

На правах рукописи



Кургачев Дмитрий Андреевич

**Разработка ВЭЖХ-методик определения гликолурила,
его *N*-метильных и *N*-метилольных производных –
синтонов супрамолекулярных соединений**

02.00.02 – Аналитическая химия

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Томск – 2020

Работа выполнена в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет» и в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Национальный исследовательский Томский политехнический университет»

Научный руководитель: доктор химических наук, профессор
Бакибаев Абдигали Абдиманович

Официальные оппоненты: Яровая Ольга Ивановна, доктор химических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории физиологически активных веществ Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова Сибирского отделения Российской академии наук», г. Новосибирск

Лосев Владимир Николаевич, доктор химических наук, профессор, старший научный сотрудник госбюджетной темы ГХ-4 Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Сибирский федеральный университет», г. Красноярск

Защита состоится «8» декабря 2020 г. в 14:00 на заседании диссертационного совета ДС.ТПУ.08 при федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Национальный исследовательский Томский политехнический университет» по адресу: 634050, г. Томск, пр. Ленина, 43а, 2 корпус ТПУ

С текстом диссертации можно ознакомиться в Научно-технической библиотеке ФГАОУ ВО НИ ТПУ по адресу: 634050, г. Томск, ул. Белинского, 55 и на сайте: dis.tpu.ru

Автореферат разослан «___» октября 2020 г.

Ученый секретарь
диссертационного
совета ДС.ТПУ.08



Е.В. Дорожко

Общая характеристика работы

Актуальность темы исследования. Бициклические бисмочевины (гликолурилы) используются в качестве синтонов перспективных биологически-активных веществ, лекарственных средств и важнейших супрамолекулярных соединений. Гликолурилы и супрамолекулярные производные на их основе исследуют в качестве компонентов органических полупроводниковых материалов, вспомогательных веществ лекарственных препаратов: пролонгаторов и «молекулярных контейнеров» контролируемого высвобождения, материалов со свойствами «молекулярного узнавания» и селекторов сенсоров для экспрессного анализа амфифильных веществ: ПАВ, бактериальных эндотоксинов и биогенных аминов. Кроме того, *N*-метильные и *N*-метилольные производные гликолурила служат основой для получения изготавливают лекарственных средств, взрывчатых веществ и сшивающих агентов для производства полимеров специального назначения. Отличительными признаками гликолурила и его метилпроизводных являются крайне низкая токсичность и отсутствие канцерогенных свойств. Для использования гликолурила и его производных в качестве синтонов супрамолекулярных веществ, необходимо строго контролировать качество исходных гликолурилов, в особенности содержание примесей, близкородственных соединений и изомеров.

Исследование сложных смесей близкородственных нелетучих органических соединений, а также нелетучих примесей оптимально проводить с использованием высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Данный метод характеризуется высокой чувствительностью, селективностью, малыми временными затратами на проведение анализа и возможностью одновременного сочетания с другими физико-химическими методами анализа. Несмотря на ряд достоинств, метод ВЭЖХ практически не применяется для исследования и анализа гликолурила и его производных.

В связи с вышесказанным, необходимость разработки эффективных методик анализа гликолурила, его *N*-метильных и *N*-метилольных производных методом высокоэффективной жидкостной хроматографии является актуальной проблемой.

Степень разработанности темы исследования. В литературе не описано надежных и эффективных методов количественного определения гликолурила, его примесей и родственных соединений, а также *N*-метил- и *N*-метилолпроизводных. Основные исследования в химии гликолурилов и его близкородственных веществ на сегодняшний день, в основном, относятся к вопросам их синтеза и изучения отдельных физико-химических свойств, при этом в настоящее время проблема анализа примесей гликолурила не решена: крупнейшие производители проводят анализ его чистоты с использованием элементного анализа.

Цель работы – разработать методики анализа гликолурила, его родственных примесей, *N*-метил- и *N*-метилолпроизводных методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Для достижения поставленной цели сформулированы и решены следующие **задачи**:

1. Разработать методику хроматографического разделения родственных примесей гликолурила;
2. Идентифицировать ключевые примеси в гликолуриле;
3. Разработать способ препаративного выделения изомерно чистых *N,N'*-диметилгликолурилов и установить их структуру;
4. Установить оптимальные условия ВЭЖХ-разделения и определения гликолурила и его *N*-метилпроизводных.
5. Идентифицировать *N*-метилольные производные гликолурила и разработать методику их анализа.

Научная новизна. Впервые разработаны и оптимизированы экспрессные методики анализа гликолурила, его родственных примесей, *N*-метил- и *N*-метилолпроизводных методом жидкостной хроматографии. Идентифицированы ключевые, в том числе две ранее не описанные в литературе, родственные примеси гликолурила методом хромато-масс-спектрометрии. Впервые разработана методика хроматографического препаративного разделения и выделения в виде индивидуальных веществ изомеров *N,N'*-диметилгликолурила, структура которых подтверждена методами ЯМР-спектроскопии и хромато-масс-спектрометрии.

Практическая значимость работы заключается в возможности использования полученных результатов в проведении анализа гликолурила, его *N*-метилол- и *N*-метилпроизводных методом жидкостной хроматографии на всех этапах производства этих веществ и продуктов на их основе. Разработанные методики анализа применены

для анализа сложных смесей гликолурила, его примесей, *N*-метил- и *N*-метилолпроизводных, что отражено в двух патентах. Оценены метрологические характеристики разработанных методик анализа. Предложен метод тонкой очистки гликолурила от родственных примесей, включая метод контроля полноты очистки. Разработанные методики анализа гликолурила и его *N*-метилпроизводных, а так же способы препаративного хроматографического разделения изомеров диметилгликолурила использованы при проведении специального курса «Выделение и идентификация примесей в фармацевтических субстанциях и лекарственных препаратах» для работников фармацевтической и химической промышленности, а также при составлении магистерского курса «Физико-химические методы анализа органических соединений и фармацевтических субстанций» в Томском государственном университете.

