

ОПРЕДЕЛЕНИЕ 2,4-ДИХЛОРФЕНОКСИУКСУСНОЙ КИСЛОТЫ ПРИ ХИМИКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОМ ИССЛЕДОВАНИИ БИОЛОГИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА

В.К. Шорманов*, доктор фармацевтических наук, профессор,
Т.Ф. Ларина, М.В. Рымарова, кандидат фармацевтических наук,
В.А. Королев, доктор биологических наук, профессор,
А.И. Алтухова, кандидат биологических наук
Курский государственный медицинский университет;
Российская Федерация, 305041, Курск, ул. К. Маркса, д. 3

Введение. 2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота – вещество, обладающее гербицидной активностью, а также стимулирующее рост каллусных культур и биосинтез в них определенных биологически активных соединений.

Цель исследования – разработка чувствительной методики определения 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты в биологическом материале.

Материал и методы. Использовали модельные смеси 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты с тканью печени. Разработку схем очистки осуществляли, применяя жидкость-жидкостную экстракцию и макроколоночную адсорбционную хроматографию. Для идентификации и количественного определения рассматриваемого соединения использовали методы тонкослойной хроматографии (ТСХ), газовой хроматографии – масс-спектрометрии (ГХ-МС) и обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

Результаты. Для извлечения 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты из биологического материала предложен изолирующий агент – этилацетат. Определены оптимальные условия извлечения. Адсорбционная очистка 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты может проводиться в колонке силикагеля L 40/100 мкм при элюировании смесью растворителей гексан–диэтиловый эфир (6:4).

Заключение. Разработанная методика позволяет идентифицировать и определять в модельных смесях с тканью печени 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты от первоначального количества.

Ключевые слова: 2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота, биологический материал, экстракция, хроматография, идентификация и определение.

E-mail: R-WLADIMIR@yandex.ru

ВВЕДЕНИЕ

2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота (2,4-Д) – это гербицид для борьбы с двудольными сорными растениями в посевах зерновых культур [1, 2]. Данное вещество известно также как стимулятор роста каллусных культур и образования в них различных групп биологически активных соединений [3, 4]. 2,4-Д применяется также как боевое отравляющее вещество. При определенных условиях данный пестицид может превращаться в диоксины [10].

В чистом виде 2,4-Д – белые кристаллы без запаха с температурой плавления 140,5°C. Растворимость 2,4-Д при температуре 20°C составляет: в воде – 0,54, в эфире – 243, в этаноле – 130 г/л. Данное вещество хорошо растворяется в ацетоне, четыреххлористом углероде и бензоле [1, 2, 5]. 2,4-Д токсична для теплокровных. LD₅₀ при пероральном введении 2,4-Д для крыс составляет 375–666, для мышей – 425–764 мг/кг; значения LD₅₀ при нанесении на кожу для крыс и кроликов соответственно равны 1500 и 1400 мг/кг. Описаны смертельные отравления человека при приеме внутрь 5–10 г 2,4-Д, по другим данным – 28 г [6–9].

Широкое применение 2,4-Д, ее токсичность, случаи летального отравления обуславливают необходимость изучения этого соединения для проведения судебно-химической экспертизы. Однако далеко не все направления химико-токсикологического исследования 2,4-Д в настоящее время разработаны.

Цель исследования – разработка чувствительной методики определения 2,4-Д в биологическом материале с использованием экстракционных, хроматографических и спектральных методов.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Объектом исследования служила 2,4-Д (США) с содержанием не менее 97% вещества.

