

PRACE KAZUISTYCZNE  
CASE REPORTS**K. Woźniak, J. Pohl**

Samobójcze postrzały z broni śrutowej po wprowadzeniu lufy do ust a ryzyko błędnej oceny na miejscu ujawnienia zwłok  
Suicidal intraoral shooting using a shotgun-risk of misinterpretation at the scene.....347

**E. Rzepecka-Woźniak, L. Rudnicka-Sosin, T. Konopka**

Dysplazja włóknisto-mięśniowa lewej tętnicy wieńcowej przyczyną nagłego zgonu młodego mężczyzny  
Sudden cardiac death of a young male due to fibromuscular dysplasia of the left coronary artery.....357

**R. Hauser, T. Gos, P. Lipowski, J. Kuczkowski**

Wylewy krwawe w siatkówkach jako istotny dowód wskazujący na okoliczności ich powstania  
Retinal hemorrhages as a case for shaking trauma. Case report .....363

**R. Hauser, M. Kaliszan, S. Bardzik**

Kontrowersje wokół przecinka. Głos w dyskusji  
Controversies concerning the comma. The voice in the discussion.....369

SPRAWOZDANIA  
REPORTS**G. Teresiński**

Sprawozdanie z połączonych Konferencji AAAM i IRCOBI oraz Kursu IRCOBI Lizbona, 22-26 września 2003 r.  
Warszawa, 13-15 października 2003 r.....375

## OD REDAKCJI

EDITORIAL.....379

**Roman Wachowiak, Artur Teżyk****Analiza toksykologiczna wybranych  
p-adrenolityków w diagnostyce zatruc****Toxicological analysis of selected p<sub>α</sub>-adrenergic blockers in  
diagnosis of intoxications**

Z Katedry i Zakładu Medycyny Sądowej AM w Poznaniu  
Kierownik: prof. dr hab. Z. Przybylski

Praca dotyczy opracowania efektywnych metod analizy jakościowo-ilościowej wybranych p-adrenolityków przydatnych zarówno w monitorowanej terapii, jak i tanatologicznej diagnostyce zatruc. W badaniach wykorzystano metodę chromatografii gazowej (GLC) oraz wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC). Dla celów izolacji badanych związków z materiału biologicznego zastosowano metody klasycznej ekstrakcji oraz użycie fazy stałej (SPE); Extrelut-20 (Merck); Absolut Nexus (Varian) i STRATA C - 18 E (Phenomenex). Program badawczy dotyczył analizy najczęściej stosowanych pochodnych: Atenolol, Acebutol, Metoprolol, Oxprenolol, Praktolol, Propranolol, Bunitrolol, Bupranolol, Labetolol.

The study aimed at finding effective techniques of qualitative and quantitative analysis of selected p<sub>α</sub>-adrenergic blockers, useful both for monitoring of therapy and for thanatological diagnosis of intoxications. The studies took advantage of gas chromatography (GLC) and high performance liquid chromatography (HPLC). For isolation of studied compounds from biological material, classical and solid phase extraction procedures (SPE) Extrelut-20 (Merck), Absolut Nexus (Varian), STRATA C - 18 E (Phenomenex) were used. The program included the analysis of most frequently applied derivatives: Acebutol, Atenolol, Bunitrolol, Bupranolol, Labetolol, Metipranolol, Metoprolol, Oxprenolol, Practolol, Propranolol.

Słowa kluczowe: p<sub>α</sub>-adrenolityki, izolacja, analiza jakościowo-ilościowa, chromatografia GLC, HPLC

**Key words: p<sub>α</sub>-adrenergic blockers, isolation, qualitative and quantitative analysis, GLC and HPLC chromatographies**

## WPROWADZENIE

"Ocena kazuistyczna Zakładów Medycyny Sądowej wskazuje na znaczący udział zgonów spowodowanych niewydolnością krążeniową. Dla większości tych

przypadków tanatologiczna ocena przyczyny śmierci, uwzględniająca inne okoliczności towarzyszące, wynikające m.in. z historii choroby lub z wywiadu, potwierdza często fakt długotrwałego zażywania leków związanych z przewlekłą, czy ostrą niewydolnością krążeniową (choroba niedokrwienna serca, nadciśnienie tętnicze, zaburzenia rytmu, przebyty zawał).

