

ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

АНАЛИЗ Δ^9 -ТЕТРАГИДРОКАННАБИНОВОЙ КИСЛОТЫ В МОЧЕ МЕТОДОМ ГАЗОВОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

THE ANALYSIS Δ^9 -TETRAHYDROCANNABINOIC ACID IN URINE BY GAS CHROMATOGRAPHY

Е.Н. Крылова*, И.А. Тюрин, А.В. Смирнов
E.N. Krylova*, I.A. Tyurin, A.V. Smirnov

Наркологическая клиническая больница № 17 ДЗ г. Москвы
Chemico-toxicological laboratory of 17th Narcological Clinical Hospital of Moscow

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: наркотические средства, каннабиноиды, 11-нор-9-карбокси- Δ^9 -тетрагидроканнабинол, газовая хроматография, анализ, пробоподготовка.

KEY WORDS: drugs, THC, cannabis, GC, urine, isolation, identification.

РЕЗЮМЕ: Статья посвящена подбору оптимальных условий для изолирования основного метаболита тетрагидроканнабинола – 11-нор-9-карбокси- Δ^9 -ТГК (ТГК-СООН) в моче и возможности использования для анализа методом газовой хроматографии с капиллярной колонкой. Приведены сравнительные данные по использованию разных концентраций гидролизующего реагента, условий очистки, в ходе пробоподготовки для газовой хроматографии. На основе проведенных исследований предлагается методика газо-хроматографического анализа ТГК-СООН в моче лиц, употребляющих наркотические средства, содержащие каннабиноиды. Предел обнаружения ТГК-СООН в моче при использовании указанного метода составляет 15 нг/мл.

ABSTRACT: This paper is devoted to selection of optimum conditions for isolation of the main metabolite tetrahydrocannabinol – 11- Δ^9 -carboxy-9-THC (THC-COOH) in urine followed by gas chromatography with a capillary column. Comparative data on use of different concentration of a hydrolyzing reagent, conditions of clearing, during sample preparation for gas chromatography are cited. On the basis of the researches the technique of GC the analysis of THC-COOH in urine of the persons using narcotics, containing cannabinoids, is offered. The limit of detection THC-COOH in urine at use of the specified method makes 15 μ /mL.

Установление факта употребления наркотических средств, содержащих каннабиноиды (марихуаны,

гашиша, гашишного масла) является достаточно важным на современном этапе развития лабораторной службы, занимающейся анализом этих средств.

По статистическим отчетным данным химикотоксикологической лаборатории НКБ № 17 г. Москвы за последние годы количество результатов исследований, в которых обнаружены каннабиноиды, составляет более 30% от общего количества проб, кроме того, часто каннабиноиды присутствуют в составе смесей наркотических и психотропных веществ, употребляемых наркоманами (что составляет около 10% от общего числа исследований). Поэтому анализ этой группы наркотических средств заслуживает большого внимания.

Тем не менее, исследование мочи, которая является наиболее доступным и целесообразным биологическим объектом для доказательства факта употребления наркотических средств, содержащих каннабиноиды, проводится в настоящее время в единичных химикотоксикологических и судебно-химических лабораториях России (Катаев и др., 2000). При этом часто используется только один метод предварительного исследования. Данное направление только начинает развиваться, что особенно касается чувствительных и специфических методов анализа, таких как хромато-масс-спектрометрия (ГХ/МС), газовая хроматография (ГХ), высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ).

Целью настоящей работы явилась разработка методики газо-хроматографического исследования основного метаболита тетрагидроканнабинола (ТГК-СООН) в моче лиц, подозреваемых в употреблении средств, содержащих каннабиноиды, удобной для практического ежедневного использования в соответствующих лабораториях. Для этого на основе анализа изученной литературы и собственных экспериментальных исследований выбраны условия

* Адрес для переписки:

Крылова Екатерина Николаевна
117638, г. Москва, ул. Болотниковская, д.16
Наркологическая клиническая больница № 17 ДЗ г. Москвы

пробоподготовки с учетом доступных реактивов и материалов, оценены возможности использования газового хроматографа с капиллярной колонкой.

Предлагаемая методика основана на щелочном гидролизе образца мочи, последующей жидкостно-жидкостной экстракции, упаривании экстракта, дериватизации для получения силильных производных и последующего хроматографирования на капиллярной колонке в режиме программирования температуры.