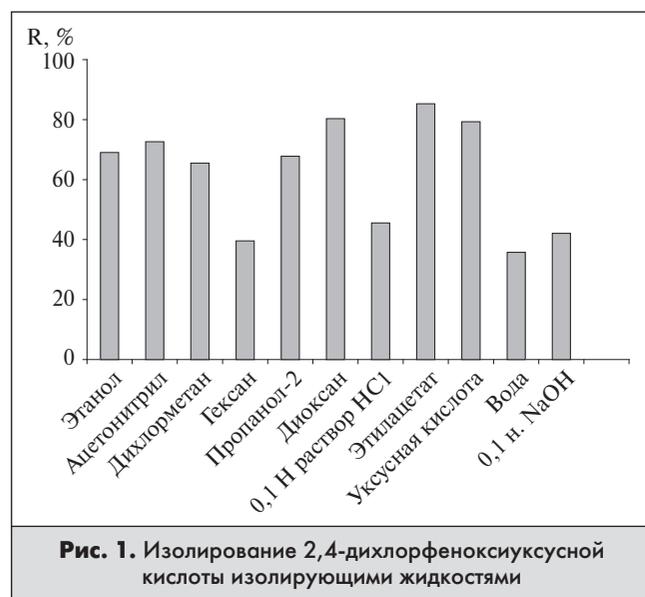
Изучали особенности изолирования 2,4-Д из биологического материала 9 органическими растворителями, водой и водными растворами различной реакции. Для этого готовили модельные смеси 2,4-Д (размер частиц 5–50 мкм) и мелкоизмельченной (размер частиц 0,2–0,5 мм) ткани печени (12,5 мг вещества в 25 г биоматериала), которые выдерживали 1,5 ч при температуре 18–20°C. Осуществляли двукратное (по 45 мин) изолирование 2,4-Д при соотношении изолирующего агента и биоматериала 2:1 (по массе). Оба извлечения из каждой модельной смеси

объединяли, часть объединенного извлечения хроматографировали на пластинах «Сорбфил» ПТСХ-АФ-В-УФ, элюент – гексан–диэтиловый эфир (5:5 по объему). На хроматограммах в УФ-свете 2,4-Д обнаруживалась в виде пятна с $R_f 0,55 \pm 0,03$. Вещество элюировали этиловым спиртом 15 мин и идентифицировали по УФ-спектру. По величине оптической плотности элюата при длине волны 292 нм (спектрофотометр СФ-56, длина оптического пути 10 мм), определяли количество 2,4-Д, используя уравнение градуировочного графика.

После выявления оптимального изолирующего агента изучали зависимость экстрагирования им анализируемого вещества из биоматериала от продолжительности и кратности настаивания, а также от массового соотношения изолирующего агента и биологического объекта [11].

В качестве возможных методов очистки 2,4-Д рассмотрены экстракция и колоночная хроматография. Изучались особенности экстракции 2,4-Д гидрофобными органическими экстрагентами (гексаном, дихлорметаном, этилацетатом, толуолом, диэтиловым эфиром) в зависимости от природы органической фазы, реакции водной фазы, насыщения водного слоя электролитами. Хроматографическое поведение рассматриваемого вещества исследовали в колонках диаметром 11 мм, заполненных 10 г силикагеля L40/100 мкм. Элюат собирали фракциями по 2 мл. 2,4-Д во фракциях обнаруживали методом ТСХ на пластинах «Сорбфил» ПТСХ-АФ-В-УФ (наносимый на пластину объем фракции – 5 мкл) в подвижной фазе гексан–диэтиловый эфир (5:5).

Контрольное хроматографирование проводили с извлечением из 25 г ткани печени, заведомо не содержащей 2,4-Д. Фракции элюата, в которых возможно присутствие анализируемого вещества, объединяли,



испаряли и растворяли остаток в 10 мл ацетона. 2,5 мл полученного раствора упаривали до сухого остатка. Остаток растворяли в 25 мл смеси растворителей ацетонитрил – 0,025 М раствор дигидрофосфата калия (1:1) и измеряли оптическую плотность раствора при 239 нм (смесь растворителей и длина волны соответствовали условиям определения методом обращенно-фазовой ВЭЖХ).

Для обнаружения и предварительной идентификации анализируемого соединения изучена возможность применения хроматографии в тонких слоях гидроксированного (пластины «Сорбфил» ПТСХ-АФ-В-УФ) и привитого (пластины «Сорбфил» ПТСХ-АФ-В-УФ, обработанные вазелиновым маслом) сорбентов [12].

