



Исследование особенностей масс-фрагментации ряда N-(N,N-диэтилацетамидино)-О-алкилфторфосфатов и алкилфторфосфонатов и их обнаружение методом жидкостной хромато-масс-спектрометрии высокого разрешения

А.В. Браун, И.В. Рыбальченко, В.Н. Фатеенков, В.А. Яшкир

Федеральное государственное бюджетное учреждение «27 Научный центр» Министерства обороны Российской Федерации, 111024, Российская Федерация, г. Москва, проезд Энтузиастов, д. 19
e-mail: 27nc_1@mil.ru

Поступила 02.06.2023 г. Принята к публикации 27.06.2023 г.

Для своевременного выявления фактов нарушения Конвенции о запрещении разработки, производства, накопления и применения химического оружия и о его уничтожении (КХО) необходимы надежные методы обнаружения токсических химикатов, которые могут быть использованы для совершения химических нападений. Цель работы – установление хроматографических и масс-спектральных характеристик ряда токсичных химикатов, вновь внесенных в Список 1 Приложения по химикатам КХО, а именно, N-(N,N-диэтилацетамидино) метилфторфосфоната (ДЭАМФ), N-(N,N-диэтилацетамидино)-О-метилфторфосфата (ДЭАОМФ) и N-(N,N-диэтилацетамидино)-О-этилфторфосфата (ДЭАОЭФ), и повышение квалификации специалистов лаборатории химико-аналитического контроля, принимающих участие в профессиональных тестах, проводимых Организацией по запрещению химического оружия. Материалы и методы исследования. Использовался метод высокоэффективной жидкостной хроматографии с tandemным масс-спектрометрическим детектированием высокого разрешения (ВЭЖХ-МС/МСВР). Результаты исследования. В ходе работы проведена оптимизация условий масс-спектрометрического детектирования осуществлен выбор оптимальных пар ионных реакций и программы градиентного элюирования при разделении веществ в варианте обращенно-фазовой жидкостной хроматографии. Предложенный подход апробирован при анализе модельных водных проб, оценены метрологические характеристики обнаружения данных соединений. Выводы. Установлено, что масс-спектры ДЭАМФ, ДЭАОМФ и ДЭАОЭФ, полученные в режиме электрораспылительной ионизации, содержат интенсивные пики, относящиеся к протонированным молекулярным ионам, которые в ходе дальнейшей фрагментации образуют характерные ионы-продукты, выявленные в ходе проведенного исследования и использованные для идентификации и высокочувствительного обнаружения исходных веществ методом ВЭЖХ-МС/МСВР. Пределы обнаружения ДЭАМФ, ДЭАОМФ и ДЭАОЭФ в водных пробах составили, соответственно, 1,0, 0,5 и 0,5 нг/мл.

Ключевые слова: высокоэффективная жидкостная хроматография; Конвенции о запрещении разработки, производства, накопления и применения химического оружия и о его уничтожении; масс-спектрометрия высокого разрешения.

Библиографическое описание: Браун А.В., Рыбальченко И.В., Фатеенков В.Н., Яшкир В.А. Исследование особенностей масс-фрагментации ряда N-(N,N-диэтилацетамидино)-О-алкилфторфосфатов и алкилфторфосфонатов и их обнаружение методом жидкостной хромато-масс-спектрометрии высокого разрешения // Вестник войск ПХБ защиты. 2023. Т. 7. № 2. С.127–139. EDN: epofps. <https://doi.org/10.35825/2587-5728-2023-7-2-127-139>

Для своевременного выявления фактов нарушения Конвенции о запрещении разработки, производства, накопления и применения химического оружия и о его уничтожении (КХО) необходимы надежные методы обнаружения

токсических химикатов, которые могут быть использованы для совершения химических нападений. В октябре 2018 г. США, Канада и Нидерланды направили в Организацию по запрещению химического оружия (ОЗХО)

совместное предложение о дополнении запретительного Списка 1 Приложения по химикатам к КХО¹ двумя записями, включающими обширные группы токсичных химикатов, а именно:

- запись 1: Р-алкил (Н или \leq С10, включая циклоалкил) N-(1-(диалкил (\leq С10, включая циклоалкил)амино)алкилиден (Н или \leq С10, включая циклоалкил) амидофторфосфонаты и соответствующие алкилированные или протонированные соли;

- запись 2: Р-алкил (Н или \leq С10, включая циклоалкил) N-(1-(диалкил (\leq С10, включая циклоалкил)амино)алкилиден (Н или \leq С10, включая циклоалкил) амидофторфосфаты и соответствующие алкилированные или протонированные соли.

Позднее к этому предложению присоединилась Российская Федерация, предложившая включить в дополнение еще две записи:

- запись 3: Метил-(бис(диэтиламино)метил)амидофторфосфонат;

- запись 4: Карбаматы (четвертичные и бисчетвертичные диметилкарбамоилоксиридины).

В итоге совместное предложение США, Канады, Нидерландов и Российской Федерации, после одобрения большинством государств-участников КХО, было реализовано внесением 7 июня 2020 г. в Список 1 Приложения по химикатам к КХО четырех указанных выше записей, получивших номера 1.А.13, 1.А.14, 1.А.15 и 1.А.16 соответственно.