Введение

Основным компонентом, отвечающим за психоактивные свойства марихуаны, является транс- Δ^9 -тетрагидроканнабинол (ТГК), основными компонентами, обнаружение которых свидетельствует об употреблении марихуаны, являются ТГК и его основные метаболиты: первичный психоактивный метаболит 11-гидрокси- Δ^9 -тетрагидроканнабинол (11-ОН-ТГК) и конечный биологически неактивный продукт 11-нор-9-карбокси- Δ^9 -тетрагидроканнабинол (ТГК-СООН), а также в меньших количествах каннабинол и каннабидиол (Веселовская и др., 2000; Симонов и др., 2003; Clark, 2004). Первичный метаболит может быть обнаружен в плазме, в моче его можно обнаружить только в первые несколько часов после приема и в гораздо меньших количествах.

Большинство прикладных, экспертных методик анализа каннабиноидов (более 90%), представленных в изученной нами литературе, которые используются для доказательства факта употребления марихуаны и ТГК-содержащих наркотических средств, основываются на анализе ТГК-СООН в моче. В краткой форме эти работы обобщены в обзорах (Recommended Methods..., 1987; Bronner, Xu, 1992; Cody, Foltz, 1995; Staub, 1999), исследований, посвященных анализу ТГК, ОН-метаболитов, крайне мало (Kemp et al., 1995a; Kemp et al., 1995b), в основном это работы теоретического научного характера.

Пробоподготовка для анализа ТГК-СООН, как правило, включает 3 основные стадии: гидролиз, экстракцию (жидко-жидкостную (ЖЖЭ) или твердофазную) и дериватизацию. Анализ литературных данных показывает, что общая процедура пробоподготовки, описанная разными авторами, достаточно похожа (представлена на схеме 1).

Пробоподготовка для анализа ТГК-СООН в моче методами ГХ, ГХ/МС, как правило, включает стадию гидролиза для разрушения связи метаболита с глюкуронидом, количество ТГК-СООН, экстрагированной из мочи после гидролиза, более чем в 2 раза выше по сравнению с таковой без гидролиза (Kemp et al., 1995a). Для разрушения этой связи используются два вида гидролиза: щелочной и ферментативный. Щелочной гидролиз осуществляется за более короткий период времени и более прост в осуществлении, используемые реактивы дешевые и доступные, хорошо подходит для лабораторной практики. Время реакции составляет, по данным различных авторов, в основном 15-20 минут, температура 50-60°C, достаточно широко

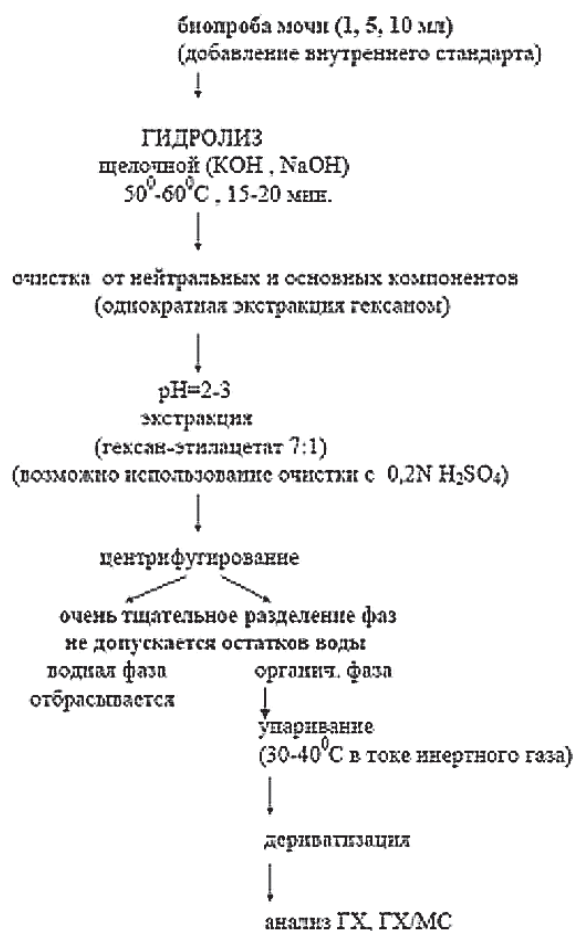


Схема 1. Пробоподготовка для анализа ТГК-СООН

ко варьирует количество щелочного агента – едкого натра или едкого кали (более чем в 20 раз), поэтому для оптимизации этой стадии проводили некоторые собственные исследования.

