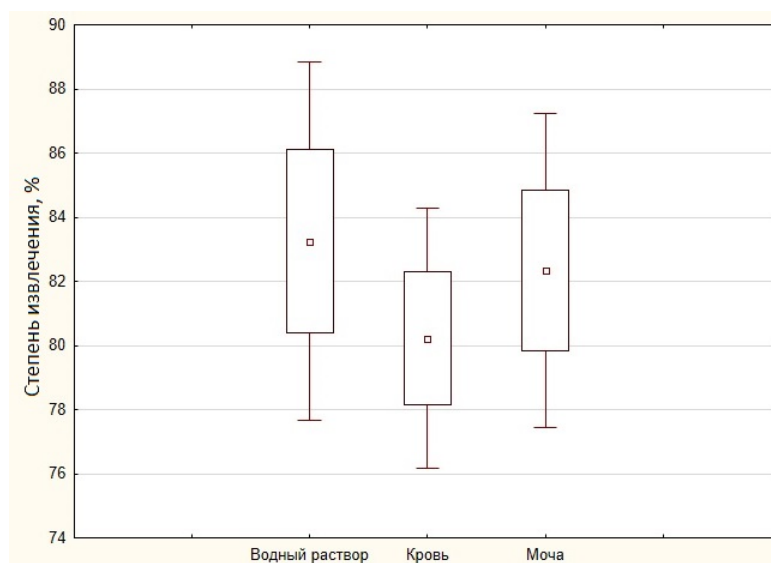


Рисунок 3 – Сравнение средней степени извлечения модельного соединения фенилпиретама (%) из водных растворов и образцов биологических жидкостей (диапазон концентраций 20,0-6000,0 нг/мл).

Сравнение величин средней степени извлечения фенилпиретама (для диапазона концентраций 20,0-6000,0 нг/мл) из водных растворов, образцов крови и мочи показывает, что степень извлечения из модельных образцов крови на 6% ниже по сравнению со степенью извлечения из водных растворов, и на 4% ниже – по сравнению с образцами мочи. Степень извлечения

фенилпирацетама из образцов мочи статистически достоверно не отличается от степени извлечения из водного раствора (рис. 3).

Таким образом, только для образцов крови наблюдается влияние матрицы на извлечение целевого соединения, а также возможно, что снижение извлечения может быть связано с потерями фенилпирацетама на этапе депротенизации ацетонитрилом.

Параметры правильности и прецизионности методики пробоподготовки методом ТФЭ оценены путем анализа модельных образцов крови и мочи для трех уровней концентраций фенилпирацетама: нижний – 50,0 нг/мл, средний – 500,0 нг/мл и верхний – 1500,0 нг/мл (табл. 6). В качестве принятого опорного значения при оценке правильности использована степень извлечения фенилпирацетама из водного раствора соответствующей концентрации.

Таблица 6 – Результаты оценки правильности и прецизионности показателя «степень извлечения» методики пробоподготовки биологических жидкостей методом твердофазной экстракции с применением молекулярно импринтированного сорбента на основе производных акриловой кислоты

Анализируемый образец	Уровни концентраций фенилпирацетама, нг/мл	Степень извлечения, %	Правильность, %	Сходимость между сериями параллельных определений, %
Кровь (после депротенизации ацетонитрилом)	Нижний 50,0	61,6	6,5	16,1
	Средний 500,0	84,2	5,3	8,3
	Высокий 1500,0	87,6	11,5	6,1
Моча	Нижний 50,0	66,4	5,2	12,6
	Средний 500,0	86,6	3,7	9,5
	Высокий 1500,0	92,4	3,5	5,4

Относительные погрешности определения степени извлечения (параметры правильности) из образцов крови, используемые для оценки правильности методики пробоподготовки, для всех уровней концентраций фенилпирацетама не превышают значения $\pm 12\%$. Для верхнего уровня концентрации (1500,0 нг/мл) погрешность составляет $\pm 11,5\%$. Минимальное значение наблюдается на среднем уровне концентрации 500,0 нг/мл и составило $\pm 5,3\%$.

