

ИЗУЧЕНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ 2,6-ДИ-ТРЕТ-БУТИЛ-4-МЕТИЛГИДРОКСИБЕНЗОЛА В БИОЛОГИЧЕСКОМ МАТЕРИАЛЕ

А.П. Чернова

к.х.н., доцент, отделение химической инженерии, Инженерная школа природных ресурсов, ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский политехнический университет» (г. Томск, Россия)
E-mail: ara2004@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0001-7002-492X>

М.К. Елизарова

к.фарм.н.,
ГБПОУ «Ейский медицинский колледж» Минздрава Краснодарского края (г. Ейск, Россия)
E-mail: goukchemk@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-8944-4358>

В.К. Шорманов

д.фарм.н., профессор, кафедра фармацевтической, токсикологической и аналитической химии, ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Курск, Россия)
E-mail: R-WLADIMIR@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0001-8872-0691>

О.И. Пугачёва

аспирант, кафедра фармацевтической, токсикологической и аналитической химии, ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Курск, Россия)
E-mail: Inpugacheva@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0002-2074-0423>

Цель работы – изучение устойчивости 2,6-ди-трет-бутил-4-метилгидроксибензола в биологическом материале.

Методы. Исследования выполняли методами ГХ-МС, ТСХ и УФ-спектрофотометрии. Соединение 2,6-ди-трет-бутил-4-метилгидроксибензол изолировали из биоматрицы (ткани печени) настаиванием со смесью этилацетат-ацетон (7:3). Очистку анализа проводили, сочетая экстракцию (система вода-этилацетат) и колоночную полупрепаративную хроматографию (сорбент – силикагель L 40/100 мкм, элюент – гексан-ацетон (9,5:0,5)),

Результаты. Установлено, что при $-22\text{ }^{\circ}\text{C}$, $2\text{ }^{\circ}\text{C}$, $10\text{ }^{\circ}\text{C}$, $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ и $30\text{ }^{\circ}\text{C}$. 2,6-ди-трет-бутил-4-метилгидроксибензол сохраняется в биоматериале соответственно в течение 469, 371, 315, 301 и 259 суток. Изучена возможность математического описания динамики разложения анализа в биоматериале при указанных температурах с помощью уравнения гиперболы. Коэффициенты в уравнении гиперболы (k_{cp}), рассчитанные по результатам эксперимента, для температур $-22\text{ }^{\circ}\text{C}$, $2\text{ }^{\circ}\text{C}$, $10\text{ }^{\circ}\text{C}$, $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ и $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ составили соответственно 11415, 7508, 4983, 3696 и 2156. Обнаружена линейная зависимость k_{cp} от температуры сохранения t° , которая описывается уравнением $k_{cp} = 182,24(50 - t^{\circ}) - 1702,36$.

Выводы. Изучена динамика разложения 2,6-ди-трет-бутил-4-метилгидроксибензола в ткани печени при $-22\text{ }^{\circ}\text{C}$ – $+30\text{ }^{\circ}\text{C}$, которая может быть описана уравнением гиперболы. Показана возможность прогнозирования характера устойчивости анализа в биоматериале в указанном температурном диапазоне.

Ключевые слова: 2,6-ди-трет-бутил-4-метилгидроксибензол, биологический материал, сохраняемость, описание динамики разложения, прогнозирование устойчивости.

Для цитирования: Чернова А.П., Елизарова М.К., Шорманов В.К., Пугачёва О.И. Изучение устойчивости 2,6-ди-трет-бутил-4-метилгидроксибензола в биологическом материале. Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2022;25(1):21–27. <https://doi.org/10.29296/25877313-2022-01-03>

2,6-Ди-трет-бутил-4-метилгидроксибензол (2,6-di-tert-butyl-4-methylphenol (ИЮПАК), 2,6-di-tert-butyl-p-cresol, butylated hydroxytoluene, дибунол, ионол) (далее – 2,6-ДТБ-4-МГОб) – соединение, проявляющее антиоксидантное действие [1–3].