Разработанная методика хроматографического препаративного разделения и выделения изомерно чистых *N,N'*-диметилпроизводных гликолурила используется в Лаборатории органического синтеза Томского государственного университета для получения высокочистых образцов *N,N'*-диметилгликолурилов, применяемых в качестве синтонов для получения новых гетерофункциональных соединений.

Положения, выносимые на защиту:

1. Методика анализа родственных примесей гликолурила методом ВЭЖХ.
2. Способ препаративного выделения из реакционной смеси изомерно чистых *N,N'*-диметилгликолурилов методом препаративной ВЭЖХ.
3. Условия хроматографического экспрессного разделения и одновременного определения гликолурила и его *N*-метил-производных.
4. Методика экспрессного анализа *N*-метилолпроизводных гликолурила.
5. Результаты идентификации примесей гликолурила, *N*-метилол- и *N*-метилзамещенных производных гликолурила методом хромато-масс-спектрометрии.

Достоверность результатов работы подтверждается тем, что данные получены с использованием современного аналитического оборудования, прошедшего своевременную метрологическую поверку. Идентификация соединений и подтверждение их структуры проведены

с использованием инструментальных физико-химических методов анализа. Проведена оценка метрологических характеристик разработанных методик, методики анализа апробированы на реальных исследуемых объектах.

Личный вклад автора заключается в планировании и разработке дизайна экспериментов, непосредственном проведении исследований, получении и интерпретации данных, оформлении результатов исследований, подготовке публикаций и текста диссертации.

Апробация результатов. Результаты работ представлены на XIII Международной конференции студентов и молодых ученых «Перспективы развития фундаментальных наук» (Томск, 2016) и XIV Международной конференции студентов и молодых ученых «Перспективы развития фундаментальных наук» (Томск, 2017).

Публикации по результатам работы. По теме диссертации опубликовано 3 статьи в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК, входящих в наукометрические базы данных Scopus и Web of Science, тезисы четырех докладов, представленных на международных научных конференциях. Результаты работы защищены двумя патентами РФ.

Работа выполнена при финансовой поддержке Федеральной целевой программы «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2014–2020 годы», соглашение № 05.604.21.0251, уникальный идентификатор работ RFMEFI60419X0251.

Основное содержание работы

Диссертационная работа изложена на 115 страницах, содержит 53 рисунка, 20 таблиц, 1 приложение.

Во *введении* обоснована актуальность выбранной темы, сформулированы цель и задачи исследования, показаны новизна и значимость работы, представлены положения, выносимые на защиту. В *первой главе* представлен обзор литературы, в котором изложены существующие методы анализа и контроля качества гликолурила и его производных. Во *второй главе* приведено обсуждение результатов исследования: методология разработки и проверки метрологических характеристик методик анализа производных гликолурила, а также

разработка методик анализа гликолурила, его родственных примесей, *N*-метилол- и *N*-метилпроизводных. В *третьей главе* описана экспериментальная часть работы: использованное в работе оборудование, реактивы, материалы и методики.

1.1 Разработка методики анализа родственных примесей гликолурила

Гликолурил нерастворим в большинстве органических растворителей и практически нерастворим в воде при комнатной температуре. Задача хроматографического определения его родственных соединений может быть решена с использованием ограниченного числа хроматографических режимов. Поскольку гликолурил необратимо адсорбируется на немодифицированном силикагеле, а его растворимость резко снижается при добавлении к водным растворам органических растворителей, таких как метанол, ацетонитрил и др., использование нормально-фазовых и гидрофильных режимов хроматографии не может быть использовано для анализа примесей гликолурила при одновременном присутствии гликолурила в пробе.

Гликолурил, как и его возможные примеси не обладает выраженными кислотно-основными свойствами, поэтому ионообменные варианты хроматографии также не могут быть использованы для их хроматографического определения. Таким образом, для разработки условий разделения гликолурила и его близкородственных соединений предложено использовать обращенно-фазовый режим ВЭЖХ.

Разработку хроматографического разделения исследуемого образца предложено вести методом «грубой силы» путем элюирования исследуемых растворов при использовании подвижной фазы с заведомо большим значением элюирующей силы. Закономерно, хроматографические пики определяемых веществ будут удерживаться слабо, но при последующем дискретном увеличении значения удерживания возможно достичь состояния, при котором пик с наибольшим временем удерживания пик будет удерживаться настолько долго, сколько необходимо для разрешения критических групп наименее удерживаемых пиков.

Для разделения родственных примесей гликолурила «вслепую» в качестве модельного исследуемого объекта выбран образец коммерческого гликолурила. Хроматографировали 20 мкл насыщенного

раствора с использованием наиболее «эффективной» колонки, совместимой с «классическими» моделями жидкостных хроматографов: колонка размером $4,6 \times 250$ мм, заполненная сферическим силикагелевым сорбентом Ace Excel 3 C18 с диаметром частиц около 3 мкм. Обратное давление в системе составляет около 27 МПа при использовании воды в качестве элюента. Так как гликолурил представляет собой высокополярное соединение, для достижения оптимального удерживания при использовании обращенно-фазового режима ВЭЖХ необходимо в качестве стационарной фазы использовать сорбенты с достаточно липофильными привитыми группами, например – октадецилсилильный силикагель. Во избежание труднопрогнозируемых остаточных взаимодействий на поверхности сорбента, предложено использовать эндкепированный силикагель высокой чистоты. Выбрана объемная скорость потока 0,8 мл/мин для снижения обратного давления в системе. Объем инъекции – 20 мкл насыщенного водного раствора гликолурила. Хроматограмма раствора представлена на Рисунке 1.

