

Małgorzata Kłys¹, Sebastian Rojek¹, Jacek Masełko²

**Znaczenie metod chromatograficznych
sprzężonych z spektrometrią mas
(LC/MS, GC/MS) w identyfikacji leków do celów
orzecznictwa sądowo-lekarskiego na przykładzie
chlorfenoksyaminy**

**Significance of chromatografie methods coupled with mass
spectrometry for identification of drugs for medico-legal
purposes exemplified by chlorphenoxamine**

Z Katedry i Zakładu Medycyny Sądowej w Krakowie¹

Kierownik: dr hab. F. Trela - profesor UJ

Z Zakładu Medycyny Sądowej WCM w Opolu²

Kierownik: lek. med. Andrzej Jastrzębski

W niniejszej pracy przedstawiono przypadek śmierci 17-letniej dziewczyny M.F. Bezpośrednią przyczyną zgonu było gwałtowne uduszenie przez zagardlenie. Badania toksykologiczne pozwoliły na szersze wyjaśnienie sprawy, sugerując, że M.F. w chwili śmierci znajdowała się pod wpływem skojarzonego działania toksycznych stężeń difenhydraminy i alkoholu, co nie mogło pozostać bez związku z tragicznym przebiegiem wydarzeń towarzyszących zejściu śmiertelnemu. W pracy, oprócz kompleksowej interpretacji wyników badań toksykologicznych w aspekcie medyczno-sądowym przedstawiono obszerną dokumentację metodyczną, dowodząc przydatności metod chromatograficznych sprzężonych z spektrometrem mas (LC/MS, GC/MS) w identyfikacji wykazanych ksenobiotyków.

This work presented the death of the 17-year old women M.F. The direct cause of death was violent strangulation. Toxicological investigation made possible a wider explanation of the case, since M.F. was under influence of associative action of diphenhydramine and ethanol which could not avoid having an influence on the tragic events accompanying the death. Besides a comprehensive interpretation of the toxicological results in medico - legal aspect large methodic documentation has been presented which proves the usefulness of chromatographic methods coupled with spectrometry for identification of xenobiotics found.

Słowa kluczowe: zagardlenie, difenhydramina, LC/MS, GC/MS
Keys words: strangulation, diphenhydramine, LC/MS, GC/MS

WSTĘP

Zatrucia lekami, jak informują współczesne statystyki stanowią poważny problem w toksykologii klinicznej i sądowej (7). Jakkolwiek istnieją istotne różnice w podejściu do zatruc lekami klinicystów i toksykologów sądowych, to na pewno oba kierunki są zbieżne co do oczekiwań analitycznych - oznaczeń leków w materiale biologicznym zatrutych. Od współczesnego analityka wymaga się nie tylko identyfikacji prekursora, ale także możliwych metabolitów a nawet markerów zatrucia (6, 7). Merytoryczny poziom orzecznictwa sądowo-lekarskiego zaś uzależniony jest przede wszystkim od dostępu do nowoczesnej analityki instrumentalnej (9), w tym sensie gwarantują go metody chromatograficzne z detekcją masową takie jak LC/MS i GC/MS.

Celem niniejszej pracy jest przedstawienie interpretacji wyników badań toksykologicznych na tle przydatności LC/MS i GC/MS do identyfikacji leków i ich metabolitów na przykładzie złożonego preparatu antyhistaminowego, antycholinergicznego i antyalergicznego Rodavan®, zawierającego difenhydraminę, 8-chloroteofilinę oraz kofeinę (16). Ilustrację podjętego zagadnienia stanowi przypadek zejścia śmiertelnego przez zagadlenie 17-letniej kobiety, będącej w chwili śmierci pod wpływem tegoż preparatu i alkoholu.

OPIS PRZYPADKU

W dniu 3.12.2001r na polu w pobliżu miejscowości R. znaleziono zwłoki 17 letniej M.F. Zwłoki znajdowały się w bruzdzie pola ornego, w pobliżu drogi polnej, ułożone na plecach, częściowo przysypane ziemią. Denatka ubrana była w koszulkę z długimi rękawami i stanik, a od pasa w dół ciało było obnażone.

Z zeznań świadków i podejrzanych wynika, że M.F. w dniu poprzedzającym zdarzenie około godz. 2³⁰ przyjechała do domu znajomej. Wkrótce po tym między właścicielką mieszkania a M.F. doszło do sprzeczki. Około godz. 4 M.F. zemdląła, ale ocuciła ją właścicielka mieszkania. Około godz. 6 właścicielka mieszkania położyła się spać, podczas gdy M.F. miała spać w drugim pokoju. Kiedy właścicielka mieszkania obudziła się około godz. 10-11 zauważyła nieobecność M.F. w mieszkaniu. Poszukiwania jej nie przyniosły rezultatu, następnego dnia jednakże ciało M.F. znalezione zostało na polu.