Описан защитный эффект 2,6-ДТБ-4-МГОб на функцию сперматозоидов в сперме человека, криоконсервированной методом витрификации, а также позитивное влияние рассматриваемого соединения

на динамику движения сперматозоидов собак после оттаивания [4, 5]. Соединение 2,6-ДТБ-4-МГОб используется при производстве пищевых продуктов и косметики, а также в органическом синтезе [6–9]. Установлено действие данного вещества в качестве антибиотикопреночного агента [10].

Соединение 2,6-ДТБ-4-МГОб обнаружено как продукт жизнедеятельности в природном источнике *Litchi chinensis Sonn* [11].

2,6-ДТБ-4-МГОБ (молярная масса 220,35) – это кристаллическая, не обладающая окраской субстанция со слабым характерным запахом, плавящаяся при температуре 70–71 °С; $pK_a = 12,2$ (20 °С), $\log P_{ow} = 5,1$. Данное соединение растворяется в воде в количествах, (мг/л): 0,4 при 20 °С; 0,6 при 25 °С; 1,5 при 30 °С; 6,0 при 60 °С. Растворимость его в н-гептане составляет, (%): 55,9 (29,5 °С), в этаноле – 34 (28,7 °С), в 1-октаноле – 31,1 (29,5 °С). Также 2,6-ДТБ-4-МГОБ растворим в толуоле, бензоле, метилэтилкетоне, ацетоне, целлозольве, петролейном эфире, жидком вазелине, льняном масле, нерастворим в пропиленгликоле [1, 12].

Как и ряд других полиалкилфенолов, 2,6-ДТБ-4-МГОБ в отношении теплокровных проявляет токсические свойства. Установлено, что LD_{50} 2,6-ДТБ-4-МГОБ для мышей при пероральном введении – 650 мг/кг, при интравенозном – 180 мг/кг, при интраперитонеальном – 138 мг/кг, для крыс при пероральном введении – 890 мг/кг; $TDLo$ для людей (женщины) – 85 мг/кг (пероральное введение) [1].

В сообщениях отечественных и иностранных исследователей приводятся данные об острых, в том числе и летальных, отравлениях рассматриваемым веществом и близкими по структуре полиалкилфенолами [13, 14].

Эти факты позволяют оценить 2,6-ДТБ-4-МГОБ как важный объект судебно-химического исследования. Отдельные направления химико-токсикологического анализа 2,6-ДТБ-4-МГОБ остаются мало разработанными. К их числу можно отнести вопросы сохраняемости аналита в биоматериале.

Цель исследования – изучение устойчивости 2,6-ДТБ-4-МГОБ в биологическом материале.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Объект проведенного исследования – 2,6-ди-*трет*-бутил-4-метилгидроксibenзол (2,6-ДТБ-4-МГОБ), выпущенный фирмой «Acros organics» (США) и содержащий 99,8% основного вещества.

Моделью биоматрицы являлась ткань печени (измельчение – 2–4 мм), используя которую готовили искусственные смеси с аналитом (измельчение – 5–40 мкм), содержание которого в биоматериале составляло 0,1%. Искусственные смеси сохраняли при –22 °С, 4 °С, 12 °С, 20 °С и 30 °С. В этих же температурных режимах сохраняли

контрольную биоматрицу (измельчение – 2–4 мм). В процессе сохранения искусственные смеси и контрольную биоматрицу через определённые временные интервалы исследовали на наличие аналита с одновременной оценкой его количественного содержания.

Соединение 2,6-ДТБ-4-МГОБ в сохраняемом биоматериале идентифицировали и количественно определяли по следующей методике.

Биологический объект в количестве 5 г подвергали настаиванию со смесью этилацетат–ацетон (7:3 по объёму) (10 г×2; время отдельного настаивания – 1/2 ч). Извлечения помещали в выпарительную чашку и испаряли растворители в токе воздуха (18–22 °С).

Остаток растворяли в 10 мл хлороформа, раствор экстрагировали 0,37% HCl (20 мл ×2), экстракт встряхивали 3 мин с 40 мл диэтилового эфира, эфирный слой удаляли, в водный слой вносили 3,6 г NaCl, pH полученного раствора увеличивали до 8–9 10%-ным раствором NaOH, затем экстрагировали этилацетатом (40 мл ×2), а экстракт испаряли при 18–22 °С в токе воздуха.