Относительные погрешности определения степени извлечения из образцов мочи для всех уровней концентраций не превышают значение $\pm 6\%$. Для верхнего уровня концентрации (1500,0 нг/мл) погрешность составляет около $\pm 4\%$.

Сходимость результатов определения степени извлечения фенилпиретама из модельных образцов крови на нижнем уровне концентраций равна 16,1%, на верхнем уровне концентраций – 6,1%. Для образцов мочи сходимость результатов определений степени извлечения фенилпиретама на нижнем уровне концентраций равна 12,6%, на верхнем уровне концентраций – около 5%.

Селективность методики пробоподготовки определена путем расчета коэффициента перекрестного реагирования на примере модельных образцов крови, содержащих бинарные комбинации фенилпиретама и ряда лекарственных веществ основного и амфотерного характера (табл. 7).

Среди исследованных лекарственных веществ максимальные значения коэффициента перекрестного реагирования на уровне 8-9% имеют циннаризин и баклофен. Для опиатов и эфедрина коэффициент перекрестного реагирования не превышал 5,5%.

Таблица 7 – Коэффициенты перекрестного реагирования ряда лекарственных веществ и фенилпиретама при пробоподготовке модельных образцов крови методом твердофазной экстракции с применением молекулярно импринтированного сорбента на основе производных акриловой кислоты

Лекарственное вещество + фенилпиретам	Уровень концентрации в крови, (нг/мл) / ПР, %		
	Терапевтическая концентрация	Токсическая концентрация	Летальная концентрация
Морфин	100,0 / 3,5	400,0 / 5,2	2000,0 / 5,4
Кодеин	200,0 / 4,5	400,0 / 5,1	1500,0 / 5,2
Верапамил	200,0 / 3,5	800,0 / 3,1	5000,0 / 3,3
Эфедрин	100,0 / 3,2	1000,0 / 5,1	5000,0 / 5,5
Баклофен	500,0 / 8,6	2000,0 / 9,0	-
Доксиламин	200,0 / 6,4	-	-
Амитриптилин	200,0 / 6,7	500,0 / 7,5	2000,0 / 7,1
Циннаризин	200,0 / 8,1	-	-

Коэффициенты перекрестного реагирования лекарственных веществ, находящиеся в интервале 3,1-9,0% по сравнению с величиной этого фенилпиретама (100,0%) однозначно доказывают высокую селективность полученного молекулярно импринтированного сорбента на основе производных акриловой кислоты.

Принципиальная схема методики пробоподготовки биологических жидкостей методом ТФЭ при исследовании на производные пирролидинофенона представлена на рисунке 4.

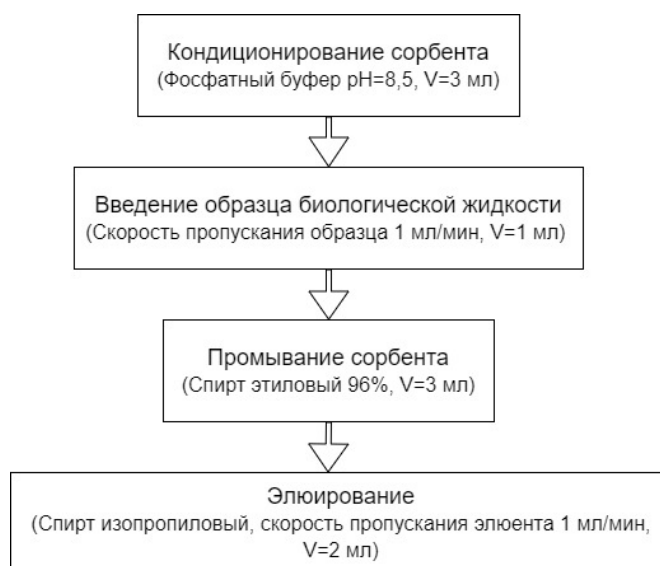


Рисунок 4 – Схема пробоподготовки биологических жидкостей методом ТФЭ при исследовании на производные пирролидинофенона с применением молекулярно импринтированного сорбента на основе производных акриловой кислоты.

