

Молекулярно-биологические проблемы создания лекарственных средств и изучение механизма их действия

© Коллектив авторов, 2010

К. С. Заикин, Г. В. Раменская, А. П. Арзамасцев

ФАРМАКОКИНЕТИКА, ФАРМАКОДИНАМИКА И АНАЛИЗ МОРФИНА И ТРАМАДОЛА

Московская медицинская академия им. И. М. Сеченова, Москва, Россия

Метод количественного определения морфина и трамадола в крови – газовая хроматография – масс-спектрометрия – может быть использован в судебно-химическом анализе. Предел обнаружения морфина и трамадола – 0,005 мг/л.

Ключевые слова: морфин, трамадол, газовая хроматография – масс-спектрометрия, кровь, фармакокинетика, фармакодинамика.

В настоящее время применение лекарственных средств из группы наркотических анальгетиков, таких как морфин и трамадол, а также наркотического вещества опиоидной группы – героина, основными метаболитами которого являются б-моноацетилморфин и морфин, с немедицинскими целями широко распространено у людей с наркотической зависимостью. Часто эти вещества являются причиной передозировок и летальных исходов. Они также встречаются в комбинации с другими психотропными препаратами [1 – 4].

Приём этих препаратов у людей с наркотической зависимостью обусловлен их фармакологическими эффектами. Приём препаратов морфина и трамадола проявляется у людей состояниями анальгезии и эйфории. При эйфории они ощущают возникновение приятных ощущений и немотивированное состояние свободы от тревог и проблем. При этом возникает чувство комфорта и устраняются чувства голода, жажды. Именно это впоследствии является причиной развития лекарственной зависимости – непреодолимого желания повторного приема препарата. Затем уже у таких людей развивается физическая зависимость, которая проявляется абстинентным синдромом. В то же время фармакологические эффекты этих препаратов широко используются при проведении различных хирургических операций [5, 6].

По данным Государственного учреждения здравоохранения Московской области Бюро судебно-медицинской экспертизы Министерства здравоохранения Московской области (ГУЗ МО Бюро СМЭ МЗ МО), среди всех исследований биологических объектов на наркотические вещества половина приходится на долю наркотических веществ опиоидной группы. Также морфин и трамадол применяются как лекарственные средства и входят в состав распространённых на российском фармацевтическом рынке различных комбинированных препаратов. Среди препаратов морфина наиболее распространены его соли в виде гидрохлорида, сульфата и ацетата. Эти препараты выпускаются в виде таблеток и раствора для инъекций. Что касается трамадола, то он выпускается в виде гидрохлорида в

нескольких лекарственных формах, таких как таблетки, капли для приёма внутрь, капсулы, раствор для приёма внутрь, раствор для инъекций и суппозитории для ректального применения [7, 8].

В судебно-химическом анализе необходим достоверный аналитический метод, позволяющий определять данные вещества на уровне терапевтических концентраций и ниже. В настоящее время наиболее перспективным и широко используемым для этих целей является метод газовой хроматографии с масс-селективным детектором (ГХ-МС). Метод обладает хорошей воспроизводимостью, а требуемая чувствительность может быть достигнута при изменении условий хроматографирования.

В связи с тем, что в отечественной литературе недостаточно подробно описаны методики определения трамадола в крови, а методики определения морфина трудоёмки, обладают недостаточной воспроизводимостью и не всегда позволяют определить его количественно, актуальной проблемой является разработка высокочувствительных методик количественного определения морфина и трамадола.

Сложность в анализе этих препаратов в крови в рамках химико-токсикологических и судебно-химических исследований обусловлена их низкой дозировкой и низкой терапевтической концентрацией и сложной

Таблица 1
Сравнение фармакокинетических параметров морфина, трамадола и героина

Показатель	Морфин	Трамадол	Героин
Период полувыведения $T_{(1/2)}$, ч	2 – 3	6 – 7	0,05
Объём распределения $V(D)$, л/кг	3 – 5	2,6 – 2,9	25
Клиренс Cl (Пл), мл/мин/кг	15 – 20	5,7 – 6,4	
% связывания с белками	20 – 35	20	
Биодоступность, %	20 – 30	75	
pK_a	8; 9,9(20°)	8.3, 9.41(20°)	7,6 (23°)