После включения в запретительный список КХО N-(N,N-диалкил-алкилиденамидино)алкилфторфосфонатов и соответствующих O-алкилфторфосфатов в открытой научной литературе появился ряд публикаций, посвященных исследованию аналитических характеристик данных соединений и, прежде всего, их хроматографических и масс-спектрометрических свойств. Особое внимание было привлечено к наиболее токсичным представителям рассматриваемых групп соединений: N-(N,N-диэтилацетидамино)метилфторфосфонат (ДЭАМФ); N-(N,N-диэтилацетидамино)-O-метилфторфосфат (ДЭАОМФ); и N-(N,N-диэтилацетидамино)-O-этилфторфосфат (ДЭАОЭФ). В ряде работ [1–3] были представлены результаты теоретических расчетов возможных путей трансформации данных соединений, а также молекулярные, электронные, спектроскопические, термодинамический и токсикологические параметры для ряда представителей этого нового класса соединений. Другие работы носили экспериментальный характер и потребовали

проведения синтеза целевых соединений. Вслед за первой публикацией [4] иранских исследователей, интерпретировавших масс-спектры низкого разрешения ряда синтезированных ими представителей этих групп соединений, вышла в свет публикация [5] авторов из химико-биологического исследовательского центра армии США, также синтезировавших и исследовавших ряд соединений данных групп. В исследовании этих авторов установлены термодинамические параметры и скорости реакций гидролиза ДЭАМФ, ДЭАОМФ и ДЭАОЭФ в сравнении с другими представителями нервно-паралитических отравляющих веществ. Авторы работы [6] изучили пути фрагментации синтезированных ими ДЭАМФ и ДЭАОМФ с использованием масс-спектрометрии низкого разрешения в сочетании с газовой и жидкостной хроматографией. Группа авторов из Южной Кореи провела исследование синтезированных ими ДЭАМФ и ДЭАОМФ в направлении выявления их аддуктов с бутирилхолинэстеразой плазмы крови человека [7]. Авторами получены масс-спектры высокого разрешения ряда биомаркеров, были установлены брутто-формулы фрагментных ионов. Ученые из Нидерландов представили исследование по обнаружению аддуктов с бутирилхолинэстеразой синтезированных ими ДЭАМФ и ДЭАОЭФ, а также по количественной оценке их содержания в плазме крови [8]. В работе группы авторов из Японии [9] приведены результаты определения в моче продуктов гидролиза ДЭАМФ, ДЭАОМФ и ДЭАОЭФ, которые были ими синтезированы специально для этого исследования. Определение проводили методом тандемной масс-спектрометрии низкого разрешения с использованием реакции дериватизации с диметокситриадином. Авторами из Франции и Нидерландов опубликована совместная работа [10] по изучению ферментативного гидролиза ДЭАМФ, ДЭАОМФ и ДЭАОЭФ, предоставленных для исследования синтетической лабораторией Центра ТНО (Нидерланды). Также опубликованы результаты исследования по изучению выведения ДЭАОЭФ при попадании в растительное сырье в виде соответствующего тирозинового аддукта [11], и данные, относящиеся к масс-спектральным характеристикам этого соединения и продуктов его разложения в водных растворах [12].

Таким образом, в различных странах проводятся активные исследования по синтезу и изучению хроматографических и масс-спектрометрических параметров веществ,

¹ Конвенция о запрещении разработки, производства, накопления и применения химического оружия и о его уничтожении. GE.92-61926, Париж. 1993. 181 с. URL: www.opcw.org (дата обращения: 12.05.2023).

вновь внесенных в Список 1 Приложения по химикатам к КХО под номерами 1.А.13 и 1.А.14.

Наряду с этим, хроматографические и масс-спектральные данные для целого ряда соединений, относящихся к рассматриваемым группам, синтезированы в специализированных лабораториях и предоставлены ими для включения в Центральную аналитическую базу данных ОЗХО. В таблице 1 представлен перечень соединений групп 1.А.13–1.А.15, внесенных в последнюю версию указанной базы данных².

В доступной литературе не представлены исследования масс-спектрометрического поведения N-(N,N-диалкилалкилиденамидино)-алкилфторфосфонатов и соответствующих O-алкилфторфосфатов в условиях ВЭЖХ-МС/МСВР. Известно, что использование масс-спектрометрии высокого разрешения позволяет проводить идентификацию группы соединений по характерным фрагментным ионам в масс-спектрах, при этом нивелируется влияние сложной матрицы и тем самым значительно увеличивается достоверность результатов анализа. В связи с этим представлялось целесообразным изучить возможности метода ВЭЖХ-МС/МСВР на примере анализа модельных растворов, содержащих ДЭАМФ, ДЭАОМФ и ДЭАОЭФ.