Подтверждающую идентификацию и количественное определение 2,4-Д осуществляли методами ГХ-МС и ВЭЖХ. При методе ГХ-МС использовали газовый хроматограф Agilent Technologies модели 6890N с масс-селективным квадрупольным детектором модели 5973N. Хроматографировали в колонке DB-JMS (30 м × 0,25 мм) с неподвижной фазой диметилполисилоксаном (толщина пленки фазы – 0,25 мкм). Детектор работал в режиме электронного удара (70 эВ). Вещество обнаруживали в режиме регистрации по полному ионному току (диапазон сканирования – 20–550 m/z).

При использовании ВЭЖХ в качестве неподвижных фаз рассмотрены сорбенты с гидроксированной (Силасорб-600) и привитой (Zorbax SB C8, Nova Pack C-18) поверхностями. Хроматографирование осуществляли на приборе «Alliance» с диодно-матричным детектором.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Сравнительное изучение изолирования 2,4-Д из биологического материала рядом изолирующих жидкостей (рис. 1) показало, что для этих целей в качестве изолирующего агента целесообразно применять этилацетат. Оптимальные условия изолирования 2,4-Д этилацетатом достигаются при двукратном настаивании биологического объекта с изолирующим агентом при условии, что масса изолирующего агента каждый раз превышает массу биоматериала как минимум в 2 раза, а продолжительность отдельного настаивания составляет не менее 30 мин. 2,4-Д хорошо экстрагируется выбранными гидрофобными органическими растворителями при сильно-кислых значениях pH водного слоя. Оптимальные условия извлечения 2,4-Д из водных растворов достигаются при использовании в качестве экстрагента этилацетата при насыщении водной фазы хлоридом натрия и pH 2–3.

Результаты исследования хроматографического поведения 2,4-Д в макроколонке силикагеля L 40/100 мкм показали, что при элюировании смесью гексан–

диэтиловый эфир (6:4) анализируемое вещество присутствовало в 5–11 фракциях элюата (9–22 мл). В данных условиях хроматографирования объем удерживания составлял 11 мл, коэффициент емкости – 1,2, число теоретических тарелок – 16. Данная система обеспечивала селективное элюирование вещества по отношению к липофильным примесям (присутствовали во фракциях с 1 по 3) и примесям гидрофильного характера (сорбировались в верхней части колонки).

В контрольных опытах с тканью печени, не содержащей 2,4-Д, установлено, что фоновое поглощение раствора ¼ сухого остатка фракций, в которых возможно присутствие рассматриваемого вещества, в смеси ацетонитрил – 0,025 М раствор дигидрофосфата калия (1:1) было незначительным и не превышало 0,019 при длине волны 239 нм.

Результаты исследования хроматографической подвижности 2,4-Д в тонких слоях сорбентов (табл.1) показали, что оптимальными для хроматографирования данного вещества в тонком слое следует считать: подвижную фазу гексан – диэтиловый эфир (5:5) для нормально-фазового сорбента (пластины «Сорбфил» ПТСХ-АФ-В-УФ), и подвижную фазу этиловый спирт–буфер с рН 2,87 (2:8) – для варианта обращенно-фазовой ТСХ (пластины «Сорбфил» ПТСХ-АФ-В-УФ, обработанные вазелиновым маслом).

Для определения 2,4-Д методом ГХ-МС предложены условия, при которых начальная температура термостата колонки составляла 125°C (задержка на 2 мин) и увеличивалась со скоростью 20°C в минуту до 200°C, выдерживалась 2 мин и увеличивалась со скоростью 50°C в минуту от 200°C до 300°C с выдержкой при конечной температуре 6 мин. Температура инжектора составляла 280°C, температура интерфейса детектора – 300°C. В качестве газа-носителя использовали гелий, его подача осуществлялась со скоростью 39 см³/с. Режим без деления потока с задержкой 1 мин. Масс-селективный детектор работал в режиме электронного удара (70 эВ). Регистрация масс-спектра проводилась по полному ионному току в диапазоне 20–400 m/z.

В предлагаемых условиях хроматографирования время удерживания 2,4-Д составляло 7,75 мин. В масс-спектре данного соединения обнаруживались сигналы ряда характеристических заряженных частиц с массовыми числами 36, 45, 63, 83, 111, 133, 162, 185, 221. Наиболее интенсивной являлась частица с массовым числом 162, интенсивность которой принималась за 100%. В масс-спектре присутствовал молекулярный ион – 221 m/z. Открываемый минимум – $2,0 \cdot 10^{-8}$ г 2,4-Д в хроматографируемой пробе.