Для изолирования каннабиноидов и их метаболитов из мочи после гидролиза используется как жидко-жидкостная, так и твердофазная экстракция (Recommended Methods..., 1987; Bronner, Xu, 1992; Cody, Foltz, 1995; Staub, 1999), но на данном этапе для проведения массовых исследований более дешевым и доступным методом является ЖЖЭ. Для изолирования каннабиноидов по данным литературы гидролизованная смесь подкисляется до pH 2-3 и экстрагируется чаще всего смесью гексан-этилацетат в соотношении 7:1 (Recommended Methods..., 1987; Bronner, Xu, 1992; Cody, Foltz, 1995; Staub, 1999). Наиболее простая очистка в ходе ЖЖЭ состоит в экстракции гексаном при pH 12-13, удалении органического слоя, затем экстракции ТГК-СООН при pH 2-3. Другой вид очистки заключается в экстракции органическим растворителем после гидролиза при кислых значениях pH, затем добавлении 0,2 н. серной кислоты (для удаления сопутствующих эндогенных кислот), и последующем отбрасывании водного слоя (Foltz et al., 1980; Bronner, Xu, 1992). В наших иссле-

дованиях определен вклад этих двух видов очистки на качество полученных экстрактов.

Стадия дериватизации при исследовании ТГК-СООН чаще всего заключается в алкилировании или силилировании фенольной и карбоксильной групп и получении метил-, реже пропил-, или силильных производных (Recommended Methods..., 1987; Bronner, Xu, 1992; Cody, Foltz, 1995; Staub, 1999).

Среди силильных производных, по данным Clouette и соавт. (Clouette et al., 1993) и Moore и соавт. (Moore et al., 1996), известны необычно стойкие дериваты ТГК-СООН, которые получены с N-метил-N-(трет-бутилдиметилсилил)-трифторацетамидом (MTBSTFA), сохраняющие свои свойства, по данным этих авторов, до 10 дней. Оказалось, кроме того, что этот реагент достаточно хорошо подходит для ГХ исследования по нашим данным (см. обсуждение результатов).

Известно, что ТГК и ТГК-СООН под действием света и кислорода воздуха при нагревании разлагаются, поэтому в процессе пробоподготовки должно быть исключено использование высоких температур. Упаривание экстракта желательнее проводить в токе инертного газа или в вакуумном шкафу без нагревания. Стабильность стандартных растворов и образцов биожидкостей сохраняется в условиях глубокого охлаждения при -20°C .

ТГК-СООН легко адсорбируется на стеклянных или пластиковых поверхностях флаконов, реакционных виал, пипеток, которые используются в процессе подготовки пробы. Известно, что для предотвращения потерь анализируемого соединения рекомендуется силанизирование всей используемой посуды, хранение образцов в щелочных растворах или в органической фазе, что предотвращает поверхностную адсорбцию (de Zeeuw, 1994). В той же работе предлагается очень удобная и простая обработка используемой посуды для уменьшения потерь при адсорбции вместо силанизирования. Такая обработка состоит в следующем: промыть поверхности всей посуды перед использованием небольшим количеством метанола, дать стечь остаткам и высушить. Оставшийся тонкий слой метанола эффективно защитит активные центры и уменьшит потери при адсорбции. По сравнению с процедурой силанизирования, предлагаемая обработка более проста и доступна, поэтому мы использовали ее в своих исследованиях.

Экспериментальная часть

Оборудование и материалы. Анализ проводили на газовом хроматографе Agilent 6890N с автоинжектором Agilent 7683 и пламенно-ионизационным детектором, хроматографическая кварцевая капиллярная колонка HP-5 длиной 30 м, внутренний диаметр 0,32 мм, толщина пленки 0,25 мкм. Режим программирования температуры: 70°C 1 мин, от 70°C до 285°C со скоростью $20^{\circ}\text{C}/\text{мин}$, 10 мин при 285°C , далее со скоростью $20^{\circ}\text{C}/\text{мин}$ до 295°C и 3 мин при конечной температуре. Общее время анализа 23 ми-

нуты. Температура испарителя 250°C , температура детектора 300°C . Газ-носитель – гелий, скорость потока газа-носителя через колонку 3,0 мл/мин, линейная скорость 47 см/с. Ввод пробы осуществляют в режиме постоянной скорости газа носителя, без деления потока (splitless). Объем вводимой пробы составляет 1 мкл. Предел обнаружения метода 15 нг/мл.

