



УДК 543.054:54.062

## Разделение $\alpha$ - и $\beta$ -аланина, смесей аминокислот и дипептида полимером с молекулярным отпечатком $\alpha$ -аланина

© 2020 Заварыкина С.А., Королёв А.И., Зяблов А.Н.

ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет», Воронеж

Поступила в редакцию 1.03.2020 г.

DOI: 10.17308/sorpchrom.2020.20/2781

В работе проведено разделение смесей аминокислот, а также  $\alpha$ -аланина и глицил-глицина. Цель работы состояла в выделении  $\alpha$ -аланина из смесей аминокислот  $\alpha$ - и  $\beta$ -аланина,  $\alpha$ -аланина и глицина,  $\alpha$ -аланина и глицил-глицина полимерами с молекулярными отпечатками.

Для разделения аминокислот был получен высокоселективный сорбент на основе сополимера диангидрида 1,2,4,5-бензолтетракарбоновой кислоты с 4,4'-диаминодифенилоксидом. В качестве темплата использовали  $\alpha$ -аланин.

Исходные растворы аминокислот с концентрацией 0.5 моль/дм<sup>3</sup> были пропущены через патроны, заполненные 3 г сорбента, на основе ПМО- $\alpha$ -аланина, со скоростью 0.2 см<sup>3</sup>/мин. Объем растворов составлял 25 см<sup>3</sup>. Определение аминокислот в элюате (15 см<sup>3</sup>) проводили методом жидкостной хроматографии на приборе Agilent 1260 Infinity (Agilent Technologies, CA,US).

При пропускании через патрон с ПМО- $\alpha$ -аланина смеси аминокислот и  $\alpha$ -аланина с глицил-глицином в элюате было обнаружено 0.30±0.02 моль/дм<sup>3</sup>  $\alpha$ -аланина. Установлено, что полимеры с молекулярным отпечатком  $\alpha$ -аланина сорбируют только целевую аминокислоту –  $\alpha$ -аланин и не способны к молекулярному распознаванию  $\beta$ -аланина, глицина и глицил-глицина.

Предложенная методика разделения структурных изомеров аланина и смеси аминокислот на полимере с молекулярными является перспективной, т.к. существующие способы разделения изомеров аминокислот достаточно дороги и специфичны.

**Ключевые слова:** аминокислоты, глицин, аланин, дипептиды, глицил-глицин, полимеры с молекулярными отпечатками.

### Введение

Все аминокислоты представляют собой строительный материал для белков в организме, из которых образуются мышцы, органы и клетки [1]. Заменяемые аминокислоты могут синтезироваться в организме, а незаменимые аминокислоты – поступают с пищей. Поэтому смеси аминокислот и индивидуальные аминокислоты являются эффективными добавками при производстве пищевых продуктов, применяются в фармацевтической промышленности как препараты для спортивного питания, при профилактике и лечении различных заболеваний.

Разработка простых методов разделения  $\alpha$ - и  $\beta$ -аминокислот, а также смесей обусловлена различными областями их применения [1-3]. Так, например,  $\alpha$ -аланин входит в состав косметических средств,  $\beta$ -аланин используется в виде биологически активных добавок, а дипептиды применяют при создании фармацевтических или косметических композиций.

В качестве сорбентов, наиболее перспективными в последнее время являются полимеры с молекулярными отпечатками [4-9], поскольку они просты в получении,

стабильно работают в агрессивных средах и относительно недороги, а также существует большая возможность создания сорбентов селективных к органическим соединениям разных классов [10-12].

В связи с этим, целью работы было: разделение  $\alpha$ - и  $\beta$ -аланина, смесей аминокислот и дипептида синтезированным полимером с молекулярным отпечатком  $\alpha$ -аланина.

## Эксперимент

На первом этапе эксперимента для разделения аминокислот был получен высокоселективный сорбент на основе сополимера диангирида 1,2,4,5-бензолтетракарбоновой кислоты с 4,4'-диаминодифенилоксидом. В качестве темплата использовали  $\alpha$ -аланин.

Полимер с молекулярным отпечатком получали по следующей методике: готовили полимеризационную смесь в соотношении 1 : 2 : 4 - аминокислота : этанол : бутанол [13-15]. Затем шаблон добавляли к полимеризационной смеси в соотношении 1:1. Полученный раствор наносили шпателем на стеклянную пластину и подвергали двухступенчатой термической обработке: на первой ступени в течение 1 ч при 80°C, а на второй – в течение 30 минут при 180°C. После чего охлаждали, отмывали водой и высушивали на воздухе при комнатной температуре. Высушенный полимер в количестве 3 г измельчили в ступке до однородного состояния и заполнили им патрон.