Оптимальным для определения 2,4-Д методом ВЭЖХ являлось использование неподвижной фазы Nova Pack C-18 (колонка 150×3,9 мм) и элюента аце-

Таблица 1

РЕЗУЛЬТАТЫ ХРОМАТОГРАФИРОВАНИЯ 2,4-ДИХЛОРФЕНОКСИУКСУСНОЙ КИСЛОТЫ И БЛИЗКИХ ПО СТРУКТУРЕ СОЕДИНЕНИЙ В ТОНКИХ СЛОЯХ СОРБЕНТОВ

Подвижная фаза	2,4-Д		2,4-ДХГОб		2-Х-1,4-ДГОб	
	Rf	Rs	Rf	Rs	Rf	Rs
<i>Нормально-фазовый сорбент</i>						
Гексан–диоксан (6:4)	0,44	0,53	0,83	1,00	0,81	0,98
Гексан–диоксан–пропанол-2 (14:5:1)	0,58	2,23	0,26	1,00	0,69	2,65
Гексан–хлороформ (3:7)	0,83	3,77	0,22	1,00	0,45	2,05
Гексан–хлороформ–этилацетат (2:9:3)	0,88	2,10	0,42	1,00	0,19	0,45
Гексан–этиловый спирт (6:4)	0,34	0,42	0,81	1,00	0,46	0,57
Гексан–диэтиловый эфир (5:5)	0,54	0,81	0,67	1,00	0,85	1,27
Гексан–пропанол-2 (9:1)	0,45	0,52	0,87	1,00	0,66	0,76
Гексан–ацетон (8:2)	0,39	0,83	0,47	1,00	0,24	0,51
<i>Обращенно-фазовый сорбент</i>						
Диоксан–вода (8:2)	0,32	1,10	0,29	1,00	0,44	1,52
Диоксан–буфер с рН 2,87 (2:8)	0,70	3,68	0,19	1,00	0,75	3,95
Ацетонитрил–вода (8:2)	0,60	0,76	0,79	1,00	0,79	1,00
Этиловый спирт–буфер с рН 8,95 (2:8)	0,53	1,77	0,30	1,00	0,78	2,6
Ацетонитрил–буфер с рН 8,95 (2:8)	0,78	3,39	0,23	1,00	0,81	3,52
Этиловый спирт–буфер с рН 2,87 (2:8)	0,64	10,67	0,06	1,00	0,80	13,33

Примечание: 2,4-Д – 2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота; 2,4-ДХГОб – 2,4-дихлоргидроксибензол; 2-Х-1,4-ДГОб – 2-хлор-1,4-дигидроксибензол.

тонитрил – 0,025 М раствор дигидрофосфата калия (1:1) при температуре колонки 20°C и скорости элюирования 1 мл/мин. Оптическую плотность измеряли при 239 нм. Время удерживания составило 3,721 мин, коэффициент емкости – 2,08, число теоретических тарелок – 2244, фактор асимметрии пика – 0,91%. Открываемый минимум 2,4-Д методом ВЭЖХ – $3,0 \cdot 10^{-9}$ г в хроматографируемой пробе.

На хроматограмме извлеченного из биоматериала вещества по сравнению с хроматограммой стандарта не отмечалось дополнительных пиков и заметного увеличения фонового поглощения. Параметры хроматографирования анализируемого вещества и стандарта совпадают.

Установлено наличие линейной зависимости между содержанием 2,4-Д в хроматографируемой пробе (С) и площадью хроматографического пика (S) в интервале концентраций 0,004–2,0 мкг. На основе этих данных строили калибровочный график и рассчитали следующее уравнение: $S = 38301232 \cdot C + 114016$. Коэффициент корреляции равен 0,9998.