Oględziny i sekcja zwłok wykazały: bruzdę na szyi, podbiegnięcie krwawe mięśni szyi, drobne wylewy krwawe języka, wybroczyny podspojówkowe i podopłucnowe, liczne wybroczyny krwawe w skórze twarzy. Ponadto stwierdzono liczne otarcia naskórka całego ciała nie wykazujące cech zażyciowości.

Badanie histologiczne pobranych w czasie sekcji zwłok wycinków wykazało

drobne ogniska świeżych wylewów krwawych w powierzchownej warstwie błony mięśniowej oraz w obrębie migdałka językowego.

Na podstawie przeprowadzonych badań, po zapoznaniu się z aktami sprawy przyjęto, że przyczyną zgonu denatki stało się uduszenie gwałtowane przez zagardlenie wskutek ucisku pętli na narządy jej szyi. Pozostałe obrażenia ciała denatki, w postaci licznych otarć naskórka powstały w wyniku urazów zadanych narzędziem tęnym lub tępokrawędzistym, nie wykazywały one cech zażyciowego powstania, część z nich miała charakter obrażeń powstałych w wyniku pośmiertnego przemieszczania zwłok.

W czasie sekcji zwłok pobrano płyny ustrojowe i tkanki do badania toksykologicznego celem oznaczenia alkoholu oraz leków i narkotyków.

MATERIAŁ I METODY

Materiał

- Materiał badany: płyny ustrojowe (krew tętnicza i żylna, płyn z gałki oka) i tkanki (wątroba i nerka), pobrane w czasie sekcji zwłok zmarłej M.F., przeprowadzonej w Zakładzie Medycyny Sądowej w Opolu.
- Materiał badany - dowód rzeczowy: tabletki leku Rodavan®, zabezpieczonej przez Policję, a dostaną w terminie późniejszym, już po wykonaniu badań toksykologicznych celem identyfikacji.
- Materiał wzorcowy: wzorce chemiczne leków (difenhydramina, chlorfenoksamina, chlorofenaminy) oraz wzorce biologiczne „ślepe” tj. krew, mocz oraz homogenaty wątroby i nerki wzbogacone standardem difenhydraminy i chlorofenaminy jako standardem wewnętrznym, celem wykonania krzywych kalibracyjnych do oznaczeń ilościowych.

Ekstrakcja

Próbki po 2g krwi tętniczej i żylniej, 1g płynu z gałki oka oraz po 1g homogenatów wątroby i nerki mieszano z buforem 3 g TRIS (hydroxymetyloaminometan) pH 9.0, pozostawiono na łaźni ultradźwiękowej przez 15 minut. Próbki mieszano następnie z 2 ml acetonitrylu celem przeprowadzenia odbiałczania, a następnie supernatant oddzielono, mieszano z 10 ml octanu etylu, a fazy rozdzielono na separatorze typu Whatman 1PS. Fazę organiczną odparowano w 40 °C w strumieniu azotu, suchą pozostałość rozpuszczono ponownie w 1000 ul fazy ciekłej. Objętość 10 ul ekstraktu nanoszono na kolumnę chromatograficzną celem identyfikacji składników.

Analiza ilościowa i walidacja

Analizę ilościową difenhydraminy w badanych ekstraktach biologicznych wykonano w oparciu o krzywe kalibracyjne tych związków, obciążone matrycą biologiczną zgodnie ze standardami stosowanymi w procedurze ekspertyzy chemiczno-toksykologicznej (5). Stężenie nordifenhydraminy oszacowano względem wzorców biologicznych difenhydraminy.

Metody analityczne

A. Chromatograf cieczowy

Aparat Finnigan MAT (San Jose, USA) wyposażony w pompę gradientową Model TSP P 4000, w autosampler Model TSP AS 3000 (objętość nasyty 10 ul). Rozdział chromatograficzny przeprowadzono na kolumnie LiChroCARD z wypełnieniem Purospher RP d_s, 125-3 mm I.D., 5 *µ*m rozmiar ziaren (Merck). Faza ciekła: [A] - 0,1% wodny roztwór kwasu mrówkowego i [B] 95% acetonitrylu + 5% fazy [A], Przepływ fazy 0.4 ml/min. programowany następująco: 95% [A] i 5% [B] przez 2 min., malejąco do 30% [A] i wzrastająco do 70% [B] do 30 min., a następnie po 2 min. skład faz zmieniał się liniowo by w 40 min. osiągnąć stan wyjściowy.

Detekcja

LCQ Spektrometr masowy, pułapka jonowa (Finnigan MAT, San Jose, USA) wyposażony w źródło chemicznej jonizacji pod ciśnieniem atmosferycznym (APCI). Warunki pracy APCI: gaz jonizujący (azot) 60 p.s.i. i gaz pomocniczy (hel) 10 p.s.i. temperatura źródła jonów 425 °C, podgrzewana kapilara do temperatury 150°C, prąd korony 5 pA. Widma masowe analizowanych ksenobiotyków mieściły się w zakresie skanowania pomiędzy 50-650 m/z w opcji jonizacji dodatniej, przy napięciu kapilary 4.0 V.