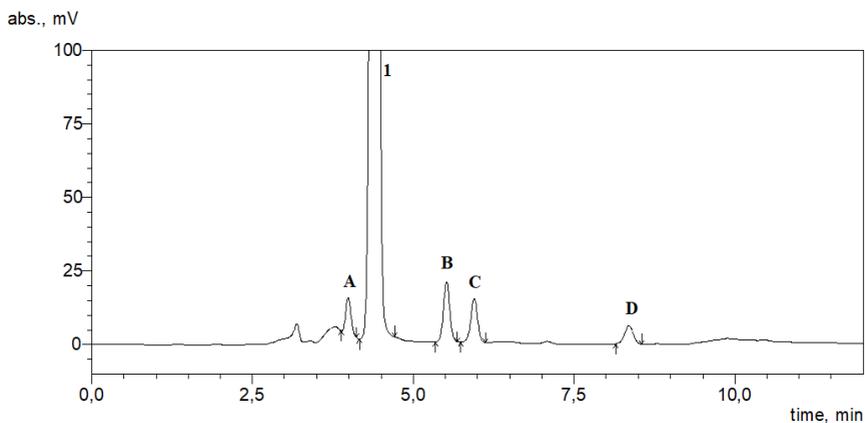
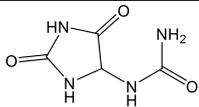
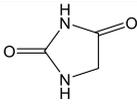
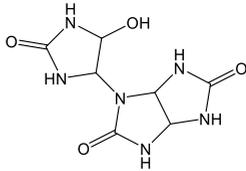
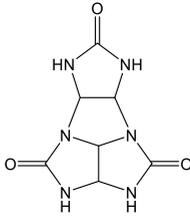


Рис. 1 – Хроматограмма испытуемого раствора коммерческого гликолурила

Для идентификации примесей в гликолуриле использован метод жидкостной хромато-масс-спектрометрии. В условиях положительной ионизации установлены значения m/z ионов примесей. Результаты идентификации примесей изложены в Таблице 1.

Все идентифицированные примеси являются родственными соединениями гликолурила и, предположительно, могут образовываться как при синтезе гликолурила (примеси **A–D**), так и при окислении гликолурила при хранении (примесь **A**). Структуры примесей **A** и **B** дополнительно подтверждены путем сопоставления времен удерживания с образцами аллантаина и гидантоина. С использованием разработанных условий анализа примесей возможно проводить контроль чистоты гликолурила при проведении его очистки.

Таблица 1 – Результаты идентификации примесей гликолурила

Примесь, время удерживания, мин	Значения m/z	Предполагаемые пути ионизации	Предполагаемая структура примеси
A 4,0	158 175	$[M+H]^+$ $[M+H_3O]^+$	
B 5,6	117	$[M+H_3O]^+$	
C 6,0	242	$[M+H]^+$	
D 8,5	224 241	$[M+H]^+$ $[M+H_3O]^+$	

Количественное определение близкородственных примесей гликолурила проводится с использованием метода внутренней нормализации. Селективность методики оценена по критерию хроматографического разрешения: минимальное значение разрешения между ближайшими пиками (примеси **B** и **C**) составляет $R_s = 3,2$. Метрологические характеристики методики анализа родственных

примесей гликолурила: прецизионность, чувствительность и линейность – оценены на модельных растворах, приготовленных на основе примеси **В** гликолурила – гидантоина.

Методика линейна ($R^2 = 0,9999$) и прецизионна ($R_{L,m} = 8,2 \%$) в диапазоне концентраций единичной примеси гликолурила в испытуемом растворе от 1,7 мкг/мл до 87,2 мкг/мл. Таким образом, разработана аналитическая методика, пригодная для контроля содержания родственных примесей в гликолуриле.

1.2 Разработка методики анализа гликолурила и его *N*-метилпроизводных

В отличие от незамещенного гликолурила, его *N*-метилпроизводные растворимы во многих полярных органических растворителях, в том числе в воде. Разработка хроматографического разделения гликолурила и его *N*-метилпроизводных (Рисунок 2) проводилась с использованием модельных объектов: гликолурила **1**, 2-метилгликолурила **2**, 2,6-, 2,4- и 2,8-диметилгликолурилов **3–5** и 2,4,6,8-тетраметилгликолурила **6**.

Установлено, что в обращенно-фазовом режиме удерживание *N*-метилпроизводных гликолурила увеличивается при увеличении числа CH_3 -групп в структуре молекулы. Тетраметилгликолурил **6** не элюируется из колонки при использовании в качестве подвижной фазы 1 % раствора ацетонитрила в воде, а в качестве стационарной фазы – сферического пористого силикагеля L1 PerfectSil Target ODS-3 HD с размером частиц 5 мкм. При добавлении 5% ацетонитрила в состав подвижной фазы, тетраметилгликолурил элюируется в области $k' = 17–18$, при этом в обращенно-фазовом режиме для гликолурила обеспечивается недостаточное удерживание для разрешения критической группы пиков: $k' = 0,2$ (Рисунок 3). При использовании градиентного элюирования на данном типе колонок изомеры диметилгликолурила не разделяются вследствие недостаточной селективности хроматографической системы: $\alpha = 1,09$; $R_s = 1,35$. Увеличение разрешающей способности возможно достичь экстенсивными методами, например увеличением длины хроматографической колонки, но при этом время, затраченное на одно ВЭЖХ-разделение значительно увеличится.

С целью оптимизации удерживающей и разрешающей способности хроматографической системы выбрана стационарная фаза с привитыми «плоскими» полярными фрагментами – пентафторфенил-

пропилсилильный силикагель L43 – Luna 5u PFP(2) 100 Å с размером частиц 5 мкм, колонка 150 × 4,6 мм. Режим элюирования – градиентный для обеспечения достаточного удерживания полярных компонентов и уменьшения времени удерживания тетраметилгликолурила **6**. При использовании данной стационарной фазы в режиме градиентного элюирования достигнуто полное разделение веществ **1–6** менее чем за 4 мин с минимальным разрешением $R_s = 1,6$ (Рисунок 4).

