

СТЕПЕНЬ ЭКСТРАКЦИИ АГОНИСТОВ БЕНЗОДИАЗЕПИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ ИЗ БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЕЙ ПРИ ИССЛЕДОВАНИИ ЛАБОРАТОРНЫМИ МЕТОДАМИ

А. А. Волкова¹, Р. А. Калёкин^{1,3}, О. Г. Асташкина^{1,2}, А. М. Орлова¹

¹ФГБУ Российский центр судебно-медицинской экспертизы Минздрава России

²ГБУЗ Бюро судебно-медицинской экспертизы Департамента здравоохранения Москвы

³ФГАОУ ВО Российский университет дружбы народов

Поступила в редакцию 26.10.21 г.

Аннотация. В настоящее время при использовании в медицинской практике широко в оборот вошли агонисты бензодиазепиновых рецепторов. Наиболее актуальными в медицинской практике в использовании на территории России являются клобазам, феназепам и залеплон. Особенность этих лекарственных препаратов заключается в том, что у них схож механизм действия и побочные эффекты. При проведении судебно-медицинской экспертизы отравлений у живых лиц эксперту затруднена возможность становить точный лекарственный препарат, который повлиял на организм, ввиду схожести побочных эффектов, в связи с чем при направлении на химико-токсикологическое исследование можно предположить отравления бензодиазепинами. Поэтому при поступлении на химико-токсикологическое исследование биологические объекты подвергаются исследованию при направленном анализе на бензодиазепины. Целью исследования было установить степень экстракции агонистов бензодиазепиновых рецепторов из биологических жидкостей и установление коэффициентов перерасчета для получения достоверных данных о количественном определении. Определена степень экстракции методом жидкость-жидкостной экстракции без предварительного гидролиза, которая составила для клобазам, залеплона и феназепама 69.0%, 62.1% и 72.4% соответственно. Степень экстракции методом жидкость-жидкостной экстракции с применением солянокислого гидролиза составило 67.0%, 60.0% и 70.4% соответственно. Разница между степенью экстракции при использовании дополнительной стадии солянокислого гидролиза и без него составила меньше, чем без гидролиза для клобазам, залеплона и феназепама – 1.91%; 2.11% и 1.99% соответственно. При проведении метода изолирования с гидролизом степень экстракции исследуемых веществ ниже, что можно объяснить потерями при проведении дополнительных манипуляций с использованием солянокислого гидролиза. При количественном определении в биологических жидкостях агонистов бензодиазепиновых рецепторов в итоговом расчете необходимо и рекомендуем использовать поправочные коэффициенты с учетом степени экстракции для установления объективного количества обнаруженного вещества в организме. На основании полученных результатов предложен коэффициент перерасчета для клобазам 1.45, для залеплона – 1.61, для феназепама – 1.38, а средний коэффициент перерасчета при использовании в методике пробоподготовки жидкость-жидкостной экстракции для агонистов бензодиазепиновых рецепторов – 1.5.

Ключевые слова: клобазам, залеплон, феназепам, агонисты бензодиазепиновых рецепторов, жидкость-жидкостная экстракция, степень экстракции, коэффициент перерасчета

В настоящее время в медицинской практике широко в оборот вошли агонисты бензодиазепиновых рецепторов [1]. Наиболее актуальными в медицинской практике в использовании на территории России являются клобазам, феназепам

и залеплон [2]. Особенность этих лекарственных препаратов заключается в том, что у них схож механизм действия и побочные эффекты [3].

Клобазам – лекарственное вещество группы бензодиазепинов. Химическое название – 7-Хлор-1-метил-5-фенил-1Н-1,5-бензодиазепин-2,4(3Н,5Н)-дион (C₁₆H₁₃ClN₂O₂).

