

УДК 543.544.43

## ИССЛЕДОВАНИЕ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА СУБСТАНЦИИ АСД-2Ф ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИМИ МЕТОДАМИ

<sup>1</sup>Абдрахманов В.И., <sup>2</sup>Краснов В.Л., <sup>3</sup>Логутов В.И., <sup>2</sup>Орлов А.В., <sup>4</sup>Сахипов В.Р.

<sup>1</sup>ООО «Ареал Медикал», Москва, e-mail: abdrax-man@yandex.ru;

<sup>2</sup>Дзержинский политехнический институт (филиал) Нижегородского государственного технического университета имени Р.Е. Алексеева, Дзержинск;

<sup>3</sup>Дзержинский филиал Нижегородского государственного университета им. Н.И. Лобачевского, Дзержинск;

<sup>4</sup>ООО «Гамма-Хим НН», Дзержинск

Представлены результаты исследования субстанции АСД-2Ф методами газожидкостной хроматографии и хромато-масс-спектрометрии. Подробно обсуждаются условия анализов. Обоснован выбор набора веществ-стандартов, которые могут быть и маркерами органических соединений, определяющих лечебно-профилактическое действие АСД-2Ф, и показателями качества субстанции. Установлено, что выдержка исходной субстанции при температуре 80 °С в течение трёх часов позволяет провести концентрирование органических веществ без их потери и добиться обнаружения в пробе значительного количества веществ, не обнаруживаемых без предварительного концентрирования. Показано, что совместное применение газожидкостной хроматографии с капиллярной колонкой ZB-FFAP и хромато-масс-спектрометрии с капиллярной колонкой HP-5 позволяет определить наличие около 170 пиков веществ, входящих в состав органической части субстанции АСД-2Ф. Найдена концентрация двадцати шести органических веществ-стандартов, входящих в состав органической части субстанции АСД-2Ф. Суммарное содержание этих веществ составляет около 50% от общего количества органических веществ в АСД-2Ф, причём более 40% составляют семь легкодоступных веществ-маркеров, среди которых четыре ациклических соединения (уксусная и масляная кислоты и их амиды) и три азотсодержащих гетероциклических соединения (2-пиперидинон; 5,5-диметилгидантоин и 5-метил-5-этил-гидантоин). Впервые установлено присутствие среди органических веществ субстанции значительного количества семи циклических дипептидов и их производных, таких как: 3,6-диметил-2,5-дикетопиперазин, 3-изопропил-6-метил-2,5-дикетопиперазин, 3,6-диизопропил-2,5-дикетопиперазин, 3,6-диизобутил-2,5-дикетопиперазин, 3-бензил-1,6-пропилен-2,5-дикетопиперазин, N-ацетил-3-метил-1,4-дизабцикло-[4.3.0]-нонан-2,5-дион, а также 1,3-Диметилдигидро-2,4(1H,3H)-пиримидиндион, и подтверждено наличие в препарате АСД-2Ф двух найденных ранее гетероциклических дипептидов пролина: 3-изобутил-1,6-пропилен-2,5-дикетопиперазина и 5,10-диэтокси-2,3,7,8-тетрагидро-1H,6H-дипирроло-[1,2-a;1',2'-d]-пиразина.

**Ключевые слова:** химический состав, антисептик-стимулятор Дорогова, субстанция АСД-2Ф, газожидкостная хроматография, хромато-масс-спектрометрия, вещества-стандарты

## STUDY OF THE CHEMICAL COMPOSITION OF THE DRUG ASD-2F BY CHROMATOGRAPHIC METHODS

<sup>1</sup>Abdrakhmanov V.I., <sup>2</sup>Krasnov V.L., <sup>3</sup>Logutov V.I., <sup>2</sup>Orlov A.V., <sup>4</sup>Sakhipov V.R.

