

**ИССЛЕДОВАНИЕ N-МЕТИЛОЛЬНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ АЛЛАНТОИНА МЕТОДОМ  
ТОНКОСЛОЙНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ**

В. А. Протазова, О. В. Татаренко, Д. А. Кургачев

Научный руководитель: профессор, д. х. н. А. А. Бакибаев

Национальный исследовательский Томский государственный университет,

Россия, г. Томск, пр. Ленина, 36, 634050

E-mail: [protazovavika@mail.ru](mailto:protazovavika@mail.ru)

**THE STUDY OF N-HYDROXYMETHYL DERIVATIVES OF ALLANTOIN BY THIN-LAYER  
CHROMATOGRAPHY**

V.A. Protazova, O.V. Tatarenko, D.A. Kurgachev

Scientific Supervisor: Prof., Dr. A.A. Bakibayev

Tomsk State University, Russia, Tomsk, Lenin str., 36, 634050

E-mail: [protazovavika@mail.ru](mailto:protazovavika@mail.ru)

***Abstract.** The study of N-hydroxymethyl derivatives of allantoin was carried out by thin-layer chromatography. The received results allowed us to determine TLC conditions. The revealing reagent was Tollens' reactant and solution of  $\beta$ -indoleacetic acid in concentrated hydrochloric acid. The ethyl acetate and acetic acid-based systems with other components was eluting agents.*

**Введение.** Диазолидинилмочевина (Germal II), 1-[1,3-бис(гидроксиметил)-2,5-диоксиимидазолидин-4-ил]-1,3-бис(гидроксиметил) мочеви́на – гетероциклическое соединение, представляет собой белый кристаллический порошок, с температурой плавления 140 °С, который хорошо растворим в воде [1]. Согласно литературным данным диазолидинилмочевина является смесью N-метилольных производных аллантаина [2]. Во всем мире N-метилольные производные аллантаина применяются в качестве консервантов широкого спектра действия, с активностью в отношении грибов, грамположительных и грамотрицательных бактерий, входят в состав средств по уходу за кожей и волосами, поэтому крайне востребованы в косметологии и фармации [3].

Анализ литературных данных показал, что в настоящее время для определения N-метилольных производных аллантаина в косметических средствах применяется метод ВЭЖХ [2], в то время как, тонкослойная хроматография (ТСХ), как более дешевый, экспрессный и менее трудоемкий метод анализа в лабораторных условиях исследователями не используется. Таким образом, целью данной работы стал подбор условий хроматографического разделения N-метилольных производных аллантаина.

**Экспериментальная часть.** Исследования проводились для коммерческого образца диазолидинилмочевины (Sigma Aldrich), на хроматографических пластинах Merck и Sorbfil на металлических и полимерных подложках, сорбенты – кислый силикагель и кислый силикагель с добавкой зеленого хромофора. Распылитель – Camag HPTLC Sprayer. Детектирование в УФ диапазоне проводили в УФ-кабинете Camag AG. Подбор элюирующей системы различной природы и различного объемного соотношения проводили нанесением водного раствора образца различной концентрации на линию старта активированной пластины в количестве, необходимом для образования пятна на линии

старта диаметром до 3 мм. Пластины хроматографировали в простой насыщенной камере восходящим методом при комнатной температуре. После достижения фронтом высоты ~ 8 см, пластины вынимали, высушивали на воздухе в течение 40 минут и проявляли.

**Результаты и обсуждения.** С целью подбора детектирующего агента, перед проявлением, исследуемый образец наносили на хроматографические пластины без элюирования, затем опрыскивали различными проявляющими реагентами и визуально определяли эффект.

В таблице 1 представлены различные универсальные и специфические проявители и полученные результаты обработки пятна этими проявителями.

Таблица 1

*Эффект обработки пластин проявляющими реагентами для ТСХ.*

Проявитель	Результат
1% раствор FeCl <sub>3</sub>	Не проявляют детектирующих свойств в отношении исследуемого образца
Реактив Несслера	
Раствор 2,4-динитрофенилгидразина в 2М HCl	
Раствор K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> в конц. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	
5% раствор фосфорномолибденовой кислоты	
Йод	Черные пятна при длительном нагревании пластины при 100°C
Реактив Толленса	
Раствор β-индолилуксусной кислоты в HCl	Пятна под действием УФ излучения (366 нм)

На основании полученных результатов можно сделать вывод, что основные универсальные проявители для ТСХ являются не эффективными к детектированию исследуемого образца. При обработке пластин проявляющим реактивом Толленса (5% раствор AgNO<sub>3</sub> в 25% растворе NH<sub>3</sub>) с последующим нагреванием, наблюдается появление чёрных и коричневых пятен, флуоресценция в УФ-лучах отсутствует. При использовании раствора β-индолилуксусной кислоты в концентрированной соляной кислоте с последующим высушиванием наблюдаются постепенно исчезающие синие пятна на розовом фоне, в УФ-лучах проявляются пятна с оранжевой флуоресценцией. На пластинах с предварительно нанесёнными хромофорами наблюдали зоны изменения и подавления флуоресценции.