B. Chromatograf gazowy

Chromatograf gazowy TRACE Finnigan (San Jose, USA). Zastosowano kolumnę kapilarną, RTX - 5 o długości 30 m, średnicy wewnętrznej 0,25 mm. Rozdział odbywał się w zaprogramowanym gradiencie temperatury: 0-1 min - 80°C, 1-20 min $\Delta t = 10^\circ\text{C}/\text{min}$, 22-25 min - 300°C. Przepływ helu przez kolumnę wynosił 1 ml/min. Na kolumnę nanoszono 1 μl roztworu metanolowego tabletki Rodavan®.

Detekcja

Spektrometr mas Polaris Q Finnigan (San Jose, USA) z analizatorem w postaci pułapki jonowej. Stosowano jonizację elektronową. Akwizycję danych prowadzono w opcji monitorowania całkowitego prądu jonowego w zakresie wartości m/z 50-650.

WYNIKI I DISKUSJA

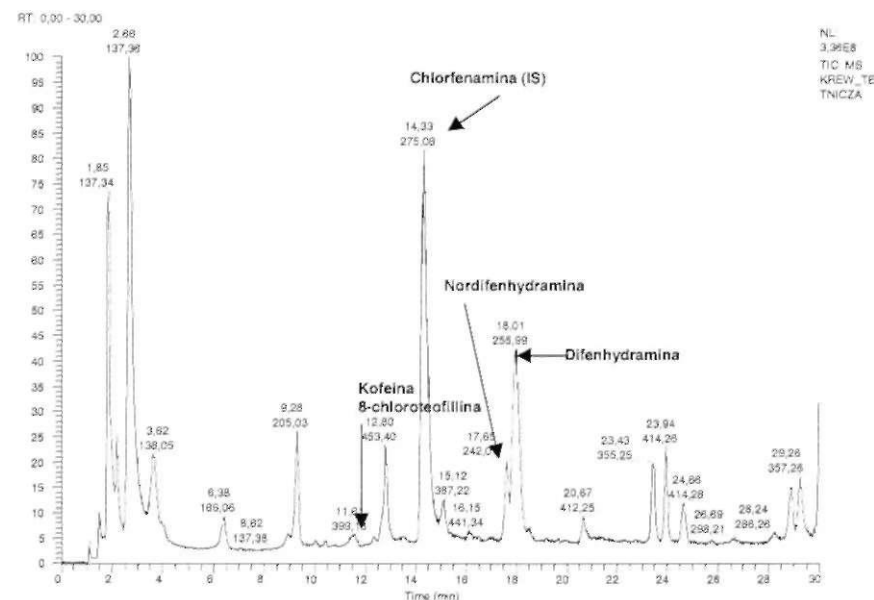
Przedmiotem badań niniejszej pracy jest przypadek zejścia śmiertelnego młodej kobiety, którego bezpośrednią przyczyną śmierci były obrażenia ciała.

Badanie chemiczne na zawartość alkoholu wykazało stężenie we krwi 2,6‰, a w moczu 3,2‰. W przeprowadzonej analizie wykazano difenhydraminę i jej główny metabolit nordifenhydraminę. Wykazano ponadto obecność kofeiny i śladów 8-chloroteofiliny. Wyniki analizy toksykologicznej przedstawiono w Tabeli I.

Tabela I. Wyniki badań toksykologicznych w badanym przypadku.

Table I. Toxicological findings in the examined case.

Materiał Material	Krew tętnicza Arterial Blood	Krew żylna Vein blood	Ciało szkliste Vitreous humor	Wątroba Liver	Nerka Kidney
Ksenobiotyk Xenobiotic	(mg/1)				
Difenhydramina Diphenhydramine	4,75	0,80	0,26	37,24	2,53
Nordifenhydramina Nordiphenhydramine	0,72	0,14	0,08	3,79	0,32
Kofeina Caffeine	+	+	+	+	+
8-chloroteofilina 8-chlorotheophylline	+	+	+	+	+



Ryc. 1. Chromatogram masowy całkowitego prądu jonowego ekstraktu z krwi tętniczej denatki Rt: 14,33, m/z 275 - chlorofenamina, standard wewnętrzny, Rt: 17,65, m/z - 242 nordifenhydramina, Rt: 18,01, m/z 256 - difenhydramina).