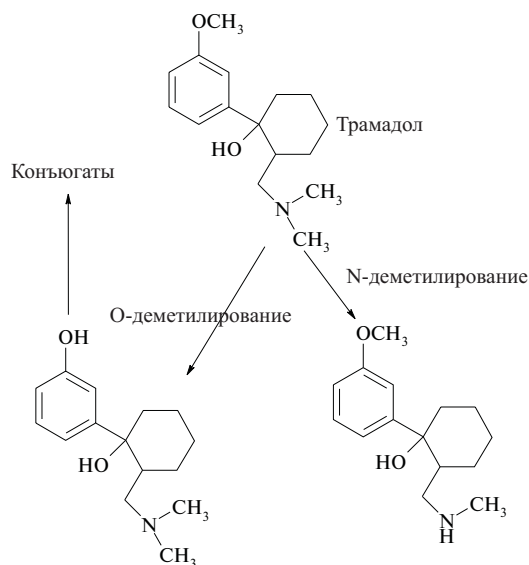


Рис. 1. Основной путь метаболизма трамадола [8].

биологической матрицей. Всё вышеизложенное определило цели и задачи исследования.

Особенности фармакокинетики и фармакодинамики морфина и трамадола

В табл. 1 представлено сравнение фармакокинетических параметров морфина, трамадола и героина [7 – 9].

В табл. 2 представлены значения концентраций морфина и трамадола [8, 10].

Особенности всасывания

Большинство опиоидных анальгетиков хорошо всасывается из мест подкожного и внутримышечного введения, а также со слизистой оболочки носа, полости рта и ЖКТ. Эффективность определяется способом введения препаратов морфина. Максимальная концентрация в плазме при внутривенном введении (в/в) достигается за 2 – 15 мин и соответствует максимуму фармакологического отклика, при внутримышечном введении (в/м) — 7,5 – 20 мин, при однократном приеме внутрь (орально, ОР) — 30 – 120 мин. Затем уровень морфина быстро снижается. Биодоступность составляет 100 % для в/в и в/м и только 30 – 40 % для ОР введения, благодаря значительному метаболизму первой фазы в стенках кишечника и печени. Максимальная концентрация в плазме при ОР введении существенно ниже, чем при в/в введении эквивалентной дозы морфина [8, 11 – 13].

Трамадол быстро и почти полностью (90 %) абсорбируется после перорального или парентерального применения. Приём пищи незначительно влияет на степень абсорбции. Биодоступность при однократном

приеме составляет 75 % и увеличивается при многократном применении препарата [9].

Особенности распределения

Распределяется морфин в основном в органы: почки, печень, легкие, селезенку и мозг. Процесс протекает очень быстро: через 6 мин после внутривенного введения в системе циркуляции остается только 7 % введенной дозы морфина. Морфин амфотерен и умеренно растворим в липидах. Его концентрация в моче в 2 – 5 раз выше, чем в крови. Повышенные концентрации морфина также найдены в легких, печени, мышцах, желчи и миокарде [14 – 16].

После внутримышечного введения трамадол быстро и полностью всасывается из места введения в органы и ткани, и этот процесс зависит от ряда физиологических и химических факторов. Несмотря на то, что он связывается с белками плазмы (около 20 %), трамадол быстро покидает кровь и накапливается в тканях с высоким уровнем перфузии, таких как легкие, печень, почки и селезенка. Скелетная мускулатура фиксирует его в меньшей степени, однако она служит основным резервуаром вещества из-за своей большой массы. Концентрации трамадола в мозге обычно невысока по сравнению с другими органами, в связи с наличием гематоэнцефалического барьера. Через плацентарный барьер препарат проникает в концентрации, равной концентрации активного вещества в плазме. Также трамадол выделяется с грудным молоком (0,1 %) [9, 17].

Особенности метаболизма

Основной механизм метаболизма морфина – конъюгация в печени и в меньшей степени в стенках кишечника. Сульфат и глюкурониды образуются в отношении 1:4. Основной метаболит — морфин-3-глюкуронид — является основной фармакологически неактивной формой выведения морфина. Морфин-6-глюкуронид — фармакологически активен. Соотношение свободного и конъюгированного морфина в моче в период 1 – 2 ч после приема — 1:3, а в интервале 9 – 72 ч — 1:17 [18 – 19].