<sup>1</sup>Limited Liability Company «Areal Medical», Moscow, e-mail: abdrax-man@yandex.ru;

<sup>2</sup>Dzerzhinsky Polytechnic Institute (branch) of Nizhny Novgorod state technical University named after R.E. Alekseev, Dzerzhinsk;

<sup>3</sup>Dzerzhinsky branch of Nizhny Novgorod state University named after N.I. Lobachevsky», Dzerzhinsk;

<sup>4</sup>Limited Liability Company «Gamma-Chim NN», Dzerzhinsk

The results of the study of the substance ASD-2F by gas-liquid chromatography and chromat-mass spectrometry are presented. A detailed discussion of the conditions of the tests. The choice of a set of substances-standards that can be markers of organic compounds that determine the therapeutic and preventive effect of ASD-2F, and indicators of the quality of the substance. It was found that the exposure of the initial substance at a temperature of 80 °C for three hours allows the concentration of organic substances without loss and to achieve detection in the sample of a significant amount of substances not detected without pre-concentration. It is shown that the combined use of gas-liquid chromatography with capillary column ZB-FFAP and chromatography-mass spectrometry with capillary column HP-5 allows to determine the presence of about 170 peaks of substances that are part of the organic part of the substance ASD-2F. The concentration of twenty-six organic substances-standards included in the organic part of the substance ASD-2F was found. The total content of these substances is about 50% of the total amount of organic substances in ASD-2F, with more than 40% being seven readily available marker substances, among which four acyclic compounds (acetic and butyric acids and their amides) and three nitrogen-containing heterocyclic compounds (2-piperidinone; 5,5-dimethylgidantoin and 5-methyl-5-ethyl-gidantoin). First established a presence among the organic substances of the substance of a significant number of seven cyclic dipeptides and their derivatives, such as 3,6-dimethyl-2,5-diketopiperazine, 3-isopropyl-6-methyl-2,5-diketopiperazine, 3,6-diisopropyl-2,5-diketopiperazine, 3,6-diisobutyl-2,5-diketopiperazine, 3-benzyl-1,6-propylene-2,5-diketopiperazine, N-acetyl-3-methyl-1,4-diazabicyclo-[4.3.0]-nonen-2,5-dione, and 1,3-dimethylbicyclo-2,4(1H,3H)-pyrimidinedione, and confirmed the presence of the drug ASD-2F two previously found heterocyclic dipeptides of proline such as 3-isobutyl-1,6-propylene-2,5-diketopiperazine and 5,10-dioxy-2,3,7,8-tetrahydro-1H,6H-dipyrrolo-[1,2-a;1',2'-d]-pyrazine.

**Keywords:** chemical composition, Dorogovs antiseptic-stimulator, substance ASD-2F, gas-liquid chromatography, chromatography-mass spectrometry, substances-standards

В настоящее время продолжает оставаться актуальным вопрос определения химического состава ветеринарной субстанции АСД-2Ф (в дальнейшем – субстанции).

Известно [1], что с химической точки зрения АСД-2Ф представляет раствор органических веществ – продуктов совместного пиролиза белков и жиров животного происхождения – в водно-аммонийном буферном растворе, причём именно их определение вызывает наибольшие затруднения.

Определенных успехов в решении данной задачи достигли авторы [2], обнаружившие методом хромато-масс-спектрологии в составе органической части АСД-2Ф около 120 индивидуальных органических веществ. Однако отсутствие фактических данных по методике проведения эксперимента не позволяет в полной мере применить полученные результаты на практике.

Цель работы: исследование химического состава субстанции АСД-2Ф и её концентратов методами газожидкостной хроматографии и хромато-масс-спектрологии.

### Материалы и методы исследования

Во всех опытах использовали образцы субстанции АСД-2Ф, произведенной ООО «Ареал Медикал», а также образцы концентратов субстанции (в дальнейшем – органическая часть, или ОЧ), приготовленные по разработанному нами ранее способу [3].