Kompleksowa ocena przyczyny śmierci dla tych przypadków wymaga zawsze odpowiednich badań toksykologicznych, uwzględniających diagnostykę chemiczną, pozwalającą na określenie poziomu zażywanego leku we krwi w chwili zgonu. Niezależnie od ukierunkowanych zapotrzebowań toksykologiczno-sądowych, związanych z diagnostyką chemiczną zatruc śmiertelnych tą grupą leków, należy zawsze uwzględnić skuteczną profilaktykę zatruc i związaną z nią terapię monitorowaną. Konieczność wykonywania odpowiednich badań analitycznych niezbędnych w ustaleniu bezpiecznego i efektywnego poziomu wybranego leku w płynach ustrojowych, pozwala na racjonalne korelowanie dawki leku w odniesieniu do oczekiwanych efektów farmakologiczno-klinicznych. Dotychczasowe metody analizy p-adrenolityków w materiale biologicznym dotyczyły pojedynczych pochodnych, które były badane metodami chromatografii gazowej (3, 8, 15, 16, 18) lub cieczowej (1, 2, 4-7, 9-14, 17). W procesie izolacji wybranych p-adrenolityków stosowano głównie klasyczną ekstrakcję typu ciecz/ciecz ze środowiska zasadowego oraz sporadycznie stałe fazy ekstrakcyjne (SPE).

Mając na uwadze szeroką wartość diagnostyczną badań toksykologicznych, przydatnych zarówno w profilaktyce, jak i w ustalaniu przyczyny czy rodzaju zatruc, opracowano warunki równoczesnej analizy jakościowo-ilościowej najczęściej stosowanych w lecznictwie pochodnych p-adrenolityków. Przydatność opracowanej metody sprawdzono podczas rutynowych badań diagnostycznych próbek krwi zabezpieczonych podczas monitorowanej terapii klinicznej wybranymi p-adrenolitykami.

## MATERIAŁ I METODY

W badaniach użyto odpowiednich substancji wzorcowych wybranych (5-adrenolityków, których strukturę chemiczną przedstawia tabela I.

### Analiza jakościowo-ilościowa (3-adrenolityków metodą chromatografii gazowej (GLC) i cieczowej (HPLC)

W badaniach użyto chromatograf gazowy Auto System XL z oprogramowaniem PE Nelson Turbochrom Navigator Ver. 41, wyposażonym w układ detektorów systemu dual FID/NPD. Stosowano kolumnę kapilarną firmy Supelco SPB-1 dł. 15 mm Ø 0.53 mm, grubość filmu fazy ciekłej 2.0 µm. Szybkość przepływu gazu nośnego /hel/ 2,8 cm<sup>3</sup>/min. Optymalny rozdział zespołu badanych związków zapewnia zastosowanie następujących parametrów temperaturowych: dozownik i detektor 250°C oraz programowy zakres temperatury termostatu: T 170°C (0 min.) T 5°C/min T<sub>2</sub> 270°C (2 min.) t 5°C/min. T<sub>3</sub> 280°C/2 min.

Tabela I. Struktura chemiczna badanych p-adrenolityków.  
Table I. Chemical structure of examined beta-adrenergic blockers.

Adrenolityk – R			
Acebutolol (Sectral) C <sub>18</sub> H <sub>28</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub> M.c.z. 336.4	Metipranolol C <sub>17</sub> H <sub>27</sub> NO <sub>4</sub> M.c.z. 309.4	Praktolol C <sub>14</sub> H <sub>22</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub> M.c.z. 266.3	
Atenolol C <sub>14</sub> H <sub>22</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub> M.c.z. 266.3	Metoprolol C <sub>15</sub> H <sub>23</sub> NO <sub>3</sub> M.c.z. 267.3	Praktolol C <sub>14</sub> H <sub>22</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub> M.c.z. 266.3	
Adrenolityk – R			
Bunitrolol C <sub>14</sub> H <sub>20</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> M.c.z. 248.3	Bupranolol C <sub>14</sub> H <sub>22</sub> ClNO <sub>2</sub> M.c.z. 271.1		
Labetolol C <sub>19</sub> H <sub>24</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub> M.c.z. 328.4	Propranolol C <sub>16</sub> H <sub>21</sub> NO <sub>3</sub> M.c.z. 259.3		

