

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2019

Духовская Н.Е.<sup>1</sup>, Вавилова Т.П.<sup>1</sup>, Горбачева С.Ю.<sup>2</sup>, Гремякова П.В.<sup>2</sup>, Островская И.Г.<sup>1</sup>

## ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТО-МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ БИСОПРОЛОЛА И АТОРВАСТАТИНА В СЛЮНЕ

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО МГМСУ им. А.И. Евдокимова Минздрава РФ, 127473, Москва, Россия;

<sup>2</sup>Лабораторный центр ООО «Экзактэ Лабс», 117246, Москва, Россия

*Разработана методика количественного определения бисопролола и аторвастатина в слюне на жидкостном хромато-масс-спектрометре с тройным квадруполом LCMS-8040 МОДКЛЕМ с ионизацией, разделением и детектированием образцов. Метод позволяет определять концентрацию в слюне фармпрепаратов бисопролола с точностью от 93,7 до 98,5% и аторвастатина от 95,6 до 98,3%.*

**Ключевые слова:** слюна; метод жидкостной хромато-масс-спектрометрии; бисопролол; аторвастатин.

**Для цитирования:** Духовская Н.Е., Вавилова Т.П., Горбачева С.Ю., Гремякова П.В., Островская И.Г. Применение метода жидкостной хромато-масс-спектрометрии для определения бисопролола и аторвастатина в слюне. Клиническая лабораторная диагностика. 2019; 64 (5): 271-276. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2019-64-5-271-276>

*Dukhovskaya N.E.<sup>1</sup>, Vavilova T.P.<sup>1</sup>, Gorbacheva S.Yu.<sup>2</sup>, Gremyakova P.V.<sup>2</sup>, Ostrovskaya I.G.<sup>1</sup>*

APPLICATION OF THE METHOD OF LIQUID CHROMATO-MASS SPECTROMETRY FOR DETERMINATION OF BISOPROLOL AND ATORVASTATIN

<sup>1</sup>Moscow State University of Medicine and Dentistry named after A.I. Evdokimov, 127473, Moscow, Russia;

<sup>2</sup>Laboratory center «Exacte Labs», 117246, Moscow, Russia

*A technique has been developed for the quantitative determination of bisoprolol and atorvastatin in mixed saliva on a LCMS-8040 triple quadrupole liquid chromatographic mass spectrometer with ionization, separation and detection of samples, which allows determining the concentration in mixed saliva of bisoprolol with an accuracy of 93.7 to 98, 5% and atorvastatin from 95.6 to 98.3%.*

**Key words:** mixed saliva; method a liquid chromatography-mass spectrometry; bisoprolol; atorvastatin.

**For citation:** *Dukhovskaya N.E., Vavilova T. P., Gorbacheva S. Yu., Gremyakova P.V., Ostrovskaya I.G. Application of the method of liquid chromatography-mass spectrometry for determination of bisoprolol and atorvastatin. Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics). 2019; 64 (5): 271-276 (in Russ.)*  
DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2019-64-5-271-276>

**For correspondence:** *Dukhovskaya N.E.*, Ph.D. Sci. Med., Associate Professor at the Department propaedeutics of dental diseases; e-mail: [ndukhovskay@mail.ru](mailto:ndukhovskay@mail.ru)

### Information about authors:

Dukhovskaya N.E., <https://orcid.org/0000-0003-0533-7051>

Vavilova T.P., <https://orcid.org/0000-0002-4255-8825>

Gorbacheva S. Yu., <https://orcid.org/0000-0003-3235-0374>

Ostrovskaya I.G., <https://orcid.org/0000-0001-6788-4945>

**Conflict of interests.** *The authors declare absence of conflict of interests.*

**Acknowledgment.** *The study had no sponsor support.*

Received 06.03.2019  
Accepted 20.03.2019

**Введение.** В клинической практике наличие циркулирующих в межклеточной среде и в кровотоке лекарственных препаратов и их метаболитов чаще определяют в образцах биологической среды, в сыворотке крови и в моче. Между тем в последние десятилетия исследователи стали проявлять интерес к слюне в качестве биоматериала [1, 2]. Важными преимуществами использования слюны в качестве образца являются атравматичность сбора, безопасность биологического материала и меньшая трудоемкость в исполнении метода [3]. Для отработки этого определения потребовалось унифицировать этапы пробоподготовки образцов слюны, осуществить калибровку

прибора, который обладает высокой чувствительностью, а также создания тест-панелей для определения концентрации интересующих аналитов в слюне [4].