Существует две точки зрения о возможном появлении кодеина в моче после применения морфина: одни учёные считают, что кодеин является второстепенным метаболитом морфина, другие же считают, что кодеин является примесью к морфину, и может содержаться в нём в количестве до 0,04 %.

Трамадол биотрансформируется в печени путем N- и O-деметилирования и последующей конъюгацией с глюкуроновой кислотой до 11 метаболитов, из которых только O-десметилтрамадол является фармакологически активным. O-десметилтрамадол по своей фармакологической активности превосходит исходное вещество.

На рис. 1 представлен основной путь метаболизма трамадола [8].

Особенности выведения

Многочисленными исследованиями показано что, за 8 ч выводится 80 % введенной дозы морфина, за 24 ч — 64 – 90 %, через 72 – 100 ч в моче определяют лишь следы морфина. Концентрация морфина, изме-

Таблица 2
Концентрации морфина и трамадола в плазме (мг/л)

Концентрация	Морфин	Трамадол
Терапевтическая	0,08 – 0,12	0,1 – 0,8
Токсическая	0,15 – 0,5	1
Летальная	0,05 – 4,0	2

ренная в 2000 образцах мочи наркоманов, составляет 0 – 750 нг/мл [3, 20].

После внутримышечного введения 20 мг морфина пик концентрации в моче свободного и конъюгированного морфина достигается через 4 – 9 ч. В начальный период времени в виде свободного морфина выводится 25 – 34 % общего морфина, спустя 12 ч свободный морфин составляет только 5,9 % общего морфина. За весь период выводится в виде свободного морфина 6,8 % дозы и в виде конъюгированного морфина — 58,6 % дозы [21].

До 90 % трамадола выводится почками после перорального приёма в течение 3 дней (из них около 30 % как исходное вещество, и остальное как метаболиты), и около 10 % через кишечник. Показано, что с возрастом повышается биодоступность и увеличивается период полувыведения трамадола вследствие возрастных изменений функции печени (у пациентов старше 75 лет $T_{1/2}$ трамадола — 7,4 ч.). Однако эти изменения незначительны, поэтому снижение дозы у пожилых людей с нормальной функцией печени не требуется. У больных с нарушением функции печени, в том числе с циррозом (у пациентов с циррозом печени $T_{1/2}$ трамадола — $13,3 \pm 4,9$ ч, моно-О-десметилтрамадола $18,5 \pm 9,4$ ч, в тяжелых случаях 22,3 ч и 36 ч соответственно), вызывающим увеличение концентрации трамадола в плазме крови за счет уменьшения печеночного клиренса, показано уменьшение дозы и увеличение интервала между приемами разовых доз [8, 22 – 23].

Методы исследования морфина и трамадола, применяемые в судебно-химическом анализе. Предварительные методы анализа. Иммунные методы

Для первоначального скрининга рекомендуют использовать иммунные методы анализа: радиоиммунный (РИА), иммуноферментный (ИФА), поляризационный флуоресцентно-иммунный анализ (ПФИА). Методы обеспечивают высокую чувствительность анализа для веществ опиной группы, однако вследствие малой специфичности требуют обязательного подтверждения селективными хроматографическими методами (ВЭЖХ, ГХ/МС) [3].

Подтверждающие методы анализа. Хроматографические методы. Пробоподготовка биообъектов, содержащих наркотические вещества опиной группы морфин и трамадол, в судебно-химическом анализе

Гидролиз – как одна из необходимых стадий пробоподготовки

Применяют два способа гидролиза: неспецифический кислотный и специфический ферментативный (энзимный) гидролиз. Кислотный имеет более короткое время инкубации и более прост в осуществлении. Однако вследствие неспецифичности реакции расщепления ковалентной связи и довольно жестких условий проведения гидролиза в среде концентрированной кислоты при кипячении в течение длительного времени или при нагревании в автоклаве под давлением, он сопровождается образованием большого количества побочных продуктов. Экстракты гидролизата продуцируют высокий фон и большое число интен-

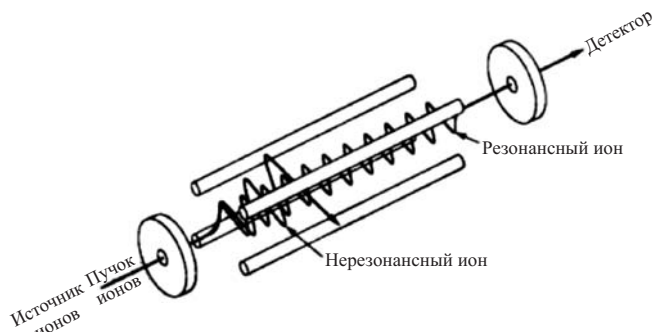


Рис. 2. Схема масс-спектрометра [13].