Методика определения 2,4-Д в биологическом материале

Изолирование. 25 г искусственной смеси 2,4-Д с мелкоизмельченной тканью печени настаивали

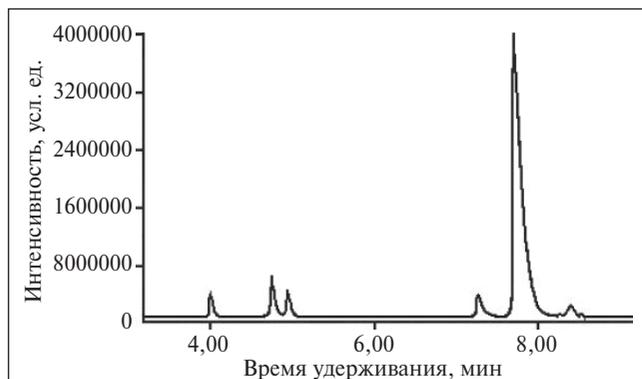


Рис. 2. Газо-жидкостная хроматограмма 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты, изолированной из биологического материала

дважды по 30 мин с порциями этилацетата массой 50 г каждая при перемешивании. Отдельные извлечения объединяли, растворитель испаряли в токе воздуха. Полученный остаток обрабатывали 10 мл ацетона при энергичном перемешивании в течение 3 мин. Процедуру проводили трижды. Ацетоновые извлечения объединяли и выпаривали в токе воздуха при температуре 18–22°C до сухого остатка.

Очистка извлечений. Полученный сухой остаток растворяли в 10 мл хлороформа и экстрагировали дважды буферным раствором с pH 10 – 11 (10 мл • 2). Извлечения объединяли, подкисляли 24% раствором хлороводородной кислоты до pH 2–3, насыщали хлоридом натрия и экстрагировали этилацетатом (20 мл • 2). Извлечения объединяли, фильтровали через слой безводного сульфата натрия толщиной 1,0–1,5 см (стеклянный фильтр диаметром 4 см), сульфат натрия промывали 20 мл этилацетата. Фильтраты объединяли и упаривали в токе воздуха при температуре 18–22°C до сухого остатка. Остаток растворяли в 2–3 мл смеси гексан–диэтиловый эфир (6:4), вносили в колонку размером 490×11 мм с 10 г силикагеля L 40/100 мкм и элюировали смесью гексан–диэтиловый эфир (6:4). Элюат собирали фракциями по 2 мл. Фракции 5–11 упаривали до сухого остатка в токе воздуха. Остаток растворяли в 10 мл ацетона. В 3 выпарительные чашки вносили по 0,05–2,5 мл ацетонового раствора и испаряли растворитель в токе азота.

Идентификация и количественное определение. Определение методом ТСХ. Остаток в 1-й чашке растворяли в незначительном объеме этилового спирта и наносили на линию старта хроматографической пластины «Сорбфил» ПТСХ-АФ-В-УФ. Хроматографировали в присутствии вещества-свидетеля, используя подвижную фазу гексан–диэтиловый эфир (5:5). Исследуемое вещество идентифицировали по величине Rf, совпадающей с таковой вещества-свидетеля (0,54±0,03).

Определение методом ГХ-МС. Остаток во 2-й чашке растворяли в 5–6 мл хлороформа, раствор переносили в мерную колбу вместимостью 10 мл и доводили до метки хлороформом. 2 мкл полученного раствора вводили в газовый хроматограф с масс-селективным квадрупольным детектором и хроматографировали в вышеописанных условиях. Хроматограмма 2,4-Д, выделенная из биоматериала и очищенная по предлагаемой схеме, представлена на рис. 2. Время удерживания анализируемого соединения (7,75±0,04 мин) соответствовало времени удерживания вещества-стандарта. Как свидетельствуют полученные результаты, масс-спектр извлекае-

Таблица 2

РЕЗУЛЬТАТЫ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ 2,4-ДИХЛОРФЕНОКСИУКСУСНОЙ КИСЛОТЫ В ТКАНИ ПЕЧЕНИ (n=5; p=0,95)

Внесено 2,4-Д в 25 г биоматериала, мг	Найдено, %				
	\bar{X}	S	S_r	S_x	$\Delta\bar{X}$
25,0	88,26	3,61	4,09	1,61	3,60
12,5	87,95	3,68	4,18	1,65	3,69
5,0	87,41	3,92	4,46	1,75	3,91
2,5	87,12	4,24	4,87	1,90	4,25
1,25	86,68	4,75	5,48	2,12	4,74

мой из биологических тканей 2,4-Д по специфическому набору сигналов характеристических заряженных частиц совпадал с таковым вещества-стандарта более чем на 86%.

