

Разработка и валидация методики судебно-химического определения бенсултапа

Ю.Н. Баранов, В.К. Шорманов, Е.А. Коваленко, М.В. Рымарова

Курский государственный медицинский университет,
Российская Федерация, 305004, Курск, ул. К. Маркса, д. 3

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Баранов Юрий Николаевич – заочный аспирант кафедры фармацевтической, токсикологической и аналитической химии Курского государственного медицинского университета (КГМУ). Тел.: +7 (4712)-58-13-23. E-mail: unb76@yandex.ru

Шорманов Владимир Камбулатович – доктор фармацевтических наук, профессор кафедры фармацевтической, токсикологической и аналитической химии КГМУ. Тел.: +7 (4712)-58-13-23. E-mail: R-WLADIMIR@yandex.ru

Коваленко Евгений Анатольевич – кандидат фармацевтических наук кафедры фармацевтической, токсикологической и аналитической химии КГМУ. Тел.: +7 (4712)-58-13-23. E-mail: olefar@ya.ru

Рымарова Марина Викторовна – кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармацевтической, токсикологической и аналитической химии КГМУ. Тел.: +7 (4712)-58-13-23. E-mail: kalina1170@yandex.ru

Введение. В растениеводстве длительное время эффективно применялся инсектицид 2-Диметиламино-1,3-бис-(фенилсульфонилтио)-пропан или бенсултап – вещество, входящее в группу биологически активных соединений с антихолинэстеразной активностью. Это вещество проявляет токсические свойства в отношении теплокровных организмов. Отмечены многочисленные случаи отравления людей, в том числе с летальным исходом. В связи с важным судебно-химическим значением данного соединения возникает необходимость изучения вопросов его изолирования из биоматериала, очистки и определения в извлечениях из биоматриц.

Цель исследования – разработка и валидация методики судебно-химического исследования 2-ДМА-1,3-бис-(ФСТ)П.

Материал и методы. Объект исследования – 2-ДМА-1,3-бис-(ФСТ)П квалификации «ч», содержание основного компонента $\geq 97\%$. Изолирование вещества осуществляли из его модельных смесей с тканью печени этилацетатом в режиме настаивания. ТСХ-анализ проводили на пластинках «Сорбфил», подвижная фаза гексан-диоксан-пропанол-2-ацетон, детектор – УФ-свет. При разработке схемы очистки применяли макроколоночную адсорбционную хроматографию. Оптическую плотность измеряли на спектрофотометре СФ-46. Содержание 2-ДМА-1,3-бис-(ФСТ)П устанавливали, используя уравнение градуировочного графика. Для идентификации и количественного определения рассматриваемого соединения использовали метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

Результаты. Изучено влияние продолжительности контакта изолирующей жидкости с биоматериалом, кратности настаивания, количественного соотношения изолирующего агента и биологического объекта на степень извлечения данного соединения из биологического материала оптимальным изолирующим агентом. В найденных оптимальных условиях изучена зависимость степени извлечения 2-ДМА-1,3-бис-(ФСТ)П от его содержания в биологической матрице.

Заключение. Предложена схема исследования тканей органов и крови с целью подтверждения присутствия в них 2-ДМА-1,3-бис-(ФСТ)П на основе изолирования этилацетатом, очистки в колонке силикагеля L 40/100 мкм, идентификации и количественного определения методом ВЭЖХ. Пределы обнаружения и количественного определения составляют соответственно 2,5 и 3,125 мкг/г биоматериала. Методика валидирована.

Ключевые слова: 2-диметиламино-1,3-бис-(фенилсульфонилтио)-пропан (бенсултап), изолирование, очистка, идентификация, определение, валидация.

Для цитирования: Баранов Ю.Н., Шорманов В.К., Коваленко Е.А., Рымарова М.В. Разработка и валидация методики судебно-химического определения бенсултапа. Фармация, 2018; 67 (5): 8–14. <https://doi.org/10.29296/25419218-2018-05-02>.