сивных посторонних пиков при ГХ-анализе. Кроме того, возникает необходимость нейтрализации кислоты перед экстракцией [3].

Кислотный гидролиз проводят в герметично закрытых сосудах, которые помещают в водяную баню или нагревательный блок. Кроме того иногда применяют кипячение с обратным холодильником или нагревание при 100 – 125 °С в автоклаве под повышенным давлением 12 – 15 пси.

Эффективность гидролиза морфин-3-глюкуронида при 100 °С в автоклаве (12 пси) более 90 %.

Ферментативный гидролиз под действием смеси ферментов β-глюкуронидазы и β-сульфатазы из различных источников (*Helix pomatia*, *Escherichia coli*, *Patella vulgata*, *Helix aspersa* и других) является специфичным, проходит в мягких условиях и уменьшает образование побочных продуктов, в результате чего гидролизованный образец получается более чистым [3, 8, 24].

Применение экстракции при пробоподготовке биологических объектов

Удаление эндогенных и экзогенных компонентов, в том числе освободившихся в результате гидролиза, и концентрирование анализируемого вещества осуществляется при экстракции. Для изолирования опиатов из биожидкостей применяют как широко распространенный метод жидкость-жидкостной экстракции (ЖЖЭ), так и получивший признание в последние годы метод с использованием твердых сорбентов, известный под названием “метод твердофазной экстракции” (ТФЭ).

Изолирование опиатов из мочи методом твердо-фазной экстракции

Из 3 основных типов твердых фаз, используемых в методе ТФЭ: диатомитовые земли (Extrelut), сорбенты на основе сополимера полистирол-дивинилбензол (XAD-2), химически модифицированные сорбенты, – для изолирования опиатов применяют в основном сорбенты последнего типа, а именно, смешанные сорбенты, в которых силанольные группы связаны частично с алкильными углеводородными радикалами средней длины (цепочка от 8 до 18 атомов углерода) и частично с катион-обменными заместителями.

Это коммерческие микроколонки (“картриджи”) различных фирм: Bond Elut Certify (Varian Sample Preparation Products, Harbor City, CA, USA) – объем колонки около 3 мл, масса сорбента 130 мг; Clean Screen DAU (Worldwide Monitoring Corp., Horsham, PA, USA);

Isolute HCX (International Sorbent Technology, Hengoed, UK); TSC (Merck, Darmstadt, Germany).

Использование систем для вакуумирования (например, Vac Elut SPS 24, Varian) позволяет одновременно обрабатывать серию образцов, унифицировать условия и ускоряет процесс экстракции [25].

Дериватизация. Виды. Обоснование применения данной стадии при судебно-химических исследованиях биообъектов на наличие морфина и трамадола

При анализе полярных соединений методами газовой хроматографии (ГХ и ГХ/МС) сорбционные потери в хроматографической системе (инжекторе и колонке) могут достигать 100 %. “Плохие” хроматографические свойства проявляются в образовании несимметричных пиков с размытым задним фронтом, что приводит к плохой воспроизводимости количественных результатов и низкой чувствительности. По этой причине для анализа хроматографическими методами полярные соединения подвергают дериватизации, в результате которой активный водород гидроксильных и аминогрупп замещается на группы, придающие молекуле в целом свойства менее полярного и более летучего соединения [3, 9].

Основные методы и реагенты дериватизации опиатов приведены в табл. 3.

Хроматографические и масс-спектральные свойства дериватов

ТМС-производные опиатов имеют несколько интенсивных пиков в масс-спектре и позволяют получить коэффициент вариации при расчете $S(m/z)_{AH}/S(m/z)_{BC}$ 4 – 8 % для морфина и 8 – 12 % для кодеина (300 нг/мл, ВС=налорфин, реагент БСТФА+1 % ТМХС).