Цель работы состояла в установлении хроматографических и масс-спектральных характеристик ряда токсичных химикатов, вновь внесенных в Список 1 Приложения по химикатам КХО, а именно, N-(N,N-диэтилацетамидино) метилфторфосфоната (ДЭАМФ), N-(N,N-диэтилацетамидино)-O-метил-фторфосфата (ДЭАОМФ) и N-(N,N-диэтилацетамидино)-O-этилфторфосфата (ДЭАОЭФ), и в повышении квалификации специалистов лаборатории химико-аналитического контроля, принимающих участие в профессиональных тестах, проводимых Организацией по запрещению химического оружия.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Используемые реактивы. N-(N,N-диэтилацетамидино)метилфторфосфонат, N-(N,N-диэтилацетамидино)-O-метилфторфосфат и N-(N,N-диэтилацетамидино)-O-этилфторфосфат с массовой долей основного вещества не менее 95 % были получены путем микросинтеза по методике, опубликованной в работе [5]. Также использованы муравьиная кислота (х.ч., Химмед, Россия), ацетонитрил (конц., Panreas, Испания), деионизованная вода (после очистки системой Milli-Q (Millipore, США)).

Рабочие растворы готовили растворением точных навесок в соответствующих растворителях в день проведения анализа.

Оборудование. Использовали аналитическую станцию, состоящую из жидкостного хроматографа Dionex Ultimate 3000 RSLC (Германия), оборудованного системой автоматического ввода пробы, с масс-селективным тандемным анализатором высокого разрешения Thermo Scientific Orbitrap Fusion Lumos (США) с источником ионов и ионизацией электрораспылением. ДЭАМФ, ДЭАОМФ и ДЭАОЭФ разделяли на колонке 250 мм × 2,1 мм Thermo Acclaim 120 C18 с диаметром зерна сорбента 3 мкм (Thermo Scientific, США). Экспериментальные данные регистрировали и обрабатывали с помощью программных пакетов Xcalibur (ThermoScientific, США).

В ходе исследования выбрали и оптимизировали условия масс-спектрометрического детектирования в режиме мониторинга выбранных ионных реакций и градиентного элюирования при ВЭЖХ-МС/МСВР-анализе.

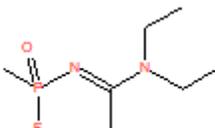
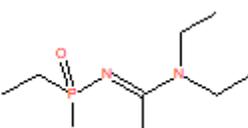
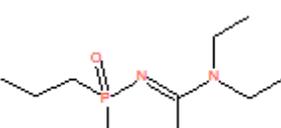
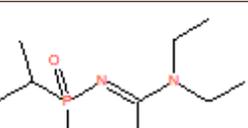
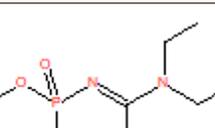
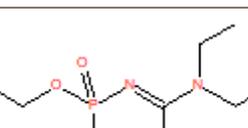
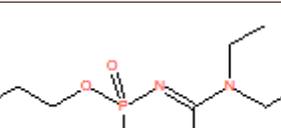
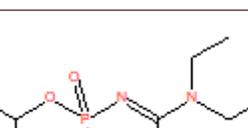
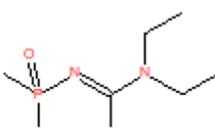
Методика анализа

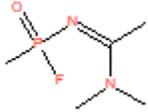
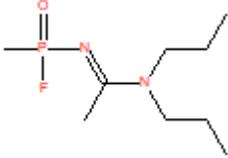
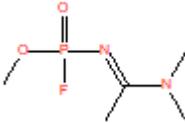
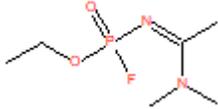
Пробоподготовка. Исследуемые образцы воды фильтровали через мембранный пористый фильтр с диаметром пор 20 мкм для устранения механических примесей. Вносили исследуемые вещества используя их концентрированные растворы (использовали водные растворы с содержанием ДЭАМФ, ДЭАОМФ и ДЭАОЭФ 100 мкг/мл) для получения образцов с содержанием ДЭАМФ, ДЭАОМФ и ДЭАОЭФ 1 мкг/мл. Полученные образцы центрифугировали 5 мин при 16000 об/мин для удаления растворенных газов и анализировали в выбранных условиях ВЭЖХ-МС/МСВР.

Условия хромато-масс-спектрометрического определения. Использовали источник ионов с ионизацией электрораспылением, детектирование ДЭАМФ, ДЭАОМФ и ДЭАОЭФ проводили в режиме регистрации выбранных ионных реакций положительных ионов. Величина разрешения масс-анализатора составляла не менее 30000, погрешность при определении величины m/z не превышала 3 млн⁻¹. Для установления присутствия ДЭАМФ, ДЭАОМФ и ДЭАОЭФ в водных пробах использовали следующие ионные реакции: m/z 195 → m/z 74,0964 и m/z 195 → m/z 122,0166 для ДЭАМФ, m/z 211 → m/z 74,0964 и m/z 211 → m/z 138,0115 для ДЭАОМФ, m/z 225 → m/z 74,0964 и m/z 225 → m/z 123,9958 для ДЭАОЭФ. Температура переходного капилляра составляла 325 °С, температура испарителя 350 °С, скорости подачи обдувочного газа

² OPCW Central Analytical Data Base, OCAD_2022. URL: www.opcw.org (дата обращения: 12.05.2023).