DEVELOPMENT AND VALIDATION OF PROCEDURES FOR FORENSIC CHEMICAL DETERMINATION OF BENSULTAP

Yu.N. Baranov, V.K. Shormanov, E.A. Kovalenko, M.V. Rymarova

Kursk State Medical University, 3, K. Marx St., Kursk 305004, Russian Federation

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS:

Baranov Yuriy Nikolaevich – correspondence postgraduate student of the Department of pharmaceutical, Toxicological and analytical chemistry of Kursk state medical University (KSMU). Tel.: +7 (4712)-58-13-23. E-mail: unb76@yandex.ru

Shormanov Vladimir Kambulatovich – Medicinæ Doctor of pharmaceutical Sciences, Professor of pharmaceutical, Toxicological and analytical chemistry Department of KSMU. Tel.: +7 (4712)-58-13-23. E-mail: R-WLADIMIR@yandex.ru

Kovalenko Evgeniy Anatolyevich – Philosophiæ Doctor of pharmaceutical Sciences, Department of pharmaceutical, Toxicological and analytical chemistry of KSMU. Tel.: +7 (4712)-58-13-23. E-mail: olefar@ya.ru

Rymarova Marina Viktorovna – Philosophiæ Doctor of pharmaceutical Sciences, associate Professor of pharmaceutical, Toxicological and analytical chemistry Department of KSMU. Tel.: +7 (4712)-58-13-23. E-mail: kalina1170@yandex.ru

SUMMARY

Introduction. The insecticide 2-dimethylamino-1,3-bis-(phenylsulfonyl)-propane or bensultap, a substance included in the group of biologically active compounds with anticholinesterase activity, has been effectively used in plant cultivation for a long time. This substance exhibits toxic properties against warm-blooded organisms. There are numerous cases of human poisoning, including those with a lethal outcome. The important forensic chemical value of this compound necessitates a study of the issues of its isolation from biomaterials, purification, and determination in the extracts from biomaterials.

Objective: to develop and validate a procedure for the forensic chemical determination of 2-DMA-1,3-bis-(PSP)P.

Material and methods. The investigation object was DMA-1,3-bis-(PSP)P; the content of the main component is $\geq 97\%$. The substance was isolated from its model mixtures with liver tissue via infusion with ethyl acetate. TLC analysis was carried out on Sorbfil plates; the mobile phase was hexane-dioxane-propanol-2-acetone; an UV detector was applied. A macrocolumn adsorption chromatography was used to develop a purification scheme. Optical density was measured on a SP-46 spectrophotometer. The concentration of 2-DMA-1,3-bis-(PSP)P was determined using the equation of the calibration curve. High-performance liquid chromatography (HPLC) was employed to identify and quantify the compound in question.

Results. The investigators studied the impact of the duration of contact of an insulating liquid with a biomaterial, the multiplicity of infusion, the quantitative ratio of the insulating agent and the biological object on the degree of extraction of this compound from the biological material with an optimal insulating agent. The relationship of the degree of extraction of 2-DMA-1,3-bis-(PSP)P to its level in the biological matrix was studied under the optimal conditions found.

Conclusion. A scheme for examining organ tissues and blood has been proposed to confirm that they contain 2-DMA-1,3-bis-(PSP)P via isolation with ethyl acetate, purification in the column packed with silica gel L 40/100 μm , identification and quantification using HPLC. The detection and quantification limits are 2.5 and 3.125 $\mu\text{g/g}$ of biomaterial, respectively. The procedure is validated.

Key words: 2-dimethylamino-1,3-bis-(phenylsulfonyl)-propane (bensultap), isolation, purification, identification, determination, validation.

For citation: Baranov Yu.N., Shormanov V.K., Kovalenko E.A., Rymarova M.V. Development and validation of procedures for forensic chemical determination of bensultap. *Farmatsiya (Pharmacy)*, 67 (4): 8–14. <https://doi.org/10.29296/25419218-2018-05-02>.

Введение

2-Диметиламино-1,3-бис-(фенилсульфонилтио)-пропан или бенсултап (торговые названия: банкол, виктенол, Z-дорицид; в дальнейшем – 2-ДМА-1,3-бис-(ФСТ)П) – вещество, входящее в группу биологически активных соединений с антихолинэстеразной активностью, длительное время применяющееся в растениеводстве как эффективный инсектицид [1–3].

Перекристаллизованный из ацетоново-гексановых растворов 2-ДМА-1,3-бис-(ФСТ)П – это белая с легким коричневатым оттенком кристаллическая субстанция, плавящаяся в температурном интервале 84–85°C. 2-ДМА-1,3-бис-(ФСТ)П незначительно растворим в воде и кислотно-водных растворах. Хорошая растворимость (более 1000 г/л) этого вещества наблюдается в трихлорметане, ацетонитриле и диметилкетоне. 2-ДМА-1,3-бис-(ФСТ)П растворяется в низших алифатических спиртах (метилловый спирт – 25 г/л, этиловый спирт – 13 г/л), значительно хуже – в гексане (0,17 г/л) [4, 5].

2-ДМА-1,3-бис-(ФСТ)П проявляет токсические свойства в отношении теплокровных организ-

мов. Половинная летальная доза при введении этого соединения в желудок лабораторным крысам немного превышает 1000 мг на 1 кг массы.