Масс-спектры ПФП-дериватов морфина и кодеина имеют только один интенсивный ион при низкой (менее 30 %) интенсивности остальных ионов, что может затруднить идентификацию при ГХ/МС анализе. Вместе с тем, учитывая стабильность и хорошее хроматографическое разделение дериватов, реагент ПФПА ре-

комендуют использовать для подтверждения наличия опиатов в моче методом ГХ/МС [3].

Хроматомасс-спектрометрия как достоверный аналитический метод определения морфина и трамадола в крови

Метод ГХ/МС в варианте масс-спектрометрии электронного удара широко используется для идентификации и количественного определения опиатов.

Ввод пробы 1 мкл может осуществляться в режиме “со сбросом”, например, в отношении 1:10, что более благоприятно для сохранения эффективности колонки, или в режиме “без сброса” (с задержкой на включение клапана продувки на 0,5 – 0,75 мин), что способствует увеличению чувствительности определения. С точки зрения защиты колонки и продления срока сохранения ее разделяющих свойств в стеклянную вставку инжектора (лайнер) помещают небольшую пробку силилированной стеклянной ваты. Для идентификации (объект исследования-моча) анализ ведут в режиме сканирования(SCAN) [3, 26].

В квадрупольном масс-спектрометре (рис. 2) разделение по массе достигается следующим образом [8]. Между 4 постоянными магнитами образуется высокочастотное электрическое поле [6].

Когда пучок ионов попадает в это поле, только ионы с определенным отношением масса/заряд имеют стабильную траекторию и попадают на детектор (коллектор). Детектирование пучков с различным отношением масса/заряд проводят варьированием электрического поля.

Полученные с помощью масс-спектрометрического детектора спектры дают такую информацию о качественном составе пробы, какую не могут дать иные газохроматографические детекторы [8].

Первым шагом в хроматомасс-спектрометрическом анализе является обычно сканирование по всему диапазону масс (режим SCAN). Идентификацию проводят с помощью библиотеки спектров, чаще всего заложенной в память программного обеспечения, которое одновременно и управляет работой детектора. Изучение

Таблица 3

Основные методы и реагенты дериватизации опиатов

Типы реакций дериватизации	Используемые реагенты	Схема реакции
Ацетилирование $R-O-H \rightarrow R-O-CO-CH_3$	AA (УА) – уксусный ангидрид, ацетангидрид, ангидрид уксусной кислоты: $(CH_3CO)_2O$; TFAA (ТФУА) – трифторуксусный ангидрид, ангидрид трифторуксусной кислоты: $(CF_3CO)_2O$	$ROH + (CH_3CO)_2O \rightarrow ROCOCH_3 + CH_3COOH$ $ROH + (CF_3CO)_2O \rightarrow ROCOCF_3 + CF_3COOH$
Ацилирование $R-O-H \rightarrow R-O-CO-C_2F_5$	PA (ПА) – пропионовый ангидрид: $(CH_3CH_2CO)_2O$; PFPA (ПФПА) – пентафторпропионовый ангидрид: $(C_2F_5CO)_2O$; PFPA + PFPOH (ПФПА+ПФПОН) – ПФПА + пентафторпропанол: $C_2F_5CH_2OH$; HFBA (ГФМА) – ангидрид гептафтормасляной кислоты: $(C_3F_7CO)_2O$; MBTFA (МБТФА) – N-метил-бис-(трифторацетамид): $(CF_3CO)_2N-CH_3$ (подобно ТФУА вводят трифторацетильные группы)	$ROH + (C_2F_5CO)_2O \rightarrow ROCOC_2F_5 + C_2F_5COOH$ $ROH + (CF_3CO)_2N-CH_3 \rightarrow ROCOCF_3 + (CF_3CO)NH-CH_3$
Силилирование $R-O-H \rightarrow R-O-Si(CH_3)_3$	BSA (БСА) – N,O-бис(триметилсилил)ацетамид: $(CH_3)_3Si-N=C(CH_3)-O-Si(CH_3)_3$; BSTFA (БСТФА) – N,O-бис(триметилсилил)трифторацетамид: $(CH_3)_3Si-N=C(CF_3)-O-Si(CH_3)_3$; BSTFA + 1 % TMCS (БСТФА + 1 % ТМХС) – БСТФА + триметилхлорсилан (катализатор); MSTFA (МСТФА) – N-метил-N-триметилсилил-трифторацетамид: $(CH_3)_3Si-N(CH_3)-CO-CF_3$; MSHFBA (МСГФБА) – N-метил-N-триметилсилил-гептафтор-бутирамид: $(CH_3)_3Si-N(CH_3)-CO-C_3F_7$	$ROH + (CH_3)_3Si-N(CH_3)-CO-CF_3 \rightarrow (R-O-Si(CH_3)_3) + (CF_3CO)-NH-CH_3$

характеристических пиков и молекулярных ионов играет важную роль при идентификации соединения [10].