Определение методом ВЭЖХ. Остаток в 3-й чашке растворяли в 6–8 мл ацетонитрила, переносили в мерную колбу вместимостью 10 мл и доводили ацетонитрилом до метки (раствор А). 0,4 мл раствора А вносили в мерную колбу вместимостью 10 мл, прибавляли 4,6 мл ацетонитрила и доводили до метки 0,025 М раствором дигидрофосфата калия. 2–20 мкл полученного раствора вводили в хроматограф. Хроматографировали по вышеописанной схеме. Анализируемое соединение идентифицировали по времени удерживания. Количественное содержание рассматриваемого вещества рассчитывали по площади хроматографического пика с помощью уравнения градуировочного графика.

Как свидетельствуют полученные данные (табл. 2), при содержании 2,4-Д в биологическом материале от 1,25 до 25,0 мг при постоянной массе навески печени (25 г) изменение среднего значения степени извлечения незначительно и не превышает 1,6%.

Разработанная методика позволяет определить в модельных смесях с тканью печени до 86,64–88,26% 2,4-Д от первоначально внесенного количества с достаточными для подобного рода исследований чувствительностью и точностью. Открываемый минимум – $2,0 \cdot 10^{-5}$ г анализируемого вещества в 100 г биоматериала.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе проведенных исследований обосновано применение этилацетата в качестве изолирующего агента для извлечения 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты из биологического материала. Изучена экстракция 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты из водных растворов и ее хроматографическое поведение в тонких слоях и макроколоне силикагеля L 40/100 мкм. Предложена схема очистки рассматриваемого

вещества от эндогенных веществ биологической матрицы сочетанием жидкость-жидкостной экстракции и адсорбционной колоночной хроматографии. Разработана методика идентификации и количественного определения 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты в извлечениях из биоматериала на основе применения методов ТСХ, ГХ-МС и ВЭЖХ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Куликова Н.А., Лебедева Г.Ф. Гербициды и экологические аспекты их применения. М.: Книжный дом «ЛИБРОКОМ»; 2010.
2. Мельников Н.Н. Пестициды. Химия, технология и применение. М.: Химия; 1987.
3. Смоленская И.Н., Решетняк О.В., Смирнова Ю.Н., Черняк Н.Д., Глоба Е.Б., Носов А.М., Носов А.В. Противоположное влияние синтетических ауксинов – 2,4-дихлорфеноксиуксусной и 1-нафтилуксусной кислот на рост культуры клеток женьшеня настоящего и синтез гинзенозидов. Физиология растений, 2007; 54 (2): 243–52.
4. Николаева Т.Н., Загоскина Н.В., Запроматов М.Н. Образование фенольных соединений в каллусных культурах чайного растения под действием 2,4-Д и НУК. Физиология растений, 2009; 56 (1): 53–8.
5. Клисенко М.А., Калинина А.А., Новикова К.Ф., Хохолькова Г.А. Методы определения микроколичеств пестицидов в продуктах питания, кормах и внешней среде. Т. 1. М.: Колос; 1992.
6. Roberts D.M., Dawson A.H., Senarathna L., Mohamed F., Cheng R., Eaglesham G., Buckley N.A. Toxicokinetics, including saturable protein binding, of 4-chloro-2-methyl phenoxyacetic acid (MCPA) in patients with acute poisoning. Toxicol Lett., 2011; 201 (3): 270–6.
7. Calhoun M.C., Uecker D.N., Livingston C.W., Camp B.J. Effect of 2,4-D on Hymenoxon Concentration and Toxicity of Bitterweed (*Hymenoxys odorata*) Force-Fed to Sheep. Journal of Range Management, 1982; 35 (4): 489–92.
8. Baselt R.C., Cravey R.H. eds. Disposition of Toxic Drugs and Chemicals in Man. 4th ed. Foster City, CA: Chemical Toxicology Institute; 1995.
9. Cox C. Herbicide factsheet 2,4-D. Journal of Pesticide Reform., 2005; 25 (4): 10–5.
10. Садовский А.А. 2,4-Д – первый киллер сорняков. Химия и жизнь, 2005; 9: 24–7.
11. Шорманов В.К., Чупак В.В., Победоносцева М.Н., Маслов С.В., Кибец Н.А., Тихопова Н.Н. Судебно-химическое исследование ацетилсалициловой кислоты. Судебно-медицинская экспертиза, 2015; 58 (6): 37–43.
12. Шорманов В.К., Чупак В.В., Салыкина Е.О. Определение 2-ацетилоксибензойной кислоты в плазме крови. Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье», 2015; 1:109–14.