Экспериментальные данные, представленные в настоящей работе, получены на реальных пробах мочи – биопробы лиц, у которых установлено содержание каннабиноидов на основе поляризационного флуороиммуноанализа на ТДх-анализаторе с наборами реагентов фирмы «Abbott» (США) и подтверждено ГХ/МС исследованием, концентрации порядка 200–400 нг/мл, при сравнении с ПФИА порядка 40–100 нг/мл. Реальные пробы взяты у лиц, освидетельствованных в кабинетах наркологических экспертиз НКБ № 17 г. Москвы. Калибровочные растворы готовили на фоновой моче с добавлением стандартного раствора ТГК-СООН фирмы-производителя в метаноле с концентрацией 10 мкг/мл. Концентрации калибровочных растворов составляли 12,5, 25, 50, 100, 200 нг/мл, соответственно.

Всю стеклянную посуду, используемую в процессе пробоподготовки, перед использованием обрабатывали метанолом как указывалось выше (de Zeeuw, 1994).

В качестве внутреннего стандарта использовали 17 α -метилтестостерон фирмы «Sigma» (США), который добавляли в модельные смеси на фоновой моче и в реальные пробы перед началом пробоподготовки в количестве 20 мкл метанольного раствора 150 мкг/мл.

Для подтверждения правильности выполнения пробоподготовки был использован метод хромато-масс-спектрометрии, m/z основных ионов трет-бутилдиметилсилильного (TBDMS) производного ТГК-СООН – 515; 413; 572 (Cody, Foltz, 1995).

Методы исследования.

Гидролиз. Для осуществления этой стадии к 5 мл мочи с внесенным внутренним стандартом (20 мкл р-ра 17 α -метилтестостерона в метаноле 150 мкг/мл) добавляли 1 мл щелочного реагента разной концентрации для выбора оптимальных условий: 1 н., 5 н., 10 н. едкого калия, выдерживали при 50°C в течение 20 минут.

Жидко-жидкостная экстракция. После охлаждения гидролизуемой смеси проводили экстракцию тремя разными вариантами:

1) к гидролизату после подкисления 6 н. HCl до pH 2–3 добавляли равное количество смеси гексан-этилацетат 7:1, после встряхивания (10 мин) и центрифугирования (10 мин при 3000 об/мин), верхний органический слой осторожно отбирали одноразовой пластиковой пипеткой и переносили в коническую пробирку (диаметром 3,5 см, объемом 10 мл) для выпаривания;

2) к гидролизату перед подкислением добавляли равное количество гексана, после встряхивания (10

мин) и центрифугирования (10 мин при 3000 об/мин) верхний органический слой отбрасывали (щелочная очистка) и далее экстракцию осуществляли как в 1-м варианте;

3) к гидролизату после подкисления добавляли равное количество смеси гексан-этилацетат 7:1, после встряхивания (10 мин) и центрифугирования (10 мин при 3000 об/мин) верхний органический слой осторожно отбирали одноразовой пластиковой пипеткой в стеклянный флакон для экстракции, добавляли равное количество 0,2 н. серной кислоты; после экстракции и центрифугирования верхний органический слой переносили одноразовой пипеткой в емкость для выпаривания, водный слой отбрасывали.

Выпаривание осуществляли при комнатной температуре в токе холодного воздуха до объема около 500 мкл, далее экстракт переносили в стеклянную вialу на 2 мл для дальнейшего упаривания в токе азота или гелия досуха.

Дериватизация. К сухому остатку добавляли 50 мкл 50% р-ра N-метил-N-(трет-бутилдиметилсиллил)-трифторацетамида (MTBSTFA) в ацетонитриле, встряхивали 3 минуты, выдерживали при 70°C в течение 25 минут, после охлаждения переносили в стеклянные вставки объемом 100 мкл к тому же флакону и вводили в газовый хроматограф.

Обсуждение полученных результатов.