© Волкова А. А., Калёкин Р. А., Асташкина О. Г., Орлова А. М., 2022

Залеплон относится к фармакологической группе снотворное средство, избирательно связывается с бензодиазепиновыми рецепторами 1 типа (омега-1). Возбуждает бензодиазепиновые рецепторы (омега) рецепторных комплексов гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК) типа А. Химическое название - N-(3-(3-(цианопиразоло[1,5-а]пиримидин-7-ил) фенил)-N-этилацетамил – N-этилацетамид), является производным пирозолпиримидина (C₁₇H₁₅N₅O).

Феназепам – анксиолитическое средство (транквилизатор), бензодиазепинового ряда. НН бромдигидрохлорфенилбензодиазепин. Химическое название - 7-бром-5-(орто-хлорфенил)-2,3-дигидро-1Н-1,4-бензодиазепин-2-он (C₁₅H₁₀BrClN₂O).

Клобазам и феназепам относятся к бензодиазепинам, а залеплон является небензодиазепиновым препаратом агонистов бензодиазепиновых рецепторов [4-6], что осложняет проведение лабораторными методами химико-токсикологического исследования [7, 8].

При проведении судебно-медицинской экспертизы отравлений у живых лиц эксперту затруднена возможность становить точный лекарственный препарат, который повлиял на организм, ввиду схожести побочных эффектов. При направлении на химико-токсикологическое исследование можно предположить отравления бензодиазепинами. Поэтому при поступлении на химико-токсикологическое исследование биологические объекты подвергаются исследованию при направленном анализе на бензодиазепины. Моча является наиболее предпочтительной жидкостью для анализов у живых людей и трупов [9]. Процедура сбора мочи у живых людей является щадящей, и моча обычно может быть получена в достаточном количестве для проведения большого объема исследований. Существенным преимуществом мочи является то обстоятельство, что лекарственные препараты и их метаболиты, как правило, присутствуют в данной биологической жидкости в довольно высоких концентрациях, их в ней может быть приблизительно в 100 раз выше, чем в крови. Кроме того, моча не содержит белка, и, следовательно, уровень помех (интерференции) при анализе этого субстрата будет более низким. Как правило, мочу собирают естественным путем, при летальном исходе - отбирают шприцом через иглу из мочевого пузыря.

Для жидкостей, в основном мочи, наиболее оптимальным методом пробоподготовки является

жидкость-жидкостная экстракция [10-13]. В доступной научной литературе отсутствуют данные о степени экстракции данным методом агонистов бензодиазепиновых рецепторов.

Цель исследования – установить степень экстракции агонистов бензодиазепиновых рецепторов из мочи и определить коэффициенты перерасчета для получения достоверных данных о количественном определении.

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

Пробоподготовка без гидролиза. К 5 мл водного раствора исследуемого вещества с заданной концентрацией добавляли 60% раствор NaOH (3-5 капель) до pH 10 и перемешивали. Экстрагировали дважды хлороформом по 10 мл. Экстрагирование проводили в делительной воронке при круговых движениях в ручном режиме в течение 3-х минут. После каждой экстракции оставляли на 10 минут для разделения фаз. Хлороформные извлечения сливали, объединяли и упаривали досуха на водяной бане, затем сухой остаток растворяли в 0.5 мл ацетонитрила при помешивании и отправляли на исследование.

Пробоподготовка с гидролизом. К 5 мл водного раствора исследуемого вещества с заданной концентрацией добавляли 5 мл концентрированной HCl и нагревали в закрытой пробирке на кипящей водяной бане в течение часа (кислотный гидролиз). Далее нейтрализовали 60% раствором NaOH (3-6 мл) до pH 10 и перемешивали. Экстрагировали дважды хлороформом по 10 мл. Экстрагирование проводили в делительной воронке при круговых движениях в ручном режиме в течение 3-х минут. После каждой экстракции оставляли на 10 минут для разделения фаз. Хлороформные извлечения сливали, объединяли и упаривали досуха на водяной бане, сухой остаток растворяли в 0,5 мл ацетонитрила и отправляли на исследование.

Для проведения исследования методом УФ-спектрофотометрии использовался спектрофотометр марки HP 8453 [14, 15].