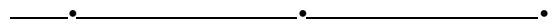
Analizę techniką wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) przeprowadzono na chromatografie cieczowej HPLC Perkin Elmer 1022 LC Plus, wyposażonym w detektor Perkin Elmer 785 A UV/VIS ( $\lambda = 222 \text{ nm}$ ), użyto kolumny LiChroCart 250-4, LiChrospher 60, RP-selected B (5  $\mu\text{m}$ ), objętość dozownika 20  $\mu\text{l}$ .

Optymalny rozdział uzyskano przy użyciu dwustopniowej pompy ze zmiennym gradientem procentowej ilości składników fazy rozwijającej. Zmiany fazy ruchomej (przepływ  $0.7 \text{ cm}^3/\text{min}$ ) o składzie:

A - 60% acetonitryl 40%  $0.02 \text{ mol NaH}_2\text{PO}_4$

B - 15% acetonitryl 85%  $0.02 \text{ mol NaH}_2\text{PO}_4$

W postępującym procesie chromatograficznym gradientowe zmiany stężeń fazy ruchomej następowały cyklicznie zgodnie z poniższym programem.

A 0%   zmiana A 25%   zmiana A 50%   zmiana A 0%  
  
 B 100% 3 min. B 75% 3 min. B 50% 2 min B 100%

### Zasada oznaczenia p-adrenolityków metodą GLC i HPLC - krzywe kalibracji

Podstawą wykonania analizy ilościowej był właściwy rozdział jakościowy analizowanej pochodnej i wzorca wewnętrznego. Oznaczenie ilościowe poszczególnych składników oparto o metodę wzorca wewnętrznego o innym czasie retencji aniżeli związek oznaczany i krzywa kalibracyjną. W przypadku metody GLC dla badanej grupy związków wzorcem wewnętrznym była kofeina. Przygotowano etanolowe roztwory wzorcowe badanych pochodnych w zakresie  $0.5 - 2.0 \text{ mg/cm}^3$  dodając do każdego stałą ilość wzorca wewnętrznego (kofeina zasada)  $1.0 \text{ mg}$ . Roztwory kalibracyjne w objętości  $1 \text{ ul}$  wprowadzono do komory nastrzykowej chromatografu ( $0.5 - 2 \text{ ug} = 500-2000 \text{ ng}$ ).

W przypadku analizy ilościowej metodą HPLC sprawdzony zakres kalibracyjnej zależności  $AB=f(c)$  dotyczył przedziału  $0.02 - 0.2 \text{ ug} = 20 - 200 \text{ ng}$  badanych substancji. Powyższą oznaczalność kalibracyjną uzyskano w warunkach precyzyjnego automatycznego wprowadzenia stałej objętości ( $20 \text{ ul}$ ) podstawowych etanolowych roztworów wzorcowych o wzrastającym stężeniu badanych pochodnych ( $1.0 - 10 \text{ ug/cm}^3$ ) bez konieczności używania wzorca wewnętrznego.

Warunki izolacji badanych związków dotyczyły surowicy krwi ludzkiej, którą obciążono stałą ilością badanego leku ( $0.1 \text{ mg/cm}^3$ ). Po okresie inkubacji ( $\pm 24 \text{ godz. temp. } 20^\circ\text{C}$ ) każdą próbkę poddano zróżnicowanej izolacji z użyciem klasycznej ekstrakcji (ciecz/ciecz) z zastosowaniem fazy stałej (Extrelut-20 firmy Merck) oraz gotowych kolumn ekstrakcyjnych Absolut Nexus firmy Varian i Strata C 18 E Phenomenex..