Поскольку количество щелочного агента для гидролиза по данным литературы варьирует достаточно значительно от мягких условий – на 5 мл мочи 1 мл 1 н. КОН (Baker et al., 1984) до самых жестких условий – на 1 мл мочи 200 мкл 10 н. КОН (Kintz et al., 1995), необходимо было получить собственные экспериментальные данные для выбора количества реагента.

Результаты, полученные при использовании разной концентрации едкого кали, представлены в таблице 1 и на рисунке 1. Оказалось, что использование мягких условий дает наименьшую концентрацию ТГК-СООН, но в то же время при этом получают наиболее чистые экстракты. Использование самых жестких условий приводит к достоверному увеличению выхода, но вместе с тем заметно вырастает количество загрязнений. Нами была выбрана концентрация – 5 н. КОН, при использовании которой

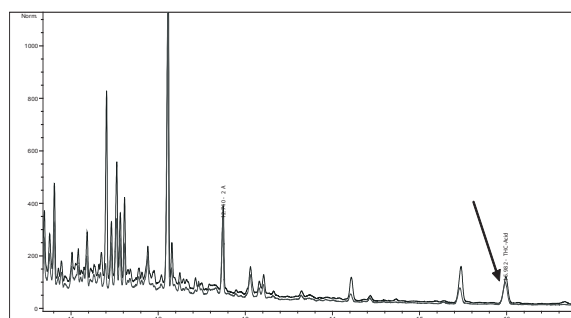


Рис. 1-а. Совмещение хроматограмм экстрактов, полученных после гидролиза 1N р-ром КОН и после гидролиза 10N р-ром КОН.

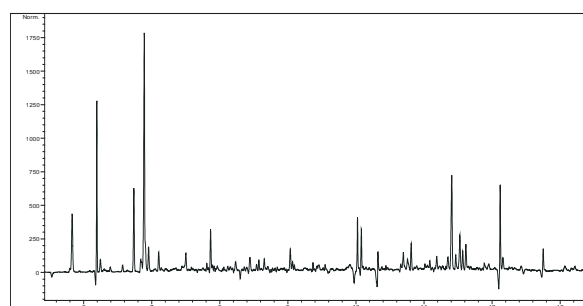


Рис. 1-б. Результат вычитания хроматограмм экстракта, полученного после гидролиза 10 н. р-ром КОН (выше нулевой линии) и экстракта, полученного после гидролиза 1 н. р-ром КОН (ниже нулевой линии)

достоверно увеличивается количество обнаруженной ТГК-СООН по сравнению с мягкими условиями, и количество загрязнений не столь велико, чем при 10 н. КОН.

В ходе экстракции использовались два варианта очистки. Оказалось, что использование очистки органического экстракта водным раствором 0,2 н. серной кислоты приводит к уменьшению сопутствующих загрязнений на хроматограмме (рис. 2 а, б), но эта дополнительная стадия неудобна для каждодневного использования при исследовании большого объема проб и вполне оправдана при малых количествах анализов. Очистка из щелочной среды несколько проще в исполнении, хотя в наших условиях газо-хромато-

Таблица 1. Содержание ТГК-СООН при разных условиях щелочного гидролиза (из 5 мл мочи).

Показатели	Условия гидролиза		
	1мл 1 н. КОН n = 6	1мл 5 н. КОН n = 6	1мл 10 н. КОН n = 6
Кол-во ТГК-СООН, нг/мл	257,6 ± 9,7	292,4 ± 9,4	332,0 ± 7,8
Критерий t Стьюдента расчетный		Сравнение с 1 н. КОН 2,57	Сравнение с 5 н. КОН 3,3
Критерий t Стьюдента табличный		2,23 при P = 0,95	

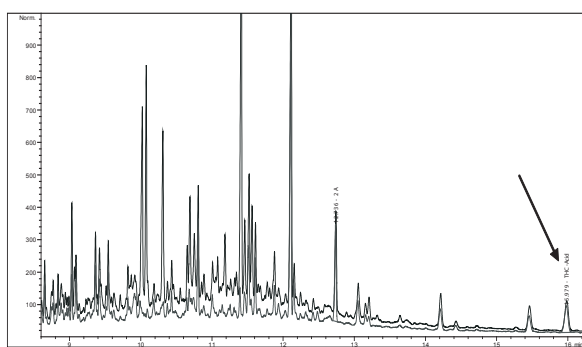


Рис. 2-а. Совмещение хроматограмм экстрактов, полученных с очисткой р-ром 0,2 н. серной кислоты и экстракта без очистки.