Поступила 11 июля 2016 г.

DETERMINATION OF 2,4-DICHLOROPHENOXYACETIC ACID IN THE CHEMOTOXICOLOGICAL INVESTIGATION OF BIOLOGICAL MATERIAL

Professor V.K. Shormanov, PhD; T.F. Larina; M.V. Rymarova, PhD; Professor V.A. Korolev, PhD; A.I. Altukhova, PhD
Kursk State Medical University; 3, K. Marx St., Kursk 305041, Russian Federation

SUMMARY

Introduction. 2,4-dichlorophenoxyacetic acid is a substance that has herbicidal activity and also stimulates the growth of callus cultures and biosynthesis of their certain biologically active compounds.

Objective: to develop sensitive methods for determining 2,4-dichlorophenoxyacetic acid in biological material.

Material and methods. Model mixtures of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid and liver tissue were used. Purification schemes were developed using liquid-liquid extraction and macrocolumn adsorption chromatography. Thin layer chromatography, gas chromatography–mass spectrometry, and reversed-phase high-performance liquid chromatography were used to identify and quantify the compound in question.

Results. The insulating agent ethyl acetate was proposed for the extraction of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid from biological material. Optimal extraction conditions were determined. Adsorption purification of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid can be carried out in a silica gel L 40/100 μm column eluting with a mixture of the solvents hexane and diethyl ether (6:4).

Conclusion. The developed procedure can identify and determine 86.64–88.26% of the initial amount of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid in the model mixtures with liver tissues.

Key words: 2,4-dichlorophenoxyacetic acid, biological material, extraction, chromatography, identification and determination.

REFERENCES

1. Kulikova N.A., Lebedeva G.F. Herbicides and environmental aspects of their application. Moscow: Knizhnyiy dom «LIBROKOM»; 2010 (in Russian).
2. Melnikov N.N. Pesticides. Chemistry, technology and application. Moscow: Himiya; 1987 (in Russian).
3. Smolenskaya I.N., Reshetnyak O.V., Smirnova Y.N., Chernyak N.D., Globa E.B., Nosov A.M., Nosov A.V. The opposite effect of synthetic auxins - 2,4-dichlorophenoxyacetic and 1-naphthylacetic acid on the growth of ginseng cell culture of the present and the synthesis of ginsenosides. *Fiziologiya rasteniy*, 2007; 54 (2): 243–52 (in Russian).
4. Nikolaeva T.N., Zagoskina N.V., Zaprometov M.N. Formation of phenolic compounds in the tea plant callus cultures by the action of 2,4-D and NAA. *Fiziologiya rasteniy*, 2009; 56 (1): 53–8 (in Russian).
5. Klisenko M.A., Kalinina A.A., Novikova K.F., Khokhlova G.A. Methods for determination of trace amounts of pesticides in food, feed and the environment. T. 1. Moscow: Kolos; 1992 (in Russian).
6. Roberts D.M., Dawson A.H., Senarathna L., Mohamed F., Cheng R., Eaglesham G., Buckley N.A. Toxicokinetics, including saturable protein binding, of 4-chloro-2-methyl phenoxyacetic acid (MCPA) in patients with acute poisoning. *Toxicol Lett.*, 2011; 201 (3): 270–6.
7. Calhoun M.C., Uecker D.N., Livingston C.W., Camp B.J. Effect of 2,4-D on Hymenoxon Concentration and Toxicity of Bitterweed (*Hymenoxys odorata*) Force-Fed to Sheep. *Journal of Range Management*, 1982; 35 (4): 489–92.
8. Baselt R.C., Cravey R.H. eds. *Disposition of Toxic Drugs and Chemicals in Man*. 4th ed. Foster City, CA: Chemical Toxicology Institute; 1995.
9. Cox C. Herbicide factsheet 2,4-D. *Journal of Pesticide Reform*. 2005; 5 (4): 10–5.
10. Sadowski A.A. 2,4D - the first weed killer. *Himiya i zhizn*. 2005; 9: 24–7 (in Russian).
11. Shormanov V.K., Chupac V.V., Pobedonostseva M.N., Maslov S.V., Kibetz N.A., Tihopoeva N.N. Forensic chemical study of acetylsalicylic acid. *Sudebno-medicinskaya ekspertiza*, 2015; 58 (6): 37–43 (in Russian).
12. Shormanov V.K., Chupac V.V., Salykina E.O. Definition of 2-acetyloxybenzoic acid in blood plasma. *Kurskiy nauchno-prakticheskiy vestrnik «Chelovek i ego zdorovie»*, 2015; 1: 109–14 (in Russian).