По данным N.A.Desrosies и соавт. [5], в секрете слюнных желез содержится «свободное» лекарственное вещество, а препараты, которые прочно связываются с белками плазмы крови, обнаружить удается только в следовых количествах. В слюну лекарственные вещества попадают через транспортную систему слюнных желез, слизистую оболочку полости рта, вместе с жидкостью десен [3]. Препараты с липофильными свойствами клетки выделяют в слюну пассивно, что зависит от степени их диссоциации и pH [6]. Конкурируя за транспортные системы слюнных желез, лекарственные препараты могут влиять на формирование слюнных молекул, что может приводить к изменению объема выделяемого

**Для корреспонденции:** *Духовская Наталья Евгеньевна*, канд. мед. наук, доц. каф. пропедевтики стоматологических заболеваний; e-mail: [ndukhovskay@mail.ru](mailto:ndukhovskay@mail.ru)

секрета [7]. Заметим, что выделение лекарственных препаратов в слюну не является основным способом их экскреции из организма. Действие лекарственного препарата обычно заканчивается его метаболизмом в печени (гидролиз, окисление, конъюгация) и выведением с мочой, желчью или непосредственно через стенку кишечника [5]. В меньшей степени выделительную функцию берут на себя потовые, слезные и слюнные железы [8].

Анализ данных литературы показал, что в большинстве публикаций предпочтение авторы отдают выявлению в слюне наркотических веществ [1,5, 9-11], но мало внимания уделено другим лекарственным препаратам, которые стоят в стандартном списке назначений по медицинским показаниям. Для лечения артериальной гипертензии, ишемической болезни сердца, сердечной недостаточности, нарушения сердечного ритма клиницисты назначают  $\beta$ 1-адреноблокаторы, в частности, бисопролол (БС), который подвержен метаболизму в печени и далее выводится почками [12]. Для уменьшения образования атеросклеротических бляшек в кровеносных сосудах назначают препарат аторвастатин, который подавляет образование спирта холестерина путем ингибирования синтеза его ключевого фермента 3-гидрокси-3-метилглутарил-кофермента А-редуктазы. Метаболизм холестерина проходит в печени и выделение происходит с желчью [13]. В связи с этим, точный и чувствительный метод определения концентрации аторвастатина и БС в смешанной слюне может явиться перспективным в лабораторной диагностике, так как содержание препаратов можно использовать в медицине для контроля лекарственных средств, проведения токсико-химического анализа.

Цель исследования: применить метод жидкостной хромато-масс-спектрометрии для определения БС и аторвастатина в слюне.

**Материал и методы.** Для определения получены образцы смешанной слюны у 16 пациентов, которые находились на стационарном лечении в ФГБУ «НМИЦ кардиологии» Минздрава России. С целью коррекции основного заболевания, пациенты принимали лекарственные препараты: группа А - бисопролол ( $n=7$ ), группа В - аторвастатин ( $n=4$ ), группа С - бисопролол+аторвастатин ( $n=5$ ). Для сравнения оценены образцы слюны здоровых добровольцев ( $n=6$ ), которые не принимали лекарственные препараты.

Сбор слюны проводили путём сплевывания без стимуляции в стерильную пластиковую градуированную пробирку в течение 5 мин и до начала определения хранили при температуре  $-20^{\circ}\text{C}$ . Перед исследованием пробы слюны размораживали при комнатной температуре в течение 1,5 часов и перемешивали до однородного состояния на механическом смесителе. Для выделения аналитов в слюне использовали метод осаждения белков с последующим упариванием супернатанта. Образцы слюны исследовали на жидкостном хромато-масс-спектрометре с тройным квадруполом LCMS-8040 (Shimadzu Corporation, Япония) с программным обеспечением LabSolutions 5.80. Анализ определяемых препаратов выполнен при ионизации в электроспрее при атмосферном давлении (ESI) в положительном режиме.