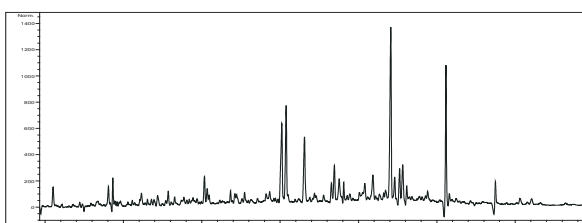


Рис. 2-б. Результат вычитания хроматограмм экстрактов, полученных без очистки(выше нулевой линии) и с очисткой р-ром 0,2 н. серной кислоты(ниже нулевой линии).

рафического исследования ее вклад существенно не заметен (рис.3 а, б), кроме того, она также является дополнительной, требующей времени стадией.

Время удерживания полученного производного ТГК-СООН составляет 16,00 мин, внутреннего стандарта 12,70 мин, основные сопутствующие соединения, которые соэкстрагируются из биоматериала, регистрируются на хроматограмме раньше, чем дериват ТГК-СООН. Анализ фоновых экстрактов показывает, что части хроматограммы, соответствующие времени удерживания ТГК-СООН и внутреннему стандарту, свободны, это является очень важным для возможности ГХ исследования данного соединения. (рис 4 а, б, в, г).

Поэтому наиболее подходящей методикой пробоподготовки для ГХ анализа для каждодневного использования в лаборатории с большим объемом исследований, по нашему мнению, является методика, описанная ниже.

Гидролиз: к 5 мл мочи с внесенным внутренним стандартом (20 мкл р-ра 17α-метилтестостерона в метаноле 150 мкг/мл) добавляют 1 мл 5 н. раствора едкого кали, выдерживают при 500°C в течение 20 минут;

Экстракция: после охлаждения гидролизат подкисляют до pH 2-3 с помощью 6 н. соляной кислоты, добавляют равное количество смеси гексан-этилацетат 7:1, после встряхивания (10 мин) и центрифугирования (10 мин при 3000 об/мин), верхний органический слой осторожно отбирают

одноразовой пластиковой пипеткой и переносят в коническую пробирку (диаметром 3,5 см, объемом 10 мл), выпаривают при комнатной температуре в токе холодного воздуха до объема около 500 мкл, далее экстракт переносят в стеклянную вialу на 2 мл для дальнейшего упаривания в токе азота или гелия досуха;

Дериватизация: к сухому остатку добавляют 50 мкл 50% р-ра МТВСТФА в ацетонитриле, встряхивают 3 минуты, выдерживают при 70°C в течение 25 минут, после охлаждения переносят в стеклянную вставку на 100 мкл к той же вialе и вводят в газовый хроматограф.

С целью уменьшения времени анализа и улучшения хроматографического разделения интересующих компонентов проводилось изучение влияния температурной программы термостата и давления в системе на проведение анализа. Увеличение скорости программирования более чем на 20°C/мин, приводило к смещению пиков внутреннего стандарта и ТГК-СООН к группе пиков матрицы мочи и хроматографическим наложениям. Проведение анализа в режиме постоянного давления в хроматографической колонке приводило к наложению интересующих веществ с компонентами сложной хроматографической матрицы мочи и ухудшению хроматографического разделения.

Представленную методику можно использовать в качестве подтверждающего метода исследования в лабораторной практике для установления факта

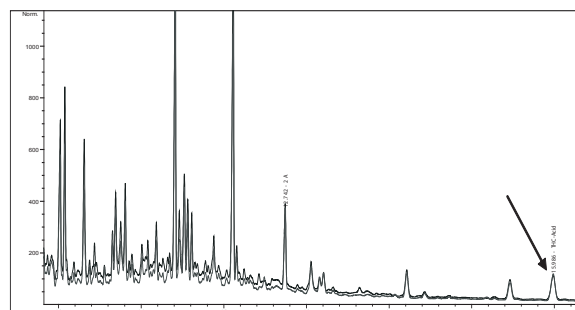


Рис. 3-а. Совмещение хроматограмм экстрактов, полученных с очисткой из щелочной среды, и экстракта без очистки.