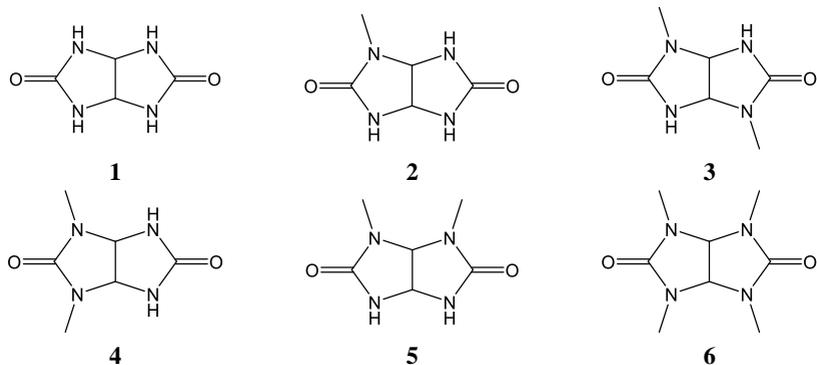


Рис. 2 – Структурные формулы модельных веществ

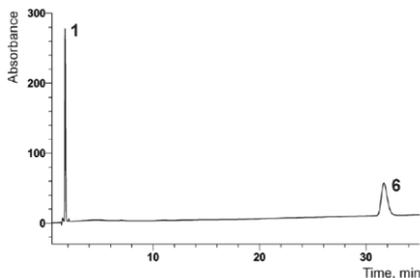


Рис. 3 – Хроматограмма раствора гликолурила **1** и тетраметилгликолурила **6** на колонке PerfectSil Target ODS-3 HD

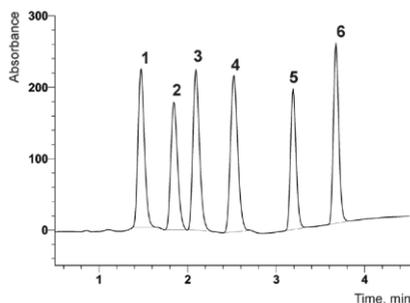


Рис. 4 – Хроматограмма раствора гликолурила **1** и его *N*-метилпроизводных **2–6**, полученная с использованием колонки Luna 5u PFP(2)

Количественное содержание гликолурила и его *N*-метилпроизводных проводят с использованием метода внутренней нормализации по площадям пиков, поскольку для соответствующих веществ отсутствуют в продаже стандартные образцы.

Проведена оценка метрологических характеристик методики: установлено, что методика специфична в отношении гликолурила и его родственных соединений, предел количественного определения не превышает $2,7 \cdot 10^{-6}$ г/см³, методика линейна в диапазоне от ПКО до 0,21 мг/мл (Рисунок 5), $R^2 = 0,9999$; предел внутрилабораторной прецизионности $R_{Л,м} = 2,99$ %.

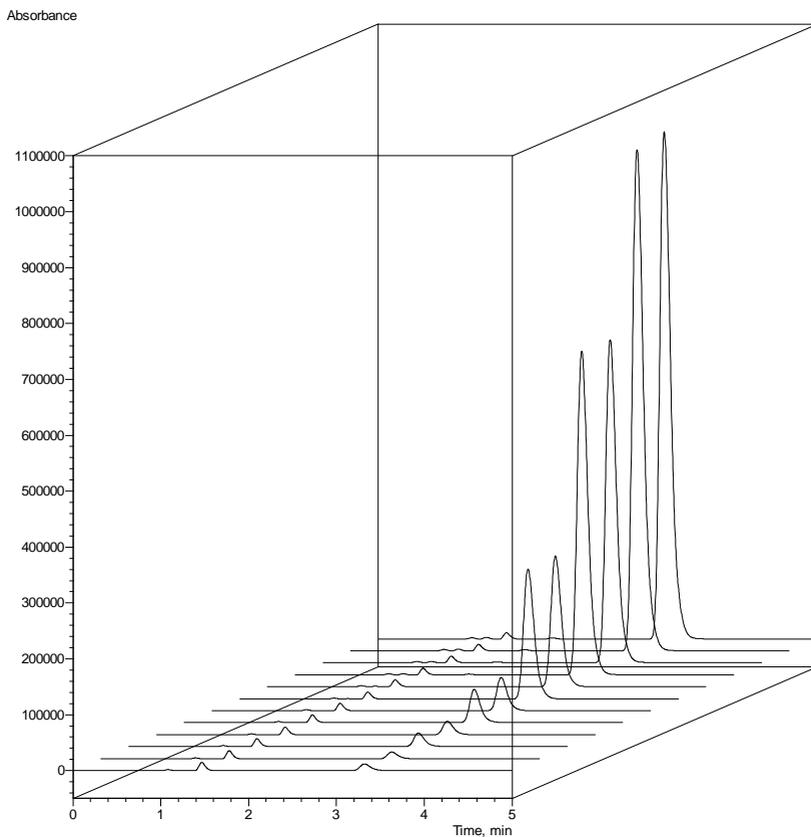


Рис. 5 – Наложённые хроматограммы модельных растворов тетраметилгликолурила **6** для оценки линейности методики

Таким образом, разработанная методика анализа может быть использована для количественного определения гликолурила и его *N*-метилпроизводных даже при их возможном одновременном совместном присутствии в смесях.

Известно, что при получении дизамещенных *N*-метилгликолурилов **3–5**, только при синтезе изомера **4** возможно получить относительно чистый продукт. При синтезе из *N*-метилмочевины и глиоксаля изомеров **3** или **5**, неизбежно образуется смесь обоих изомеров в примерном соотношении 3:1–3:2. Для детального исследования свойств и последующей идентификации веществ **3** и **5** необходимо выделить их в чистом виде.

С этой целью разработан препаративный вариант хроматографической системы: с использованием в качестве неподвижной фазы октадецилсилильного силикагеля Kromasil C18-5-100 в изократическом режиме элюирования достигнуто разделение с наиболее приемлемым значением хроматографической селективности в отношении изомеров **3, 5**: $\alpha \approx 1,9$ (Рисунок 6).