Для количественного определения в извлечениях клобазам, залеплона и феназапама предварительно строили калибровочный график в диапазоне концентраций от 300 нг/мл до 10 мкг/мл с шестью точками.

Валидационная оценка, определение правильности и прецизионности методики пробоподготовки биологических жидкостей методом жидкость-жидкостной экстракции проводили в соответствии с рекомендациями [19].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Максимум поглощения у клобазама наблюдается при $\lambda=230\pm 2$ нм, у залеплона – $\lambda=232\pm 2$ нм, а у феназепам – $\lambda=232\pm 2$ нм. Количественное определение проводили при среднем значении длины волны в 232 нм [16-18].

Результаты количественного определения агонистов бензодиазепиновых рецепторов в оптимальных условиях экстракции приведены в таблице 1.

Согласно данным таблицы 2 степень экстракции методом жидкость-жидкостной экстракции без предварительного гидролиза составило для клобазама, залеплона и феназепам 68.95%, 62.12% и 72.38% соответственно.

Согласно данным таблицы 2 степень экстракции методом жидкость-жидкостной экстракции с применением солянокислого гидролиза составило для клобазама, залеплона и феназепам 67.04%, 60.01% и 70.39% соответственно.

Согласно данным представленным в таблицах 1 и 2, разница между степенью экстракции при

использовании дополнительной стадии солянокислого гидролиза и без него составила меньше, чем без гидролиза для клобазама, залеплона и феназепам – 1.91%; 2.11% и 1.99% соответственно.

При проведении метода изолирования с гидролизом степень экстракции исследуемых веществ ниже, что можно объяснить потерями при проведении дополнительных манипуляций с использованием солянокислого гидролиза. Однако, эти данные находятся в пределах погрешности и ими можно пренебречь при дальнейших расчетах. Возможность использования при пробоподготовке метода, исключающего солянокислый гидролиз позволяет уменьшить на дополнительную манипуляцию, что сокращает трудозатраты и расходы при производстве судебно-химического и химико-токсикологического исследования [20].

При количественном определении в биологических жидкостях агонистов бензодиазепиновых рецепторов в итоговом расчете необходимо использовать поправочные коэффициенты с учетом степени экстракции [21].

Таблица 1.

Результаты экстракции агонистов бензодиазепиновых рецепторов без гидролиза

№ п/п измерения	Степень экстракции, %		
	клобазам	залеплон	феназепам
1	65.12	67.15	75.79
2	72.26	59.58	73.68
3	69.25	62.28	70.28
4	73.21	63.87	68.39
5	65.88	57.30	71.25
6	67.98	62.55	74.89
Среднее значение степени экстракции, % (n=6)	68.95	62.12	72.38
Дисперсия (σ^2)	10.85	11.65	8.25
Среднеквадратическое отклонение (σ)	3.29	3.41	2.87
Коэффициент вариации (V), %	4.78	5.49	3.97
Отношение показателя асимметрии к его ошибке (A/ma)	0.19	0.02	-0.17
Отношение показателя эксцесса к его ошибке (E/me)	-2.31	-1.78	-2.26
Среднее линейное отклонение (\bar{a})	2.62	2.45	2.41

Таблица 2.

Результаты экстракции агонистов бензодиазепиновых рецепторов с солянокислым гидролизом

№ п/п измерения	Степень экстракции, %		
	клобазам	залеплон	феназепам
1	65.45	61.25	72.36
2	68.55	60.95	70.25
3	66.84	64.47	69.47
4	68.54	55.47	67.74
5	70.85	57.45	68.99
6	62.02	60.47	73.55
Среднее значение степени экстракции, % (n=6)	67.04	60.01	70.39
Дисперсия (σ^2)	9.36	9.94	4.74
Среднеквадратическое отклонение (σ)	3.06	3.15	2.18
Коэффициент вариации (V), %	4.56	5.25	3.09
Отношение показателя асимметрии к его ошибке (A/ma)	-0.58	-0.15	0.39
Отношение показателя эксцесса к его ошибке (E/me)	-1.63	-1.84	-2.10
Среднее линейное отклонение (\bar{a})	2.27	2.37	1.70

$$K_{\text{расчета}} = 100 / C;$$

где $K_{\text{расчета}}$ – коэффициент перерасчета, C – степень экстракции.