#### Газожидкостная хроматография

Подготовку пробы субстанции АСД-2Ф проводили следующим образом: в пластиковую пробирку для центрифугирования объёмом 15 мл пипеткой помещали 0,5 г субстанции, после чего туда же добавляли 10 мл этанола. Ввиду образования суспензии из-за выпадения осадка углеаммонийных солей пробирку центрифугировали в течение 10 мин при скорости вращения 3500–3900 об/мин, после чего из осветлённой части отбирали пробу для анализа.

ОЧ получали концентрированием органических веществ субстанции в соответствии с [3] упариванием образцов исходной субстанции в электрическом шкафу при температурах 60, 80, 100 °С до прекращения убыли веса. Масса органической части обычно составляла 5,5–7% от исходной при времени нагрева от 2,5 ч (для 100 °С) до 10 ч (для 60 °С).

После окончания упаривания готовили раствор концентрата (ОЧ) в этаноле из расчёта 10 мл растворителя на 0,5 г подготовленной пробы.

В качестве стандартов использовали реактивы с содержанием основного вещества не менее 95,0%, причём значительное количество составили стандартные образцы для хроматографии, закупленные в российских фирмах. Такие вещества, как 2-пироллидинон, 2-пиперидинон, 3-метилбутанамид, 2-амино-3-метилпиридин, 5,5-диметилгидантоин, 5-этил-5-метилгидантоин, произведённые Acros Organics, 3-изобутил-1,6-пропилен-2,5-дикетопиперазин, произведённый фирмой Santa Crus Biotechnology, были предоставлены НВЦ «Агроветзащита».

Исследование проводили на хроматографе Хроматэк-Кристалл-5000.1 2003 г. выпуска в комплек-

тации: испаритель капиллярный, детектор пламенно-ионизационный и капиллярная колонка ZB-FFAP 50 м×0,32 мм×0,50 мкм. Режим работы хроматографа: температура испарителя 250 °С, температура ПИД 250 °С, начальная температура колонки 145 °С, выдержка начальной изотермы 1 мин, скорость подъёма температуры колонки 10 град/мин, конечная температура колонки 225 °С. Газ-носитель гелий в режиме поддержания постоянного давления перед колонкой 150 кПа, коэффициент деления потока 1/30, режим экономии газа. Газовый режим ПИД: расход водорода 30 мл/мин, расход воздуха 300 мл/мин, поддув инертного газа (гелия) 30 мл/мин. Объём вводимой в испаритель пробы 1 мкл. Общая длительность анализа 70 мин.

Выбор FFAP в качестве фазы капиллярной колонки был обусловлен тем, что значительное число индивидуальных веществ АСД-2Ф являются полярными азотсодержащими соединениями с молекулярной массой до 150–200 углеродных единиц, что позволяло ожидать достаточно качественное разделение компонентов смеси.

Хромато-масс-спектрологию (ГХ-МС) образцов АСД-2Ф проводили на газовом хроматографе Shimadzu GC-2010 Plus, оборудованном пламенно-ионизационным детектором, масс-детектором GCMS-QP2020 и капиллярной колонкой HP-5 30м×0,32мм×0,25 мкм. Режим проведения анализа: температура испарителя 250 °С, температура ПИД 250 °С, температура ионного источника 210 °С, температура интерфейса 210 °С, температурная программа термостата колонки – 140 °С 15 мин, нагрев 10 °С/мин до 240 °С, общее время анализа 35 мин. Газ-носитель гелий в режиме постоянного давления перед колонкой 53 кПа, коэффициент деления потока 1/20, расход водорода 40 мл/мин, воздуха 400 мл/мин. Режим работы масс-детектора: температура ионного источника 210 °С; температура интерфейса 210 °С, скорость сканирования – 1425, интервал сканируемых масс – от m/z 30 до m/z 450, скорость развертки одного цикла – 0,3 с, напряжение детектора – 0,9 кВ, устранение эффекта растворителя – 1,5 мин.

Выбор фенил (5%) полиметилсилоксана в качестве фазы капиллярной колонки был обусловлен тем, что данная фаза является менее полярной и более высокотемпературной, чем FFAP. Это должно было позволить получить на хроматограмме пики веществ с большей молекулярной массой, чем на колонке с FFAP.