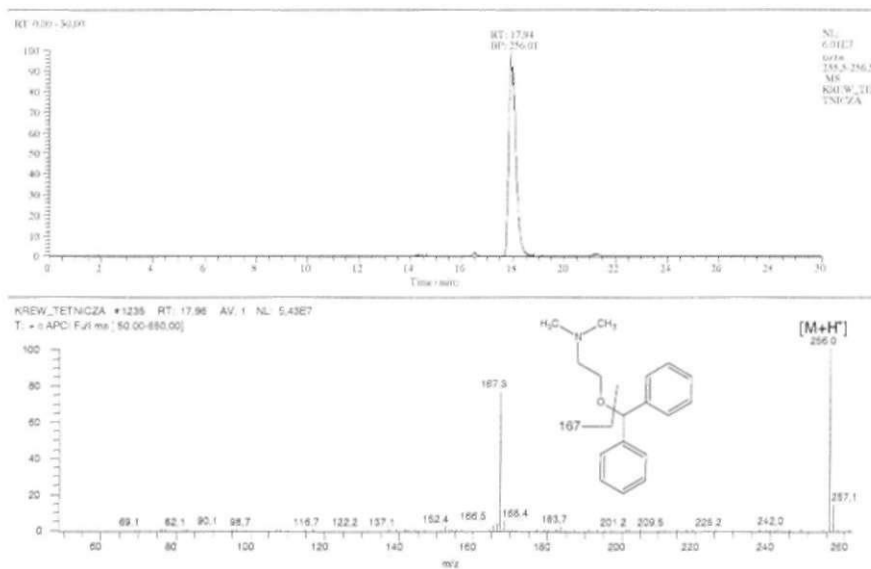
Fig. 1. Mass chromatogram of total ion current from extract of arterial blood of the victim Rt: 14,33, m/z 275 - chlorphenamine, internal standard, Rt: 17,65, m/z - 242 nordiphenhydramine, Rt: 18,01, m/z 256 - diphenhydramine.

Na rycinach 1, 2 i 3 przedstawiono dokumentację analityczną w postaci chromatogramu krwi tętniczej denatki oraz widma masowe difenhydraminy i nordifenhydraminy otrzymane metodą LC/MS. Na chromatogramach wykazano ponadto obecność kofeiny a także nikłych pików wskazujących na obecność 8-chloroteofiliny.

Z uwagi na to, że difenhydramina oraz 8 - chloroteofilina wchodzi w skład mieszanin lekowych przeciw chorobie lokomocyjnej, wyniki analizy toksykologicznej przemawiały za tym, że M.F. mogła zażyć któryś z preparatów zawierających powyższe leki np. Aviomarin lub Benzhydraminum hydrochloricum (Pliva, PL), dostępne na polskim rynku (14).

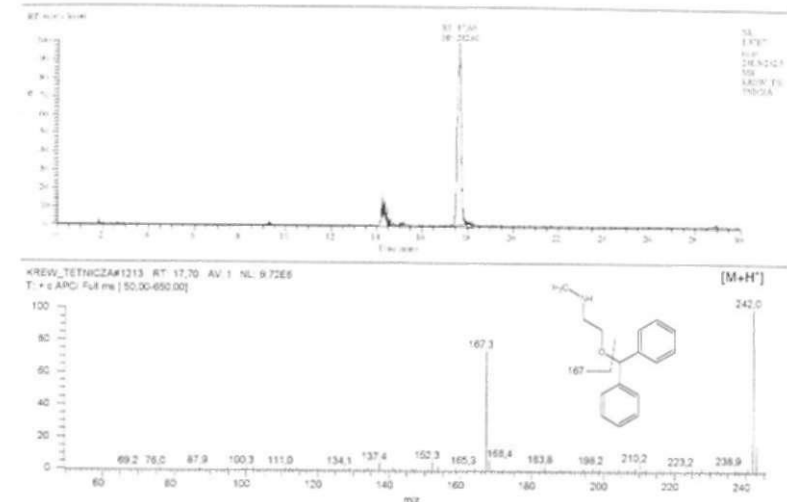
W terminie późniejszym jednakże Prokuratura dostała znalezione w miejscu zdarzenia tabletki celem identyfikacji. Przeprowadzona analiza metodami LC/MS i GC/MS wykazała, że w skład owej tabletki wchodziła chlorfenoksyamina, 8-chloroteofilina i kofeina. Składniki te tworzą preparat o działaniu antyhistaminowym, antycholinergicznym Rodavan® prod. firmy BOSNALIJEK dd Sarajewo (16).

Na poniższej rycinie 4 a, b, c przedstawiono chromatogram oraz widma masowe uzyskane metodą LC/MS oraz na rycinie 5 - metodą GC/MS, będących wynikiem analizy identyfikacyjnej tabletki.



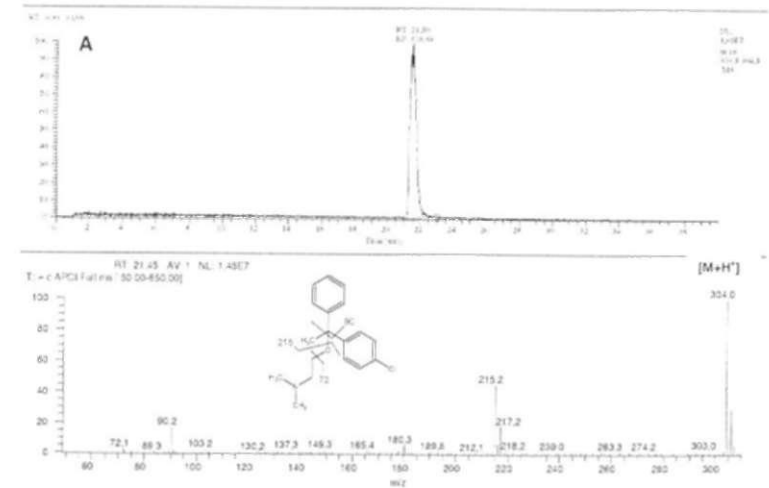
Ryc. 2. Chromatogram i widmo masowe difenhydraminy w ekstrakcie z krwi tętniczej denatki.