### Warunki ekstrakcji klasycznej

$10 \text{ cm}^3$  obciążonej surowicy doprowadzonej do pH (9-10) poddano ekstrakcji chloroformem ( $3 \times 15 \text{ cm}^3$ ). Połączone ekstrakty po przemyciu wodą ( $20 \text{ cm}^3$ ) i osuszeniu ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) odparowano do sucha. Pozostałość po rozpuszczeniu  $1 \text{ cm}^3$  etanolu badano chromatograficznie.

### Warunki ekstrakcji SPE z użyciem Extrelutu-20

Na kolumnę wypełnioną fazą Extrelut-20 ( $3.0 \text{ g}$ ) wprowadzono  $10 \text{ cm}^3$  surowicy obciążonej  $1 \text{ mg}$  badanej substancji. W celu uzyskania pełnej adsorpcji próbkę pozostawiono na kolumnie  $2 \text{ godz}$ . Następnie kolumnę przemyto trzykrotnie  $10 \text{ cm}^3$  chloroformem. Po osuszeniu połączone ekstrakty ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) odparowano do sucha i pozostałość po rozpuszczeniu w  $1 \text{ cm}^3$  etanolu analizowano chromatograficznie.

### Warunki ekstrakcji SPE z użyciem fazy Absolut Nexus LRC - 60 mg i Strata 18 E

$1 \text{ cm}^3$  surowicy krwi ludzkiej zawierającej  $0.1 \text{ mg}$  badanej substancji nanieśiono bezpośrednio na kolumnę i przesączono z prędkością  $1 \text{ cm}^3/\text{min}$ . Następnie kolumnę przemyto wodą ( $1 \text{ cm}^3$ ) i osuszono w próżni używając pompy wodnej. Desorbcję badanych związków przeprowadzono przy użyciu metanolu ( $1 \text{ cm}^3$ ). Otrzymany ekstrakt odparowano do sucha i przed badaniem chromatograficznym ponownie rozpuszczono w  $1 \text{ cm}^3$  alkoholu etylowego.

### Wykonanie oznaczenia w materiale biologicznym (krew, mocz)

Materiałem użytym do badań były próbki krwi i moczu osób leczonych p-adrenolitykami w Klinice Nadciśnienia Tętniczego i Chorób Naczyń AM w Poznaniu, w warunkach terapii monitorowanej. Próbki krwi bezpośrednio po pobraniu zostały odwirowane a uzyskane osocze w ilości  $1 \text{ cm}^3$  zostało wykorzystane do izolacji (3-blokeru na kolumnkach ekstrakcyjnych Absolut - Nexus, zgodnie z powyższym przepisem).

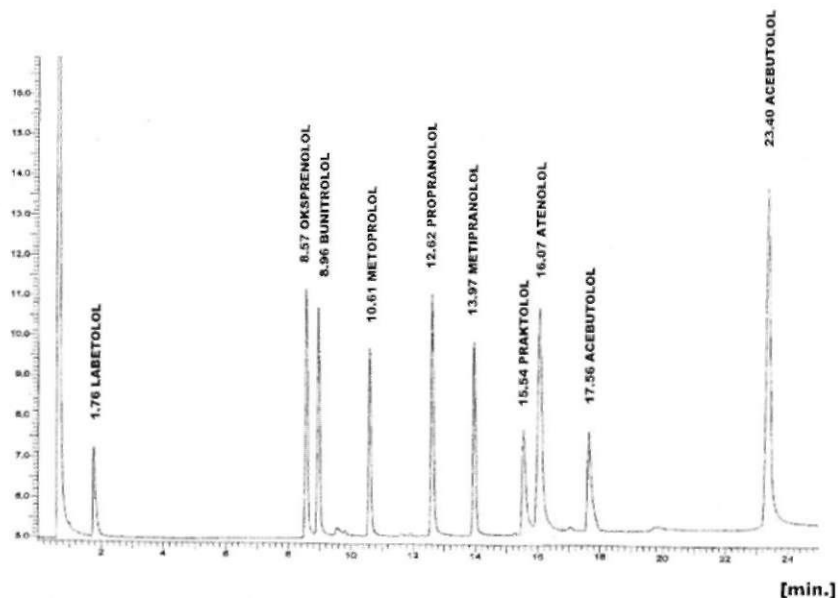
W przypadku moczu:  $1 \text{ cm}^3$  po umieszczeniu w probówce dodano  $0.5 \text{ cm}^3$  buforu octanowego o pH 5,  $10 \text{ ul}$  roztworu p-glukuronidazy i poddano inkubacji  $37^\circ\text{C}$   $1 \text{ godz}$ . Następnie próbkę poddano izolacji metodą SPE z użyciem Absolut-Nexus analogicznie jak w przypadku krwi.