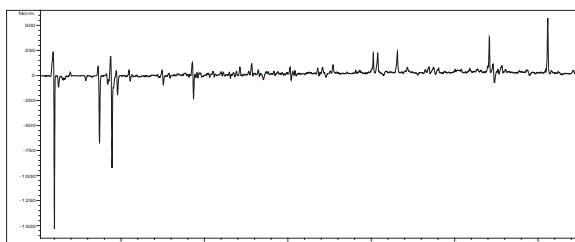


Рис. 3-б. Результат вычитания хроматограмм экстрактов, полученных без очистки(выше нулевой линии), и экстракта с очисткой из щелочной среды(ниже нулевой линии).

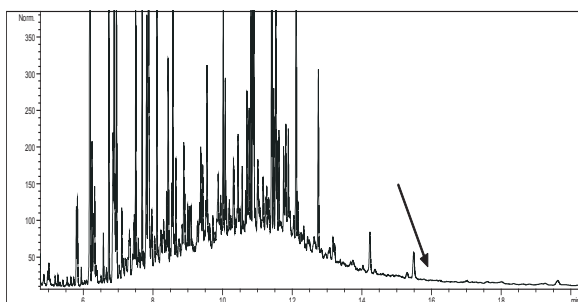


Рис. 4-а. Хроматограмма фоновой мочи.

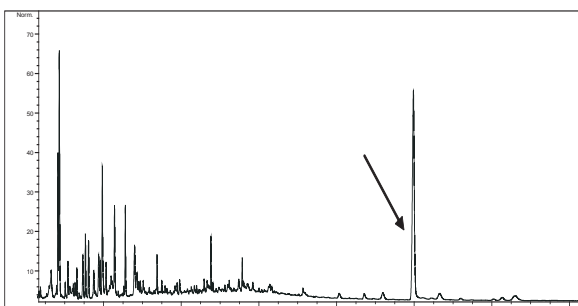


Рис. 4-б. Хроматограмма стандарта ТГК-СООН с концентрацией 250 нг/мл.

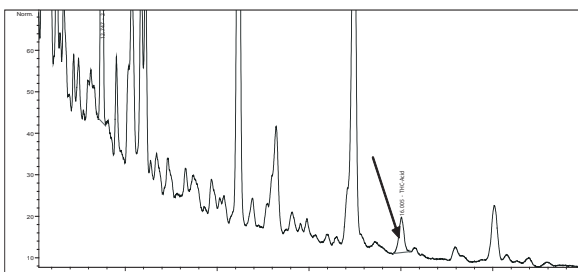


Рис. 4-в. Хроматограмма «реальной пробы» мочи, содержащей 60 нг/мл ТГК-СООН.

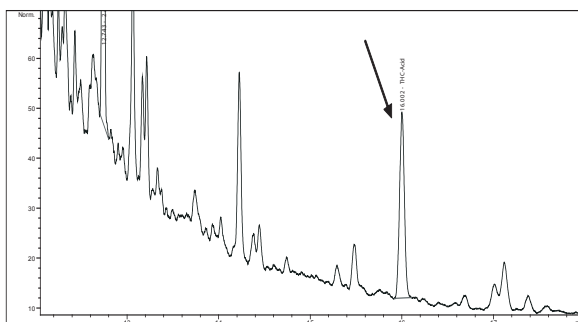


Рис. 4-г. Хроматограмма «реальной пробы» мочи, содержащей 200 нг/мл ТГК-СООН.

употребления наркотических средств, содержащих каннабиноиды, в дополнение к предварительным иммунохимическим исследованиям (ПФИА, ИФА, ИХА).

При сравнении результатов исследования, полученных методом ПФИА на ТДх-анализаторе, и методом ГХ, описанным выше, оказалось, что в количественном выражении результаты ГХ исследования составляют 40-60% от результатов ПФИА (табл. 2). Этот факт соответствует данным других исследователей (Critical Issues..., 1988; Wells, Barnhill, 1989) и объясняется тем, что иммунохимические методы (в том числе ПФИА) измеряют сумму ТГК-метаболитов, для этих методов характерно перекрестное реагирование с другими каннабиноидами, в отличие от методов ГХ, ГХ/МС, которые специфично определяют непосредственно одно соединение, в данном случае ТГК-СООН.

