

УДК 543.544

АНАЛИЗ ПРОДУКТОВ СИНТЕЗА N-ФОСФОНОМЕТИЛГЛИЦИНА МЕТОДОМ ВЭЖХ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОГО ДЕТЕКТОРА

© А. А. Италмасова^{1*}, Ю. Е. Сапожников², Г. М. Казбулатова¹,
А. Д. Бадикова¹, И. Е. Алехина¹

¹Башкирский государственный университет
Россия, Республика Башкортостан, 450076 г. Уфа, ул. Заки Валиди, 32.

²Научно-исследовательский технологический институт гербицидов
и регуляторов роста растений
Россия, Республика Башкортостан, 450112 г. Уфа, ул. Ульяновых, 65.

*Email: badikova_albina@mail.ru

Авторами разработана методика анализа продуктов синтеза N-фосфонометилглицина методом ВЭЖХ при использовании спектрофотометрического детектора. Показано, что использование спектрофотометрического детектора на колонке Senaron – C₁₈ (250×4.1 мм) с дополнительным вовлечением фенилизотиоцианата на стадии дериватизации обеспечивает высокую эффективность, как по чувствительности, так и по селективности разделения продуктов синтеза N-фосфонометилглицина.

Ключевые слова: N-фосфонометилглицин, высокоэффективная жидкостная хроматография, спектрофотометрический детектор, предколоночная дериватизация.

Введение

В настоящее время широко используются аминокислоты в качестве сырья для производства биологически активных соединений [1].

Для промышленного синтеза N-фосфонометилглицина используют глицин, дикетопиперазин, в этом случае полупродуктом является иминодиуксусная кислота [2]. Для анализа производных аминокислот применяют тонкослойную хроматографию, колориметрию, газовую и высокоэффективную жидкостную хроматографию. Некоторые из этих методов недостаточно точны и селективны, другие – требуют сложного аппаратного оформления, метод ВЭЖХ может быть использован для данных продуктов, однако есть проблемы при разделении компонентов [3].

Целью данной работы является разработка методики анализа продуктов синтеза N-фосфонометилглицина методом ВЭЖХ при использовании спектрофотометрического детектора.

Экспериментальная часть

В качестве объектов исследования использовались исходные, промежуточные и конечные продукты синтеза N-фосфонометилглицина. Для приготовления растворов и элюента применяли бидистиллированную дегазированную воду, а также ацетонитрил и орто-фосфорную кислоту.

Предколоночная дериватизация заключалась в переводе аминокислоты в основную форму смесью «0.015 н NaOH : триэтиламин» в соотношении – «1:2». Далее к полученным основным формам прибавляли 10% – ный раствор фенилизотиоцианат (ФИТЦ) в ацетонитриле (фенилизотиоцианата). Растворители и избыток ФИТЦ удаляли сушкой под вакуумом при комнатной температуре.

Анализ осуществляли на приборе ВЭЖХ фирмы Shimadzu, LC10-AS со спектрофотометрическим детектором SPD-10A и интегратором Chromatopac C-R6. Использовали колонки: обращенная фаза Senaron SG C₁₈ (250 × 4.1 мм), Ultrasil Ax (250 × 4.6 мм). В качестве подвижной фазы (элюент) применяли смесь «ацетонитрил : 0.01 н водный раствор ортофосфорной кислоты» в объемном соотношении «27 : 73», доведенную до pH = 1.95 0.005 М раствором ортофосфорной кислоты. Скорость потока элюента составляла 0.8 мл/мин и 0.5 мл/мин. Детектирование проводилось при длинах волн 254 нм и 190 нм.

Результаты и обсуждение

На первом этапе работы анализ продуктов синтеза N-фосфонометилглицина проводили методом ВЭЖХ с использованием спектрофотометрического детектора при получении производных на колонке Senaron SG C₁₈ (250 × 4.1 мм). В качестве реагента для получения производных аминокислот применили фенилизотиоцианат, позволяющий ввести в молекулу удобный хромофор, который можно использовать при дериватизации не только аминокислоты, но и вторичных аминов. Хорошего разделения всех продуктов синтеза N-фосфонометилглицина удалось достигнуть на колонке с обращенной фазой с применением элюента «ацетонитрил : 0.01 н водный раствор ортофосфорной кислоты» в объемном соотношении «27 : 73» при длине волны 254 нм (рис. 1).

На основании времен удерживания чистых веществ, были идентифицированы компоненты смеси. Рассчитаны хроматографические параметры, которые представлены в табл. 1.

Как видно из табл. 1, эффективность колонки выше 3000 позволяет достичь высокой эффективности разделения исследуемых компонентов.

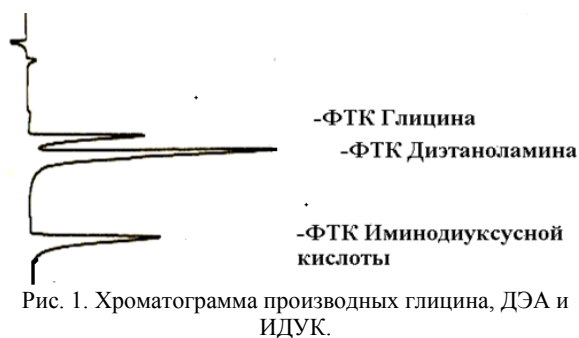


Рис. 1. Хроматограмма производных глицина, ДЭА и ИДУК.