Таблица 1 – Токсичные химикаты из списков 1.A.13, 1.A.14, и 1.A.15 КЗО, внесенные в центральную аналитическую базу ОЗХО (OCAD_2022)

№	Название	Структурная формула	Список КЗО
1	N-(N,N-диэтилацетиамидино)-метилфторфосфонат		1.A.13
2	N-(N,N-диэтилацетиамидино)-этилфторфосфонат		1.A.13
3	N-(N,N-диэтилацетиамидино)-пропилфторфосфонат		1.A.13
4	N-(N,N-диэтилацетиамидино)-изопропилфторфосфонат		1.A.13
5	N-(N,N-диэтилацетиамидино)-O-метилфторфосфат		1.A.14
6	N-(N,N-диэтилацетиамидино)-O-этилфторфосфат		1.A.14
7	N-(N,N-диэтилацетиамидино)-O-пропилфторфосфат		1.A.14
8	N-(N,N-диэтилацетиамидино)-O-изопропилфторфосфат		1.A.14
9	N-(Бис(диэтиламино)метилен)-метилфторфосфонат		1.A.15

№	Название	Структурная формула	Список КЗО
10	N-(N,N-диметилацетиамидино)-метилфторфосфонат		1.A.13
11	N-(N,N-дипропилацетиамидино)-метилфторфосфонат		1.A.13
12	N-(N,N-диметилацетиамидино)-О-метилфторфосфат		1.A.14
13	N-(N,N-диметилацетиамидино)-О-этилфторфосфат		1.A.14
Примечание: Соединения 1-9 синтезированы в лаборатории Шпитц (Швейцария), соединения 10-13 – в лаборатории DCRL (Иран).			

составляла 50 усл. единиц, вспомогательного газа (азот) – 10 усл. единиц и продувочного газа (азот) – 1 усл. единица. Напряжение на распыляющем капилляре составляло 3500 В. Масс-спектры фрагментации получали в варианте диссоциации, активируемой соударениями.

ДЭАМФ, ДЭАОМФ и ДЭАОЭФ разделяли в режиме градиентного элюирования, расход подвижной фазы 0,35 мкл/мин, температура термостата колонки 50 °С. Подвижная фаза А – 0,1 об.% НСООН в воде, подвижная фаза Б – ацетонитрил. Программа градиентного элюирования: 0–2 мин: 95 % А; 2–10 мин: 5–95 % Б; 10–11 мин: 95 % Б; 11–15 мин: 95 % А. Объем вводимой пробы составлял 10 мкл.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Выбор условий масс-спектрометрического детектирования. В ходе исследования использовали ионизацию электрораспылением в режиме регистрации положительных ионов, поскольку в состав ДЭАМФ, ДЭАОМФ и ДЭАОЭФ (рисунок 1) входят фосфонатные, фосфатные и амидные группы, которые способны к протонированию с образованием положительно заряженных молекул.

Условия масс-спектрометрического детектирования с варьированием напряжения на распыляющем капилляре оптимизировали в режиме прямого ввода растворов исследуемых соединений непосредственно в источник ионов, минуя хроматографическую колонку. Для этих целей использовали растворы ДЭАМФ, ДЭАОМФ и ДЭАОЭФ с концентрацией 1 мкг/мл в воде.

На первом этапе работы исследовали влияние напряжения источника ионизации на величину сигнала протонированных молекулярных ионов ДЭАМФ, ДЭАОМФ и ДЭАОЭФ, присутствующих в масс-спектре. Для этого использовали параметры работы масс-спектрометрического детектора, рекомендуемые производителем и прописанные в файле автоматической настройки системы (автотюнинг). Напряжение источника ионизации варьировали в диапазоне 1000–6000 В. Установлено, что при увеличении напряжения источника ионизации с 3500 до 4500 В интенсивность сигналов ионов, присутствующих в масс-спектре ДЭАМФ, ДЭАОМФ и ДЭАОЭФ увеличивается на 30 %, однако при этом величина шума возрастает более чем на 50 %, поэтому использо-

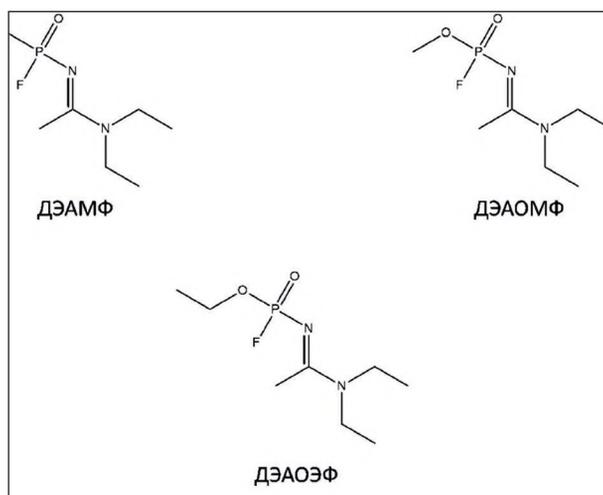


Рисунок 1 – Структурные формулы исследуемых соединений ДЭАМФ, ДЭАОМФ и ДЭАОЭФ

вали значения напряжения источника ионизации 3500 В.