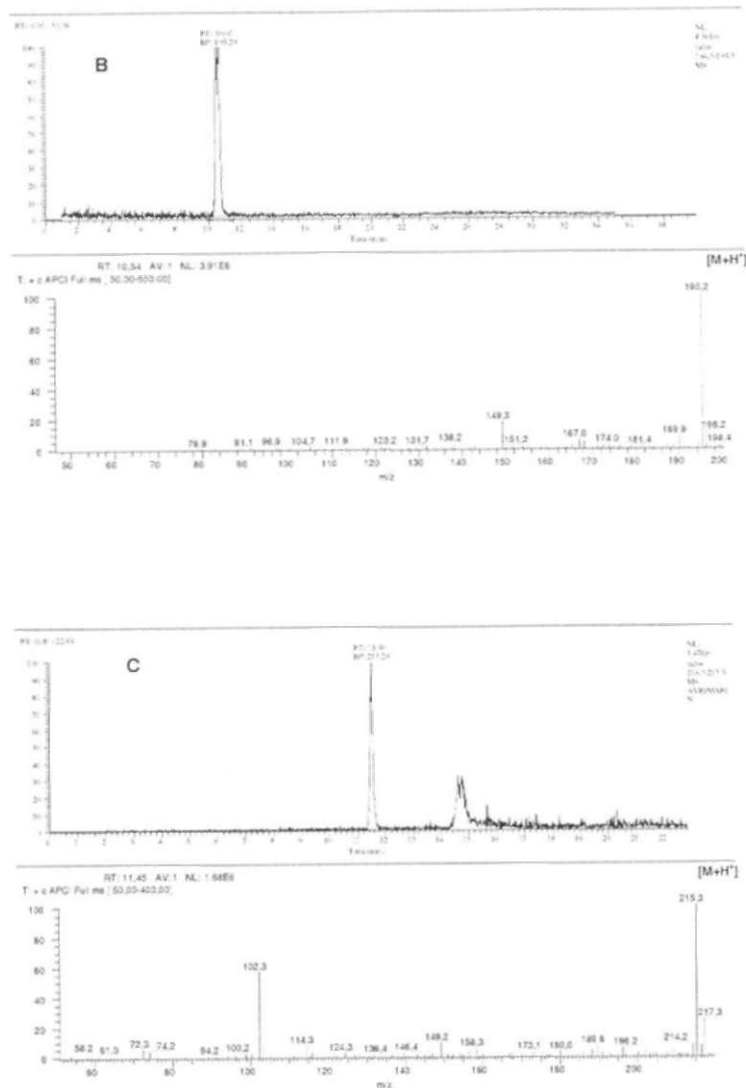
Fig. 2. Chromatogram and mass spectrum of diphenhydramine in the extract of arterial blood of the victim.



Ryc. 3. Chromatogram i widmo masowe nordifenhydraminy w ekstrakcie z krwi tętniczej denatki.

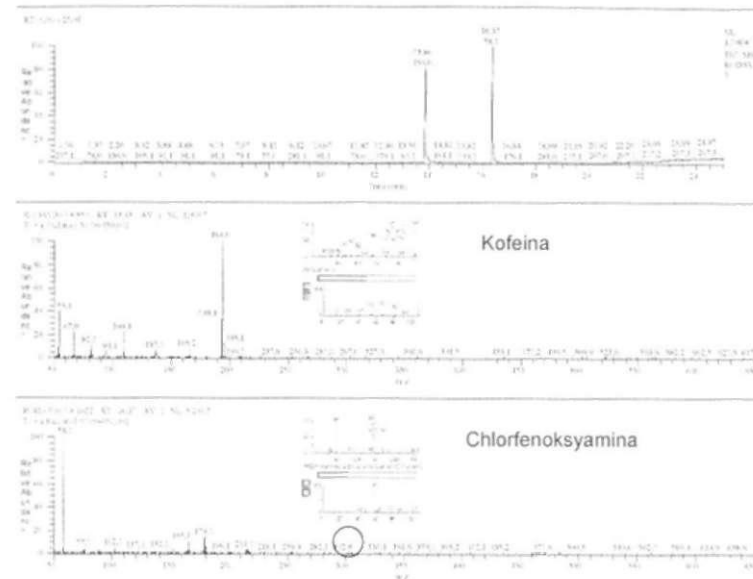
Fig. 3. Chromatogram and mass spectrum of nordiphenhydramine in the extract of arterial blood of the victim.





Ryc. 4. Chromatogramy i widma masowe składników metanolowego roztworu Rodavan® A) chlorfenoksyamina, B) kofeina, C) 8- chloroteofilina uzyskane metodą HPLC/MS-APCI.