Остаток растворяли в 2–3 мл смеси гексан–ацетон (9,5:0,5), раствор вносили в полупрепаративную (190×10 мм) колонку силикагеля L 40×100 мкм и элюировали смесью гексан–ацетон (9,5:0,5). Элюат собирали фракциями по 2 мл. Фракции, в которых мог содержаться 2,6-ДТБ-4-МГОБ (с 5 по 8 (9–16 мл)), сливали в выпарительную чашку, а элюент испаряли [14, 15].

Остаток обрабатывали 5–8 мл хлороформа, раствор количественно переносили в мерную колбу (объём 10 мл) и доводили уровень содержимого колбы хлороформом до метки (раствор для исследования).

В выпарительные чашки 1 и 2 вносили по 0,5–2,5 мл раствора для исследования, растворитель испаряли.

Остаток в чашке 1 растворяли в 4 мл хлороформа; 4 мкл этого раствора исследовали методом ГХ-МС. Пробу вводили с делением потока 1:2. В работе использовали прибор «Agilent Technologies» модели 6850 Network с масс-селективным детектором модели 5973 Network. Хроматографировали в колонке «DB-5 ms EVIDEX» (25 м × 0,2 мм) с неподвижной фазой 5%-фенил-95%-метил-полисилоксан толщиной 0,33 мкм. Условия определения: температура инжектора – 250 °С, интерфейса детектора – 300 °С, квадруполя – 150 °С; начальную температуру колонки (70 °С) выдерживали

вали 3 мин, затем повышали до 290 °С со скоростью 20 °С/мин, газ-носитель – гелий, его скорость 0,6 мл/мин, способ фрагментации молекул – электронный удар (70 эВ), диапазон сканирования – 40–400 m/z (режим регистрации – по полному ионному току).

Аналит идентифицировали по времени удерживания (10,52 мин) и группе сигналов заряженных частиц (m/z) в масс-спектре (41, 57, 91, 105, 115, 145, 177, 205 (базовый ион) и 220 (молекулярный ион)).

Остаток в чашке 2 растворяли в 0,2–0,4 мл этилацетата, количественно переносили на линию старта пластины «Сорбфил» ПТСХ-АФ-А-УФ и хроматографировали, применяя подвижную фазу хлороформ-бензол (9:1). Хроматограммы проявляли в УФ-свете, аналит идентифицировали по величине R_f (0,75±0,04).

Аналит вымывали из сорбента 5 (10) мл 95% этанола 1/4 ч. Элюат спектрофотометрировали (прибор СФ-2000; $l=10$ мм) в области 200–360 нм, идентифицируя аналит по форме спектральной линии и точкам максимумов (λ_{max} , нм = 208 и 279).

По оптической плотности, измеряемой при 279 нм, рассчитывали количество 2,6-ДТБ-4-МГОБ в биоматериале, используя уравнение градуировочного графика: $A = 0,009882 \cdot C - 0,004147$, где A – оптическая плотность, C – концентрация аналита (мкг/мл) в фотометрируемом образце.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты определения уровня содержания аналита в биоматрице в разные сроки сохранения биоматериала при выбранных температурах графически представлены на рис. 1 и 2. Как следует из рисунков, длительность сохранения 2,6-ДТБ-4-МГОБ в ткани печени при температурах –22 °С, 2 °С, 10 °С, 20 °С и 30 °С составляют соответственно 469, 371, 315, 301 и 259 суток.

Была предпринята попытка описания и возможного прогнозирования динамики разложения 2,6-ДТБ-4-МГОБ в биоматериале на основе определённой математической модели. Установлено, что, начиная приблизительно с момента, соответствующего времени полуразложения первоначально определённого (в первые сутки сохранения) количества аналита в биоматрице, кривая зависимости содержания 2,6-ДТБ-4-МГОБ в искусственных смесях от длительности сохранения смесей при определённой температуре приближается

к форме гиперболы и, очевидно, может быть описана её уравнением $y = k/x$, которое применительно к данному случаю имеет вид:

$$R, \% = \frac{k}{t_c}$$

где $R, \%$ – содержание аналита в сохраняемом биоматериале; t_c – продолжительность сохранения (сутки); k – коэффициент в уравнении гиперболы.