На следующем этапе выбирали оптимальные пары ионных реакций для надежной идентификации исследуемых соединений ДЭАМФ, ДЭАОМФ и ДЭАОЭФ. Особенность масс-спектров ДЭАМФ, ДЭАОМФ и ДЭАОЭФ, полученных в варианте электрораспыли-

тельной ионизации, заключается в том, что наиболее интенсивные пики в спектрах, полученных в режиме сканирования, относятся к протонированным молекулярным ионам. В дальнейшем, в ходе оптимизации условий детектирования ДЭАМФ, ДЭАОМФ и ДЭАОЭФ исследовали фрагментацию именно этих ионов. В таблице 2 приведены установленные нами структурные формулы ионов, которые присутствуют в масс-спектре фрагментации положительно заряженных ионов ДЭАМФ (m/z 195,1057), ДЭАОМФ (m/z 211,1006) и ДЭАОЭФ (m/z 225,1163), также приведены измеренные значения относительных содержаний каждого фрагментного иона в процентах.

На рисунке 2 представлены масс-спектры фрагментации протонированных молекулярных ионов ДЭАМФ, ДЭАОМФ и ДЭАОЭФ, полученные нами в режиме высокого разрешения.

На основании полученных данных для каждого соединения выбраны по две наиболее интенсивных ионных реакций. В дальнейшем каждая пара ионных реакций была использована для достоверной идентификации ДЭАМФ, ДЭАОМФ или ДЭАОЭФ. После выбора характерных пар фрагментных ионов исследовали влияние энергии фрагментаций

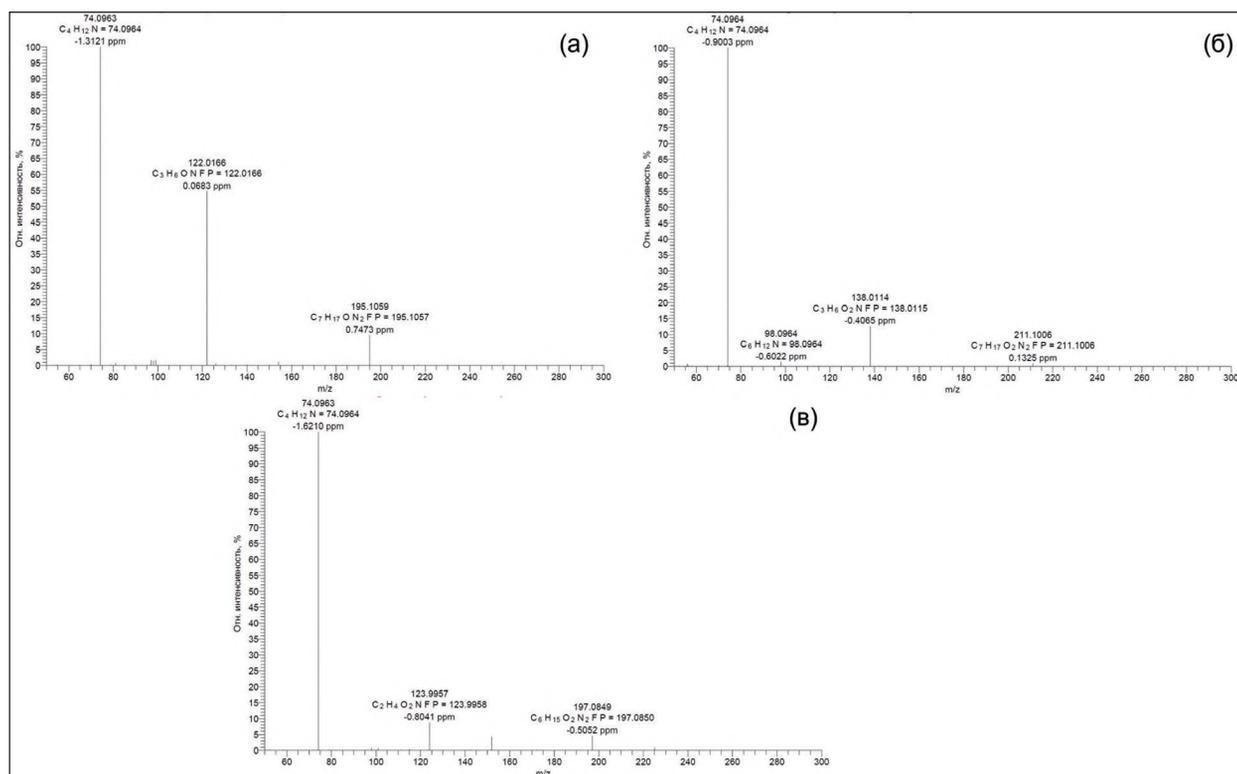
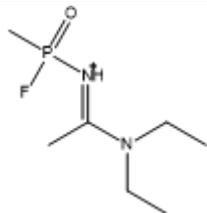
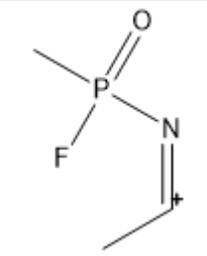
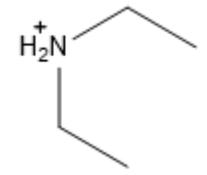
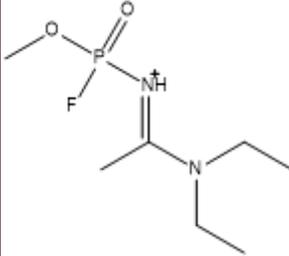
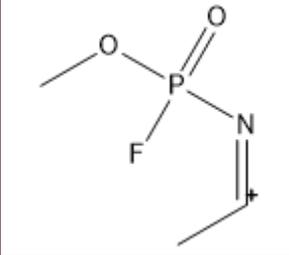
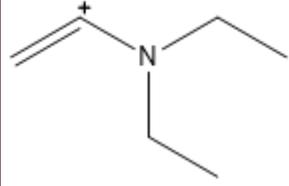
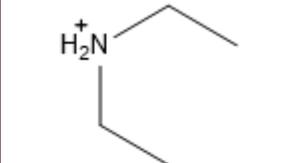