Для количественного определения (объект исследования – кровь) в режиме детектирования выбранных ионов (селективного ионного мониторинга, SIM), обеспечивающем большую чувствительность. В этом случае для надежной идентификации конкретного иона необходимо совпадение времен удерживания всех выбранных ионов (обычно выбирают 3), а также соответствие отношений интенсивностей этих ионов: $I(m/z)_1:I(m/z)_2$, $I(m/z)_1:I(m/z)_3$, $I(m/z)_2:I(m/z)_3$ и т.д., величинам, полученным для стандартных веществ (обычно при определении отношений интенсивностей допускается отклонение в пределах не более 20 %) [3, 8 – 9].

Для построения калибровочного графика количественного анализа выбирают один, обычно “базовый” (или “характеристический”, но с достаточно высокой интенсивностью) ион 429-й для морфина, который называют “количественным ионом” $(m/z)_q$. Калибровочный график строится как зависимость отношения площадей количественного иона анализируемого компонента (АН) и внутреннего стандарта (ВС): $S(m/z)_q$ (АН) / $S(m/z)_q$ (ВС) от отношения концентрации АН и ВС: $C(АН)/C(ВС)$. Расчет количества морфина в анализируемой пробе по данным ГХ/МС анализа одного контрольного образца проводят по приведенной ниже формуле. Получению наиболее точных результатов способствует близость концентраций морфина в исследуемой пробе и контрольном образце [25].

$$C_{\text{МФ}}(\text{проба}) = \frac{[S(m/z)_q(\text{МФ})/S(m/z)_q(\text{ВС})]_{\text{ПРОБА}}}{[S(m/z)_q(\text{МФ})/S(m/z)_q(\text{ВС})]_{\text{КОНТРОЛЬ}}} \cdot C_{\text{МФ}}(\text{контроль}),$$

где $C_{\text{МФ}}(\text{проба})$ – концентрация морфина в исследуемой пробе; $C_{\text{МФ}}(\text{контроль})$ – концентрация морфина в контрольном образце; $S(m/z)_q(\text{МФ})$ – площадь пика “количественного” иона морфина; $S(m/z)_q(\text{ВС})$ – площадь пика “количественного” иона внутреннего стандарта; $[S(m/z)_q(\text{МФ})/S(m/z)_q(\text{ВС})]_{\text{ПРОБА}}$ – отношение рассчитывается по данным анализа исследуемой пробы; $[S(m/z)_q(\text{МФ})/S(m/z)_q(\text{ВС})]_{\text{КОНТРОЛЬ}}$ – отношение рассчитывается по данным анализа контрольного образца.

Таким образом обзор литературных источников позволяет сделать вывод о том, что наркотические вещества опийной группы часто являются причиной передозировок и летальных исходов. Актуальной является задача количественного определения морфина и трамадола в крови, как в случаях химико-токсикологического, так и в случаях судебно-химического анализа, а также интерпретация полученных результатов.

MORPHINE AND TRAMADOL PHARMACOKINETICS, PHARMACODYNAMICS AND ANALYSIS

K. S. Zaikin, G. V. Ramenskaya, and A. P. Arzamastsev

Sechenov State Medical Academy, Moscow, Russia

A method for the quantitative determination of morphine and tramadol in the blood by gas chromatography—mass spectrometry (GC—MS) is described. A threshold level for the detection of morphine and tramadol by this method is 0.005 mg/l. The proposed GC—MS technique can be used in forensic chemical analysis.