В различных странах мира (Индия, Китай, Япония, страны Индокитая, Западной Европы и др.) отмечены многочисленные случаи отравления людей 2-ДМА-1,3-бис-(ФСТ)П, в том числе с летальным исходом, а также веществами, относящимися как к 2-ДМА-1,3-бис-(ФСТ)П, так и к производным нереистоксина (картап, тиосултап натрия) [6–11]. Сообщалось о суицидальных и криминальных попытках использования 2-ДМА-1,3-бис-(ФСТ)П в ряде областей Центральной и Западной Украины. На территории Российской Федерации также отмечены случаи отравления 2-ДМА-1,3-бис-(ФСТ)П, в том числе и с летальными исходами [2, 12, 13]. Только в Курской области за последние 15 лет зарегистрировано 4 случая отравления 2-ДМА-1,3-бис-(ФСТ)П со смертельным исходом. Случаи отравления данным соединением зафиксированы на территории Белгородской области [3, 14].

Большое число случаев отравления 2-ДМА-1,3-бис-(ФСТ)П в России и за ее пределами указывает

на важное судебно-химическое значение этого соединения и необходимость изучения вопросов его изолирования из биоматериала, очистки и выявления в извлечениях из биоматриц. До настоящего времени остаются недостаточно изученными отдельные направления судебно-химического анализа 2-ДМА-1,3-бис-(ФСТ)П, связанные с разработкой методик его определения в тканях трупных органов и валидацией подобных методик.

Цель исследования – разработка и валидация методики судебно-химического исследования 2-ДМА-1,3-бис-(ФСТ)П.

Материал и методы

Объект исследования – (2-диметиламино-1,3-бис-(фенилсульфонилтио)пропан) (2-ДМА-1,3-бис-(ФСТ)П) квалификации «ч» (рис. 1). (СОП 342-034-2003, содержание основного компонента $\geq 97\%$). Брутто-формула: $C_{17}H_{21}NO_4S_2$; $M_r = 431,6$

В качестве изолирующего агента рассмотрен этилацетат, который позволяет достичь высоких значений степени извлечения данного соединения и препятствует переходу в извлечения значительной части соэкстрактивных веществ гидрофильного характера.

Сначала готовили модельные смеси анализируемого соединения (размер частиц – от 5 до 50 мкм) с мелкоизмельченной (размер частиц – 2–5 мм) тканью печени, которые содержали по 25 мг 2-ДМА-1,3-бис-(ФСТ)П в 25 г биоматериала. Полученные смеси оставляли на 90 мин при температуре 18–22°C.

2-ДМА-1,3-бис-(ФСТ)П двукратно (каждый раз по 45 мин) изолировали этилацетатом из модельных смесей при соотношении 2:1 между массами изолирующего агента и биологического объекта. Извлечения из каждой модельной смеси объединяли, часть объединенного извлечения наносили на пластину «Сорбфил» ПТСХ-АФ-А-УФ и хроматографировали, применяя подвижную фазу гексано-диоксан–пропанол-2-ацетон (8:3:0,8:0,8).

Хроматограммы проявляли в УФ-свете (излучение с длиной волны 254 нм). 2-ДМА-1,3-бис-(ФСТ)П проявлялся на хроматограммах в виде темного пятна с $R_f = 0,56 \pm 0,03$. Анализируемое соединение элюировали из сорбента 95% этанолом 15 мин. Оптическую плотность элюата измеряли при длине волны 255 нм на приборе СФ-46 в кювете с толщиной рабочего слоя 10

мм на фоне контрольного раствора. Количество 2-ДМА-1,3-бис-(ФСТ)П в извлечении определяли по уравнению градуировочного графика.

Следуя приведенной выше схеме, исследовали влияние продолжительности контакта изолирующей жидкости с биоматериалом, кратности настаивания, количественного соотношения изолирующего агента и биологического объекта на степень извлечения данного соединения из биологического материала оптимальным изолирующим агентом.

В найденных оптимальных условиях изучали зависимость степени извлечения 2-ДМА-1,3-бис-(ФСТ)П от его содержания в биологической матрице. При этом исследовали модельные смеси, содержащие 1,25 - 50,00 мг 2-ДМА-1,3-бис-(ФСТ)П в 25,00 г ткани печени.