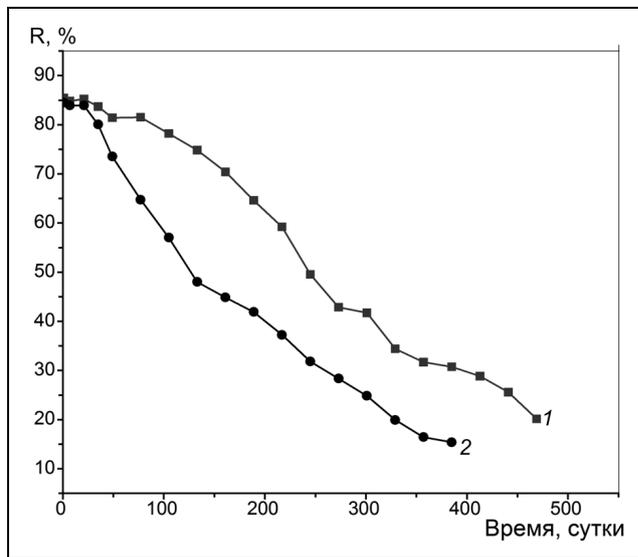


Рис. 1. Результаты определения содержания (R, %) 2,6-ди-трет-бутил-4-метилгидроксibenзола в биологическом материале в условиях сохранения при температурах –22 °С (1) и 2 °С (2)

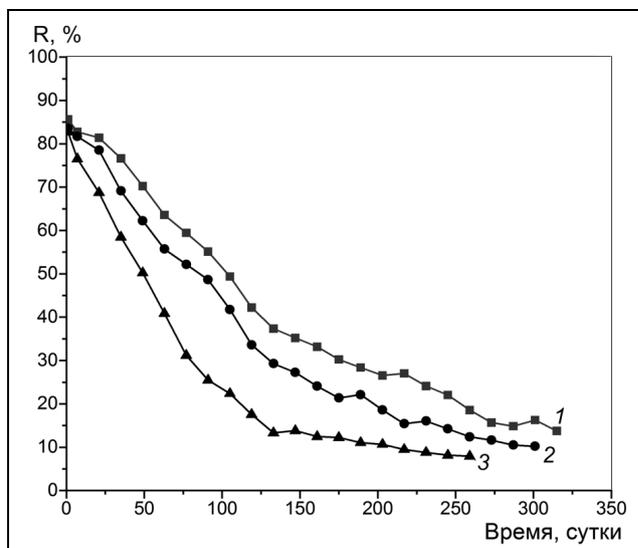


Рис. 2. Результаты определения содержания (R, %) 2,6-ди-трет-бутил-4-метилгидроксibenзола в биологическом материале в условиях сохранения при температурах 10 °С (1), 20 °С (2) и 30 °С (3)

Исходя из результатов изучения зависимости уровня содержания (R, %) 2,6-ДТБ-4-МГОб в биоматрице от продолжительности (t_c , сутки) сохранения биоматериала при определённой температуре (5 параллельных опытов), рассчитывали значение коэффициента k для каждой точки графика зависимости. Из всей совокупности n единичных значений k_i находили среднее значение

k_{cp} и вычисляли отклонение (в виде относительной погрешности ε , %) каждого единичного значения от среднего (k_{cp}) по формуле:

$$\varepsilon, \% = \frac{(k_i - k_{cp}) \cdot 100\%}{k_{cp}}$$

Результаты представлены в табл. 1 и 2.