Аналізу подвергали раствор ОЧ АСД-2Ф в этаноле (0,5 г в 10 мл соответственно), полученной в результате упаривания исходных образцов в течение 3 ч при температуре 80 °С.

Расшифровку полученных масс-спектров проводили с использованием программного обеспечения GCMS PostrunAnalysis. Идентификацию компонентного состава образцов проводили сравнением масс-спектра компонента, присутствующего в пробе, с его библиотечным масс-спектром (базы данных библиотек – NIST-14 и NIST-14s).

### Результаты исследования и их обсуждение

В результате анализа непосредственно субстанции АСД-2Ф методом ГЖХ были получены хроматограммы, содержащие до 80 пиков, а концентрирование субстанции

позволило в тех же условиях получить хроматограммы, содержащие до 140 пиков индивидуальных органических веществ.

При обработке полученных хроматограмм учитывали лишь пики с соотношением сигнал/шум более 10. При увеличении соотношения сигнал/шум до 20 и 50 количество пиков уменьшалось лишь на 3–10%, а суммарная площадь пиков уменьшалась лишь на 5–20% соответственно.

Идентификация и количественное определение содержания некоторых компонентов субстанции проводились на основе модельных (искусственно приготовленных)

смесей, содержащих 26 компонентов, доступных в приобретении и распределенных по всей протяженности получаемой хроматограммы. Градуировку хроматографа проводили по 4–5 смесям в диапазоне концентраций веществ-стандартов от 0,05 до 8% мас.

В табл. 1 представлены основные результаты этих исследований.

Из данных табл. 1 видно, что использование для разделения колонки ZB-FFAP позволило установить более 50% мас. органических веществ, входящих в состав субстанции АСД-2Ф.

Таблица 1

Влияние условий упаривания на содержание органических веществ в концентрате АСД-2Ф

№ поз.	Наименование вещества-стандарта	Время удерживания $T_R$ , мин	Содержание вещества, % мас.			
			Исходный АСД-2Ф	Условия концентрирования (температура, °С)/длительность выдержки, час)		
				60/10	80/3	100/2,5
1	2-Метилпиридин	3,11	0,01	0	0	0
2	Диметилформамид	3,63	0,1	0,04	0,04	0,01
3	<b>Уксусная к-та</b>	<b>3,85</b>	<b>0,727</b>	<b>0,131</b>	<b>0,26</b>	<b>0,004</b>
4	N,N-Диметилацетамид	4,04	0,03	0,073	0,071	0
5	Пропионовая к-та	4,36	0,072	0,066	0,085	0,024
6	<b>Масляная к-та</b>	<b>4,99</b>	<b>0,230</b>	<b>0,061</b>	<b>0,106</b>	<b>0</b>
7	Изовалериановая к-та	5,37	0,01	0,086	0,073	0,013
8	N-Метилацетамид	5,42	0,017	0,087	0,077	0,012
9	N-Метилформамид	5,52	0,005	0,022	0,02	0
10	Валериановая к-та	5,89	0,01	0,083	0,084	0,01
11	<b>Ацетамид</b>	<b>6,47</b>	<b>0,39</b>	<b>1,155</b>	<b>1,205</b>	<b>0,165</b>
12	<b>Пропионамид</b>	<b>6,80</b>	<b>0,16</b>	<b>0,529</b>	<b>0,535</b>	<b>0,086</b>
13	Капроновая к-та	6,87	0,01	0,119	0,12	0,007
14	Бутирамид	7,62	0,034	0,159	0,156	0,057
15	3-Метилбутанамид	7,88	0,09	0,188	0,107	0,067
16	2-Аминопиридин	7,97	0,024	0,177	0,147	0,053
17	2-Амино-3-метил-пиридин	8,21	0,012	0,088	0,086	0,03
18	Уротропин	8,57	0,054	0,053	0,055	0,027
19	Валерамид	8,71	0,034	0,025	0,024	0,013
20	Каприловая к-та	8,94	0,002	0,112	0,395	0,575
21	2-Пирролидинон	9,63	0,08	0,898	0,901	0,550
22	<b>2-Пиперидинон</b>	<b>10,81</b>	<b>0,36</b>	<b>1,985</b>	<b>1,87</b>	<b>2,096</b>
23	Пиколинамид	14,51	0,068	0,113	0,151	0,047
24	<b>5,5-Диметилгидантоин</b>	<b>33,90</b>	<b>0,68</b>	<b>10,404</b>	<b>10,488</b>	<b>9,86</b>
25	<b>5-Метил-5-этил-гидантоин</b>	<b>39,20</b>	<b>0,31</b>	<b>4,106</b>	<b>4,08</b>	<b>4,456</b>
26	3-Изобутил-1,6-пропилен-2,5-дикетопиперазин	57,20	0,03	0,292	0,394	0,827
27	Всего веществ – стандартов, %		3,48	21,05	21,5	18,99
28	Всего веществ-маркеров, %		2,86	18,40	18,55	16,67
28	Содержание ОЧ, %		6,3	6,55	6,3	5,45
30	Определено веществ ОЧ, %		55,2	22,9	22,2	19,1