Индивидуальные растворы аналитов (аторвастатина и бисопролола) и раствор внутреннего стандартного образца (ВС) готовили взятием точной навески, соответствующей 10 мг аналита с учетом чистоты и растворяли в диметилсульфоксиде (ДМСО) (аторвастатин, ВС) и в

метаноле (бисопролол) до концентрации 1 мг/мл. Стандартные образцы хранились при температуре  $< -65^{\circ}\text{C}$ . Рабочие стандартные растворы аналитов готовили последовательным разбавлением исходных растворов в смеси ацетонитрил/вода (1/1). Калибровочные образцы и образцы контроля качества (КК) готовили путем добавления соответствующего раствора аналита к 100 или к 200 мкл интактной слюны для определения аторвастатина и бисопролола соответственно, непосредственно перед проведением всех процедур подготовки проб.

Интактную слюну готовили смешением слюны шести добровольцев, заведомо не содержащей определяемых аналитов.

**Метод определения аторвастатина.** Хроматографическое разделение аторвастатина проводили на хроматографической колонке Acquity UPLC BEH C18,  $1,7\ \mu\text{m}$ ,  $2,1 \times 50\ \text{mm}$  в градиентном режиме элюирования при скорости потока  $0,5\ \text{мл/мин}$ . Температура колонки  $-40^{\circ}\text{C}$ . В качестве подвижных фаз использовали  $0,1\%$  муравьиной кислоты в воде (подвижная фаза А) и ацетонитрил, подкисленный  $0,1\%$  муравьиной кислоты (подвижная фаза Б). Начальное соотношение фаз составляло 50/50 об.% (А/Б), объем пробы в инжекторе – 10 мкл. В этих условиях время удерживания для аторвастатина составило  $0,72\ \text{мин}$  для ВС аторвастатина- $d_5$ ,  $0,71\ \text{мин}$ . Общее время анализа  $3,5\ \text{мин}$ .

Образцы интактной слюны в объеме 100 мкл переносили в микропробирки на  $1,2\ \text{мл}$ , добавляли 10 мкл раствора ВС ( $200\ \text{нг/мл}$ ), перемешивали при  $1200\ \text{об/мин}$  в течение 2 мин. Далее осаждали белки добавлением  $400\ \text{мкл}$  охлажденного ( $-20^{\circ}\text{C}$ ) ацетонитрила, содержащего  $0,1\%$  муравьиной кислоты. Перемешивали при  $1200\ \text{об/мин}$  в течение 4 мин. Центрифугировали в течение 15 мин при  $4000\ \text{об/мин}$  ( $+4^{\circ}\text{C}$ ). Супернатант в количестве  $300\ \text{мкл}$  переносили в планшеты для упаривания и упаривали в токе азота досуха при  $40^{\circ}\text{C}$ . К сухому остатку добавляли  $200\ \text{мкл}$  реагента вода/ацетонитрил (1/1), перемешивали 4 мин. Далее переносили  $190\ \text{мкл}$  полученного раствора в 96-луночные микропланшеты для анализа. Калибровочные образцы для аторвастатина готовили в концентрациях  $0,5, 1, 2, 5, 10, 20, 75, 160$  и  $200\ \text{нг/мл}$ . Образцы КК – в концентрациях  $1,5\ \text{нг/мл}$  (низкий контроль качества, НКК),  $60\ \text{нг/мл}$  (средний контроль качества) и  $150\ \text{нг/мл}$  (высокий контроль качества). Калибровочные графики представляли собой линейную зависимость с нормированием  $1/c$  и коэффициентом корреляции не менее  $0,999$ . Концентрация ВС в образцах слюны составляла  $20\ \text{нг/мл}$ .

**Метод определения бисопролола.** Хроматографическое разделение бисопролола осуществляли на хроматографической колонке YMC-Triart C8,  $1,9\ \mu\text{m}$ ,  $2,0 \times 50\ \text{mm}$  в градиентном режиме элюирования, начиная с  $27\%$  подвижной фазы Б, при скорости потока  $0,4\ \text{мл/мин}$ . В качестве подвижных фаз использовали формиат аммония  $10\ \text{мМ}+0,2\%$  муравьиной кислоты в воде (подвижная фаза А) и ацетонитрил, подкисленный  $0,2\%$  муравьиной кислоты (подвижная фаза Б), объем вкола – 4 мкл. Температура колонки составляла  $35^{\circ}\text{C}$ . В этих условиях время удерживания для бисопролола и ВС (бисопролола- $d_3$ ) составило  $0,92\ \text{мин}$ . Общее время анализа  $6\ \text{мин}$ .