Таблица 1. Характеристики графиков гиперболической зависимости уровня содержания 2,6-ди-трет-бутил-4-метилгидроксibenзола в биоматрице от продолжительности сохранения при температурах -22 и 2 °C

Показатель	Значение							
Сохранение при -22 °C								
t_c , сутки	273	301	329	357	385	413	441	469
R, %	42,87	41,72	34,42	31,08	31,18	28,83	25,57	20,15
k_i	11704	12558	11324	11096	12004	11909	11276	9450
k_{cp}	11415							
ε , %	2,53	10,01	0,79	-2,80	5,16	4,32	-1,21	-17,21
Сохранение при 2 °C								
t_c , сутки	175	203	231	259	287	315	343	371
R, %	43,34	40,67	34,19	30,46	27,51	24,57	18,71	17,21
k_i	7585	8256	7898	7889	7895	7740	6418	6385
k_{cp}	7508							
ε , %	1,02	9,96	5,19	5,08	5,16	3,08	-14,53	-14,96

Примечание: t_c – продолжительность сохранения; R – содержание аналита в биоматрице; k_i – коэффициент в уравнении гиперболы для отдельной точки графика; k_{cp} – среднее значение коэффициента для выборки из n значений k_i ; ε – относительная погрешность (отклонение k_i от k_{cp})

Таблица 2. Характеристики графиков гиперболической зависимости уровня содержания 2,6-ди-трет-бутил-4-метилгидроксibenзола в биоматрице от продолжительности сохранения при температурах 10 °C, 20 °C и 30 °C

Показатель	Значение							
Сохранение при 10 °C								
t_c , сутки	119	147	175	203	231	259	287	315
R, %	42,23	35,21	30,25	26,53	24,12	18,57	14,86	13,76
k_i	5025	5176	5294	5382	5572	4810	4265	4334
k_{cp}	4983							
ε , %	0,86	3,88	6,04	8,00	11,82	-3,47	-14,41	-13,01
Сохранение при 20 °C								
t_c , сутки	105	133	161	189	217	245	273	301
R, %	41,76	29,29	24,07	22,14	15,42	14,22	11,64	10,21
k_i	4385	3896	3875	4185	3346	3484	3178	3216
k_{cp}	3696							
ε , %	18,65	5,41	4,87	13,23	-9,45	-5,73	-14,01	-12,97
Сохранение при 30 °C								
t_c , сутки	63	91	119	147	175	203	231	259
R, %	40,86	25,48	17,54	13,82	12,23	10,68	8,79	7,92
k_i	2574	2319	2087	2032	2140	2168	2031	1896
k_{cp}	2156							
ε , %	19,40	7,56	-3,18	-5,76	-0,72	0,57	-5,81	-12,06

Примечание: см. табл. 1.

Как свидетельствуют данные табл. 1 и 2, рассчитанные значения относительной погрешности не превышают $\pm 20\%$.

Значения k_{cp} в уравнениях гиперболы, описывающих динамику разложения 2,6-ДТБ-4-МГОБ, в биоматериале при температурах сохранения $-22\text{ }^{\circ}\text{C}$, $2\text{ }^{\circ}\text{C}$, $10\text{ }^{\circ}\text{C}$, $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ и $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ составляют соответственно 11415, 7508, 4983, 3696 и 2156.

По результатам расчёта значений k_{cp} строили график зависимости k_{cp} от температуры сохранения биоматериала t° . Установлено, что в рассматриваемом температурном интервале ($-22\text{ }^{\circ}\text{C}$ – $+30\text{ }^{\circ}\text{C}$) подобная зависимость для 2-МО-4-(2-П)ГОБ в целом близка к линейной форме и может быть описана уравнением прямой линии $y = a \cdot x + b$ или применительно к данному случаю $k_{cp} = a(50 - t^{\circ}) + b$, где k_{cp} – коэффициент в уравнении гиперболы; t° – температура сохранения; 50 – постоянное число, при вычитании из которого значений температуры сохранения удаётся получить числовые значения, с которыми в прямо пропорциональной зависимости находятся значения коэффициента k_{cp} в уравнении гиперболы.