Для клобазама составляет 1,45, для залеплона – 1.61, для феназепама – 1.38. С учетом полученных данных предлагаем использовать среднее значение коэффициента перерасчета 1.48, а с учетом степени статистической значимости только десятичных долей, то составит 1.5. При этом погрешность составляет 0.1%, что позволяет использовать коэффициент 1,5 для расчетов количественного определения для этой группы лекарственных веществ [22,23].

ВЫВОДЫ

1. Степень экстракции методом жидкость-жидкостной экстракции без предварительного гидролиза составила для клобазама, залеплона и феназепама 69.0%, 62.1% и 72.4% соответственно.

2. Степень экстракции методом жидкость-жидкостной экстракции с применением солянокислого гидролиза составила для клобазама, залеплона и феназепама 67.0%, 60.0% и 70.4% соответственно.

3. Разница между степенью экстракции при использовании дополнительной стадии солянокислого гидролиза и без него составила меньше, чем без гидролиза для клобазама, залеплона и феназепама на 1.9%; 2.1% и 2.0% соответственно.

4. На основании полученных результатов предложен коэффициент перерасчета для клобазама 1.45, для залеплона – 1.61, для феназепама – 1.38.

5. Предложен средний коэффициент перерасчета при использовании в методике пробоподготовки жидкость-жидкостной экстракции для агонистов бензодиазепиновых рецепторов – 1.5.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Котова О.В., Рябоконт И.В. // Лечащий врач. 2013. №5. С. 6.
2. Чурюканов В.В., Лемина Е.Ю. // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2018. Т. 81. №6. С. 41-44.
3. Маркин П.А., Москалева Н.Е., Апполонова С.А., Волкова А.А., Орлова А.М., Калёкин Р.А., Невмятова С.Р. // В сборнике: Актуальные вопросы судебной медицины и права. Сборник научно-практических статей. Казань. 2021. С. 158-161.
4. Инструкция по медицинскому применению лекарственного препарата «Фризиум» ЛП-

006422-240820 (<https://grls.rosminzdrav.ru/GRLS.aspx> доступ на 16.09.2021).

5. Инструкция по медицинскому применению лекарственного препарата «Соната Адамед» ЛП-004877-050618 (<https://grls.rosminzdrav.ru/GRLS.aspx> доступ на 16.09.2021).

6. Инструкция по медицинскому применению лекарственного препарата «Феназепам» Р N003672-160609 (<https://grls.rosminzdrav.ru/GRLS.aspx> доступ на 16.09.2021).

7. Калёкин Р.А., Саломатин Е.М., Калёкина В.А., Волкова А.А. // В сборнике: О проблемных вопросах в организации производства судебно-медицинских экспертиз. Материалы Всероссийской научно-практической конференции. Общая редакция Заслуженного врача Российской Федерации доктора медицинских наук, профессора В.В. Колкутина. 2009. С. 313-317.

8. Орлова А.М., Калёкин Р.А., Павлова А.З., Волкова А.А. // Вестник последипломного медицинского образования. 2019, №4. С. 58-59.

9. Kumazawa T., Lee X.P., Tsai M. // Japanese Journal of Forensic Toxicology. 1995. Vol. 13, pp. 25-30.

10. Захарова Н.Б., Пастушкова Л.Х., Гончарова А.Г., Орлова К. Д., Каширина Д.Н., Гончаров И.Н., Бржозовский А.Г., Пономарев С.А., Морозова О.Л., Ларина И.М. // Клиническая лабораторная диагностика. 2020. Том 65. №8. С. 469-473.

11. Калёкин Р.А., Лазарян Д.С. // Научное обозрение. 2005. №6. С. 18-20.

12. Калёкин Р.А. // Экология человека. 2006. №2. С. 49-51.

13. Калёкин Р.А., Лазарян Д.С. // Академический журнал Западной Сибири. 2005. №4. С. 34-35.