Образцы интактной слюны в объеме  $200\ \text{мкл}$  переносили в микропробирки, добавляли 10 мкл раствора ВС ( $400\ \text{нг/мл}$ ), перемешивали при  $1200\ \text{об/мин}$  в течение 2 мин. Проводили осаждение белков добавлением  $300\ \text{мкл}$  охлажденного ( $-20^{\circ}\text{C}$ ) ацетонитрила, содержащего  $0,1\%$

Таблица 1

Параметры работы МС-детектора для метода определения аторвастатина

Аналит	Q1>Q3 переход	Dwell, мсек	Напряжение на первом квадруполе (Q1 Pre Bias), В	Энергия соударений (CE), эВ	Напряжение на третьем квадруполе (Q3 Pre Bias), В
Аторвастатин	559,00>440,20	100	-24,0	-23,0	-30,0
Аторвастатин-d <sub>3</sub>	564,00>445,25	100	-24,0	-22,0	-21,0

Таблица 2

Параметры работы МС-детектора для метода определения бисопролола

Аналит	Q1>Q3 переход	Dwell, мсек	Напряжение на первом квадруполе (Q1 Pre Bias), В	Энергия соударений (CE), эВ	Напряжение на третьем квадруполе (Q3 Pre Bias), В
Бисопролол	326,10>116,05	100	-16	-19	-19
Бисопролол-d <sub>3</sub>	331,10>121,10	75	-17	-19	-21

муравьиной кислоты. Перемешивали на шейкере при 1200 об/мин в течение 4 мин. Центрифугировали в течение 15 мин при 4000 об/мин (+4°C). Надосадочную жидкость в количестве 300 мкл переносили в планшеты для упаривания и упаривали в токе азота досуха при 40°C. К сухому остатку добавляли 200 мкл раствора 10мМ AmF в воде/ACN (75/25) +0,1%FA, перемешивали на шейкере 4 мин и переносили 190 мкл полученного раствора в 96-луночные микропланшеты и анализировали. Калибровочные образцы для бисопролола готовили в концентрациях 0,5, 1, 2, 5, 10, 20, 75, 160 и 200 нг/мл. Образцы КК – в концентрациях 1,5 нг/мл (низкий контроль качества, НКК), 60 нг/мл (средний контроль качества, СКК) и 150 нг/мл (высокий контроль качества, ВКК). Калибровочные кривые представляли собой линейную зависимость с нормированием 1/с и коэффициентом корреляции не менее 0,999 в диапазоне концентраций 0,5-200 нг/мл для бисопролола. Концентрация ВС в образцах слюны составляла 40 нг/мл.

При разработке условий масс-спектрометрического детектирования раствор тестируемого соединения в растворе ACN:H<sub>2</sub>O (1:1) с 0,1 % FA с концентрацией 100 нг/мл анализировали путем прямого ввода в масс-спектрометр шприцевым насосом при ионизации в электроспрее в режиме регистрации положительных ионов. При сканировании в режиме полного ионного тока (MS1) определяли: а) молекулярный ион исследуемого соединения; б) основные ионы-продукты фиксировали в режиме MS2. Для количественного анализа результата использовали параметры источника ионизации (температура линии десольватации – DL – и интерфейса – Heat Block (HB), потоки газа распылителя (Nebulising Gas Flow) и газа-осушителя (Drying Gas Flow)). Использованы также параметры напряжения на первом (Q1 Pre Bias), третьем (Q3 Pre Bias) квадруполях. Энергия соударений была оптимизирована для достижения максимально-возможного сигнала MRM-переходов, необходимых для количественного определения целевых соединений.

MRM-переходы для аторвастатина составили 559,00>440,20 (564,00>445,25 – аторвастатин-d<sub>3</sub>). Скорости потока газа-осушителя и газа-распылителя установили соответственно на 15 л/мин и 3 л/мин. Температуры DL и HB составили соответственно 250°C и 400°C. Первый и третий квадруполь работали в режиме высокого разрешения. Для каждого MRM-перехода, используемого для количественного анализа, время накопления сигнала (dwell time) задано равным 100 миллисекундам (мсек) (табл. 1).