На втором этапе работы проводили разделение  $\alpha$ - и  $\beta$ -аланина [16]. Для этого растворы  $\alpha$ - и  $\beta$ -аланина с концентрацией 0.5 моль/дм<sup>3</sup> были пропущены через патроны, заполненные ПМО- $\alpha$ -аланина, со скоростью 0.2 см<sup>3</sup>/мин. Объем растворов составлял 25 см<sup>3</sup>. Процесс сорбции и десорбции проходил под давлением на установке для твердофазной экстракции. Схема разделения аминокислот представлена на рисунке.

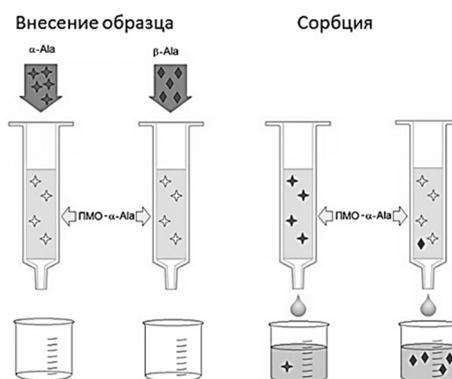


Рис. Схема разделения  $\alpha$ - и  $\beta$ -аланина на полимере с молекулярным отпечатком  $\alpha$ -аланина.

Аналогично при подготовке к разделению смесей аминокислот были приготовлены стандартные растворы  $\alpha$ -аланина, глицина, глицил-глицина, а также их смеси. Затем через патроны, заполненные сорбентом на основе полимера с молекулярным отпечатком  $\alpha$ -аланина пропускали соответствующие растворы. Содержание аминокислот в элюате (15 см<sup>3</sup>) определяли методом жидкостной хроматографии (Agilent 1260 Infinity (Agilent Technologies, CA,US)) [17].

Значения степеней извлечения ( $R, \%$ ) рассчитывали по уравнению:

$$R, \% = \frac{C_0 - C}{C_0} \cdot 100\%, \quad (1)$$

где  $C_0$  – концентрация определяемого соединения в водном растворе перед сорбцией, моль/дм<sup>3</sup>;  $C$  – концентрация в растворе после сорбции, моль/дм<sup>3</sup>.

Значения коэффициентов распределения ( $D$ ) рассчитывали по уравнению:

$$D = \frac{R, \%}{(100-R, \%)} \cdot \frac{V}{m}, \quad (2)$$

где  $V$  – объем анализируемого раствора, см<sup>3</sup>,  $m$  – масса навески сорбента, г.

### Обсуждение результатов

При пропускании через патрон с ПМО- $\alpha$ -аланина смеси  $\alpha$ - и  $\beta$ -аланина в элюате было обнаружено 0.31 моль/дм<sup>3</sup>  $\alpha$ -аланина, а при пропускании смеси  $\alpha$ -аланина с глицином и  $\alpha$ -аланина с глицил-глицином в элюате было обнаружено 0.3 моль/дм<sup>3</sup>  $\alpha$ -аланина. Результаты представлены в таблице.

Таблица. Определение  $\alpha$ -аланина в элюате после разделения смесей с аминокислотами и дипептидом

Вещество	$C_{исх}$ , моль/дм <sup>3</sup>	$C$ в элюате, моль/дм <sup>3</sup>	$R$ , %	$D$	$Sr$ , %
$\alpha$ -аланин	0.5	0.31±0.01	38±1	5.1	3.2
$\alpha$ -аланин + глицин	0.5	0.30±0.02	40±2	5.5	3.7
	0.5	0.47±0.02	6±1	0.53	2.0
глицин	0.5	0.49±0.01	2±1	0.002	1.2
глицил-глицин	0.5	0.48±0.01	4±1	0.34	2.1
$\alpha$ -аланин + глицил-глицин	0.5	0.30±0.02	40±3	5.5	3.2
	0.5	0.49±0.02	2±1	0.002	2.0
$\beta$ -аланин	0.5	0.49±0.02	2±1	0.002	1.4

Установили, что на полимере с молекулярным отпечатком  $\alpha$ -аланина, сорбируется только  $\alpha$ -аланин, степень извлечения составляет 38-40%. Полученные значения указывают на избирательность к молекуле-шаблону [18].

Значения коэффициентов распределения находятся в диапазоне от 0.002 до 5.5. Наибольшая величина коэффициента  $D$  наблюдается для  $\alpha$ -аланина, что обусловлено селективностью полимера с молекулярным отпечатком  $\alpha$ -аланина к целевой аминокислоте.