Разработанная методика пробоподготовки биологических жидкостей (крови, мочи) на производные пирролидинофенона методом ТФЭ с применением молекулярно импринтированного сорбента на основе производных акриловой кислоты, апробирована в ряде экспертных учреждений: филиале №3 ФГКУ «111 Главного государственного центра судебно-медицинских и криминалистических экспертиз Минобороны России», Пермском краевом бюро судебно-медицинской экспертизы, Пермском краевом клиническом наркологическом диспансере.

Применение комплекса судебно-биохимических показателей трупной крови для скрининга летальных отравлений производными пирролидинофенона

С целью выбора информативных судебно-биохимических показателей проведен дискриминантный анализ результатов исследования 534 образцов трупной крови лиц, умерших от различных причин.

В результате проведенных исследований установлено, что наиболее информативными судебно-биохимическими показателями трупной крови для выявления летальных отравлений веществами группы производных пирролидинофенона являются концентрация мочевины ($C_{\text{моч}}$), концентрация общего белка ($C_{\text{белок}}$), отношение концентраций мочевины и креатинина ($C_{\text{моч}}/C_{\text{кр}}$), а также уровень молекул средней молекулярной массы (МСМ).

Для летальных отравлений производными пирролидинофенона и для отравлений другими группами токсикологически важных веществ, а также для

других классификационных групп были получены классификационные функции:

$$\text{«Отравление производными пирролидинофенона»} = -0,053 \cdot C_{\text{глюк}} - 0,19 \cdot C_{\text{моч}} + 0,31 \cdot C_{\text{кр}} + 0,25 \cdot C_{\text{белок}} + 0,12 \cdot (C_{\text{моч}}/C_{\text{кр}}) + 16,71 \cdot \text{МСМ} + 12,04 \cdot \text{АХЭ} - 33,10;$$

$$\text{«Отравление НС и ПВ разных химических групп»} = -0,026 \cdot C_{\text{глюк}} - 0,17 \cdot C_{\text{моч}} + 0,29 \cdot C_{\text{кр}} + 0,24 \cdot C_{\text{белок}} + 0,14 \cdot (C_{\text{моч}}/C_{\text{кр}}) + 18,91 \cdot \text{МСМ} + 13,39 \cdot \text{АХЭ} - 40,55;$$

$$\text{«Отравление этиловым спиртом»} = -0,010 \cdot C_{\text{глюк}} - 0,12 \cdot C_{\text{моч}} + 0,28 \cdot C_{\text{кр}} + 0,17 \cdot C_{\text{белок}} + 0,11 \cdot (C_{\text{моч}}/C_{\text{кр}}) + 19,24 \cdot \text{МСМ} + 13,87 \cdot \text{АХЭ} - 38,89;$$

$$\text{«Отравление суррогатами этилового спирта»} = -0,054 \cdot C_{\text{глюк}} - 0,18 \cdot C_{\text{моч}} + 0,35 \cdot C_{\text{кр}} + 0,22 \cdot C_{\text{белок}} + 0,14 \cdot (C_{\text{моч}}/C_{\text{кр}}) + 21,89 \cdot \text{МСМ} + 13,77 \cdot \text{АХЭ} - 44,62;$$

$$\text{«Отравление уксусной кислотой»} = 0,043 \cdot C_{\text{глюк}} - 0,21 \cdot C_{\text{моч}} + 0,34 \cdot C_{\text{кр}} + 0,16 \cdot C_{\text{белок}} + 0,13 \cdot (C_{\text{моч}}/C_{\text{кр}}) + 22,03 \cdot \text{МСМ} + 14,61 \cdot \text{АХЭ} - 44,10;$$

$$\text{«Отравление оксидом углерода (II)»} = -0,014 \cdot C_{\text{глюк}} - 0,086 \cdot C_{\text{моч}} + 0,31 \cdot C_{\text{кр}} + 0,20 \cdot C_{\text{белок}} + 0,09 \cdot (C_{\text{моч}}/C_{\text{кр}}) + 19,11 \cdot \text{МСМ} + 13,22 \cdot \text{АХЭ} - 37,1;$$