MRM-переходы для ВС составили 326,10>116,05 (331,10>121,10 – бисопролол-d<sub>3</sub>). Скорости потока газа-осушителя и газа-распылителя установили соответственно на 15 л/мин и 3 л/мин. Температуры DL и HB составили соответственно 180°C и 400°C. Первый и третий квадруполь работали в режиме высокого разрешения. Для MRM-перехода аналита, используемого для количественного анализа, время накопления сигнала (dwell time) задавали равным 100 и 75 мсек для внутреннего стандартного образца (табл. 2).

Результаты и обсуждение. В

ходе разработки методов определения аторвастатина и ВС с использованием растворов стандартных образцов и модельных проб найдены MRM-переходы для каждого из соединений, подобраны оптимальные параметры ионизации и хроматографического разделения; определены калибровочные диапазоны для каждого из аналитов.

Отсутствие пиков аналита и ВС в холостых пробах говорят, как о селективности подобранных MRM-переходов (рис. 1), так и методе в целом.

Отсутствие отклика аналита в образце с ВС, но без добавления аналита, указывает на отсутствии интерференции между целевым определяемым компонентом и ВС (рис. 2). Линейный диапазон определения аторвастатина составил от 0,5 до 200 нг/мл.

На рис. 3 приведена хроматограмма аторвастатина на уровне нижнего предела количественного определения (НПКО) (0,5 нг/мл). Правильная форма пика, отношение сигнал/шум, равное 8 указывают, что определение аторвастатина возможно на уровне не менее 0,5 нг/мл.

Хроматограмма холостого образца слюны (рис. 4) свидетельствует об отсутствии интерференции между ВС и аналитом. Селективность метода в отношении определяемого соединения подтверждено отсутствием отклика по времени удерживания бисопролола (0,92 мин) в пробе интактной слюны.

Нижний предел количественного определения бисопролола в слюне человека составил 0,5 нг/мл при отношении сигнал/шум, равном 18. На рис. 5 приведена хроматограмма бисопролола на уровне НПКО. Пик целевого соединения характеризуется правильной гауссовой формой, отсутствуют признаки размывания и раздвоения.

На рисунках 4, 5, 6 присутствует пик неудерживаемого компонента с временем удерживания 0,33 мин. Данный пик соответствует так называемому пику вкола. Площадь данного пика постоянна и не зависит от концентрации аналита, либо внутреннего стандарта в пробе, и, таким образом, его появление на хроматограммах объясняется матричными эффектами, которые действуют в конкретной сложной матрице, т.е. слюне человека. Высокое разрешение между пиком вкола и пиком целевого компонента, позволяет судить об отсутствии взаимного влияния между данными сигналами. Последнее позволяет сделать вывод о том, что наличие матричного пика вблизи мертвого времени хроматографической системы не сказывается на точности определения бисопролола. Приведенные методы определения содержания