Надо отметить, что при возникновении расхождений результатов между двумя методами, необходимо, по нашему мнению, проводить комплексное ГХ/МС исследование ТГК и его метаболитов, что является перспективным направлением для лабораторной службы в этой области.

Выводы

1. Изучены условия изолирования ТГК-СООН при использовании разных количеств гидролизующего агента, разных очисток в ходе жидко-жидкостной экстракции, установлены наиболее оптимальные условия пробоподготовки для ГХ исследования.
2. Разработаны условия газо-хроматографического определения ТГК-СООН с использованием газового хроматографа с пламенно-иоизационным детектором на капиллярной колонке НР-5.
3. Предложена методика ГХ исследования ТГК-СООН для широкого использования в лабораторной практике (особенно при невозможности использовать ГХ/МС анализ).

Литература

- Веселовская Н.В., Коваленко А.Е. 2000. Наркотики. Свойства, действие, фармакокинетика, метаболизм. М.: Триада Х. С.120-127.
- Еремин С.К., Изотов Б.Н., Веселовская Н.В. 1993. Анализ наркотических средств. М.: Мысль. 268 с.
- Катаев С.С., Смирнова И.Ю., Залесова В.А., Курдина Л.Н. 2000. Химико-токсикологический анализ каннабиноидов в моче методом хромато-масс-спектрометрии // Ж.СМЭ. №1. С.27-32.
- Симонов Е.А., Найденова Л.Ф., Варнаков С.А., под ред. Рогозина В.В. 2003. Наркотические средства и психотропные вещества, контролируемые на территории Российской Федерации. М.: Интерлаб. 411 с.
- Baker T.S., Harry J.V., Russel J.W., et al. 1984. // Journal of Analytical Toxicology. Vol.8. P.255-259.
- Bronner W.E., Xu A.S. 1992. // Journal of Chromatography. Vol.580. P.63-75.

Таблица 2. Сравнение результатов исследования реальных проб, содержащих каннабиноиды, методами ПФИА и ГХ.

№ пробы	Результат ПФИА нг/мл	Результат ГХ нг/мл	№ пробы	Результат ПФИА нг/мл	Результат ГХ нг/мл
1	47	20	11	49	23
2	95	43	12	82	58
3	69	32	13	66	33
4	63	34	14	99	64
5	84	40	15	98	41
6	80	55	16	78	29
7	68	33	17	88	30
8	79	38	18	76	54
9	78	50	19	72	26
10	78	44	20	97	48

- Clark E.G.C. 2004. Analysis of drugs and poisons // London, Pharmaceutical Press. Vol.1-2.
- Clouette R., Jacob M., Koteel P., et al. 1993. // Journal of Analytical Toxicology. Vol.17. P.1-4.
- Critical issues in urinalysis of abused substances: report of the Substance-Abuse Testing Committee. 1988. // Clinical Chemistry. Vol.34. No.3. P.620-622.
- Cody T. J., Foltz R.L. 1995. GC/MC Analysis of body fluids for drugs of abuse. Forensic applications of mass spectrometry. CRC Press, Rehovot.
- Foltz R.L., Fentiman A.F., Foltz R.B. 1980. // Nida Research Monography. No.32. P.62-89.
- Kemp P.M., Abukhalaf J.K., Manno J.E., et al. 1995a. // Journal of Analytical Toxicology. Vol.19. P.292-298.
- Kemp P.M., Abukhalaf J.K., Manno J.E., et al. 1995b. // Journal of Analytical Toxicology. Vol.19. P.285-291.
- Kintz P., Machart D., Jamey C., et al. 1995. // Journal of Analytical Toxicology. Vol.19. P.304-306.
- Moore C.M., Becker J.W., Lewis D.E., et al. 1996. // Journal of Analytical Toxicology. Vol.20. P.50-51.
- Recommended Methods for the testing Cannabis. UN. 1987. // N-J., Division of Narcotic Drugs. Vienna.
- Staub C. 1999. // Journal of Chromatography B. Vol.733. P.119-126.
- Wells D.J., Barnhill M.T. 1989. // Clinical Chemistry. Vol.35. No.11. P.2241-2243.
- de Zeeuw R.A. 1994. // Journal of Analytical Toxicology. Vol.18. P.57.