### Заключение

В работе установлено, что полимер с молекулярным отпечатком  $\alpha$ -аланина, не способен к молекулярному распознаванию  $\beta$ -аланина и может быть использован для разделения изомеров аминокислот. Так же выявлено, ПМО- $\alpha$ -Ala сорбирует только целевую аминокислоту –  $\alpha$ -аланин, следовательно, ПМО- $\alpha$ -Ala применим и для разделения смесей аминокислот.

### Список литературы

1. Михеева А.Д., Ванина Г.Е, Рашевская И.В. // *Информационные и управленческие технологии в медицине и экологии*. 2015. № 9. С.33-34.
2. Лысиков Ю.А. // *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2012. № 2. С. 88-105.
3. Зяблов А.Н., Калач А.В., Селеменев В.Ф., Жиброва Ю.А. и др. // *Журнал аналитической химии*. 2009. Т. 64. № 9. С. 988-990.
4. Зяблов А.Н. // *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2008. Т. 8. № 1. С. 172-175.

5. Семилетова Е.С., Зяблов А.Н., Селеменев В.Ф. и др. // *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2012. Т.12. №5. С. 734-738.
6. Дьяконова О.В., Соколова С.А., Зяблов А.Н., Жиброва Ю.А. // *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2007. Т. 7. № 5. С. 873-877.
7. Дьяконова О.В., Зяблов А.Н., Котов В.В., Елисеева Т.В. и др. // *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2005. Т. 5. № 4. С. 501-506.
8. Зяблов А.Н., Дьяконова О.В., Котов В.В., Елисеева Т.В. и др. // *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2004. Т.4. № 1. С. 244-248.
9. Соколова С.А., Дьяконова О.В., Емельянов Д.Е., Дуванова О.В. и др. // *Технологии и товароведение сельскохозяйственной продукции*. 2013. № 1. С. 114-119.
10. Piletsky S., Turner A. *Molecular imprinting of polymers*. Georgetown. 2006. 208p.
11. Лисичкин Г.В., Крутяков В.А. // *Успехи химии*. 2006. Т. 75. № 10. С. 998-1017.
12. Ye L., Haupt K. // *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2004. Vol. 378. No 8. pp. 1887-1897.
13. Зяблов А.Н. Дисс. док. хим. наук. Воронеж. 2015. 371 с.
14. Зяблов А.Н., Калач А.В., Селеменев В.Ф. // *Журнал аналитической химии*. 2006. Т. 61. № 12. С. 1313-1316.
15. Зяблов А.Н. Патент РФ, № 102264. 2011.
16. Дмитриенко С.Г., Ирха В.В., Кузнецова Л.Ю., Золотов Ю.А. // *Журнал аналитической химии*. 2004. Т. 59. № 9. С. 902-913.
17. Бёккер Ю. *Хроматография. Инструментальная аналитика: методы хроматографии и капиллярного электрофореза*. М. Техносфера. 2009. 473 с.
18. Зяблов А.Н., Хальзова С.А., Селеменев В.Ф. // *Известия высших учебных заведений. Серия «Химия и химическая технология»*. 2017. Т. 60. № 7. С. 42-47.

## Separation of $\alpha$ - and $\beta$ -alanine, amino acid and dipeptide mixtures by molecular printer polymers

© 2020 Zavarykina S.A., Korolev A.I., Zyablov A.N.

*Voronezh State University, Voronezh*

The article describes separation of amino acid mixtures,  $\alpha$ - and  $\beta$ -alanine, and glycyl glycine. The aim of the study was to extract  $\alpha$ -alanine from mixtures of amino acids of  $\alpha$ - and  $\beta$ -alanine,  $\alpha$ -alanine and glycine, and glycyl glycine by molecularly imprinted polymers.

A high selective sorbent based on copolymer of 1,2,4,5-benzene tetra-tetracarboxylic acid dianhydride with 4,4'-diaminodiphenyl oxide was obtained for separation of amino acids.  $\alpha$ -alanine was used as a template.

Initial solutions of amino acids with the concentration of 0.5 mol/dm<sup>3</sup> were passed through cartridges filled with 3g of sorbent based on MIPs- $\alpha$ -alanine at the flow rate of 0.2 sm<sup>3</sup>/min. The volume of solutions was 25 ml. Amino acids were identified in eluate (15 sm<sup>3</sup>) by liquid chromatography using Agilent 1260 Infinity (Agilent Technologies, CA,US).