Таблица 1

Хроматографические параметры разделения производных продуктов синтеза N-фосфонометилглицина на колонке Сепарон – С₁₈

Хроматографические параметры	Глицин	ДЭА	ИДУК
Коэффициент емкости	2.56	2.89	4.57
Число теоретических тарелок	3008	3062	7591
Фактор асимметрии пика	0.5	1.0	0.8
Время удерживания	9.317	10.537	16.650

Анализ продуктов синтеза N-ФМГ без получения производных рождает проблему разделения компонентов реакционной массы. При прямом детектировании невозможно разделение исследуемых соединений на обращено-фазных колонках, так как у них малые времена удерживания. Поэтому использовали ионообменные хроматографические фазы при длине волны 190 нм.

Использование колонки, заполненной сорбентом Ultrasil Ax, позволяет получить хорошее разделение пиков, но согласно данным, представленным в табл. 2, нами выявлено, что данный способ не позволяет достичь более высокой эффективности для глицина и ДКПП.

Таким образом, анализ продуктов синтеза N-фосфонометилглицина методом высокоэффективной жидкостной хроматографии при использовании спектрофотометрического детектора на колонке Сепарон – С₁₈ (250×4.1 мм) с дополнительным вовлечением фенилизотиоцианата на стадии

дериватизации показал высокую эффективность, как по чувствительности, так и по селективности разделения.



Рис. 2. Хроматограмма разделения продуктов синтеза N-фосфонометилглицина.

Таблица 2

Хроматографические параметры разделения продуктов синтеза N-фосфонометилглицина на колонке Ultrasil Ax

Хроматографические параметры	Глицин	ДКПП	N-ФМГ
Коэффициент емкости	1.629	1.986	2.851
Число теоретических тарелок	721	744	2209
Фактор асимметрии пика	0.8	0.9	0.6
Время удерживания	5.708	6.958	9.438

ЛИТЕРАТУРА

1. Симонян А. В., Саламатов А. А., Покровская Ю. С., Аванесян А. А. Использование нингидриновой реакции для количественного определения α-аминокислот в различных объектах // Методические рекомендации. Волгоград: Волгогр. мед. ун-т. 2007. С. 106.
2. Грибовский А. Г., Макашкин Л. Л., Адонин Н. Ю., Приходько С. А., Пай З. П., Пармон В. Н. Синтез иминодиуксусной кислоты в микроканальном реакторе // Катализ в химической и нефтехимической промышленности. 2012. №5. С. 23.
3. Буранбаева Р. С., Лобов А. Н., Грабовский С. А., Иванов С. П. Анализ продуктов метилирования 5-фторурацила диметилсульфатом в водных щелочных растворах методами ВЭЖХ и ЯМР-спектроскопии. Вестник Башкирского университета. 2017. Т. 22. №1. С. 48–52.

Поступила в редакцию 15.05.2017 г.

**ANALYSIS OF SYNTHESIS PRODUCTS OF N-PHOSPHONOMETHYL
GLYCIN BY HPLC METHOD WITH THE USE
OF SPECTROPHOTOMETRIC DETECTOR**

© **A. A. Italmasova^{1*}, Yu. E. Sapozhnikov², G. M. Kazbulatova¹,
A. D. Badikova¹, I. E. Alekhina¹**

¹*Bashkir State University
32 Zaki Validi Street, 450076 Ufa, Republic of Bashkortostan, Russia.*

²*Scientific-Research Technical Institute of Herbicides
and Plant Growth Regulators
65 Ulyanovych Street, 400029 Ufa, Republic of Bashkortostan, Russia.*

**Email: badikova_albina@mail.ru*

For the analysis of the derivatives of amino acids, thin-layer chromatography, colorimetry, gas and high performance liquid chromatography are used. However, some of these methods are not selective or precise enough while others require complicated instrumentation. The HPLC method is one of the most suitable options, but there is a problem of separating the components. The authors developed a technique for analyzing the products of N-phosphonomethylglycine synthesis by HPLC with the use of a spectrophotometric detector. As a reagent for the preparation of amino acid derivatives, phenyl isothiocyanate was used, which makes it possible to insert into the molecule a convenient chromophore, which can be used in the derivatization of not only the amino acid but also the secondary amines. The eluent was selected, the components were identified, and chromatographic separation parameters of the N-phosphonomethylglycine synthesis products were calculated on a Cenapon-C₁₈ column. It is shown that the use of a spectrophotometric detector on a Cenapon-C₁₈ column (250 × 4.1 mm) with the additional application of phenyl isothiocyanate on the derivatization stage provides high efficiency in both sensitivity and selectivity of separation of N-phosphonomethylglycine synthesis products.

Keywords: N-phosphonomethylglycine, high performance liquid chromatography, spectrophotometric detector, pre-columnar derivatization.

Published in Russian. Do not hesitate to contact us at bulletin_bsu@mail.ru if you need translation of the article.

REFERENCES

1. Simonyan A. V., Salamatov A. A., Pokrovskaya Yu. S., Avanesyan A. A. Metodicheskie rekomendatsii. Volgograd.: Volgogr. med. un-t. 2007. Pp. 106.
2. Gribovskii A. G., Makarshin L. L., Adonin N. Yu., Prikhod'ko S. A., Pai Z. P., Parmon V. N. Kataliz v khimicheskoi i neftekhimicheskoi promyshlennosti. 2012. No. 5. Pp. 23.
3. Buranbaeva R. S., Lobov A. N., Grabovskii S. A., Ivanov S. P. Analiz produktov metilirovaniya 5-floruratsila dimetilsul'fatom v vodnykh shchelochnykh rastvorakh metodami VEZhKh i YaMR-spektroskopii. Vestnik Bashkirskogo universiteta. 2017. Vol. 22. No. 1. Pp. 48–52.

Received 15.05.2017.