### WYNIKI I DYSKUSJA

Równoczesna analiza jakościowa wybranych p-adrenolityków może być przeprowadzona metodą chromatografii gazowej z użyciem kolumny kapilarnej wypełnionej niepolarną fazą SPB-1. W proponowanych warunkach można dokonać rozdziału dziewięciu badanych pochodnych (ryc. 1).

W przypadku analizy acebutolu metodą GLC uzyskano dwa piki, których obecność można interpretować jako następstwo jego rozkładu termicznego, ograniczające analizę ilościową tego związku. Podstawą do wykonania analizy ilościowej pozostałych związków był właściwy rozdział jakościowy analizowanego leku i zaproponowanego wzorca wewnętrznego, którym była termicznie stabilna kofeina zasada. Metoda analizy ilościowej, opartej o zastosowanie wzorca o innym czasie retencji okazała się bardzo dokładna. Ilościowa interpretacja

zależności pomiędzy stężeniem oznaczonego składnika ( $c$ ) a stosunkiem ( $R$ ) powierzchni piku substancji oznaczonej do powierzchni piku wzorca wewnętrznego ( $R=f(c)$ ) charakteryzuje się dużą powtarzalnością. Ocena przebiegu liniowej zależności zakresu kalibracji badanych pochodnych (0.5 - 2.0 ug/1ul) (tabela II) spełnia zależność  $y=ax$  i charakteryzuje się wysokim współczynnikiem korelacji.



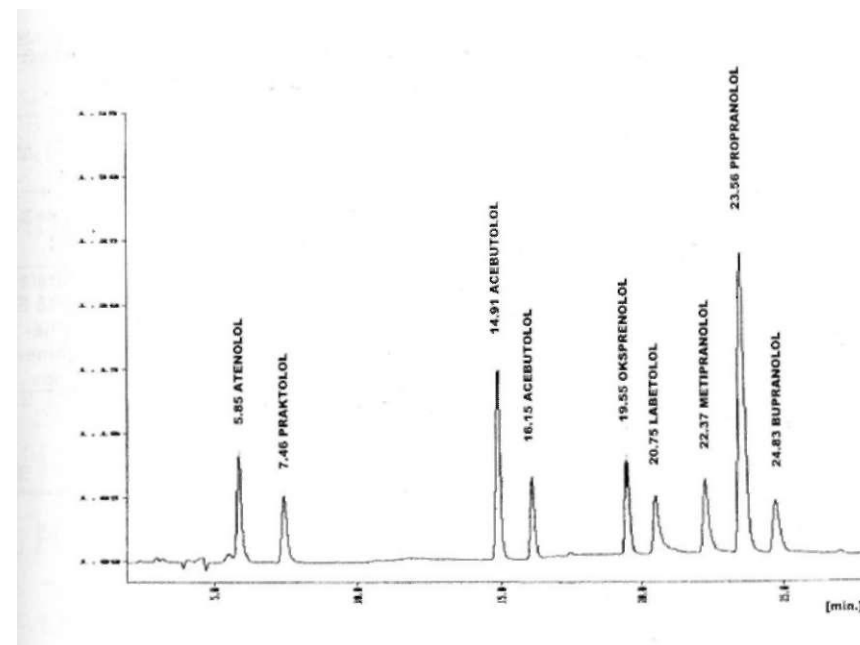
Ryc. 1. Rozdział chromatograficzny badanych [3-adrenolityków, metodą GLC.  
Fig. 1. Chromatographic separation of examined beta-adrenergic blockers by the GLC method.