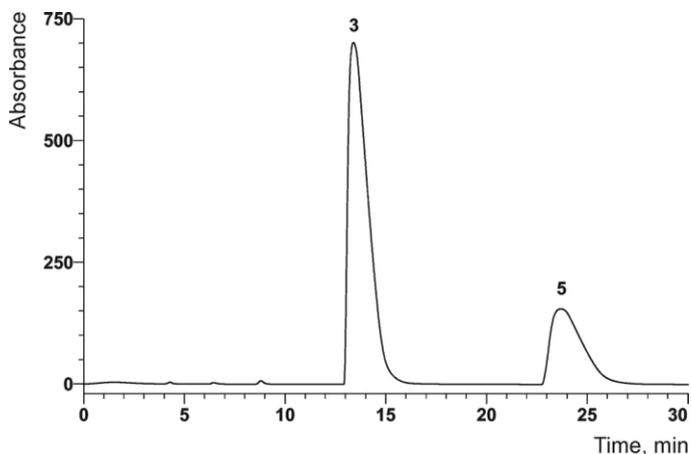
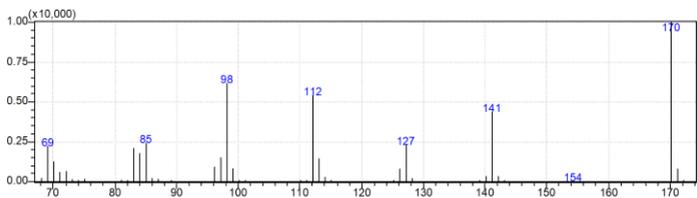


Рис. 6 – Хроматограмма смеси изомеров *N*-диметилгликолурилов **3, 5**, полученная с использованием колонки Kromasil C18-5-100 250 × 20 мм

После упаривания подвижной фазы, целевые вещества выделены в чистом виде и идентифицированы методами ЯМР-спектроскопии и хромато-масс-спектрометрии (Рисунок 7, 8).



3

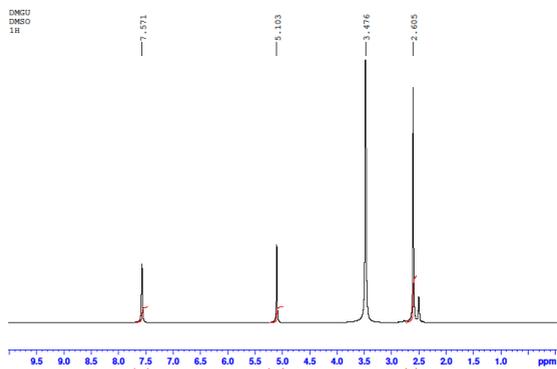
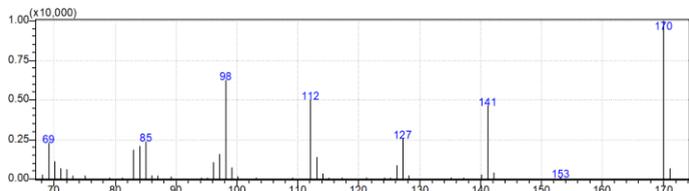


Рис. 7 – ^1H -ЯМР-спектр и масс-спектр выделенного вещества 3



5

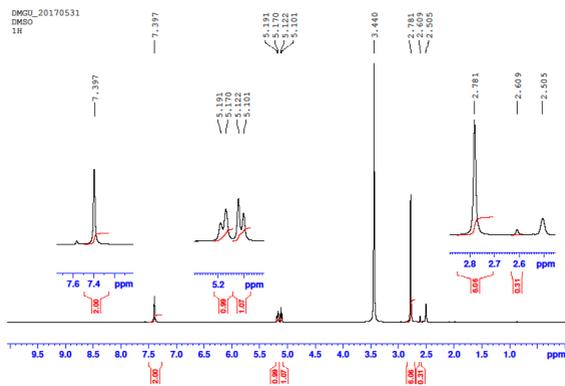


Рис. 8 – ^1H -ЯМР-спектр и масс-спектр выделенного вещества 5

На масс-спектрах выделенных соединений отсутствуют различия, предположительно, по причине сходства путей фрагментации. Метод хромато-масс-спектрометрии может быть использован только для групповой идентификации *N*-метилпроизводных гликолурила. Структуры веществ **3** и **5** установлены методом ¹H-ЯМР-спектроскопии: вещество **3** является 2,6-производным, а вещество **5** – 2,6-изомером *N,N'*-диметилгликолурила.

Предложенный способ хроматографического разделения *N*-метилпроизводных гликолурила может быть использован в качестве метода препаративного выделения изомерно чистых *N,N'*-диметилгликолурилов.

1.3 Разработка методики анализа *N*-метилпроизводных гликолурила

Для проверки возможности хроматографического разделения *N*-метилольных производных гликолурила, адаптированы хроматографические условия, предложенные для анализа родственных примесей гликолурила. Объем инъекции увеличен для достижения достаточной чувствительности. На рисунке 9 приведена хроматограмма коммерческого образца тетраметилолгликолурила.