С учётом рассчитанных методом наименьших квадратов параметров a и b данное уравнение имеет вид: $k_{cp} = 182,24(50 - t^{\circ}) - 1702,36$. Основываясь на этом уравнении, возможно прогнозирование особенностей процесса разложения 2,6-ДТБ-4-

МГОБ в биоматериале (ткань печени) при той или иной температуре, входящей в изученный температурный интервал. Для этого вначале находится значение k_{cp} , соответствующее интересующей нас температуре, затем на основе найденного коэффициента k_{cp} рассчитывается гиперболическая кривая теоретической зависимости уровня содержания аналита (R , %) от продолжительности сохранения (t_c , сутки).

На основе разработанного подхода был осуществлён прогноз динамики разложения аналита в ткани печени при температуре $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$, находящейся в изученном температурном интервале. Подставив в выведенное уравнение линейной зависимости значение $t^{\circ} = -10\text{ }^{\circ}\text{C}$, находили k_{cp} (коэффициент в уравнении гиперболы), который оказался равным 9232. Исходя из величины k_{cp} , рассчитывали гиперболу – математическую модель зависимости содержания 2,6-ДТБ-4-МГОБ в биоматрице (R , %) от продолжительности сохранения биоматериала (t_c , сутки).

Проведено сравнение теоретической (прогнозируемой) зависимости уровня содержания аналита в биоматериале при $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ от продолжительности сохранения (гиперболическая модель) с результатами изучения сохраняемости 2,6-ДТБ-4-МГОБ, полученными в эксперименте при этой же температуре (см. табл. 3).

Таблица 3. Сравнение прогнозируемого и найденного экспериментально уровня 2,6-ди-трет-бутил-4-метилгидроксibenзола в биоматрице для режима сохранения при $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$

Продолжительность сохранения t_c , сутки	Прогнозируемое содержание аналита в биоматрице $R_{п}$, %	Экспериментально найденное содержание аналита в биоматрице $R_{э}$, %	Отклонение (относительная погрешность ϵ) экспериментально найденных значений от прогнозируемых, %
217	42,54	49,64	16,69
245	37,68	40,19	6,66
273	33,82	32,53	-3,81
301	30,67	33,07	7,83
329	28,06	28,82	2,71
357	25,86	23,45	-9,32
385	23,98	22,26	-7,17
413	22,35	22,61	1,16
441	20,93	19,79	-6,40
469	19,68	17,36	-11,79

Как свидетельствуют полученные данные, во временном диапазоне, начиная с времени разложения первоначально определённого количества аналита (217 суток) и до 469 суток сохранения, различия между значениями уровня содержания, рассчитанные теоретически (гиперболическая кривая), и соответствующими значениями этой же величины, полученными в эксперименте, составляют не более чем $\pm 17\%$.

ВЫВОДЫ

1. Изучена устойчивость 2,6-ДТБ-4-МГОБ в биологическом материале (ткань печени) при температурах: $-22\text{ }^{\circ}\text{C}$, $2\text{ }^{\circ}\text{C}$, $10\text{ }^{\circ}\text{C}$, $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ и $30\text{ }^{\circ}\text{C}$. Продолжительность сохранения аналита при этом составила соответственно 469, 371, 315, 301 и 259 суток.

2. Установлено, что процесс разложения 2,6-ДТБ-4-МГОБ в биоматериале при указанных температурах может быть математически описан уравнением гиперболы.

Рассчитанные по результатам эксперимента коэффициенты в уравнении гиперболы (k_{cp}) для температур $-22\text{ }^{\circ}\text{C}$, $2\text{ }^{\circ}\text{C}$, $10\text{ }^{\circ}\text{C}$, $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ и $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ равны соответственно 11415, 7508, 4983, 3696 и 2156.

3. На основе вычисленных значений k_{cp} рассчитано уравнение выявленной линейной зависимости k_{cp} от температуры сохранения t° , имеющее вид: $k_{cp} = 182,24(50 - t^{\circ}) - 1702,36$.

Показана возможность применения этого уравнения для прогнозирования процесса разложения 2,6-ДТБ-4-МГОБ в биоматериале при заданной температуре в интервале $-22\text{ }^{\circ}\text{C} - +30\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflicts of interest.