Рисунок 2 – Масс-спектры фрагментации (в варианте диссоциации, активируемой соударениями) протонированных молекулярных ионов ДЭАМФ, ДЭАОМФ и ДЭАОЭФ с $m/z=195$ (а), $m/z=211$ (б) и $m/z=225$ (в) соответственно. Режим регистрации положительно заряженных ионов (данные авторов)

Таблица 2 – Наблюдаемые ионы в масс-спектрах фрагментации положительно заряженных молекулярных ионов ДЭАМФ, ДЭАОМФ и ДЭАОЭФ и их возможные структурные формулы

Соединение	Ион	Элементный состав	$m/z_{\text{теор}}$	$m/z_{\text{набл}}$	$\Delta m/z, \text{млн}^{-1}$	Интенсивность, %
ДЭАМФ		$\text{C}_7\text{H}_{17}\text{ON}_2\text{FP}^+$	195,1057	195,1059	0,75	9,5
		$\text{C}_3\text{H}_6\text{ONFP}^+$	122,0166	122,0166	0,07	59
		$\text{C}_4\text{H}_{12}\text{N}^+$	74,0964	74,0963	-1,30	100
ДЭАОМФ		$\text{C}_7\text{H}_{17}\text{O}_2\text{N}_2\text{FP}^+$	211,1006	211,1006	0,13	1,1
		$\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_2\text{NFP}^+$	138,0115	138,0114	-0,41	14,8
		$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{N}^+$	98,0964	98,0964	-0,60	2,1
		$\text{C}_4\text{H}_{12}\text{N}^+$	74,0964	74,0964	-0,90	100

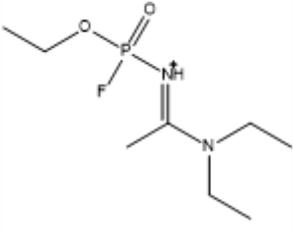
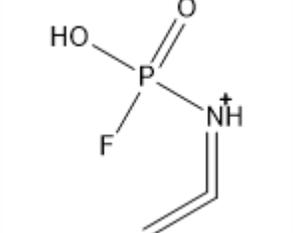
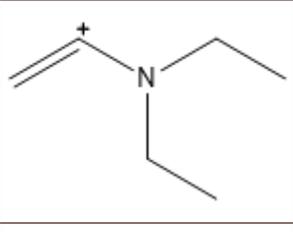
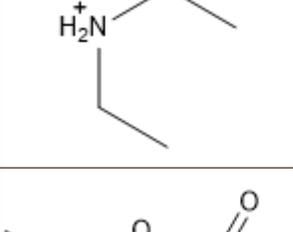
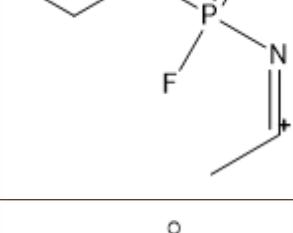
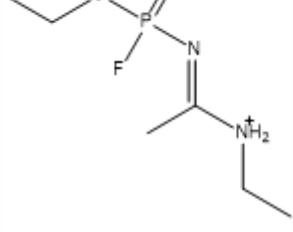
Соединение	Ион	Элементный состав	$m/z_{\text{теор}}$	$m/z_{\text{набл}}$	$\Delta m/z, \text{млн}^{-1}$	Интенсивность, %
ДЭАОЭФ		$\text{C}_8\text{H}_{19}\text{O}_2\text{N}_2\text{FP}^+$	225,1163	225,1162	-0,26	0,6
		$\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2\text{NFP}^+$	123,9958	123,9957	-0,80	11
		$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{N}^+$	98,0964	98,0963	-0,84	0,8
		$\text{C}_4\text{H}_{12}\text{N}^+$	74,0964	74,0963	-1,62	100
		$\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2\text{NFP}^+$	152,0271	152,0270	-0,73	6
		$\text{C}_6\text{H}_{15}\text{O}_2\text{N}_2\text{FP}^+$	197,0850	197,0849	-0,50	5,8

Таблица 3 – Характеристики выбранных ионных реакций, используемых при идентификации ДЭАМФ, ДЭАОМФ и ДЭАОЭФ