$$\text{«Механическая травма»} = -0,036 \cdot C_{\text{глюк}} - 0,11 \cdot C_{\text{моч}} + 0,33 \cdot C_{\text{кр}} + 0,19 \cdot C_{\text{белок}} + 0,10 \cdot (C_{\text{моч}}/C_{\text{кр}}) + 19,94 \cdot \text{МСМ} + 13,36 \cdot \text{АХЭ} - 37,17;$$

$$\text{«Другие причины»} = -0,052 \cdot C_{\text{глюк}} - 0,15 \cdot C_{\text{моч}} + 0,47 \cdot C_{\text{кр}} + 0,20 \cdot C_{\text{белок}} + 0,12 \cdot (C_{\text{моч}}/C_{\text{кр}}) + 19,37 \cdot \text{МСМ} + 13,04 \cdot \text{АХЭ} - 35,35.$$

Проверка корректности выполненной процедуры дискриминантного анализа проведена при помощи оценка матрицы классификации (табл. 8). Общее значение корректности классификации с помощью используемых математических моделей составляет 48,13%. Наибольшее количество правильно классифицированных причин смерти относится к группе «другие причины» (84,28%), что позволяет однозначно дифференцировать данную группу и исключать группы отравлений токсикологически важными веществами, в том числе производными пирролидинофенона.

Для летальных отравлений производными пирролидинофенона корректность классификации (селективность скрининга) имеет значение 52,25%, что превышает корректность классификации отравлений другими токсикологически важными веществами: «лекарственными ядами» разных химических групп, этиловым спиртом и его суррогатами, оксидом углерода (II).

Таблица 8 – Матрица классификации причин летальных отравлений на основе судебно-биохимических показателей трупной крови

Группа в исследуемой выборке	Фактическая причина смерти	Прогноз на основании математической модели	Корректность классификации, %
Отравление производными пирролидинофенона	111	58	52,25
Отравление НС и ПВ разных химических групп	31	2	6,45
Отравление этанолом	10	0	0,00
Отравление суррогатами этанола	19	1	5,26
Отравление уксусной кислотой	8	0	0,00
Отравление СО (II)	44	1	2,27
Травма	82	2	2,44
Другие причины	229	193	84,28
Всего	534	257	48,13

Разработана база данных «Судебно-биохимические профили крови для построения математических моделей отравлений дизайнерскими наркотическими средствами», которая внедрена в образовательную деятельность Пермской государственной фармацевтической академии по учебной дисциплине «Токсикологическая химия».

ВЫВОДЫ

1. Методами компьютерного моделирования установлено, что в качестве модельного химического соединения для производных пирролидинофенона и их маркерных метаболитов целесообразно использовать лекарственное вещество фенилпиррацетам, в основе которого лежит структурный фрагмент 2-оксо-4-фенилпирролидина. На основании ряда оценочных функций установлен высокий уровень аффинности производных пирролидинофенона и фенилпиррацетама к белкам-переносчикам серотонина и дофамина, что свидетельствует об идентичности пространственно-структурных характеристик данных соединений.

2. Предложен способ получения молекулярно импринтированного сорбента на основе производных акриловой кислоты с функциональными мономерами метакриловой кислотой и диаллиламином, импринтинг которого осуществлен с использованием лекарственного вещества фенилпиррацетама. Полученный сорбент планируется к использованию для целей селективной пробоподготовки биологических жидкостей (крови и мочи) методом твердофазной экстракции при исследовании на производные пирролидинофенона.

3. Определены структурные и функциональные характеристики полученного молекулярно импринтированного сорбента на основе производных акриловой кислоты. Размер частиц составляет 50-170 мкм,

значение удельной площади поверхности пор – 7,25 м²/г, средний диаметр пор – 31 нм (310 Å). Обменная емкость сорбента по модельному соединению фенилпиретамаму составляет 14±2%. Высокая селективность предлагаемого сорбента целевым анализируемым веществам установлена на основании значений импринтинг фактора *IF* фенилпиретамаму (6,4) и низких показателей коэффициента перекрестного реагирования с опиатами, верапамилом, эфедрином, баклофеном, доксиламином, амитриптилином и циннаризином (7,5-16%).