Najlepsze wyniki rozdzielania uzyskano przy zastosowaniu wysokosprawnej chromatografii cieczowej stosując gradientową zmianę fazy rozwijającej zgodnie z proponowanym schematem i użytym systemem detekcji UV  $k = 222$  nm, uzyskano równoczesny rozdziel wszystkich badanych związków (Ryc. 2).

Przeprowadzona analiza ilościowa i ustalony zakres kalibracji (0.02 - 0.2 ug/20 ul) wskazuje na wyższą oznaczalność badanych związków w przypadku użycia chromatografii cieczowej. Porównawczą ocenę statystyczną powtarzalności oznaczeń badanych związków w kalibrowanych zakresach stężeń, z użyciem obu metod (GLC i HPLC) przedstawiono w tabeli II.

Uzyskane zależności wskazują, że procentowe względne odchylenie standardowe ( $S_r$ ) dla oznaczeń badanych pochodnych metodą HPLC wykazuje niższe wartości aniżeli dla metody GLC. Wartość  $S_r$  dla oznaczeń badanych pochodnych nie przekracza wartości 9% i mieści się w normie, akceptacji przyjętej dla

rutynowych metod instrumentalnych. W ocenie porównawczej osiągnięć detekcji opracowanych metod nie bez znaczenia jest wartość progowej oznaczalności badanych związków, która jest zdecydowanie wyższa dla metody HPLC (około 0.02 ug = 20 ng) niż dla GLC (około 0.5 ug = 500 ng).



Ryc. 2. Rozdział chromatograficzny badanych p-adrenolityków metodą HPLC  
Fig. 2. Chromatographic separation of examined beta-adrenergic blockers by the HPLC method.

Przeprowadzone badania odzysku p-adrenolityków z obciążonego osocza krwi ludzkiej, z zastosowaniem faz stałych adsorbujących (tabela II.), wykazały zdecydowanie wyższe wartości wykładników izolacji aniżeli przy zastosowaniu metody klasycznej ekstrakcji typu ciecz/ciecz. Użycie standardowych dla zasad warunków izolacji (pH=9-10, chloroform), wskazuje na zróżnicowane efekty odzysku w przedziałach 19%, 20% (Metoprolol, Oksprenolol) do 71%, 79%, (Bunitrolol, Metiprolol). Zastosowanie stałych faz ekstrakcyjnych (Absolut, Nexus), a w szczególności STRATA C 18 E, zapewnia szybki i efektywny proces izolacji, który w praktyce sprowadza się do trzyetapowego postępowania; adsorpcja analitu z osocza, płukanie wodą i desorpcja. Najmniej zróżnicowane parametry odzysku w zakresie 38% (Bunitrolol) do 81% (Metoprolol) uzyskano przy zastosowaniu fazy Extrelut-20. Przydatność metody HPLC uznanej za bardziej precyzyjną, sprawdzono podczas rutynowej analizy Metoprololu, Atenololu i Acebutolu w próbkach krwi i moczu osób poddanych monitorowanej

terapii choroby nadciśnieniowej w warunkach polipragmazji. Proces izolacji badanych związków z osocza krwi i moczu, po uprzedniej hydrolizie enzymatycznej, przeprowadzono w warunkach rutynowej analizy toksykologicznej z użyciem fazy stałej Abselut Nexus.

Tabela II. Parametry statystyczne zakresów kalibracji oraz wydajność ekstrakcji (procent).

R - współczynnik korelacji, Sr - procentowe odchylenie standardowe

Table II. Statistic parameters of calibration range and extraction recovery (percentage)

R-correlation coefficient, Sr - standard deviation.