14. Калёкин Р.А., Саломатин Е.М., Калёкина В.А., Волкова А.А. / В сборнике: О проблемных вопросах в организации производства судебно-медицинских экспертиз. Материалы Всероссийской научно-практической конференции. Общая редакция Заслуженного врача Российской Федерации доктора медицинских наук, профессора В.В. Колкутина. 2009. С. 317-320.

15. Калёкин Р.А., Саломатин Е.М., Калёкина В.А., Волкова А.А. // В книге: Актуальные проблемы судебно-медицинской экспертизы. Сборник тезисов научно-практической конференции с международным участием. Министерство здравоохранения и социального развития Российской Федерации, Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М.

Сеченова, Федеральное государственное бюджетное учреждение "Российский Центр судебно-медицинской экспертизы" Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации. 2012. С. 237-240.

16. Калёкин Р.А. // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. 2012. №2. С. 249-251.

17. Самочернова А.П., Чернова А.П., Шорманов В.К. // В сборнике: Современные проблемы химической науки и фармации. Сборник материалов VI Всероссийской конференции с международным участием (к 50-летию Чувашского государственного университета им. И.Н. Ульянова). 2017. С. 104-106.

18. Василевский А.М., Васин И.А., Коноплев Г.А. // Биомедицинская радиоэлектроника. 2010. №4. С. 39-42.

19. Барсегян С.С., Саломатин Е.М., Плетенева Т.В., Максимова Т.В., Долинкин А.О. Методиче-

ские рекомендации по валидации аналитических методик, используемых в судебно-химическом и химико-токсикологическом анализе биологического материала. Методические рекомендации. Под ред. Калёкина Р.А. Москва: РЦСМЭ; 2014.

20. Калёкин Р.А. // Наркология. 2013. Т.12. №2 (134). С. 72-73.

21. Калёкин Р.А. Дисс. докт. фармац. наук. Москва, 2012, 324 с.

22. Павлова А.З., Калёкин Р.А., Орлова А.М., Ларев З.В. / В сборнике: Трезвость как социальный фактор развития общества. Сборник статей Всероссийской научно-практической конференции. Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова. 2018. С. 168-175.

23. Калёкин Р.А., Саломатин Е.М., Калёкина В.А., Волкова А.А. // Наркология. 2008. Т.7. №4 (76). С. 33-37.

ФГБУ «Российский центр судебно-медицинской экспертизы» Минздрава России

*Волкова А. А., кандидат фармацевтических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории судебно-химических и химико-токсикологических исследований отдела судебно-химических и химико-токсикологических экспертиз
e-mail: himija@rc-sme.ru*

**Калёкин Р. А., доктор фармацевтических наук, заведующий лабораторией судебно-химических и химико-токсикологических исследований отдела судебно-химических и химико-токсикологических экспертиз
e-mail: himija@rc-sme.ru*

Асташкина О. Г., доктор медицинских наук, главный научный сотрудник лаборатории судебно-химических и химико-токсикологических исследований отдела судебно-химических и химико-токсикологических экспертиз. Заведующая отделом специальных лабораторных исследований Бюро судебно-медицинской экспертизы Департамента здравоохранения г. Москвы

*Орлова А. М., кандидат фармацевтических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории судебно-химических и химико-токсикологических исследований отдела судебно-химических и химико-токсикологических экспертиз
e-mail: himija@rc-sme.ru*

FSBI "Russian Center for Forensic Medical Examination" of the Ministry of Health RF

*Volkova A. A., PhD., Leading researcher at the Laboratory of Forensic Chemical and Chemical-Toxicological Studies of the Department of Forensic Chemical and Chemical-Toxicological Examinations
e-mail: himija@rc-sme.ru*

**Kalekin R. A., PhD., DSci., Head of the Laboratory of Forensic Chemical and Chemical-Toxicological Studies of the Department of Forensic Chemical and Chemical-Toxicological Examinations
e-mail: himija@rc-sme.ru*