ЛИТЕРАТУРА

- 1 Butylated hydroxytoluene. PubChem. Open chemistry database. Available at: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Butylated-hydroxytoluene>. Accessed Oktober 26, 2021.
- 2 Yehye W.A., Rahman N.A., Ariffin A. et al. Understanding the chemistry behind the antioxidant activities of butylated hydroxytoluene (BHT): A review. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2015; 101: 295–312. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2015.06.026>.
- 3 Zhou Z., Wu J., Liu K. et al. Electrochemical Behavior of the Antioxidant 2,6-Di-tert-butyl-4-methylphenol in an Electrolyte Containing Transformer Oils. *CSJ Journals*. 2017; 46(3): 323–326. <https://doi.org/10.1246/cl.161003>.
- 4 Sun L., Wu C., Xu J. et al. Addition of butylated hydroxytoluene (BHT) in tris-based extender improves post-thaw quality and motion dynamics of dog spermatozoa. *Cryobiology*. 2020; 97: 71–75. <https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2020.10.006>.
- 5 Merino O., Aguagüiña W.E., Esponda P. et al. Protective effect of butylated hydroxytoluene on sperm function in human spermatozoa cryopreserved by vitrification technique. *Andrologia*. 2015; 47: 186–193. <https://doi.org/10.1111/and.12246>.
- 6 Wang W., Kannan K. Quantitative identification of and exposure to synthetic phenolic antioxidants, including butylated hydroxytoluene, in urine. *Environment international*. 2019; 128: 24–29. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.04.028>.
- 7 Prishchenko A.A., Livantsov M.V., Novikova O.P. et al. Synthesis of organophosphorus derivatives of 2,6-di-tert-butyl-4-methylphenol. *Heteroatom Chemistry*. 2008; 19(5): 490–494. <https://doi.org/10.1002/hc.20458>.
- 8 Bhardwaj V., Chauhan S., Sharma P. Probing effect of lipophilic butylated hydroxytoluene on anionic surfactant properties for potential food and pharmaceutical applications: Thermo-acoustic and spectroscopic study. *Fluid Phase Equilibria*. 2014; 373: 63–71. <https://doi.org/10.1016/j.fluid.2014.03.032>.
- 9 Festjens N., Kalai M., Smet J. et al. Butylated hydroxyanisole is more than a reactive oxygen species scavenger. *Cell Death Differentiation*. 2006; 13: 166–169. <https://doi.org/10.1038/sj.cdd.4401746>.
- 10 Santhakumari S., Jayakumar R., Logalakshmi R. et al. In vitro and in vivo effect of 2,6-Di-tert-butyl-4-methylphenol as an antibiofilm agent against quorum sensing mediated biofilm formation of *Vibrio* spp. *International journal of food microbiology*. 2018; 281: 60–71. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.05.024>.
- 11 Jiang G., Lin S., Wen L. et al. Identification of a novel phenolic compound in litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) pericarp and bioactivity evaluation. *Food Chemistry*. 2013; 136(2): 563–568. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.08.089>.
- 12 Opinion Butylated Hydroxytoluene (BHT). Scientific Committee on Consumer Safety. European Union, 2021. Available at: https://ec.europa.eu/health/sites/default/files/scientific_committees/consumer_safety/docs/sccs_o_257.pdf. Accessed Oktober 26, 2021.
- 13 Шорманов В.К., Асташкина А.П., Останин М.А. и др. Особенности распределения 4-метоксигидроксибензола в организме теплокровных животных при летальных отравлениях. *Судебно-медицинская экспертиза*. 2016; 59(4): 48–53.
- 14 Шорманов В.К., Пугачёва О.И., Асташкина А.П., Цацуа Е.П. Особенности распределения 2,6-ди-*трет*-бутил-4-метилгидроксибензола в организме теплокровных животных. *Судебно-медицинская экспертиза*. 2016; 59(1): 29–34.
- 15 Шорманов В.К., Коваленко Е.А., Дурицын Е.П. Определение фурадана в биологических жидкостях. *Судебно-медицинская экспертиза*. 2005; 48(5): 36–39.

Поступила 29 октября 2021 г.