Набор веществ-стандартов, включающий представителей самых различных групп органических соединений и представленный в табл. 1, практически исключает возможность фальсификации препарата. Одновременно нельзя не отметить, что для реализации метода анализа в производственных условиях достаточно использовать несколько маркерных веществ, отличающихся высоким содержанием в субстанции, легкодоступных при приобретении, а также достаточно стабильных при хранении.

Эти вещества выделены в таблице «жирным» шрифтом: уксусная кислота, масляная кислота, ацетамид, пропионамид, 2-пиперидион, 5,5-диметилгидантоин, 5-метил-5-этилгидантоин, причём их суммарная концентрация составляет более 40 % от массы ОЧ.

Анализ этих данных с точки зрения химического состава ОЧ также показывает, что значительное количество органических веществ АСД-2Ф относятся к жирным органическим кислотам, а также их амидам. Суммарная концентрация органических кислот практически равна 1%, так же как и амидов данных кислот.

Следует учитывать, что вещества, определяемые на хроматограмме как органические кислоты, соответствуют в исходном АСД-2Ф в виде их соответствующих аммонийных солей. Поэтому нами было проведено специальный опыт, доказывающий, что в представленных условиях анализа кислоты и их аммонийные соли в исходной пробе дают одинаковый результат хроматографического анализа.

Достаточно много в АСД-2Ф индивидуального вещества 2-пиперидинона, концентрация которого составляет около 0,4%.

Особый интерес представляют 5,5-алкилпроизводные гидантоинов, имеющие высокую суммарную концентрацию (около 1%) и обладающие подтверждённым анти-септическим действием

Рассматривая изменение химического состава образцов АСД-2Ф в результате выдержки при различных температурах можно отметить, что упаривание образцов АСД-2Ф даже при относительно невысокой (до 60 °С) температуре позволяет осуществить концентрирование органических веществ субстанции. Так, например, содержание производных гидантоинов в концентрате повышается в 15 раз по сравнению с исходной субстанцией.

При выдержке образцов при температуре 100 °С начинается интенсивное испарение легколетучих веществ и воды, в результате чего на хроматограмме концентрата наблюдается менее половины из использованных 26 веществ-стандартов.

Таким образом, наиболее подходящими условиями подготовки субстанции АСД-2Ф для производственного ГЖХ-анализа является, по мнению авторов, концентрирование органических веществ при температуре 80 °С в течение 3 ч.

В табл. 2 представлены результаты хромато-масс-спектрографии субстанции АСД-2Ф (условные обозначения: t – время удерживания, мин; S – относительная площадь сигнала, %; SI – степень совпадения с данными библиотеки; [2, 4] литературные результаты).