На следующем этапе исследования, проводили подбор элюента различной природы и различного объемного соотношения для достижения оптимальных условий хроматографического разделения. По аналогии с другими гетероциклическими соединениями, а также на основе методики ТСХ аллантаина [4, 5], были выбраны следующие элюирующие системы: хлороформ – ацетон (2:1), бутанол-1 – уксусная кислота – вода (12:3:5). Элюирующей система хлороформ – ацетон (2:1), не соответствует требованиям разделения исследуемого образца, так как пятно испытуемого образца наблюдается на линии старта. В случае состава элюента бутанол-1 – уксусная кислота – вода (12:3:5), подобрать адекватную нагрузку по исследуемым смесям, обеспечивающую приемлемое разделение, не представляется возможным. В ходе проведённой проверки пригодности хроматографической системы методом последовательной двухмерной хроматографии, обнаружен факт взаимодействия сорбатов с компонентами хроматографической системы. Мы предполагаем, что происходит гидролиз компонентов разделяемой смеси в ходе анализа, а также не исключено возникновение дополнительного фронта одного из компонентов подвижной фазы.

Исходя из полученных данных, подбор другого элюента проводили последовательно, варьируя соотношение одного из компонентов элюента до достижения требуемой элюирующей силы подвижной фазы. В случае невозможности достижения нужной силы элюции, изменяли состав компонентов элюента на более «сильные» в элюотропном ряду по Траппу. Результаты подбора представлены в таблице 2.

Таблица 2

Результаты подбора элюента для ТСХ N-метилольных производных аллантаина

Элюент	Результат
Этилацетат–уксусная кислота (9:1)	Пятно $Rf_1 = 0,16$
Этилацетат–уксусная кислота (8:2)	Пятно $Rf_1 = 0,35$
Этилацетат–уксусная кислота–метанол (16:2:3)	Пятно в виде «свечи» $Rf_1 = 0,6$
Этилацетат–уксусная кислота–метанол (7:1:2)	Два пятна в виде «свечи» $Rf_1 = 0,65$ , $Rf_2 = 0,19$
Этилацетат–уксусная кислота–метанол (6:1:3)	Пятно $Rf_1 = 0,81$
ИПС–уксусная кислота–вода (12:5:5)	Пятно в виде «свечи» $Rf_1 = 0,91$
Метанол–уксусная кислота–вода (12:3:5)	Пятно в виде «свечи» $Rf_1 = 0,88$
Метанол–уксусная кислота (14:3), Метанол–уксусная кислота–вода (12:5:5), Метанол–уксусная кислота–вода–аммиак (12:3:5:2), Метанол–уксусная кислота–вода–аммиак (12:5:5:2), Метанол–уксусная кислота–этилацетат (12:3:2), ИПС–уксусная кислота–вода (12:3:5), ИПС–вода–аммиак (12:5:2)	Пятно на линии фронта
ИПС–уксусная кислота–вода–аммиак (12:3:5:2), ИПС–уксусная кислота–вода–аммиак (12:5:5:2), ИПС–уксусная кислота–вода–аммиак (12:3:5:4), Гексан–ацетонитрил (6:3), Гексан–ацетонитрил (2:7), Хлороформ–ацетон–бутанол-1 (2:1:5)	Пятно на линии старта
Хлороформ–ацетон–уксусная кислота (2:1:5) Бутанол-1–уксусная кислота–вода–аммиак (10:5:5:2)	Пятно не детектируется

По результатам данных таблицы видно, что наиболее подходящие условия хроматографирования наблюдаются для системы этилацетат – уксусная кислота.

По результатам исследований в ходе проделанной работы был осуществлен подбор условий хроматографического разделения и детектирования N-метилольных производных аллантаина.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Liebert M. A. Final Report on the Safety Assessment of Diazolidinyl Urea International // Journal of Toxicology. – 2012. – Vol. 9. – No. 2. – P. 229–245.
2. Doi T., Kajimura K., Taguchi S. The different decomposition properties of diazolidinyl urea in cosmetics and patch test materials // Contact Dermatitis. – 2010. – Vol. 65. – P. 81–91.
3. Импорт диазолидинилмочевины [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.zauba.com>. - Detailed Import Data of diazolidinyl urea. – 10.06.2016.
4. Казанцева О.Н. Химико-фармацевтическое и фармакокинетическое исследование нового биологически активного психотропного вещества 2,6-диметил-4,8-диэтилтетраазабицикло-(3,3,0)-октандиона-3,7(бикарэта): автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук. – Уфа, 1991. – 7 с.
5. British Pharmacopoeia (BP), 2013.