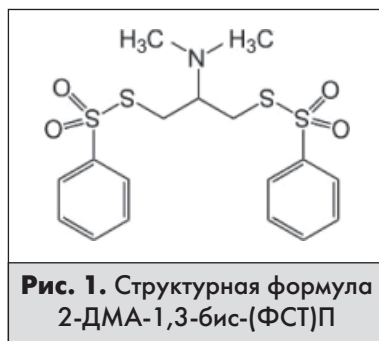
Изучены особенности очистки 2-ДМА-1,3-бис-(ФСТ)П, выделенного из биоматериала, путем хроматографирования в макроколонке 490×11 мм, заполненной 10 г силикагеля L 40/100 мкм (элюирование мало- и среднеполярными элюентами). Присутствие 2-ДМА-1,3-бис-(ФСТ)П во фракциях обнаруживали методом ТСХ: пластины «Сорбфил» ПТСХ-АФ-А-УФ, подвижная фаза – гексано-диоксан–пропанол-2-ацетон (8:3:0,8:0,8), объем фракции, наносимый на пластину, – 5-10 мкл.

Для идентификации и количественного определения бенсультапа применен метод нормально-фазовой ВЭЖХ. При этом использовали прибор «Милюхром» с УФ-детектором и колонку КАХ-1 размерами 62×2 мм, заполненную сорбентом «Силасорб-600».

С учетом результатов предварительных исследований разрабатывали методику определения 2-ДМА-1,3-бис-(ФСТ)П в биологическом материале и осуществляли ее валидацию по принятым для биоаналитических методик схемам [15–16].

Результаты и обсуждение

Установлено, что достаточно полное извлечение 2-ДМА-1,3-бис-(ФСТ)П из биоматериала (ткани печени) этилацетатом наблюдается уже при двукратном настаивании биоматериала с изолирующим агентом, если количество изолирующей жидкости в каждом случае превышает количество биоматериала как минимум в 2 раза по массе. Продолжительность каждого настаивания при этом должна быть не менее 30 мин (рис. 2).



Предложены условия хроматографирования в колонке с сорбентом L 40/100 мкм. В колонку вначале подается гексан, после выхода из колонки 20 мл элюата гексан, остающийся над поверхностью сорбента, удаляется, и в колонку подается система гексан–диоксан–пропанол-2 (8:3:0,6 по объему). С момента начала подачи подвижной фазы гексан–диоксан–пропанол-2 (8:3:0,6) начинается сбор выходящего из колонки элюата фракциями по 2 мл каждая. При этом анализируемое вещество обнаруживается во фракциях № 11-14 (21–28 мл).

Для определения 2-ДМА-1,3-бис-(ФСТ)П методом ВЭЖХ предложена подвижная фаза гексан–диоксан–пропанол-2 (15:5:1), выбранная скорость элюирования – 100 мкл/мин, скорость диаграммной ленты – 720 мм/ч, масштаб регистрации – 0,8 ед.о.п., время измерения – 0,6 с. Оптическую плотность элюата регистрировали при длине волны 256 нм. Как свидетельствуют полученные данные, время удерживания аналита составляет 6,36 мин, относительное удерживание – 1,53; коэффициент емкости – 3,04; число теоретических тарелок – 2257. Вид хроматограммы 2-ДМА-1,3-бис-(ФСТ)П и внутреннего стандарта (тетраметилтиурамдисульфида), полученной в предлагаемых условиях, представлен на рис.3.

Результаты предварительных исследований были положены в основу методики определения 2-ДМА-1,3-бис-(ФСТ)П в биологическом материале с применением нормальнофазовой ВЭЖХ.

Методика определения 2-ДМА-1,3-бис-(ФСТ)П в биологическом материале. 10 г биоматериала, содержащего анализируемое вещество, заливали на 30 мин 20 г этилацетата, периодически перемешивая. Извлечение отделяли декантацией, а операцию настаивания повторяли. Оба извлечения объединяли, фильтровали через стеклянный фильтр диаметром 4 см со слоем безводного сульфата натрия толщиной 1–1,5 см, сульфат натрия промывали 10 г этилацетата. Фильтрат и промывную жидкость объединяли в выпарительной чашке, растворитель испаряли в токе воздуха при комнатной температуре. Остаток растворяли в 4 мл хлороформа, 2 мл полученного раствора смешивали с 1 г силикагеля L 40/100 мкм и испаряли остатки хлороформа из сорбента в токе воздуха.