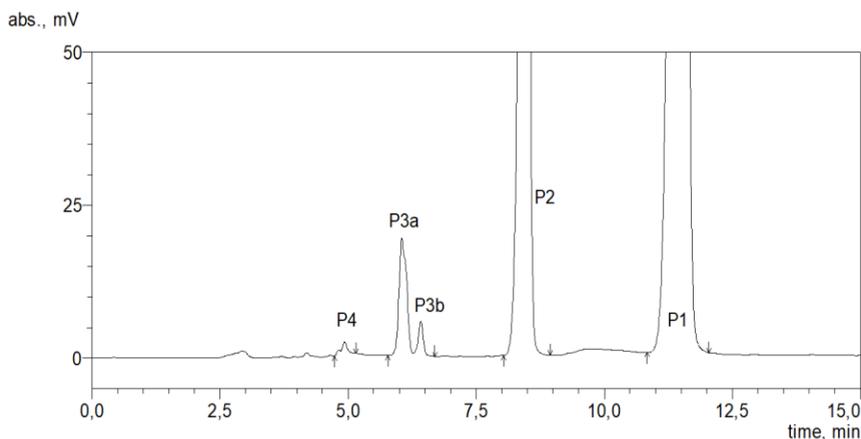


Рис. 9 – Хроматограмма раствора образца коммерческого тетраметилолгликолурила

На хроматограмме присутствуют хроматографические зоны **P1–P4**, соответствующие, предположительно, возможным продуктам взаимодействия гликолурила и формальдегида. Идентификация обнаруженных веществ проведена с использованием масс-спектрометрического ВЭЖХ-детектора Sciex API 2000, оснащенного источником ионизации электроспрей, полярность источника положительная. Установлено, что вещества **P1–P4** представляют собой *N*-метилолпроизводные гликолурила с различной степенью замещения. Пример масс-спектра представлен на Рисунке 10.

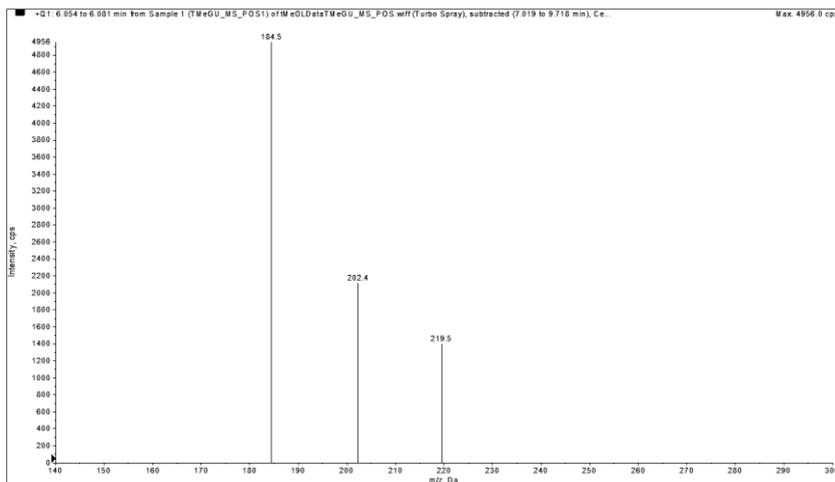


Рис. 10 – Масс-спектр пика с временем удерживания $t_R = 6,07$ мин; значения $m/z = 184, 202, 219$

Установлено, что вещества с временем удерживания $t_R = 6,07$ мин и $t_R = 6,21$ мин имеют одинаковые массы молекулярных ионов, фрагментарные массы и близкие значения относительной интенсивности сигналов ионов. Напротив, на масс-спектре пика с временем удерживания $t_R = 6,47$ мин отсутствует сигнал иона с молекулярной массой $m/z = 202$.

По характеру фрагментации мы предполагаем, что вещества, которые элюируются в области времен удерживания 5,7–7,0 мин представляют собой *N*-диметилгликолурилы **P3a**, **P3a'**, **P3b**. Аналогичным способом идентифицировано вещество, элюирующееся с временем удерживания $t_R = 8,48$ мин (Рисунок 11).

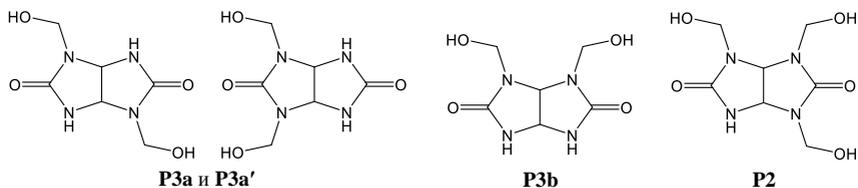


Рис. 11– Структурные формулы идентифицированных *N*-метилолгликолурилов

Путем последовательного хроматографирования растворов установлено, что водные растворы тетраметилолгликолурила нестабильны: наблюдается относительное пропорциональное изменение площадей пиков. Наложенные хроматограммы испытуемого раствора тетраметилолгликолурила – рисунок 12. С течением времени в смеси увеличивается содержание компонентов **P3** и **P2**, концентрация **P1** снижается – водный раствор тетраметилолгликолурила нестабилен.

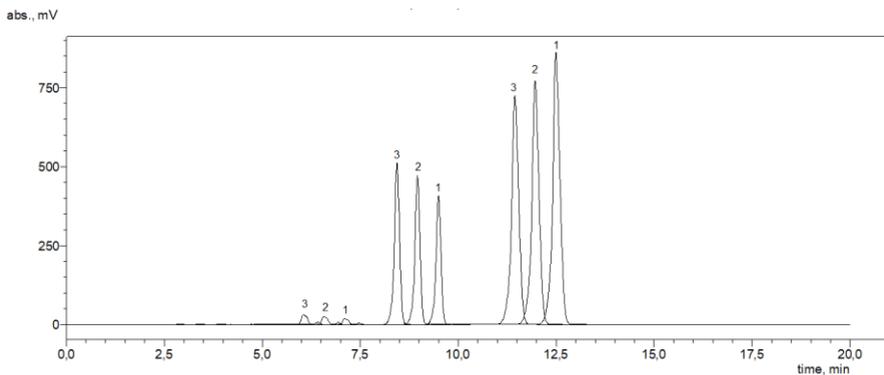


Рис. 12 – Наложенные хроматограммы раствора тетраметилолгликолурила; сдвиг по оси по оси «time» для наглядности

Для предотвращения изменения состава раствора при проведении анализа предложено уменьшить время хроматографического разделения для уменьшения времени воздействия воды на компоненты пробы до такой степени, что под действием подвижной фазы степень превращения компонентов пробы не давала значимого вклада в точность и прецизионность разрабатываемой методики анализа. Вычислены геометрические параметры хроматографической колонки и скорость

потока подвижной фазы, при которых время хроматографирования минимально: $100 \times 2,1$ мм, с размером поверхностно-пористых частиц 2,7 мкм; скорость потока $F = 0,34$ мл/мин. Пробу перед проведением анализа растворяют в безводном метаноле.