Badany związek Examined compound	Parametry statystyczne zakresów kalibracji Statistic parameters of calibration range				Średnia wydajność ekstrakcji (%) n=3 Mean recovery of extraction n=3			
	Metoda GLC GLC method		Metoda HPLC HPLC method		Ekstrakcja klasyczna Classic extraction pH = 9-10 CHCl <sub>3</sub>	Extre-lut-20 Merck	Abselut Nexus Varian	Strata C 18 E Phenomenex
	R	$Sr = \frac{s \cdot 100}{x}$	R	$Sr = \frac{s \cdot 100}{x}$				
Acebutol	-	-	0.9998		47	63	59	65
Atenolol	0.996	4.37	0.9997	5.22	20	59	34	-
Bunitrolol	0.998	3.25	-	-	71	38	26	-
Bupranolol	-	-	0.9994	6.56	49	55	62	93
Labetolol	0.9996	7.02	0.9995	7.06	65	64	88	89
Metipranolol	0.999	7.48	0.9993	2.50	79	41	54	75
Metoprolol	0.998	5.45	0.9996	1.44	19	81	75	94
Oksprenolol	0.999	7.93	0.9996	3.00	20	76	75	69
Praktolol	0.998	6.88	0.9998	1.42	27	56	65	85
Propranolol	-	4.45	0.9998	0.93	51	61	64	83

Uzyskane wyniki badań (tabela III) wskazują na szerokie możliwości oznaczalności w warunkach poziomów terapeutycznych odbiegających znacząco od częściej spotykanych w toksykologii sądowej wyższych poziomów toksycznych czy śmiertelnych.

Opracowana metoda umożliwia równoczesną analizę wybranych p-adrenolityków w układzie monoterapii, jak również w często stosowanych złożonych układach terapeutycznych polipragmazji.

Tabela III. Wyniki analizy wybranych p-adrenolityków w materiale biologicznym (krew, mocz) i ich zakresy stężeń we krwi.

Table III. Analytical results of selected p-adrenergic blockers in biological material (blood, urine) and their concentration ranges in the blood.

Badany przypadek Examined case	Podany p-adrenolityk Administered p-adrenergic blocker	Leki wspomagające Adjuvant drugs	Poziomy p-adrenolityku Level of p-adrenergic blocker ug/cm <sup>3</sup>	
			Krew blood	Mocz urine
M.M. I. 47 S	Metoprolol 50 mg	Preductal, Inhibace	0.06	0.32
K.T. I. 58 <S	Metoprolol 50 mg	Effox, Enap	0.08	0.58
S.J. I. 50 S	Metoprolol 50 mg	Olicard, Molsidomina, Amlozek	0.07	0.63
W.B. I. 62 \$	Metoprolol 100 mg	Effox, Enap, Tertensif	0.7	0.15
M.E. I. 57 O	Acebutol 400 mg	Prestarium	0.10	3.28
B.J. I. 57 \$	Atenolol 100 mg	Polpresin, Diaprel	0.20	4.34
Ś.C. I. 54 S	Atenolol 100 mg	Effox, Molsidomina	0.20	2.7
Analizowany P-adrenolityk Analysed p-adrenergic blocker	Zakresy stężeń (ng/cm <sup>3</sup> wg 14) Range of concentration ((ng/cm <sup>3</sup> ac. 14)			
	Terapeutyczny Therapeutic	Toksyczny Toxic	Śmiertelny Lethal	
METOPROLOL	0.02-0.6	1.0	-	
ATENOLOL	0.1 - 1.0	27.0	250.0	
ACEBUTOL	0.2	-	15-20	

## WNIOSKI

Szerokie stosowanie leków z grupy p-adrenolityków wymaga odpowiednich metod analitycznych, przydatnych w monitorowanej terapii oraz w diagnostyce chemicznej zatruc w toksykologii klinicznej i sądowej.

Równoczesną analizę jakościowo-ilościową wybranych p-adrenolityków, obok innych leków wspomagających w materiale biologicznym (krew, mocz), można dokonać przy użyciu metod chromatografii gazowej (GLC) i cieczowej (HPLC).

Ocena porównawcza walidacyjnych parametrów kalibracyjnych (specyficzność, dokładność, czułość i precyzja) wyróżnia metodę HPLC, jako bardziej przydatną w analizie p-adrenolityków w materiale biologicznym.

Efektywne parametry izolacji (wydajność, czystość ekstraktów, szybkość wykonania) badanych związków wskazują na preferencyjne użycie stałych faz ekstrakcyjnych (Extrelut-20, Abselut-Nexus, STRATA 18 E) w porównaniu z klasyczną metodą ekstrakcji typu ciecz/ciecz.