В колонку размером 490×10 мм вносили вначале 9 г силикагеля типа L 40/100 мкм, а затем, поверх образующегося слоя, – 1 г силикагеля L 40/100 мкм, содержащего анализируемое вещество, предварительно введенное в виде хлороформного рас-

твора. Через колонку вначале пропускали гексан, после истечения из колонки 20 мл элюата – рас-

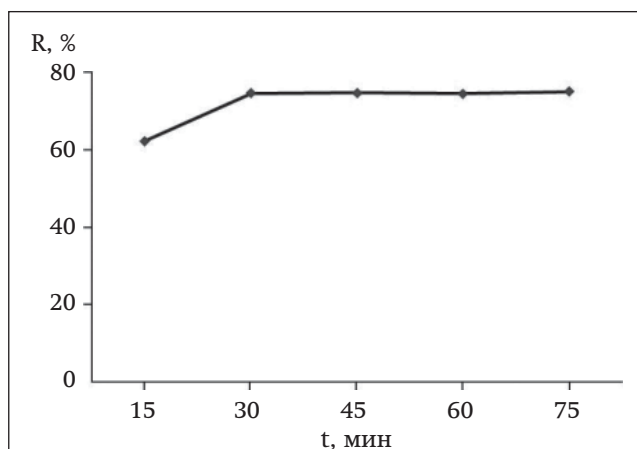


Рис. 2. Зависимость степени извлечения 2-диметиламино-1,3-бис-(фенилсульфонилтио)-пропана (R, %) из биологического материала от продолжительности настаивания

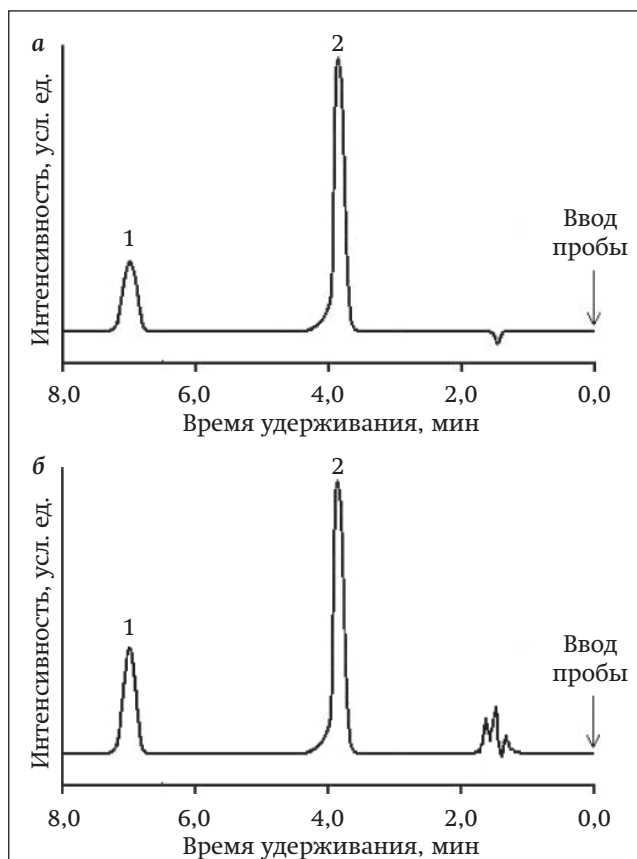


Рис. 3. ВЭЖХ-хроматограмма 2-диметиламино-1,3-бис-(фенилсульфонилтио)-пропана (1) в присутствии внутреннего стандарта (тетраметилтиурамдисульфида) (2): а – стандартный образец, б – извлечение из биологического материала

творитель, находящийся над поверхностью столба сорбента, удаляли и начинали элюировать системой растворителей гексан–диоксан–пропанол-2 (8:3:0,6 по объему). С момента начала подачи системы растворителей гексан–диоксан–пропанол-2 (8:3:0,6 по объему) выходящий из колонки элюат собирали фракциями по 2 мл каждая. Фракции с 11 по 14 включительно объединяли в выпарительной чашке, элюент испаряли в токе воздуха при комнатной температуре. Остаток растворяли в 5 мл диоксана. 2,0 мл диоксанового раствора вносили в выпарительную чашку и испаряли растворитель в токе воздуха при комнатной температуре до получения сухого остатка.

Остаток растворяли в смеси 1,0 мл диоксана и 0,2 мл пропанола-2, к раствору прибавляли 3 мл гексана порциями по 0,5–1,0 мл, количественно переносили раствор в мерную колбу вместимостью 5 мл и доводили содержимое колбы смесью гексан–диоксан–пропанол-2 (15:5:1) до метки. 2–16 мкл полученного раствора хроматографировали в вышеописанных условиях.