Таблица 2

Результаты ГХ-МС субстанции АСД-2Ф

№ поз.	Наименование вещества	Параметры сигнала			Данные [2, 4] S, %
		t, мин	S, %	SI, ед.	
1	<b>Пропионовой кислоты амид</b>	2,596	0,77	92	4,41
2	Масляной кислоты амид	2,797	0,34	88	0,07
3	Глицерин	2,869	0,83	96	
4	Изовалериановой кислоты амид	2,965	0,67	90	4,81
5	Метилянгарной кислоты ангидрид	3,097	3,63	90	
6	6-Гептеновая кислота	3,168	0,55	72	5,0
7	2-Пирролидинон	3,361	1,07	95	2,0÷7,0
8	3-Пиридинол	3,416	2,77	93	0,13
9	N-Циклогексилформамид	3,577	2,59	72	
10	3-Амино-2,4-диметилпентан	3,897	0,15	85	
11	Гексанамид	4,097	0,67	90	
12	N-Ацетилпирролидин	4,130	0,76	73	
13	<b>2-Пиперидион</b>	4,274	3,19	96	8,0÷15,7
14	Дигидро-3-метил-2,4-пиримидиндион	5,090	0,76	81	
15	Пиколинамид	5,172	0,28	79	1,8

Окончание табл. 2

№ поз.	Наименование вещества	Параметры сигнала			Данные [2, 4] S, %
		t, мин	S, %	SI, ед.	
16	<b>5,5-Диметилгидантоин</b>	5,879	25,36	96	4,6÷6,3
17	5-Метилгидантоин	6,291	2,37	91	
18	3-Фенилпропионовая кислота	6,393	0,36	80	
19	Капролактан	6,73	0,33	73	0,29
20	<b>5-Метил-5-этилгидантоин</b>	7,828	13,38	94	3,7
21	N-(-1-Метилпропил)-2-бутанамин	7,945	0,45	82	
22	5-Этилгидантоин	8,22	1,22	93	1,85÷4,62
23	2-Ацетиамидо-N-метилбутирамид	8,569	0,24	75	0,32
24	N-Метилфталимид	9,041	0,11	82	
25	N, N-Дибутилформамид	9,359	1,16	74	
26	5-(2-Метилпропил)-гидантоин,(S)	9,750	2,84	90	
27	5-Метил-5-(2-метилпропил)-гидантоин,(S)	10,291	0,17	86	
28	3,3'-Тиобиспропионитрил	10,474	0,63	93	0,13
29	Нитрил миристиловой кислоты	10,752	0,22	73	
30	6-Аминоиндазол	11,305	3,07	80	
31	N-Метил-N-гексадецилэтиламин	12,344	0,16	71	
32	3,6-Диметил-2,5-дикетопиперазин	12,667	0,93	66	
33	N-Циклогексилимирид янтарной кислоты	14,482	0,75	73	
34	2-Метил-1-Н-пирроло [2,3-b] пиридин-6-амин	14,996	1,21	85	
35	1-Н-Имидазо (4,5-d) пиразин-7-ол	15,676	0,68	80	
36	6-Метил-[1,2,4] триазоло [4,3-b] пиразин-8-ол	16,644	0,59	73	
37	7-Метиладенин	17,753	0,18	61	
38	3-Изопропил-6-метил-2,5-дикетопиперазин	18,022	0,44	82	1,3÷2,4
39	(3S,6S) -3-Бутил-6-метилпиперазин-2,5-дион	18,385	0,75	82	
40	1,3-Диметилтетрагидро-2-пиримидинон	18,764	0,16	81	
41	(E)-3-Гексеновая кислота	19,379	0,86	54	
42	Дециловый эфир N-винилкарбонилглицина	20,392	2,07	73	
43	N-ацетил -3-метил-1,4 -диазабицикло [4.3.0] нонан-2,5 дион	20,523	0,56	85	
44	3,6-Диизопропил -2,5-дикетопиперазин	20,744	0,71	83	2,4÷6,3
45	Мочевая кислота	21,030	4,16	78	3,48
46	3-Изобутил-1,6-пропилен-2,5-дикетопиперазин	21,479	5,87	96	3,8-7,0
47	1-(2-Пропил-1,2,4-триазол-3-ил)-этанамин	21,950	0,34	74	
48	1,3-Диметилдигидро -2,4(1H,3H)-пиримидиндион	22,469	0,48	68	
49	L-Пролин, N-валерил, гептадециловый эфир	22,584	0,22	79	
50	3,6-диизобутил -2,5-дикетопиперазин	23,063	1,99	57	
51	L-Пролин, N-валерил, октадециловый эфир	24,474	0,16	76	
52	5,10-Диэтокси-2,3,7,8-тетрагидро-1H,6H-дипирроло-[1,2-a; 1',2'-d]-пиразин	24,639	4,03	90	3,0-9,2
53	3-Бензил-1,6-пропилен-2,5-дикетопиперазин	31,365	0,13	91	
	ИТОГО, %		98,3		