Время хроматографирования одной пробы уменьшено до 2,5–3,0 мин, при этом наблюдается полное разделение *N*-метиллолпроизводных гликолурила, время удерживания возрастает с увеличением степени замещения. Состав пробы не изменяется со временем – Рисунок 13.

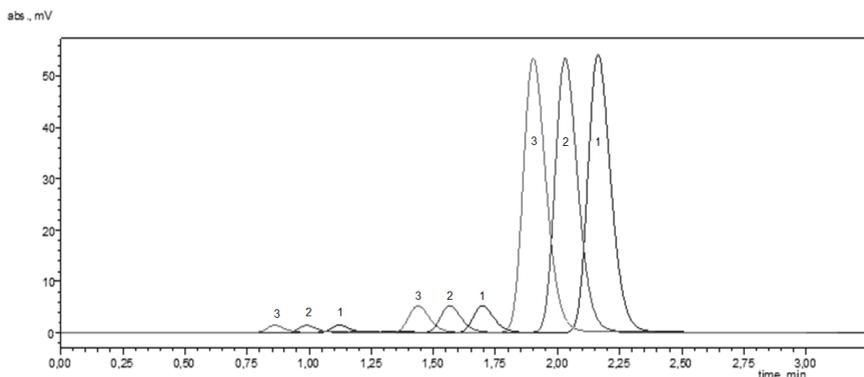


Рис. 13 – Наложенные хроматограммы раствора тетраметилолгликолурила, полученные в оптимальных условиях; сдвиг по оси по оси «time» для наглядности

Для предотвращения гидролиза исследуемых веществ, навеску пробы предложено растворять в безводном метаноле: метилольные производные гликолурила растворимы в спиртах, кроме того, метанол не обладает чрезмерно высокой элюирующей силой в обращенно-фазовом хроматографическом режиме, поэтому инжектирование относительно небольшого объема метанольного раствора не приводит к размыванию пиков. При использовании данных подходов достигнуто хроматографическое разделение, обеспечивающее стабильность значений площадей пиков в течение, как минимум, 40 мин.

На основе разработанных условий хроматографического разделения составлена методика определения *N*-метиллолпроизводных гликолурила. Детектирование проводят аналогично другим производным гликолурила, расчет проводят методом внутренней нормализации площадей. Пример хроматограммы образца тетраметилолгликолурила – Рисунок 14.

Специфичность разработанной методики анализа подтверждена по разрешению R_s между пиками на хроматограмме: минимальное хроматографическое разрешение R_s – разрешение между пиками N,N',N'' -триметилглицолилурида **P2** и N,N',N'',N''' -тетраметилглицолилурида **P1** составляет 2,8. Предел количественного определения методики составляет 0,036 мг/мл (Рисунок 15). Методика анализа линейна в диапазоне концентраций от 0,568 мг/мл до 0,036 мг/мл N -метилглицолилурида в растворе исследуемого образца.

Коэффициент корреляции линейной зависимости аналитического сигнала от концентрации определяемого вещества $R^2 = 0,9985$. Наложенные хроматограммы для подтверждения линейности – рисунок 16. Хроматограммы. Значение предела внутрилабораторной прецизионности $R_{Л,m} = 2,74 \%$.

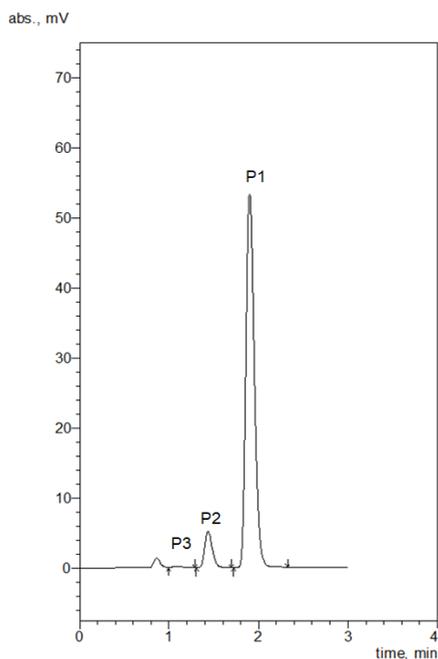


Рис. 14 – Хроматограмма раствора образца коммерческого тетраметилглицолилурида, полученная в оптимизированных условиях анализа

abs., mV

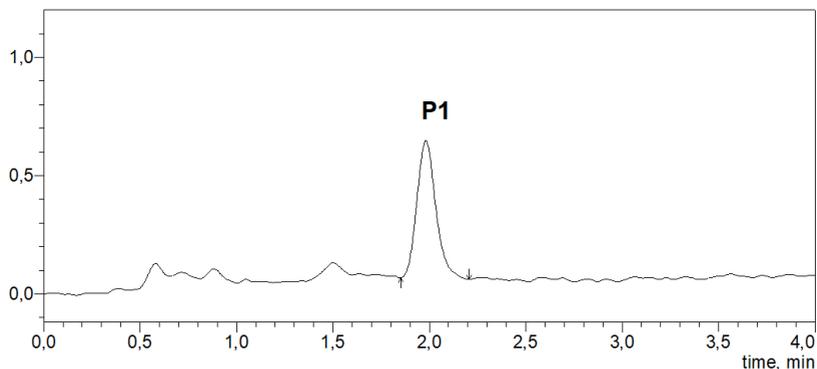


Рис. 15 – Хроматограмма модельного раствора тетраметилгликолурила, полученная для оценки предела количественного определения

abs., mV

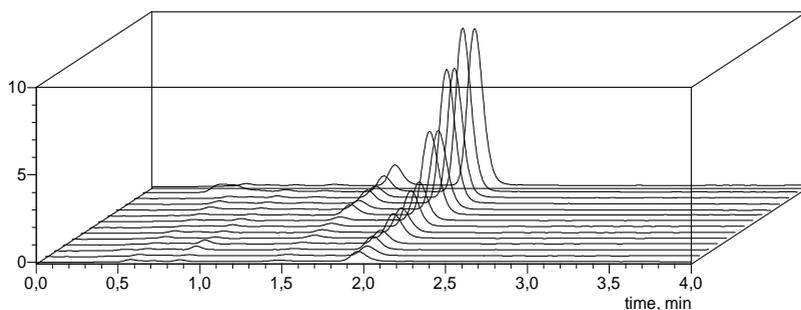


Рис. 16 – Наложенные хроматограммы модельных растворов тетраметилгликолурила **P1** для оценки линейности методики