Fig. 4. Chromatograms and mass spectra of the components of Rodavan® A) chlorphenoxamine B) caffeine C) 8- chlortheophylline obtained by HPLC/MS-APCI.

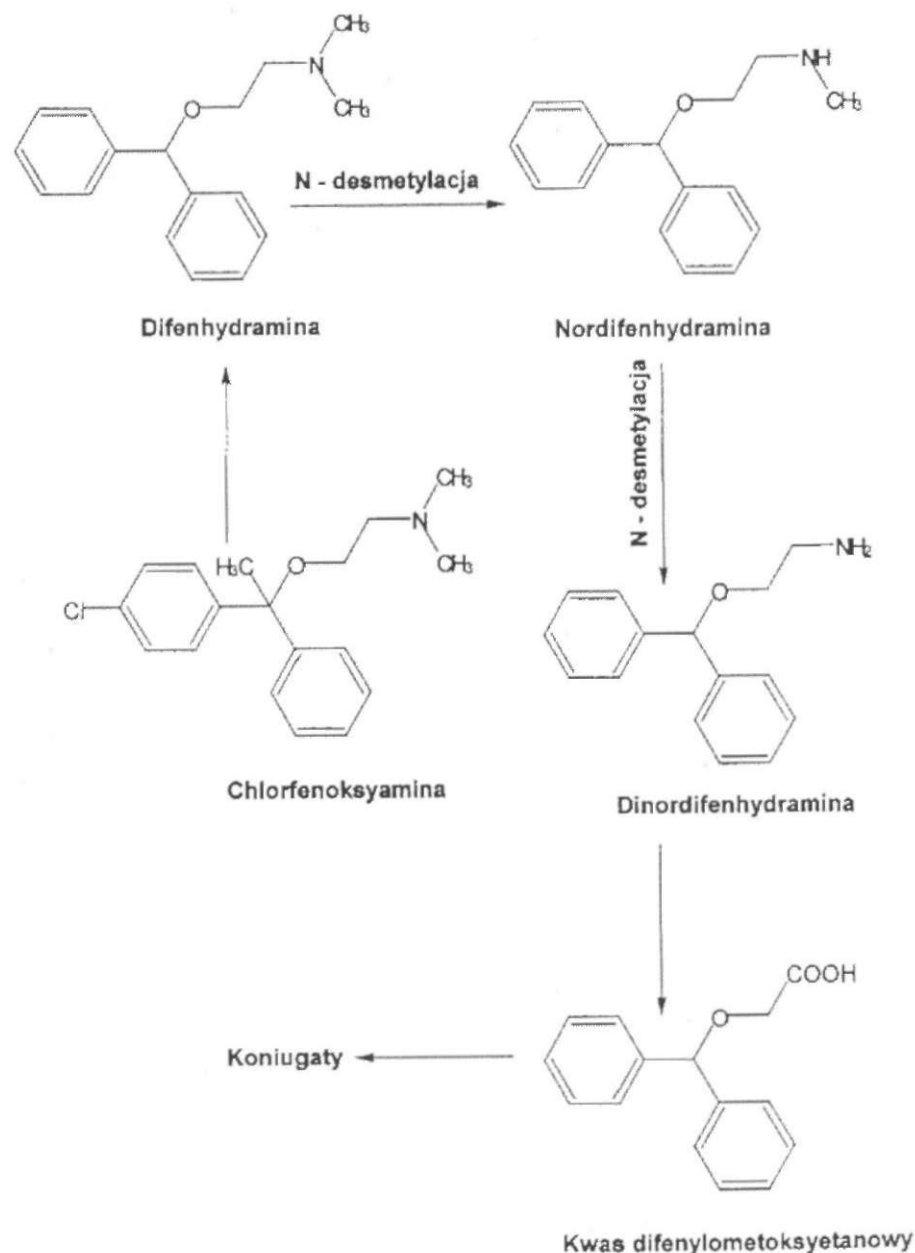


Ryc. 5. Chromatogram i widma masowe chlorfenoksyminy i kofeiny uzyskane z metanolowego roztworu Rodavan® uzyskane metodą GC/MS-ITD.

Fig. 5. Chromatogram and mass spectra of chlorphenoxamine and caffeine obtained in methanolic solution of Rodavan® by GC/MS-ITD.

Jak prezentuje powyższa dokumentacja, analiza wykonana metodą LC/MS wskazywała wprawdzie na mieszaninę trójskładnikową tabletki Rodavan®, ale z uwagi na brak danych w polskich źródłach oraz brak biblioteki danych LC/MS nie udało się zidentyfikować głównego składnika mieszaniny. Włączenie drugiej metody GC/MS zawierającej obszerną bibliotekę danych widm masowych (NIST) pozwoliło wyjaśnić obecność głównego składnika tj. chlorfenoksyminy. Obraz chromatograficzny uzyskany tą metodą z kolei wskazywał na mieszaninę dwuskładnikową - chlorfenoksyamina z kofeiną (brak 8-chloroteofiliny). W końcowym efekcie, obie zastosowane metody pozwoliły na poprawną[^] identyfikację badanej tabletki.