4. Разработана методика пробоподготовки биологических жидкостей (крови, мочи) методом твердофазной экстракции с применением молекулярно импринтированного сорбента на основе производных акриловой кислоты. Определены ее метрологические характеристики: правильность определения степени извлечения фенилпиретамаму не превышает ±12% для образцов крови, ±6% для образцов мочи; сходимость – не более 16% и 13% для образцов крови и мочи соответственно. На основании оценки перекрестного реагирования молекулярно импринтированного сорбента с рядом лекарственных веществ показана селективность методики пробоподготовки. Максимальная степень извлечения из модельных образцов крови и мочи – не менее 75%, обеспечивается в интервале концентраций фенилпиретамаму 100,0-6000,0 нг/мл.

5. Установлено, что информативными судебно-биохимическими показателями трупной крови для выявления летальных отравлений производными пирролидинофенона являются концентрация мочевины, концентрация общего белка, отношение концентраций мочевины и креатинина, уровень молекул средней молекулярной массы.

6. Создана компьютерная база данных «Судебно-биохимические профили крови для построения математических моделей отравлений дизайнерскими наркотическими средствами». Получена математическая модель отравлений производными пирролидинофенона, которая может применяться как дополнительный альтернативный параметр при скрининге отравлений наркотическими средствами группы пирролидинофенона. Значение корректности классификации (селективности скрининга) с помощью полученной математической модели отравлений составляет 52,25%.

Практические рекомендации

Полученные в ходе диссертационных исследований данные имеют практическую значимость при судебно-химической экспертизе и химико-токсикологическом анализе производных пирролидинофенона.

Рекомендуется:

- использовать разработанные методики пробоподготовки биологических жидкостей с применением сорбента на основе производных акриловой кислоты и диаллиламина в практике экспертных исследований производных пирролидинофенона;

- использовать полученную математическую модель отравлений производными пирролидинофенона в качестве дополнительного альтернативного параметра при скрининге отравлений наркотическими средствами группы пирролидинофенона.

Перспективы дальнейшей разработки темы заключаются в направленном получении новых полимерных сорбентов путем молекулярного импринтинга, выявлении наиболее информативных судебно-биохимических показателей трупной крови при летальных отравлениях дизайнерскими наркотическими средствами с целью решения задач судебно-химической экспертизы.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Сынбулатов, И.В. Исследование некоторых биохимических показателей трупной крови при отравлениях наркотическими средствами группы опиатов // Материалы научно-практической конференции с международным участием «Научные достижения молодых ученых XXI века в рамках приоритетных направлений стратегии научно-технологического развития страны» Аспирантские чтения-2017. – Самара, 2017. – С. 182-183.
2. Воронин, А.В. Исследование некоторых биохимических показателей трупной крови при отравлениях наркотическими средствами группы опиатов / А.В. Воронин, Н.Г. Голенкова, Т.В. Воронина, И.В. Сынбулатов // Материалы III Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Проблемы злоупотребления лекарственными препаратами и новым психоактивными веществами». – Пермь, 2017. – С.152-156.
3. Сынбулатов, И.В. Компьютерное моделирование физико-химических и биологических свойств наркотических средств и психоактивных веществ группы пирролидинофенона // Материалы VIII Всероссийской конференции с международным участием «Молодая фармация – потенциал будущего». – Санкт-Петербург, 2018. – С. 131-133.
4. Сынбулатов, И.В. Поиск модельных соединений для разработки иммунохимического метода анализа производных пирролидинофенона / И.В. Сынбулатов, М.Н. Качалкин // Материалы научно-практической конференции с международным участием «Исследования молодых ученых в решении актуальных проблем медицинской науки и практики» Аспирантские чтения. – Самара, 2018. – С. 135-136.
5. Сынбулатов, И.В. Анализ производных пирролидинофенона в биологических жидкостях / И.В. Сынбулатов, А.В. Воронин, Т.В. Воронина // **Аспирантский вестник Поволжья.** – 2019. – № 1–2. – С. 33-40.
6. Сынбулатов, И.В. Применение судебно-биохимических показателей трупной крови для диагностики летальных отравлений производными пирролидинофенона // Материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Молодые ученые: научные исследования и инновации» Аспирантские чтения-2019. – Самара, 2019. – С. 293-295.
7. Воронин, А.В. Использование некоторых судебно-биохимических показателей трупной крови при диагностике летальных отравлений / А.В. Воронин, Т.Л. Малкова, Н.Г. Голенкова, И.В. Сынбулатов // **Судебно-медицинская экспертиза.** – 2019. – № 62(5). – С. 43-46.
8. Сынбулатов, И.В. Исследование комплекса судебно-биохимических показателей при диагностике летальных отравлений производными пирролидинофенона // Материалы Международной конференции «Актуальные вопросы современной медицины и фармации». – Витебск, 2020. – С. 811-812.
9. Voronin, A.V. The parameters of polymeric sorbents made on acrylic acid derivatives for sample preparation in the analysis of pyrrolidinophenone / A.V. Voronin, I.V. Synbulatov, T.V. Voronina // *Journal of science.* Lyon. – 2020. – №13. – P.22-24.