Разработанная методика пригодна для анализа *N*-метилольных производных гликолурила в смесях сложного состава. Время проведения одного хроматографирования составляет не более 2,5–3,0 мин., что в сочетании с использованием неводного растворителя пробы позволяет проводить анализ тетраметилгликолурила **P1**, не внося изменений в начальный состав исследуемого объекта.

Выводы

1. Разработана методика хроматографического разделения и определения ключевых родственных примесей гликолурила;
2. Обнаруженные примеси гликолурила идентифицированы методом жидкостной хромато-масс-спектрометрии;
3. Разработан способ препаративного хроматографического разделения и выделения изомерно чистых *N,N'*-диметилгликолурилов – важнейших региоселективных синтонов для получения новых гетерофункциональных соединений.
4. Структура выделенных *N,N'*-диметилгликолурилов установлена методами хромато-масс-спектрометрии и ЯМР-спектроскопии;
5. Установлены оптимальные условия хроматографического разделения и определения гликолурила и его *N*-метилпроизводных;
6. Разработана методика экспрессного хроматографического определения *N*-метилольных производных гликолурила;
7. *N*-Метилольные производные гликолурила идентифицированы методом хромато-масс-спектрометрии;
8. Оценены метрологические характеристики разработанных методик анализа.

Основное содержание диссертации отражено в следующих публикациях:

1. **Kurgachev, D.A.** Isolation, Identification, and Chromatographic Separation of *N*-Methyl Derivatives of Glycoluril / D.A. Kurgachev, O.A. Kotelnikov, A.A. Bakibaev et al // *Chromatographia*. – 2018. – V 81. – № 10. – С. 1431–1437.
2. Kushcherbaeva, V.R. Study of Hydrolytic Stability of Glycolurils Under Alkaline Conditions / V.R. Kushcherbaeva, A.A. Bakibaev, **D.A. Kurgachev** et al // *Bull. Univ. Karaganda-Chem.* – 2018. – V 3. – № 91. – С. 46–50.
3. Kushcherbaeva, V.R. Study of acid catalyzed synthesis and analytical preparative separation of the spatial isomers of *N,N*-dimethylglycoluril / V.R. Kushcherbaeva, A.A. Bakibaev, **D.A. Kurgachev** et al // *Bull. Univ. Karaganda-Chem.* – 2018. – V 3. – № 91. – С. 51–57.
4. Патент RU2665714C1 Российская Федерация, МПК C07D487/04, C07D487/08, C07D247/00. Способ выделения пространственных изомеров *N,N*-диметилгликолурила / **Кургачев Д.А.**, Бакибаев А.А., Мальков В.С.; патентообладатель Национальный исследовательский Томский государственный университет. – № 2017146449; заявл. 28.12.2017; опубл. 04.09.2018, Бюл. № 25. – 7 с.

5. Патент RU2708590C1 Российская Федерация, МПК В01D9/02, С07В63/00, С07D487/08. Способ очистки гликолурила от примеси гидантоина / **Кургачев Д.А.**, Бакибаев А.А., Новиков Д.В.; патенто-обладатель Национальный исследовательский Томский государственный университет. – № 2019132216; заявл. 11.10.2019; опубл. 09.12.2019, Бюл. № 34. – 5 с.

6. **Кургачев, Д.А.** Установление соотношения изомерных метильных производных гликолурила в зависимости от условий синтеза / Д.А. Кургачев, Н.Б. Дементьева, В.Р. Кушербаева; науч. рук. А.А. Бакибаев // Перспективы развития фундаментальных наук : сборник научных трудов XIII Международной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых, г. Томск, 26–29 апреля 2016 г. : в 7 т. – Томск : Изд-во ТПУ, 2016. – Т. 2 : Химия. – С. 241–243.

7. Кушербаева, В.Р. Влияние условий синтеза на образование пространственных изомеров диметилпроизводных гликолурила / В.Р. Кушербаева, **Д.А. Кургачев**, Н.Б. Дементьева; науч. рук. А.А. Бакибаев // Перспективы развития фундаментальных наук : сборник научных трудов XIII Международной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых, г. Томск, 26-29 апреля 2016 г. : в 7 т. – Томск : Изд-во ТПУ, 2016. – Т. 2 : Химия. – С. 244–246.

8. Дементьева, Н.Б. Определение массовой доли основного вещества в гликолуриле на основе результатов ВЭЖХ- и СНNS-анализа / Н.Б. Дементьева, Е.Н. Блохина, **Д.А. Кургачев** // Перспективы развития фундаментальных наук : сборник научных трудов XIII Международной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых, г. Томск, 26–29 апреля 2016 г. : в 7 т. – Томск : Изд-во ТПУ, 2016. – Т. 2 : Химия. – С. 133–135

9. Протазова, В.А. Исследование N-метилольных производных аллантаина методом тонкослойной хроматографии / В.А. Протазова, О.В. Татаренко, **Д.А. Кургачев**; науч. рук. А.А. Бакибаев // Перспективы развития фундаментальных наук : сборник научных трудов XIV Международной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых, г. Томск, 25–28 апреля 2017 г. : в 7 т. – Томск : Изд-во ТПУ, 2017. – Т. 2 : Химия. – С. 334–336.