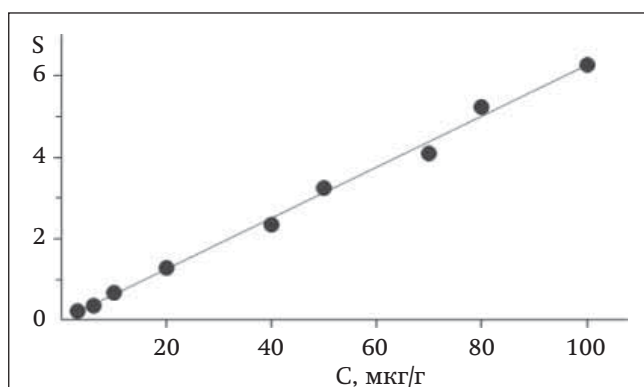


Рис. 4. Градуировочный график зависимости площади хроматографического пика (S) от концентрации 2-диметиламино-1,3-бис-(фенилсульфонилтио)-пропана в биологическом материале (C, мкг/г)

2-ДМА-1,3-бис-(ФСТ)П идентифицировали по времени удерживания (6,36±0,05), совпадающим со значением этого же параметра вещества-стандарта. Вид хроматограммы 2-ДМА-1,3-бис-(ФСТ)П, извлеченного из биоматериала, в присутствии внутреннего стандарта представлен на рис. 3.

Количественное содержание вещества рассчитывали по площади хроматографического пика, используя уравнение градуировочного графика.

Валидационные исследования предлагаемой методики проводили по параметрам линейности, правильности, прецизионности, селективности, пределов обнаружения и определения.

Оценка линейности. В каждом аналитическом цикле готовили модельные смеси биоматериала (ткань печени, размер частиц – 2–5 мм) и 2-ДМА-1,3-бис-(ФСТ)П с содержанием аналита 3,125, 6,25, 10, 20, 40, 50, 70, 80 и 100 мкг/г, которые оставляли на 1,5 ч при температуре 18–22°C. Затем изолировали 2-ДМА-1,3-бис-(ФСТ)П из искусственных смесей, очищали, идентифицировали и количественно определяли по вышеописанной схеме.

Для построения градуировочной модели использовали результаты 5 параллельных измерений каждой концентрации из 5 разных аналитических циклов. Рассчитанное уравнение регрессии (градуировочного графика) имеет вид:

$$S = k \cdot C + b = 0,062611 \cdot C - 0,000859,$$

где S – площадь хроматографического пика, C – концентрация 2-ДМА-1,3-бис-(ФСТ)П в биологическом объекте, мкг/г. Градуировочный график представлен на рис.4. Коэффициент корреляции (r) составляет 0,99766. Методика может считаться приемлемой по показателю линейности.

Отклонения найденных концентраций градуировочных смесей с тканью печени от истинного содержания в них 2-ДМА-1,3-бис-(ФСТ)П представлены в табл. 1.

Оценка правильности и прецизионности. Оценку правильности проводили одновременно с оцен-

Таблица 1

Отклонения найденных концентраций градуировочных смесей с тканью печени от истинного содержания в них 2-диметиламино-1,3-бис-(фенилсульфонилтио)-пропана

Истинное содержание вещества, мкг/г	3,125	6,25	10	20	40	50	70	80	100
Найденное содержание вещества, мкг/г	3,7085	5,7661	10,8545	20,5249	37,4864	51,8165	65,2609	83,6057	100,3516
Относительная погрешность, %	18,67	-7,74	8,55	2,62	-6,28	3,63	-6,77	4,51	0,35
Допустимые пределы: для наименьшей концентрации линейного диапазона – не более 20%, для остальных концентраций линейного диапазона – не более 15%									

кой прецизионности, используя объединенную выборку результатов анализа холостых образцов биоматрицы со стандартными добавками анализа. При этом готовили модельные смеси биоматериала (ткань печени, размер частиц – 2–5 мм) и 2-ДМА-1,3-бис-(ФСТ)П с нижним, средним и высоким уровнями концентрации аналита (соответственно 10, 40 и 80 мкг/г).

Приготовленные модельные смеси оставляли на 1,5 ч при температуре 18–22°C. По истечении данного промежутка времени образцы анализировали (проводили по 5 параллельных измерений) в течение 2 аналитических циклов (исследование в 1-й день и исследование в последующий день) в соответствии с описанной выше методикой. Количественное содержание 2-ДМА-1,3-бис-(ФСТ)П в образцах определяли по площади хроматографического пика, используя уравнение градуировочного графика, и пересчитывали на навеску. Результаты, полученные при определении правильности и прецизионности предлагаемой методики, свидетельствуют о соответствии методики оцениваемым критериям (табл. 2).