© Коллектив авторов, 2016
УДК 615.322.03:616.61-003.7].07

СБОР ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ И ПРОФИЛАКТИКИ МОЧЕКАМЕННОЙ БОЛЕЗНИ: ХАРАКТЕРИСТИКИ ПОДЛИННОСТИ

Г.Е. Пронченко, кандидат биологических наук,
Т.Д. Рендюк*, кандидат фармацевтических наук, Е.В. Булыкин
Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова;
Российская Федерация, 119991, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2

Введение. Мочекаменная болезнь, или нефролитиаз занимает одно из ведущих мест в структуре урологических заболеваний по частоте распространения. Учитывая хронический характер нефролитиаза и полиэтиологичность заболевания, предпочтительный метод лечения – фитотерапия. На кафедре фармакогнозии Первого МГМУ им. И.М. Сеченова разработан эффективный и малотоксичный многокомпонентный сбор, настой которого рекомендуется для лечения и профилактики мочекаменной болезни.

Цель исследования – морфолого-анатомическое исследование сбора для лечения и профилактики мочекаменной болезни, а также выявление его диагностических признаков.

Материал и методы. Объектом исследования служил экспериментальный образец сбора для лечения и профилактики мочекаменной болезни измельченностью 5 и 2 мм, приготовленный в лабораторных условиях. Были использованы макроскопический и микроскопический методы анализа лекарственного растительного сырья.

Результаты. Изучены морфологические признаки сбора и его отдельных компонентов разной степени измельченности: листья толокнянки, корневища и корни марены, трава хвоща полевого, трава горца птичьего, плоды шиповника, листья мяты перечной, листья березы. Выявлены анатомо-диагностические признаки сбора и его отдельных компонентов. Установлено, что размер частиц сырья не оказывает существенного влияния на проявляемость анатомо-диагностических признаков.

Заключение. Предложены характеристики подлинности сбора для лечения и профилактики мочекаменной болезни с размером частиц, проходящих сквозь сита с диаметром отверстий 5 и 2 мм. Полученные результаты использованы для разработки проекта фармакопейной статьи на сбор.

Ключевые слова: мочекаменная болезнь, сбор, подлинность, внешние признаки, микроскопия.

*E-mail: aramat_17@mail.ru

ВВЕДЕНИЕ

Мочекаменная болезнь, или нефролитиаз занимает одно из ведущих мест в структуре урологических заболеваний по частоте распространения. Мочекаменная болезнь встречается у 5–10% населения индустриальных стран, причем

наиболее часто у людей трудоспособного возраста – 20–55 лет. Больные нефролитиазом составляют 30–40% всего контингента урологических стационаров. В настоящее время в развитых странах из 10 млн человек 400 тыс. страдают мочекаменной болезнью. Ежегодно регистрируется 85 тыс. заболеваний мочекаменной болезнью, при этом 62 тыс. из них – рецидивные камни [1].