Вещество	Выбранная ионная реакция (значения m/z)	Назначение ионной реакции	Энергия фрагментации, В
ДЭАМФ	195 → 74,0964	Идентификация	35
ДЭАМФ	195 → 122,0166	Достоверное подтверждение	15
ДЭАОМФ	211 → 74,0964	Идентификация	35
ДЭАОМФ	211 → 138,0115	Достоверное подтверждение	20
ДЭАОЭФ	225 → 74,0964	Идентификация	35
ДЭАОЭФ	225 → 123,9958	Достоверное подтверждение	15

на величину аналитического сигнала. Характеристики выбранных ионных реакций, предложенные нами для идентификации ДЭАМФ, ДЭАОМФ и ДЭАОЭФ, представлены в таблице 3. Время сканирования при детектировании каждой выбранной ионной реакции составило 54 мс.

Выбор условий хроматографического разделения. В методе ВЭЖХ–МС/МСВР назначение хроматографической системы и требования, предъявляемые к ней, несколько отличаются от таковых в традиционных вариантах жидкостной хроматографии. При работе в режиме выбранных ионных реакций для большинства соединений не возникает необходимости полного хроматографического разделения компонентов смеси, поскольку набор выбранных ионных реакций для каждого соединения специфичен и влияние сигнала от посторонних компонентов на аналитический сигнал аналита в этом случае ничтожно мало. При подборе подвижной фазы необходимо учитывать, что в ее состав можно применять только летучие компоненты.

Поскольку при детектировании использовался режим регистрации положительно заряженных ионов, для разделения ДЭАМФ, ДЭАОМФ и ДЭАОЭФ применяли подвижную

фазу, состоящую из ацетонитрила и 0,1 % раствора муравьиной кислоты в воде. Присутствие муравьиной кислоты в подвижной фазе способствует увеличению доли положительно заряженных ионов в камере ионизации за счет протезирования фосфонатных, фосфатных и амидных групп ДЭАМФ, ДЭАОМФ и ДЭАОЭФ.

При хроматографическом разделении ДЭАМФ, ДЭАОМФ и ДЭАОЭФ при выбранной программе градиентного элюирования коэффициенты емкости (k) ДЭАМФ, ДЭАОМФ и ДЭАОЭФ составили 7,0, 7,3 и 7,6 соответственно. В таблице 4 суммированы определенные нами хроматографические параметры при разделении ДЭАМФ, ДЭАОМФ и ДЭАОЭФ.

Таблица 4 – Хроматографические параметры разделения ДЭАМФ, ДЭАОМФ и ДЭАОЭФ в выбранных условиях анализа воды ($t_0 = 1,10$ мин)

Соединение	t_R , мин	k	N , тт/м
ДЭАМФ	8,80 ± 0.20	7,0	9600
ДЭАОМФ	9,08 ± 0.20	7,3	11400
ДЭАОЭФ	9,47 ± 0.20	7,6	12100