Выбор индивидуальных веществ производили не только по степени соответствия характеристик спектра соответствующим библиотечным данным, но и с учётом существующих представлений [5–7] о возможном механизме совместного пиролиза белков и жиров животного происхождения в безвоздушной среде при температуре в диапазоне 200–500 °С.

При этом основной чертой механизма пиролиза мы считали возможное образование из аминокислот, представленных в животных белках, циклических и линейных

дипептидов, а также их производных. Предполагали, что дипептиды могли бы образоваться из таких аминокислот, как глицин, лейцин, фенилаланин, аланин, валин, пролин, гидроксипролин, изолейцин.

Однако до сих пор по данным [2, 4] удалось обнаружить в аналогичных продуктах пиролиза лишь 3-изобутил-1,6-пропилен-2,5-дикетопиперазин и эфирное производное дипептида 5,10-диэтокси-2,3,7,8-тетрагидро-1H,6H-дипирроло [1,2-a; 1',2'-d] пиразин. Поэтому мы обоснованно предполагали, что в спектре анализируе-

мых образцов АСД-2Ф должны присутствовать и иные дипептиды. Наличие этих веществ не удалось определить методом ГЖХ с колонкой FFAP, в то время как ГХ-МС с использованием колонки HP-5 позволило определить наличие десяти дипептидов и их эфиров.

Для органической части всего нами были определены 150 веществ, причём 53 вещества, представленные в табл. 2, имеют относительную площадь сигнала более 0,1%, а сумма относительных площадей их пиков составляет более 98%.

Эти вещества распределяются по нескольким основным группам: более 90% всех веществ (по суммарной относительной площади сигнала) представляют азотосодержащие вещества, в том числе:

- амиды карбоновых кислот и амины – более 7%;
- алкилгидантоины – 32%;
- дипептиды, в том числе циклические – 16%.

Остальные вещества являются отдельными представителями лактамов и других азотосодержащих гетероциклов, производными аминокислот и карбоновых кислот. Жирным шрифтом в таблице выделены вещества, возможность использования которых в качестве маркеров химического состава АСД-2Ф обсуждалась нами при рассмотрении данных табл. 1.

В диапазоне времени удерживания 8–32 минуты, то есть после 5-метил-5-этилгидантоина, методом ГХ-МС были найдены около 30 веществ с суммарной относительной площадью пиков более 30%, которые не наблюдались на хроматограмме при проведении определения на колонке FFAP.

### Выводы

1. Показано, что совместное применение газожидкостной хроматографии с капиллярной колонкой ZB-FFAP и хромато-масс-спектрометрии с капиллярной колонкой HP-5 позволяет определить наличие около 170 пиков веществ, входящих в состав органической части субстанции АСД-2Ф.