Оценка селективности. По 6 чистых образцов биоматериала и по 6 образцов биоматериала, в каждый из которых добавляли стандарт бенсультапа в диапазоне концентраций $1,0 \cdot 10^{-5}$ – $8,0 \cdot 10^5$ г/г. На хроматограммах образцов чистой ткани печени не наблюдалось пиков со значениями времени удерживания, совпадающих с временем удерживания аналита или близких к этому значению. Это подтверждает селективность методики.

Предел обнаружения 2-ДМА-1,3-бис-(ФСТ)П в биоматериале (ткани печени) составляет 2,5 мкг/г, *предел количественного определения* – 3,125 мкг/г.

Заключение

В качестве изолирующего агента для извлечения 2-диметиламино-1,3-бис-(фенилсульфонилтио)-пропана из биологического материала предложен этилацетат. Определены оптимальные параметры изолирования данным растворителем.

Предложена схема исследования тканей органов и крови с целью подтверждения присутствия в них рассматриваемого вещества на основе изолирования этилацетатом, очистки в колонке си-

Таблица 2

Оценка правильности и прецизионности методики определения 2-диметиламино-1,3-бис-(фенилсульфонилтио)-пропана в биоматериале с использованием нормальнофазовой ВЭЖХ

Внесено аналита, мкг		Исследование в 1-й день			Исследование в последующий день		
в 25 г биоматрицы	в 1 г биоматрицы	найденно, мкг, в 1 г биоматрицы	относительная погрешность, %	метрологические характеристики	найденно, мкг, в 1 г биоматрицы	относительная погрешность, %	метрологические характеристики
250	10	11,81	9,16	$\bar{x}=10,916$; $S=0,7496$; $S_x=0,3352$; $\Delta\bar{x}=0,9319$; $\bar{\varepsilon}=8,54$; $S_T=6,867\%$	10,63	6,66	$\bar{x}=10,666$; $S=0,7822$; $S_x=0,3498$; $\Delta\bar{x}=0,9724$; $\bar{\varepsilon}=9,12$; $S_T=7,336\%$
250	10	11,37		11,86			
250	10	9,97		10,04			
250	10	11,08		10,42			
250	10	10,35		9,88			
1000	40	36,39	-4,23	$\bar{x}=38,31$; $S=1,9402$; $S_x=0,8677$; $\Delta\bar{x}=2,4122$; $\bar{\varepsilon}=6,30$; $S_T=5,0645\%$	36,23	-8,36	$\bar{x}=36,658$; $S=1,8376$; $S_x=0,8218$; $\Delta\bar{x}=2,2846$; $\bar{\varepsilon}=6,23$; $S_T=5,013\%$
1000	40	39,52		38,10			
1000	40	38,19		34,61			
1000	40	36,54		38,98			
1000	40	40,91		35,37			
2000	80	79,56	5,37	$\bar{x}=84,294$; $S=3,6557$; $S_x=1,6349$; $\Delta\bar{x}=4,5450$; $\bar{\varepsilon}=5,39$; $S_T=4,3368\%$	73,85	-5,51	$\bar{x}=75,596$; $S=3,3881$; $S_x=1,5152$; $\Delta\bar{x}=4,2122$; $\bar{\varepsilon}=5,57$; $S_T=4,4819\%$
2000	80	89,37		77,54			
2000	80	84,68		75,49			
2000	80	82,37		71,13			
2000	80	85,49		79,97			

ликагеля L 40/100 мкм, идентификации и количественного определения методом ВЭЖХ. Методика отвечает необходимому уровню линейности, правильности, прецизионности, селективности. Пределы обнаружения и количественного определения составляют соответственно 2,5 и 3,125 мкг/г биоматериала.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