0.30±0.02 mol/dm<sup>3</sup>  $\alpha$ -alanine was detected after the mixture of amino acids and  $\alpha$ -alanine with glycyl glycine in eluate had been passed through the cartridge with MIPs- $\alpha$ -alanine. It was established that polymers with molecular imprints of  $\alpha$ -alanine only adsorb the target amino acid,  $\alpha$ -alanine, and are incapable of molecular recognition of  $\beta$ -alanine, glycine, and glycyl glycine.

The proposed method of separating the structural isomer of alanine and the mixture of amino acids on molecularly imprinted polymers is very promising as the existing methods of separating amino acid isomers are costly and too specific.

**Keywords:** amino acids, glycine, alanine, dipeptides, glycyl glycine, molecularly imprinted polymers

### References

1. Mikheeva A.D., Vanina G.E., Rashevskaya I.V., *Information and management technologies in medicine and ecology*, 2015, No 9, pp. 33-34.
2. Lysikov Yu.A., *Experimental and clinical gastroenterology*, 2012, No 2, pp. 88-105.

3. Zyablov A.N., Kalach A.V., Selemenev V.F., Zhibrova Yu.A. et al., *J. of Analytical Chemistry*, 2009, Vol. 64, No 9, pp. 988-990.
4. Zyablov A.N., *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*, 2008, Vol. 8, No 1, pp. 172-175.
5. Semiletova ES, Zyablov AN, Selemenev V.F et al., *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*, 2012, Vol. 12, No 5, pp. 734-738.
6. Dyakonova O.V., Sokolova S.A., Zyablov A.N., Zhibrova Yu.A., *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*, 2007, Vol. 7, No 5, pp. 873-877.
7. Dyakonova O.V., Zyablov A.N., Kotov V.V., Eliseeva T.V. et al., *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*, 2005, Vol. 5, No 4, pp. 501-506.
8. Zyablov A.N., Dyakonova O.V., Kotov V.V., Eliseeva T.V. et al., *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*, 2004, Vol. 4, No 1, pp. 244-248.
9. Sokolova S.A., Dyakonova O.V., Emelyanov D.E., Duvanova O.V., Zyablov A.N., *Technologies and commodity science of agricultural products*, 2013, No 1, pp. 114-119.
10. Piletsky S., Turner A. *Molecular imprinting of polymers*, Georgetown, 2006, p. 208.
11. Lisichkin G.V., Krutyakov V.A., *Advances in chemistry*, 2006, Vol. 75, No 10, pp. 998-1017.
12. Ye L., Haupt K., *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2004, Vol. 378, No 8, pp. 1887-1897.
13. Zyablov A.N. Diss. doc Chem. sciences. Voronezh, 2015, 371 p.
14. Zyablov A.N., Kalach A.V., Selemenev V.F., *J. of Analytical Chemistry*, 2006, Vol. 61, No 12, pp. 1313-1316.
15. Zyablov A.N. Patent RF, No 102264, 2011.
16. Dmitrienko S.G., Irha V.V., Kuznetsova L.Yu., Zolotov Yu.A., *J. of Analytical Chemistry*, 2004, Vol. 59, No. 9, pp. 902-913.
17. Boecker J. *Chromatography. Instrumental analytics: methods of chromatography and capillary electrophoresis*. M., Technosphere Publ., 2009, 473 p.
18. Zyablov A.N., Khalzova S.A., Selemenev V.F., *Izvestiya Vysshikh Uchebnykh Zavedeniy Khimiya Khimicheskaya Tekhnologiya*, 2017, Vol. 60, No 7. pp. 42-47.

**Заварыкина Светлана Александровна** – студент, кафедры аналитической химии, Воронежский государственный университет, Воронеж.

**Королёв Александр Игоревич** – студент кафедры аналитической химии, воронежский государственный университет, Воронеж.

**Зяблов Александр Николаевич** – д.х.н., профессор кафедры аналитической химии, Воронежский государственный университет, Воронеж.

**Zavarykina Svetlana A.** – student, department of analytical chemistry, Voronezh State University, Voronezh. e-mail: [zavarykina.sveta@mail.ru](mailto:zavarykina.sveta@mail.ru)

**Korolev Alexander I.** – Student, department of analytical chemistry, Voronezh State University, Voronezh. e-mail: [darer2306@yandex.ru](mailto:darer2306@yandex.ru)

**Zyablov Alexander N.** – Dr.Sci. (Chemistry), professor, department of analytical chemistry, Voronezh State University, Voronezh. e-mail: [alex-n-z@yandex.ru](mailto:alex-n-z@yandex.ru)