2. Определена концентрация 26 органических веществ-стандартов, входящих в состав органической части субстанции АСД-2Ф. Суммарное содержание этих веществ составляет около 50% (мас.) от общего количества органических веществ в АСД-2Ф, причём более 40% (мас.) составляют семь легкодоступных веществ-маркеров (уксусная и масляная кислоты, а также их соответствующие амиды; 2-пиперидинон; 5,5-диметилгидантоин и 5-метил-5-этилгидантоин).

3. Впервые установлено значительное количество среди органических веществ субстанции циклических дипептидов и их производных, таких как 3,6-диметил-2,5-дикетопиперазин, 3-изопропил-6-метил-2,5-дикетопиперазин, 3,6-диизопропил-2,5-дикетопиперазин, 3,6-диизобутил-2,5-дикетопиперазин, 3-бензил-1,6-пропилен-2,5-дикетопиперазин, N-ацетил-3-метил-1,4-диазабцикло-[4.3.0]-нонан-2,5-дион, а также 1,3-диметилдигидро-2,4(1H,3H)-пиримидиндион, и подтверждено наличие в препарате АСД-2Ф двух найденных ранее гетероциклических дипептидов пролина: 3-изобутил-1,6-пропилен-2,5-дикетопиперазина и 5,10-диэтокси-2,3,7,8-тетрагидро-1H,6H-дипирроло-[1,2-a;1',2'-d]-пиразина.

*Выражаем благодарность канд. хим. наук А.Л. Есиповичу, доценту кафедры «Химическая технология» Дзержинского политехнического института (филиала) НГТУ имени Р.Е. Алексеева за участие в проведении анализов АСД-2Ф методом ГХ-МС и помощь в обсуждении полученных результатов, а также канд. ветеринар. наук Е.С. Енгашевой, начальнику отдела НВЦ «Агроветзащита», канд. хим. наук В.А. Кашаеву, нач. отдела АО «ГосНИИ «Кристалл» за помощь в подборе и приобретении образцов стандартов химических веществ и обсуждении результатов.*

### Список литературы

1. Абдрахманов В.И., Сахипов В.Р., Краснов В.Л. Исследование химического состава препарата АСД-2Ф // Проблемы современной науки и образования. 2015. № 11 (41). С. 58–64.
2. Енгашев С.В., Сидорин Д.Н., Рогова Н.В., Ремизова Н.Ю., Енгашева И.В. Способ получения стабилизированной формы антисептика-стимулятора Дорогова – фракции 2 (АСД-2) // Патент РФ № 2494750. Патентообладатель ООО «НВЦ Агроветзащита». 2013. Бюл. № 28.
3. Енгашев С.В., Абдрахманов В.И., Сахипов В.Р., Краснов В.Л., Кондрашкин Е.М., Логутов В.И., Дорогова О.А., Енгашева Е.С., Абрамов В.Е. Концентрированная фармацевтическая композиция и способ её получения // Патент РФ № 2657775. Патентообладатель ООО «НВЦ Агроветзащита». 2018. Бюл. № 17.
4. Hydrothermal liquefaction of waste water algae mixtures into bio-grade oil. Wan-TingChen, Urbana, Illinois 2013, 83 p. P. 52–54.
5. Васина Я.А., Смельцова И.Л., Фаерман В.И., Яблочкин В.А. Продукты твёрдофазного термического превращения L-α-аминокислот в вакуумированной системе // Universum: Химия и биология: электрон. научн. журн. 2016. № 11 (29). [Электронный ресурс]. URL: <http://universum.com/ru/nature/archive/item/3827> (дата обращения: 15.04.2019).
6. Смельцова И.Л., Зеляев И.А., Митрофанова С.В. Термическая стабильность алифатических аминокислот // Естественные и математические науки в современном мире. 2012. № 1. С. 145–151.
7. Chaalaand A., Roy C. Recycling of Meat and Bone Meal Animal Feed by Vacuum Pyrolysis. Department de Genie Chimique, University Laval, Santa-Foy, Quebec, Canada/Environ. Sci. Technol. 2003. V. 37 (19). P. 4517–4522.