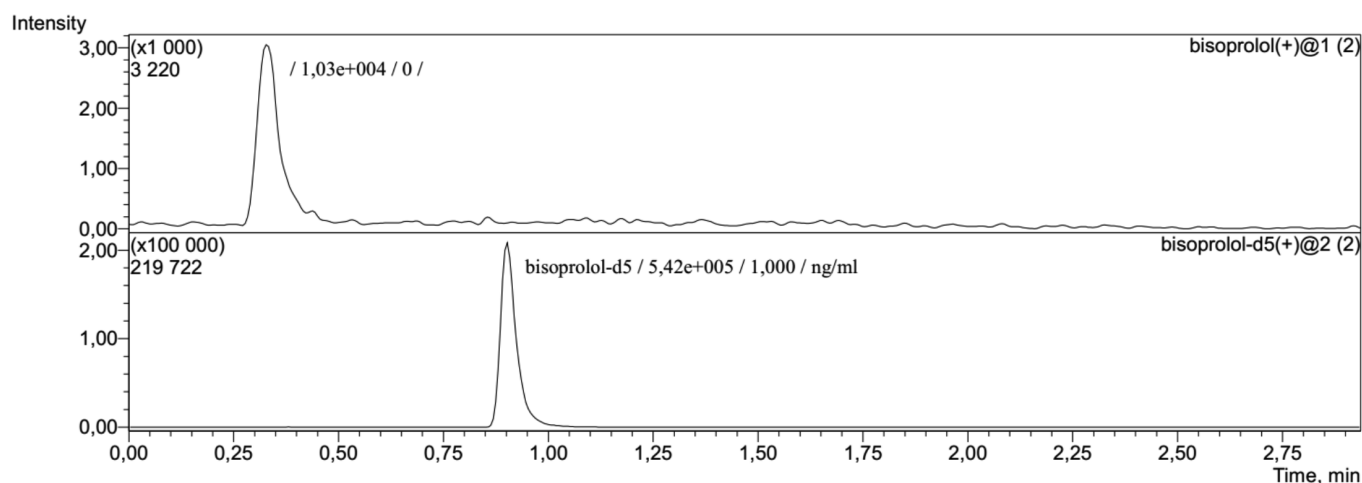


Рис. 4. Хроматограмма холостого образца.

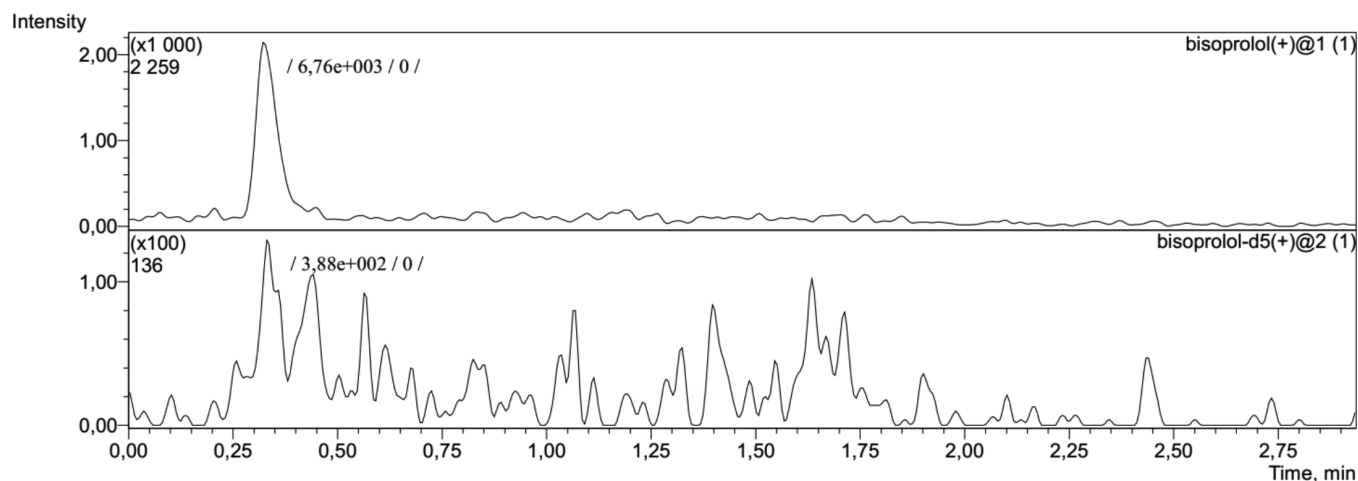


Рис. 5. Хроматограмма образца интактной слюны.