Astashkina O. G., PhD., DSci., Chief Researcher of the Laboratory of Forensic Chemical and Chemical-Toxicological Studies of the Department of Forensic Chemical and Chemical-Toxicological Examinations. Head of the Department of Special Laboratory Research of the Bureau of Forensic Medical Examination of the Moscow Department of Health

*Orlova A. M., PhD., Leading Researcher at the Laboratory of Forensic Chemical and Chemical-Toxicological Studies of the Department of Forensic Chemical and Chemical-Toxicological Examinations
e-mail: himija@rc-sme.ru*

THE DEGREE OF EXTRACTION OF BENZODIAZEPINE RECEPTOR AGONISTS FROM BIOLOGICAL FLUIDS DURING LABORATORY TESTING

A. A. Volkova¹, R. A. Kalekin^{1,3}, O. G. Astashkina^{1,2}, A. M. Orlova¹

¹ Russian Center for Forensic Medical Examination of the Ministry of Health of Russia

² Bureau of Forensic Medical Examination of the Moscow Department of Health

³ Peoples' Friendship University of Russia

Abstract. Currently, when used in medical practice, benzodiazepine receptor agonists have been widely used. The most relevant in medical practice in use in Russia are clobazam, phenazepam and zaleplon. The peculiarity of these drugs is that they have a similar mechanism of action and side effects. When conducting a forensic medical examination of poisoning in living persons, it is difficult for an expert to determine the exact drug that affected the body, due to the similarity of side effects, and therefore, when referring to a chemical-toxicological study, benzodiazepine poisoning can be assumed. Therefore, upon admission to a chemical and toxicological examination, biological objects are examined with a directed analysis for benzodiazepines. The aim of the study was to establish the degree of extraction of benzodiazepine receptor agonists from biological fluids and to establish recalculation coefficients to obtain reliable data on quantitative determination. The degree of extraction by liquid-liquid extraction without preliminary hydrolysis was determined, which was 69.0%, 62.1% and 72.4%, respectively, for clobazam, zaleplon and phenazepam. The degree of extraction by liquid-liquid extraction using hydrochloric acid hydrolysis was 67.0%, 60.0% and 70.4%, respectively. The difference between the degree of extraction using an additional stage of hydrochloric acid hydrolysis and without it was less than without hydrolysis for clobazam, zaleplon and phenazepam - 1.91%; 2.11% and 1.99%, respectively. When carrying out the isolation method with hydrolysis, the degree of extraction of the studied substances is lower, which can be explained by losses during additional manipulations using hydrochloric acid hydrolysis. When quantifying benzodiazepine receptor agonists in biological fluids in the final calculation, it is necessary and recommended to use correction coefficients taking into account the degree of extraction to establish the objective amount of the detected substance in the body. Based on the results obtained, the recalculation coefficient for clobazam is 1.45, for zaleplon – 1.61, for phenazepam – 1.38, and the average recalculation coefficient when used in the liquid-liquid extraction sample preparation method for benzodiazepine receptor agonists is 1.5.

Keywords: clobazam, zaleplon, phenazepam, benzodiazepine receptor agonists, liquid-liquid extraction, extraction degree, recalculation coefficient