10. Сынбулатов, И.В. Молекулярный докинг структурных аналогов маркерных метаболитов производных пирролидинофенона // Материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Молодые ученые: научные исследования и инновации» Аспирантские чтения-2020. – Самара, 2020. – С. 279-280.
11. Воронин, А.В. Получение молекулярно импринтированного полимера на основе производных акриловой кислоты для изолирования производных пирролидинофенона из биологических жидкостей / А.В. Воронин, И.В. Сынбулатов // **Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии.** – 2020. – Т.23, № 12. – С. 18-23.
12. Воронин, А.В. Определение некоторых характеристик полимерного сорбента на основе производных акриловой кислоты для пробоподготовки биологических жидкостей на производные пирролидинофенона / А.В. Воронин, И.В. Сынбулатов, Т.В. Воронина // Сборник научных статей по итогам работы международного форума «Наука и инновации – современные концепции». – Москва, 2020. – С. 67-71.
13. Сынбулатов, И.В. Компьютерный поиск химических соединений – аналогов свойств для производных пирролидинофенона / И.В. Сынбулатов, А.В. Воронин // **Медико-фармацевтический журнал «Пульс».** – 2020. – Т.22, № 12. – С. 54-60.
14. Сынбулатов, И.В. Получение сорбента для изолирования производных пирролидинофенона из биологических жидкостей // Сборник материалов I межвузовской научно-практической конференции с международным участием «Синтез наук как основа развития медицинских знаний». – Самара, 2020. – С. 180-188.
15. Сынбулатов, И.В. Поиск химических соединений – аналогов свойств для производных пирролидинофенона // Сборник материалов I межвузовской научно-практической конференции с международным участием «Синтез наук как основа развития медицинских знаний». – Самара, 2020. – С. 469-477.
16. Сынбулатов, И.В. Разработка методики пробоподготовки биологических жидкостей методом твердофазной экстракции для производных пирролидинофенона / И.В. Сынбулатов, А.В. Воронин // Евразийский союз ученых. – 2020. – №12(81). – С. 19-23.

Авторские свидетельства, патенты, дипломы

17. **Свидетельство о государственной регистрации базы данных №2020621295** от 24.07.2020. «Судебно-биохимические профили крови для построения математических моделей отравлений дизайнерскими наркотическими средствами» / И.В. Сынбулатов, А.В. Воронин, М.Н. Качалкин, М.Ю. Гаврюшин [Электронный ресурс]: Федеральный институт промышленной собственности. – Режим доступа: <https://www.fips.ru/iiss/document.xhtml?faces-redirect=true&id=8f7e1bb9640de0703ef7b1eec8976048>.
18. Получение сорбента на основе молекулярно импринтированного полимера для пробоподготовки при судебно-химических и химико-токсикологических исследованиях биологических жидкостей на производные пирролидинофенона: **информационное письмо** (протокол №4 от 27 октября 2020 г.) / А.В. Воронин, Т.Л. Малкова, И.В. Сынбулатов – М.: РЦСМЭ, 2021. – 14 с.