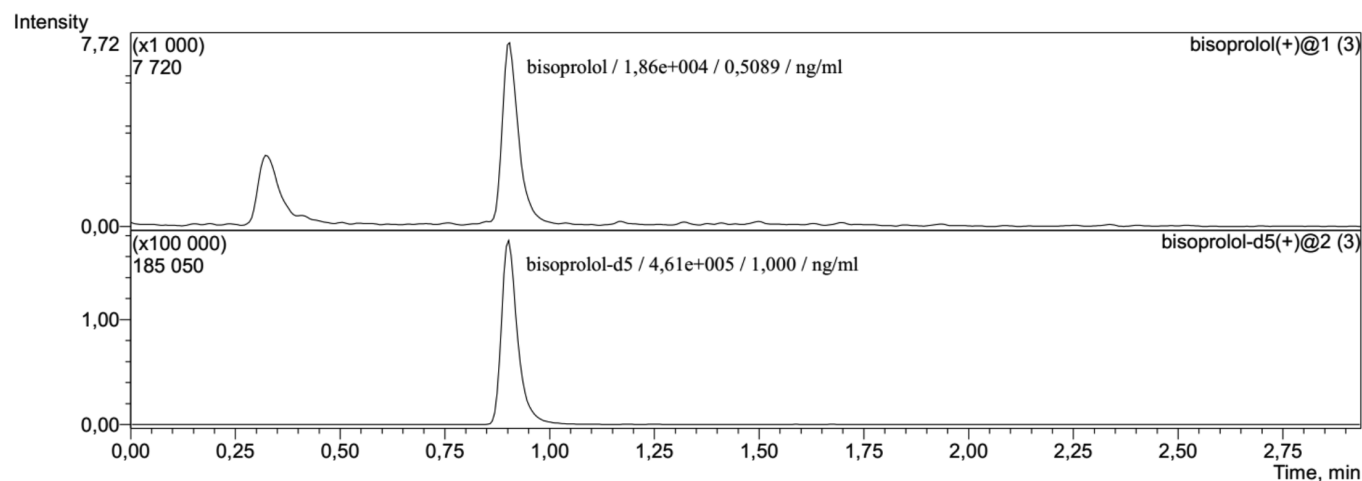


Рис. 6. Хроматограмма бисопролола 0,5 нг/мл (НПКО) в слюне.

Таблица 3

**Результаты определения аторвастатина и бисопролола в пробах слюны пациентов**

Название пробы	Концентрация аторвастатина, нг/мл	Концентрация бисопролола, нг/мл
1	1,208	1195*
2	BLOQ	121,2
3	2,608	2111*
4	BLOQ	80,19
5	1,143	373,6*
6	BLOQ	н/д
7	BLOQ	н/д
8	BLOQ	н/д
9	BLOQ	н/д
10	н/д	96,5
11	н/д	19,1
12	н/д	BLOQ
13	н/д	BLOQ
14	н/д	BLOQ
15	н/д	33,1
16	н/д	BLOQ

\*найденные концентрации превышают ВПКО (200 нг/мл для бисопролола) данного метода. н/д – анализ проб на определение анализа не проводился.

Таблица 4

**Контроль качества аналитических серий определения аторвастатина и бисопролола**

Аналит	Образцы КК, нг/мл	Использовано величин	Среднее, нг/мл	СО	КВ, %	Точность, %
Аторвастатин	1,5	3* из 4	1,461	0,0800	5,48	97,4
	60	4 из 4	56,21	1,08	1,93	93,7
	150	4 из 4	147,7	8,17	5,53	98,5
Бисопролол	1,5	4 из 4	1,475	0,0294	2,00	98,3
	60	4 из 4	58,01	1,60	2,75	96,7
	150	4 из 4	143,3	2,56	1,79	95,5

\* отклонение по точности определения концентрации в образце превысило 15%. Образец КК исключен из расчета. СО – стандартное отклонение. КВ – коэффициент вариации, рассчитан по формуле:  $KB = \frac{CO}{\text{Среднее}} \times 100\%$ .

аторвастатина и бисопролола можно применять к анализу проб слюны человека, отобранных после приема препарата, содержащего определяемые препараты.

Результаты определения аторвастатина и бисопролола в пробах слюны приводятся в табл. 3, где записью «BLOQ» обозначены концентрации ниже (НПКО) (0,5 нг/мл). Пробы слюны с 1–5 включительно - это пробы слюны, отбор которых производился у добровольцев (группа С) после приема аторвастатина и бисопролола одновременно.

Правильность полученных результатов определения подтверждена образцами КК, анализ которых проводили в рамках аналитической серии проб дважды: до и после реальных проб слюны. Отклонение образцов КК по точности составило не более 15% для, как минимум, трех повторов каждой из концентраций КК: 1,5 нг/мл (НКК), 60 нг/мл (СКК) и 150 нг/мл (ВКК), значения КВ не превышали 6,0% для всех аналитов (табл. 4.). Расчет статистических показателей в образцах КК проводили относительно номинального значения. Приведенные

данные иллюстрируют оптимальную точность определения содержания аторвастатина и бисопролола в реальных пробах слюны человека.