Литература/References

1. Bensultap. [Electronic resource]. Access mode: <http://docbook.blog.163.com/blog/static/208326047201262412227365> Accessed December 20, 2017.
2. Шорманов В.К., Баранов Ю.Н., Дурицын Е.П., Маслов С.В., Прониченко Е.И., Ганиев С.В. Судебно-химическое определение банкола. Судебно-медицинская экспертиза, 2010; 53 (6): 39–41. [Shormanov V.K., Baranov Yu.N., Duritsyn E.P., Maslov S.V., Pronichenko E.I., Ganiev S.V. Forensic chemical definition of the bankol. Sudebno-meditsinskaya ekspertiza, 2010; 53 (6): 39–41 (in Russian)].
3. Григорьев А.М., Мельник А.А., Рудакова Л.В. Идентификация и определение производных и продуктов метаболизма банкола методами ГЖХ-МС и ВЭЖХ для целей судебно-химического и химико-токсикологического анализа. Сорбционные и хроматографические процессы, 2008; 8 (5): 766–78. [Grigorev A.M., Melnik A.A., Rudakova L.V. Identification and determination of derivatives and products of the metabolism of bancol and methods of GLC-MS and HPLC for the purposes of forensic and chemical-toxicological analysis. Sorbtsionnyye i hromatograficheskie protsessyyi, 2008; 8 (5): 766–78 (in Russian)].
4. Civelek H.S., Çolak A.M. Effects of Some Plant Extracts and Bensultap on *Trichoferus griseus* (Fabricius, 1792) (Coleoptera: Cerambycidae). World Journal of Agricultural Sciences, 2008; 4 (6): 721–5.
5. Summary of Toxicity Studies on Bensultap. (Development Department, Plant Protection Research, AgroDivision, Taceda Chemical Industries, Ltd.). J. Pesticide Sci., 1989; 14 (4): 523–9.
6. Boorugu H.K., Chrispal A. Cartap hydrochloride poisoning: A clinical experience. Indian J. Crit. Care Med., 2012; 16 (1): 58–9.
7. Cao B.J., Chen Z.K., Chi Z.Q. Antidotal effects of sulfhydryl compounds on acute poisonings by sodium ammonium dimethyl-2-(propane-1,3-dithiosulfate) monohydrate, nereistoxin and cartap. Zhongguo Yao Li Xue Bao, 1990; 11: 180–4.
8. Kurisaki E., Kato N., Ishida T., Matsumoto A., Shinohara K., Hiraiwa K. Fatal human poisoning with Padan™: a cartap-containing pesticide. Clinical Toxicology, 2010; 48 (2): 153–5. <https://doi.org/10.3109/15563650903505166>.
9. Mikov M., Jecze M., Popovic J. Acute human poisoning with bensultap (Bancol). Arch. Toxicol. Kinet. Xenobiot. Metab., 1997; 5: 231–3.
10. Dasgupta S., Meisnera C., Wheelera D., Xuyen K., Lam N.T. Pesticide poisoning of farm workers—implications of blood test results from Vietnam. International Journal of Hygiene and Environmental Health, 2007; 210 (2): 121–32. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2006.08.006>
11. Namera A., Watanabe T., Yashiki M., Kojima T., Urabe T. Simple and Sensitive Analysis of Nereistoxin and Its Metabolites in Human Serum Using Headspace Solid-Phase Microextraction and Gas Chromatography–Mass Spectrometry. Journal of Chromatographic Science, 1999; 37: 77–82.
12. Шорманов В.К., Бельх Е.А., Баранов Ю.Н., Терских А.П. Особенности распределения банкола в организме теплокровных животных. Судебно-медицинская экспертиза, 2013; 56 (5): 34–7. [Shormanov V.K., Belykh E.A., Baranov Yu.N., Terskih A.P. Features of the distribution of bancol in the body of warm-blooded animals. Sudebno-meditsinskaya ekspertiza, 2013; 56 (5): 34–7 (in Russian)].
13. Баранов Ю.Н., Шорманов В.К., Коваленко Е.А., Цаца Е.П. Определение банкола в крови. III Международная научно-практическая конференция «Перспективы развития современной медицины»; Декабрь 11, 2016; Воронеж. [Электронное издание]. Режим доступа: <http://izron.ru/conference/med/iii-mezhdunarodnaya-nauchno-prakticheskaya-konfere16120.html>. Ссылка активна на 20.12.2017. [Baranov Yu.N., Shormanov V.K., Kovalenko E.A., Tsatsua E.P. Definition of the bancol in the blood. III Mezhdunarodnaya nauchno-prakticheskaya konferentsiya «Perspektivy razvitiya sovremennoy meditsiny»; Dekabr 11, 2016; Voronezh. [Electronic resource]. Access mode: <http://izron.ru/conference/med/iii-mezhdunarodnaya-nauchno-prakticheskaya-konfere16120.html>. Accessed December 20, 2017 (in Russian)].
14. Григорьев А.М., Недовизина Г.В., Пирожков М.В. Определение производных и метаболитов бенсультапа (банкола) хроматографическими методами. Судебно-медицинская экспертиза, 2009; 52 (5): 30–5. [Grigorev A.M., Nedovizina G.V., Pirozhkov M.V. Determination of derivatives and metabolites of bensultap (bancol) by chromatographic methods. Sudebno-meditsinskaya ekspertiza, 2009; 52 (5): 30–5 (in Russian)].
15. Guidance for Industry: Bioanalytical method validation. Washington, DC: HHS/ FDA/ CDER; 2001.
16. Guideline on validation of bioanalytical methods (draft). London: EMEA/CHMP/EWP; 2009.

Поступила 12 января 2018 г.