Zebrane informacje (2) pozwalają na ustalenie prawdopodobnego przebiegu szlaków metabolicznych chlorfenoksyminy w tkankach, w wyniku czego dochodzi najpierw do wytworzenia czynnej struktury difenhydraminy, która ulega dalszym przemianom metabolicznym według proponowanego schematu przedstawionego na poniższej rycinie 6.



Ryc. 6. Przemiany metaboliczne chlorfenoksyaminy.

Fig. 6. Metabolic pathways of chlorphenoxamine.

Jak ilustruje powyższy schemat, difenhydramina ulega w organizmie intensywnemu metabolizmowi, najpierw do nordifenhydraminy, następnie do dinordifenhydraminy i w końcu do kwasu difenylometoksyetanowego. Ostatnie produkty w łańcuchu biotransformacji są wynikiem, desaminacji i w końcowym ogniwie prawdopodobnie tworzą koniugaty z glicyną i glutaminą. Nie poznano natomiast ilościowych proporcji zidentyfikowanych metabolitów (4).

Pomimo tego, że difenhydramina jest lekiem o stosunkowo niskiej toksyczności, to zatrucia opisywane są w piśmiennictwie (10). Zakres stężeń spotykany w ostrych zatruciach śmiertelnych zazwyczaj przekracza we krwi żyłnej sekcyjnej 10 mg/L, podczas gdy zakres stężeń terapeutycznych wyznaczono w przedziale 0.025-0.11 mg/L, toksycznych zaś pomiędzy liczbami 0.2-2 mg/l (14, 15). W badanym przypadku oznaczone stężenie 0.8 mg/L we krwi żyłnej M.F. wskazuje na poziom toksyczny leku.

Z informacji zawartych w piśmiennictwie (14) wynika, iż w badanym przypadku trzeba także brać pod uwagę możliwość wystąpienia interakcji toksycznej pomiędzy difenhydramina a alkoholem. Złe samopoczucie M.F. zanotowane według zeznań świadków w materiale aktowym, wynikające ze synergistycznego efektu toksycznego tych ksenobiotyków mogło mieć kluczowe znaczenie dla przebiegu wydarzeń, w wyniku których, w dotąd niewyjaśnionych okolicznościach doszło do śmierci M.F. przez gwałtowne uduszenie (zagardlenia przy użyciu pętli).

Difenhydramina, jak wskazują różne doniesienia (1, 2, 5) ulega pośmiertnej redystrybucji. Indeks redystrybucji krew tętnicza / krew żylna waha się w dość szerokich granicach: pomiędzy 0.4-6.0 (1), a nawet 0.8-21 (5). W rozważanym przypadku poziom difenhydraminy we krwi tętniczej oznaczono 4.75mg/L, wyznaczając tym samym wartość indeksu redystrybucji 5.9, co koreluje z wynikami zamieszczonymi w cytowanych doniesieniach.

Rodavan® nie jest lekiem dostępnym na polskim rynku, stąd też w pierwszym etapie niesłusznie przyjęto hipotezę, że przyczyną zatrucia denatki mógł być najbardziej popularny w Polsce preparat, zawierający pierwotnie difenhydraminę jako prekursor (Aviomarin), a nie jak później się okazało, jako strukturę przetworzoną w wyniku procesów metabolicznych.

Stosowanie preparatów takich jak Aviomarin czy Benzhydraminum hydrochloricum (Pliva, PL) zawierających difenhydraminę w chorobie lokomocyjnej jest bardzo popularne. Lek ten są także zażywane w innych rozmaitych dolegliwościach, w tym alergicznych. Aviomarin bywa ponadto stosowany w celach nie medycznych do odurzania się (2). W latach poprzednich, w ciągu ostatniej dekady, w Zakładzie Medycyny Sądowej w Krakowie notowano 5 przypadków zgonów wskutek przedawkowania preparatu Aviomarin, jako efektu stosowania tego leku w celach niemedycejskich (15).

Difenhydramina jest lekiem pierwszej generacji o właściwościach antyhistaminowych powodujących jednakże antycholinergiczną i uspokajający efekt i jako lek stosowany w chorobie lokomocyjnej często uniemożliwia prowadzenie samochodu, wskutek występowania złego samopoczucia, obniżającego nastrój. Z tego też względu najnowsze prace (8) informują o wprowadzeniu leku nowej generacji levocetyryzyny, który jest wolny od tych właściwości.

Difenhydramina w połączeniu z 8-chloroteofiliną są głównymi składnikami preparatów stosowanych w łagodzeniu choroby lokomocyjnej. Dodanie do preparatu kofeiny, jak w preparacie Rodavan® podnosi efekt stymulujący ośrodkowy układ nerwowy (3).

Nie ustalono do końca czy M.K. zażywała preparat Rodavan® w celach terapeutycznych czy też zażyła go pod przymusem wraz z alkoholem. Problem ten jednakże przekracza zakres kompetencji biegłych. Ze względu zaś na trwające w tej sprawie śledztwo, w prezentowanej pracy pominięto dyskusję na temat szczegółowego mechanizmu śmierci przez zagardlenie.