**Заключение.** Проведена апробация метода количественного определения фармпрепаратов - бисопролола и аторвастатина в слюне методом жидкостной хромато-масс-спектрометрии с тройным квадруполом LCMS-8040 с ионизацией, разделением и детектированием образцов. Данный метод при полной его материализации, с большой вероятностью можно будет применять в экспериментальной и практической медицине для контроля за выведением и дозированием лекарственных средств.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

**ЛИТЕРАТУРА (пп. 1, 2, 4–8, 10–13 см. REFERENCES)**

3. Вавилова Т.П., Янушевич О.О., Островская И.Г. Слюна. Аналитические возможности и перспективы. М.: Бином; 2014.
9. Ремезова И.П., Лазарян Д.С., Максименко Т.И. Химико-токсикологический анализ респеридона и галоперидола в слюне. *Известия Самарского научного центра Российской академии наук.* 2012; 4 (5-3): 754-6.
12. Лупанов В.П. Новые Европейские методические рекомендации 2013 г. по лечению стабильной ишемической болезни сердца. *Российский медицинский журнал.* 2014; 2: 98–105.

**REFERENCES**

1. Casolin A. Comparison of Urine and Oral Fluid for Workplace Drug Testing. *Journal Anal Toxicol.* 2016; 40(7): 479-85.
2. Lee D., Huestis M.A. Current Knowledge on Cannabinoids in Oral Fluid. *Drug Test Anal.* 2014; 6(0): 88-111.
3. Vavilova T.P., Yanushevich O.O., Ostrovskaya I.G. Saliva. Analytical capabilities and prospects. [Slyuna. Analiticheskie vozmozhnosti i perspektivy]. Moscow: Binom; 2014. (in Russian)
4. Aravindh Babu N., Balachander N., Masthan K.M.K., Gopalakrishnan T. Biomarkers in saliva. *Biomedical & pharmacology.* 2012; 5(2): 367-70.
5. Desrosiers N.A., Barnes A.J., Hartman R.L., Scheidweiler K.B., Kolbrich-Spargo E.A. et al. Oral Fluid and Plasma 3,4-Methylenedioxymethamphetamine (MDMA) and Metabolite Correlation after Controlled Oral MDMA Administration. *Anal. Bioanal. Chem.* 2013; 405(12): 4067-76.
6. Bosker W.M. Oral fluid testing for drugs of abuse/ W.M. Bosker, M.A. Huestis *Clin. Chem.* 2009; 55:1910-31.
7. Aravindh Babu N. et al. Drug Excretion in Saliva. A Review. *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.* 2014; 26(1) 11: 76-7.
8. Aps J.K., Martens L.C. Review: The physiology of saliva and transfer of drugs into saliva. *Forensic Sci Int.* 2005; 150: 119-31.
9. Remezova I.P., Lazaryan D.S., Maksimenko T.I. Chemical-toxicological analysis of resperidone and haloperidol in saliva. *Izvestiya Samarskogo nauchnogo tsentra Rossiyskoy akademii nauk.* 2012; 4 (5-3): 754-6. (in Russian)
10. Gentini S., Solmini R., Tittarelli R., Mannocchi G., Busardo F.P. A Study on the Reliability of an On-Site Oral Fluid Drug Test in a Recreational Context. *Anal. Methods Chem.* 2016; 2016: 1234581.
11. Lee D., Huestis M.A. Current Knowledge on Cannabinoids in Oral Fluid. *Drug Test Anal.* 2014; 6(0): 88-111.
12. Lupanov V.P. New European guidelines for the treatment of stable coronary heart disease in 2013. *Rossiyskiy meditsinskiy zhurnal.* 2014; 2: 98–105. (in Russian)
13. Murphy C., Bennett K., Fahey T., Shelley E., Graham I., Kenny R.A. Statin use in adults at high risk of cardiovascular disease mortality: cross-sectional analysis of baseline data from The Irish Longitudinal Study on Ageing (TILDA). *BMJ Open.* 2015; 5(7): e008017.

Поступила 06.03.19

Принята к печати 20.03.19