## PIŚMIENNICTWO

I. Chiu F.C.K., Zhang J.N., Li R.C., Raymond K.: Efficient assay for the determination of atenolol in human plasma and urine by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. *J. Chrom. B.*, 1997, 691, 473-477. - 2. Dusci T.J., Hackett L.P.: Determination of labetalol in human plasma by high-performance liquid chromatography. *J. Chrom.*, 1979, 175, 208-210. - 3. Ervik M., Klyberg-Hanssen K., Lagerstrom P.: Electron-capture gas chromatographic determination of atenolol in plasma and urine a simplified procedure with improved selectivity. *J. Chrom.*, 1980, 182, 341-347. - 4. Ervik M., Klyberg-Hanssen K., Johansson L.: Determination of metoprolol in plasma and urine using high-resolution gas chromatography and electron-capture detection. *J. Chrom.*, 1986, 381, 168-174. - 5. Fu C.J., Mason W.D.: Determination of propranolol and 4-hydroksypropranolol in human plasma by high-performance liquid chromatography. *Analyst*, 1989, 114, 1219-1223. - 6. Godbillion J., Duval M., Gosset G.: Determination of oxprenolol in human plasma by high-performance liquid chromatography, in comparison with gas chromatography and gas chromatography mass spectrometry. *J. Chrom.*, 1985, 345, 365-371, - 7. Hidalgo I.J., Muir K.T.: High-performance liquid chromatographic method for the determination of labetalol in plasma using ultraviolet detection. *J. Chrom.*, 1984, 305, 222-227. - 8. Kinney C.D.: Determination of metoprolol in plasma and urine by gas-liquid chromatography with electron-capture detection. *J. Chrom.*, 1981, 225, 213-218. - 9. Lefebvre M.A., Girault J., Fourtillan J.B.: p-bloking agents: determination of biological levels using high performance liquid chromatography. *J. Liq. Chrom.*, 1981, 4, 483-500. - 10. Meffin P.J., Harapat S.R., Yee Y.G., Harrison D.C.: High-pressure liquid chromatographic analysis of drug in biological fluids. *J. Chromat.*, 1977, 138, 183-191.

II. Miller L.G. Greenblatt D.J.: Determination of atenolol in plasma by high-performance liquid chromatography with application to single dose pharmacokine-

erformance liquid chromatography with application to single dose pharmacokinetics. *J. Chrom.*, 1968, 381, 201-204. - 12. Pannell L.K., Thompson B.M., Wilkinson L.F.: Determination of labetalol in a postmortem case using HPLC. *J. Anal. Tox.*, 1982, 6, 193-195. - 13. Repetto M.R., Repetto M.V. Therapeutic, Toxic and lethal Concentration in Human fluids of some Drugs Affecting the Cardiovascular and Hematopoietic Systems. *Clinical Toxicology*, 1997, 35, 345-351. - 14. Rosseel M.T., Bogaert M.G.: High-performance liquid chromatographic determination of propranolol and 4-hydroksypropranolol in plasma. *J. Pharm. Sci.*, 1981, 70, 688-689. - 15. Salle E.D., Baker K.M., Bareggi S.R.: A sensitive gas chromatographic method for the determination of propranolol in human plasma. *J. Chrom.*, 1973, 83, 347-353. - 16. Sioufi A., Colussi D., Mangoni P.: Gas chromatographic determination of oxprenolol in human plasma. *J. Chrom.*, 1983, 278, 185-188. - 17. Tsue S.E. Thomas J., Moore R.G.: Quantification of oxprenolol in biological fluids using high-performance liquid chromatography. *J. Chrom.*, 1980, 181, 135-140. - 18. Zak S., Honc F., Gilleran T.G.: A sensitive gas chromatographic method for the determination of metoprolol in human plasma. *Anal. Letters*, 1980, 13, 1359-1371.

Adres pierwszego autora:

Katedra i Zakład Medycyny Sądowej AM  
ul. Święcickiego 6,  
60-781 Poznań