Key words: Morphine, tramadol, gas chromatography—mass spectrometry, forensic chemical analysis, blood, pharmacokinetics, pharmacodynamics

ЛИТЕРАТУРА

1. Н. В. Веселовская, Б. Н. Изотов, *Анализ опиатов в моче*, ММА им. И. М. Сеченова, Москва (2002), сс. 85 – 110.
2. Н. В. Веселовская, А. Е. Коваленко *Наркотики: свойства, действие, фармакокинетика, метаболизм: Пособие*, Трианда, Москва (2000), сс. 112 – 205.
3. С. К. Еремин, Б. Н. Изотов, Н. В. Веселовская, *Анализ наркотических средств*, Мысль, Москва (1993), сс. 144 – 265.
4. Kerrigan Sarah, Honey Donna, and Baker Ginger, *J. Anal. Toxicol.*, No. 28, 529 – 532 (2004).
5. М. Е. Исакова, З. В. Павлова, В. В. Брюзгин, *Совр. онкол. Клин. онкол.*, № 7, 12 – 19 (2005).
6. *Обнаружение морфина, кодеина и диацетилморфина (героина) при судебно-химическом исследовании трупной крови*, Е. М. Саломатин, Н. А. Горбачева, Б. М. Золотарев, Т. В. Лобачева, А. М. Орлова (ред.), Москва (2005), сс. 3 – 24.
7. Е. А. Симонов, Л. Ф. Найденова, С. А. Ворнаков, *Наркотические средства и психотропные вещества, контролируемые на территории РФ*, Interlab, Москва (2003), сс. 313 – 412.
8. A. S. Clarke's, *Moffat "Isolation and Identification of Drugs"*, 2-th Ed., Pharmaceutical press, London (1986), pp. 544 – 766.
9. Lee Hee-Ming and Lee Chau-Wing, *J. Anal. Toxicol.*, No. 15, 182 – 187 (1991).
10. R. C. Baselt and R. H. Cravey, *Disposition of Toxic Drugs and Chemicals in Man*, 4th ed., California (1995), pp. 648 – 734.
11. Skopp Gisela, Ganssmann Beate, J. Edward, *J. Anal. Toxicol.*, No. 21, 105 – 111 (1997).
12. Skopp Gisela, Pötsch Lucia, Klingmann Andrea, and Mattern Rainer, *J. Anal. Toxicol.*, No. 25, 2 – 7 (2001).
13. Skopp Gisela, Pötsch Lucia, Ganbmann Beate, et al., *J. Anal. Toxicol.*, No. 22, 261 – 264 (1998).
14. M. J. Burt, J. Kloss, and F. Apple, *J. Foren. Sci.*, No. 46, 1138 – 1142 (2001).
15. N. D. Bynum, L. J. Poklis., M. Gaffney-Kraft, and D. Garside, *J. Anal. Toxicol.*, No. 29, 401 – 405 (2005).
16. Wyman John and Bultman Steve, *J. Anal. Toxicol.*, No. 28, 260 – 263 (2004).
17. J. D. Ropero-Miller, M. K. Lambing, and R. E. Winecker, *J. Anal. Toxicol.*, No. 26, 524 – 528 (2002).
18. Edward J. Cone, Yale H. Caplan, Frank Moser, et al., *J. Anal. Toxicol.*, No. 32, 319 – 323 (2008).
19. I. Papoutsis and S. Athanaselis, *J. Anal. Toxicol.*, No. 32, 392 (2008).
20. A. J. Jenkins, R. M. Keenan, J. E. Henningfield, E. J. Cone, *J. Anal. Toxicol.*, No. 18, 30 – 32 (1994).
21. Anna Koski, *Interpretation of postmortem toxicology results*, Helsinki (2005), pp. 341 – 347.
22. Nichole D. Bynum, Justin L. Poklis, Maryanne Gaffney-Kraft, et al., *J. Anal. Toxicol.*, No. 29, 401 – 406 (2005).
23. Osamu Suzuki, Kanako Watanabe, *Drugs and poisons in humans*, Springer.: Verlag Berlin, Heidelberg (2005), pp. 668 – 672.
24. R. W. Romberg and L. Lee, *J. Anal. Toxicol.*, No. 19, 62 – 62 (1995).
25. J. Gerostamoulos and O. H. Drummer, *J. Foren. Sci.*, No. 77, 53 – 63 (1995).
26. Ф. Карасек, Р. Клемент, *Введение в хроматомасс-спектрометрию*, Мир, Москва (1993), сс. 187 – 236.

Поступила 29.12.09