REFERENCES

1. Kotova O.V., Ryabokon I.V., The attending physician, 2013, No. 5. p. 6.
2. Churyukanov V.V., Lemina E.Yu., Experimental and clinical pharmacology, 2018, Vol. 81, No. 6, pp. 41-44.
3. Markin P.A., Moskaleva N.E., Appolonova S.A., Volkova A.A., Orlova A.M., Kalekin R.A., Nevmyatova S.R., In the collection: Current issues of forensic medicine and law. Collection of scientific and practical articles, Kazan, 2021, pp. 158-161.
4. Instructions for medical use of the drug "Frisian" LP-006422-240820 (<https://grls.rosminzdrav.ru/GRLS.aspx> accessed 16 September 2021).
5. Instructions for medical use of the drug "Sonata Adamed" LP-004877-050618 (<https://grls.rosminzdrav.ru/GRLS.aspx> accessed 16 September 2021).
6. Instructions for medical use of the drug "Phenazepam" R N003672-160609 (<https://grls.rosminzdrav.ru/GRLS.aspx> accessed 16 September 2021).
7. Kalekin R.A., Salomatin E.M., Kalekina V.A., Volkova A.A., In the collection: About problematic issues in the organization of the production of forensic medical examinations. Materials of the All-Russian Scientific and practical Conference. General edition of the Honored Doctor of the Russian Federation, Doctor of Medical Sciences, Professor V.V. Kolkutin. 2009, pp. 313-317.
8. Orlova A.M., Kalekin R.A., Pavlova A.Z., Volkova A.A., Bulletin of postgraduate medical education, 2019, No. 4, pp. 58-59.
9. T. Kumazawa, X.P. Lee, Tsai M., Japanese Journal of Forensic Toxicology, 1995, Vol. 13, pp. 25-30.
10. Zakharova N.B., Pastushkova L.H., Goncharov A.G., Orlova K. D., Kashirina D.N.,

Goncharov I.N., Brzhozovsky A.G. Ponomarev S.A., Morozov O.L., Larina I.M., Clinical laboratory diagnostics, 2020, Vol. 65, No. 8, pp. 469-473.

11. Kalekin R.A., Lazaryan D.S., Scientific Review, 2005, No.6, pp. 18-20.

12. Kalekin R.A., Human Ecology, 2006, No. 2, pp. 49-51.

13. Kalekin R.A., Lazaryan D.S., Academic Journal of Western Siberia, 2005, No. 4, pp. 34-35.

14. Kalekin R.A., Salomatin E.M., Kalekina V.A., Volkova A.A., In the collection: About problematic issues in the organization of the production of forensic medical examinations. Materials of the All-Russian scientific and practical conference. General edition of the Honored Doctor of the Russian Federation, Doctor of Medical Sciences, Professor V. V. Kolkutin. 2009, pp. 317-320.

15. Kalekin R.A., Salomatin E.M., Galkina V.A., Volkova A.A., In the book: Actual problems of forensic medical examination. Collection of abstracts of a scientific and practical conference with international participation. Ministry of Health and Social Development of the Russian Federation, State Budgetary Educational Institution of Higher Professional Education I.M. First Moscow State Medical University Sechenova, Federal State Budgetary Institution "Russian Center for Forensic Medical Examination" of the Ministry of Health and Social Development of the Russian Federation. 2012, pp. 237-240.

16. Kalekin R. A., Bulletin of the Voronezh State University. Series: Chemistry. Biology. Pharmacy, 2012, No. 2, pp. 249-251.

17. Samochnova A.P., Chernova A.P., Shormanov V.K. In the collection: Modern problems of chemical science and pharmacy. Collection of materials of the VI All-Russian Conference with international participation (on the 50th anniversary of the I.N. Ulyanov Chuvash State University). 2017, pp. 104-106.

18. Vasilevsky A.M., Vasin I.A., Konoplev G.A., Biomedical radioelectronics, 2010, No. 4, pp. 39-42.

19. Barseghyan S.S., Salomatin E.M., Pleteneva T.V., Maksimova T.V., Dolinkin A.O., Methodological recommendations. Ed. Kalekin R.A. Moscow: RCSE; 2014.

20. Kalekin R.A., Narcology, 2013, Vol. 12, No. 2 (134), pp. 72-73.

21. Kalekin R.A. Diss. doct. pharmaceutical sciences. Moscow, 2012, 324 p.

22. Pavlova A.Z., Kalekin R.A., Orlova A.M., Larev Z.V., In the collection: Sobriety as a social factor in the development of society. Collection of articles of the All-Russian Scientific and Practical Conference. I.N. Ulyanov Chuvash State University, 2018, pp. 168-175.

23. Kalekin R.A., Salomatin E.M., Kalekina V.A., Volkova A.A., Narcology. 2008, Vol. 7, No. 4 (76), pp. 33-37.