Niniejsza praca dowodzi, z jednej strony, przydatności informacji wywiadu oraz wyników analizy dowodów rzeczowych, przeprowadzonej równoległe z materiałem biologicznym, co pozwala uniknąć nieścisłości w merytorycznej wymowie stawianych wniosków. Z drugiej strony zaś, jest dowodem na to, iż owa poprawność jest w znacznym stopniu determinowana przez dostęp do odpowiedniej metodyki badawczej (LC/MS, GC/MS).

Wieloparametrowa interpretacja wyników badań toksykologicznych zaś jest warunkiem wydania nie tylko poprawnej opinii o przyczynie śmierci, ale gwarantuje możliwe pełne wyjaśnienie przypadku na tle okoliczności śmierci, cc jest niezwykle ważne z prawnego punktu widzenia. W badanym przypadku doszło do śmierci młodej dziewczyny w wyniku zagardlenia. Skojarzone działanie leków i alkoholu mogło w sposób znaczący przyczynić się do ograniczonej percepcji M.F. przed śmiercią, w wyniku czego mogło dojść do aktu przemocy i śmierci.

PIŚMIENNICTWO

1. Anderson W.H. and Prouty R.W. Postmortem redistribution of drugs. In *Advances in Analytical Toxicology* (RC. Baselt Ed. Vol.2, Yearbook Medical. Chicago, 1989. - 2. Baselt R.C. and Cravey R.H. *Disposition of toxic drugs and Chemicals in man*, 4th ed. Ch Toxicology Institute, Foster City, CA, 1995. - 3. Barbas C. Garcia A., Saavedra L, castro M., Optimization and validation of a method for the determination of caffeine, 8-chlorotheophylline and dophenhydramine by isocratic high - performance liquid chromatography. Stress test for stability evaluation, *J. Chromatogr. A*, 2000, 870, 97-103. - 4. Chang T. Okerholm RA and Glazko A.J. Identification of diphenhydramine (Benadryl metabolites in human subjects. *Res. Comm. Chem. Path. Pharm* 1974, 9, 391-404. - 5. Dalpe-Scott M, Degouffe M., Garbutt D., and Drost M. A comparison of drug concentrations in in postmortem cardiac and peripheral blood in 320 cases. *Can. Soc. For.Sci. J.* 1995, 28, 113-121. - 6. Kała M., *Substancje powodujące uzależnienie w praktyce Instytutu Ekspertyz Sądowych w Krakowie*, *Przeg. Lek*, 1997, 54, 430. - 7. Kłys M., Rutkiewicz A., Szkolnicka B., Bujak-Giżycka B., Fatal and non-fatal poisonings with drugs in medico-legal aspect in the material of the Institute of Forensic Medicine and Toxicological Clinic Collegium Medicum Jagiellonian University in the years 1987-1998, *Acta Poloniae Toxicologica*, 2000, 8/1, 101-112. - 8. Kłys, Klementowicz W., Bujak-Giżycka B, Kołodziej J.,

Trela F., *Opiniowanie sądowo-lekarskie w narkomanii w świetle nowoczesnej analityki toksykologicznej*, *Przeg. Lek.*, 2000, 57/10, 572-577. - 9. Kłys M., Bujak-Giżycka B., *Application of liquid chromatography with mass detection in the evaluation of drug metabolism in fatal poisonings*, *Acta Poloniae Toxicologica*, 2000, 8/2, 187-203. - 10. Kłys M., Bujak-Giżycka B.: *Zastosowanie chromatografii cieczowej z detekcją masową (LC/MS) w analizie toksykologicznej*. *Arch. Med. Sąd. i Krym.*, 2000, 50, 115-121.

11. Uges D.R.A. Therapeutic and toxic drug concentrations, *The Bulletin of the International Association of Forensic Toxicologists*, 26/1 (1996). Supplement. - 12. Stead A.H. and Moffat A.C. A collection of therapeutic, toxic and fatal blood drug concentrations in man. *Human Toxicol.* 1983, 3, 437-64. - 13. Vester JC, Volkerts ER, Oosterwijck AWAA, Aarab M, Bijtjes SIR, Weert A.M Eijken JE Verbaten MN, Acute and subchronic effects of levocetirizine and dephenhydramine on memory functioning, psychomotor performance, and mood, *J. Allergy Clin Immunol*, 2003, 111/3, 623-627. - 14. *Leki Współczesnej Terapii*, ed. J.K. Podlewski, A. Chwalibogowska-Podlewska, Wydawnictwa Fundacji Buchnera, 1999. - 15. *Materiały archiwalne Zakładu Medycyny Sądowej CM UJ.* - 16. Rodavan - dane z Internetu ([www. bosnalijek.com/en/rodavan.shtml](http://www.bosnalijek.com/en/rodavan.shtml))

Adres pierwszego autora:

Katedra i Zakładu Medycyny Sądowej CM UJ
ul Grzegórzecka 16
31-531 Kraków