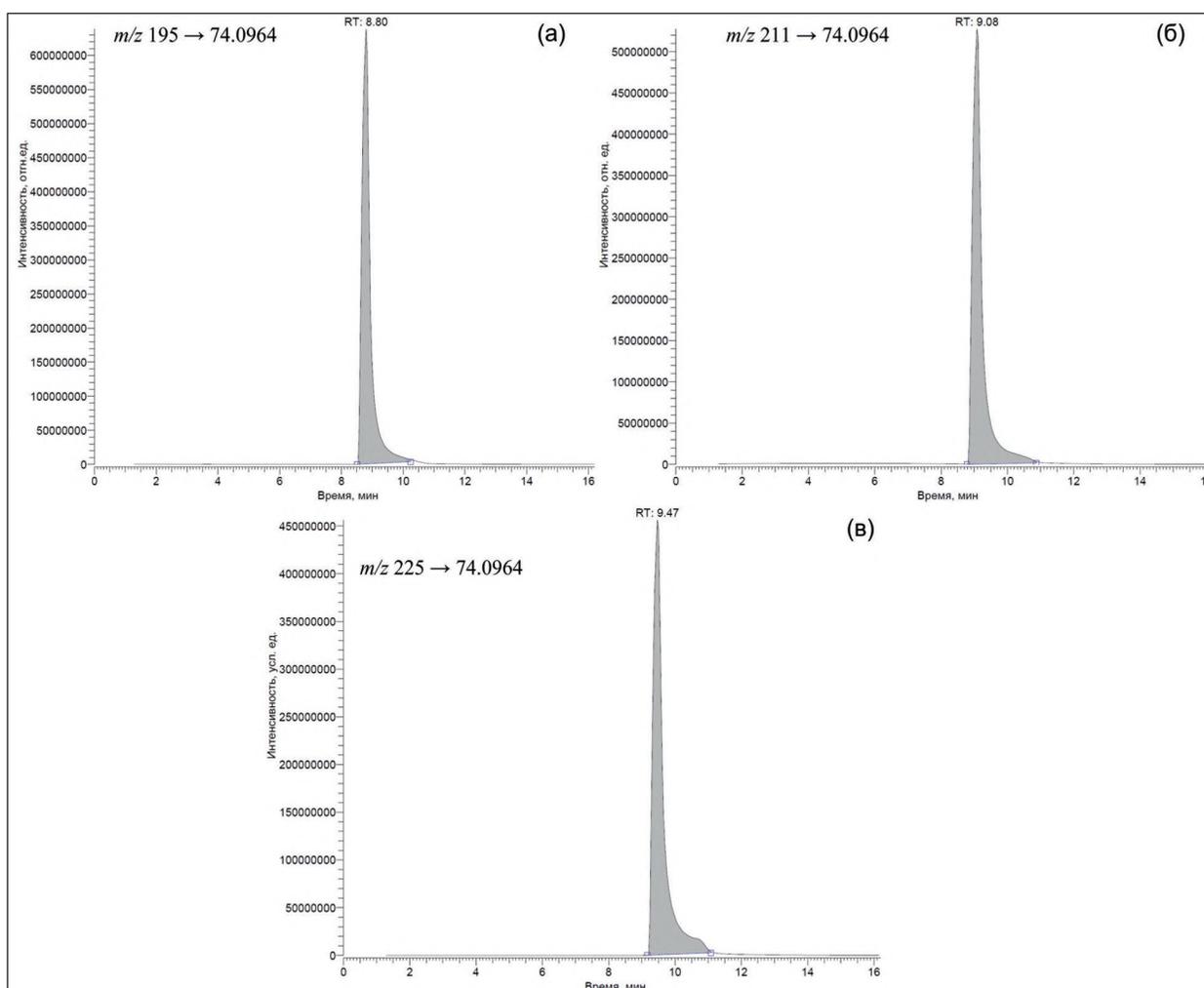


Рисунок 3 – Хроматограммы водных растворов, содержащих по 10 мкг/мл ДЭАМФ (а), ДЭАОМФ (б), и ДЭАОЭФ (в). Режим регистрации выбранных ионных реакций (данные авторов)

На рисунке 3 представлены типичные хроматограммы, полученные нами в выбранных условиях разделения ДЭАМФ, ДЭАОМФ и ДЭАОЭФ.

На хроматограммах можно видеть значения аналитического сигнала для каждой наиболее интенсивной ионной реакции, выбранной нами для идентификации целевых аналитов.

В качестве критерия установления присутствия ДЭАМФ, ДЭАОМФ и ДЭАОЭФ в пробах использовали время удерживания и соответствие определяемому компоненту двух выбранных нами пар выбранных ионных реакций.

Оценка пределов обнаружения. В выбранных условиях разделения ДЭАМФ, ДЭАОМФ и ДЭАОЭФ оценены метрологические характеристики разработанных способов выявления присутствия исследуемых химикатов в водных пробах. Пределы обнаружения,

рассчитанные для соотношения интенсивности сигнала пика S и величины шума N , равного $S/N=5$, составили: 1 нг/мл для ДЭАМФ; 0,5 нг/мл для ДЭАОМФ и 0,5 нг/мл для ДЭАОЭФ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

С использованием метода высокоэффективной жидкостной хроматографии с тандемным масс-спектрометрическим детектированием высокого разрешения исследованы масс-спектральные характеристики трех видов токсичных химикатов из числа соединений, вновь включенных в Список 1 Приложения по химикатам к Конвенции о запрещении химического оружия: N-(N,N-диэтилацетиламино)метилфторфосфоната (ДЭАМФ); N-(N,N-диэтилацетиламино)-O-метилфторфосфата (ДЭАОМФ) и N-(N,N-диэтилацетиламино)-O-этилфторфосфата (ДЭАОЭФ). Установлено, что масс-спектры ДЭАМФ, ДЭАОМФ и ДЭАОЭФ, полученные в режиме электрораспылительной

ионизации, содержат интенсивные пики, относящиеся к протонированным молекулярным ионам, которые в ходе дальнейшей фрагментации образуют характерные ионы-продукты, выявленные в ходе проведенного исследования и использованные для идентификации и высокочувствительного обнаружения исходных

веществ. Оптимизированы условия хроматографического разделения данных соединений в варианте обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии и параметры масс-спектрального детектирования. Пределы обнаружения в модельных водных пробах составили: 1,0 нг/мл для ДЭАМФ.

Вклад авторов / Authors Contribution:

Все авторы внесли свой вклад в концепцию рукописи, участвовали в обсуждении и написании этой статьи, одобрили окончательную версию. Все авторы прочитали и согласились с опубликованной версией рукописи / All authors contributed to the conception of the manuscript, the discussion, and writing of this, approved the final version. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Информация о конфликте интересов

Авторы заявляют, что исследования проводились при отсутствии любых коммерческих или финансовых отношений, которые могли бы быть истолкованы как потенциальный конфликт интересов.

Сведения о рецензировании

Статья прошла открытое рецензирование двумя рецензентами, специалистами в данной области. Рецензии находятся в редакции журнала и в РИНЦе.

Финансирование. Федеральное государственное бюджетное учреждение «27 Научный центр» Министерства обороны Российской Федерации.

Список источников/References

1. Imrit Y.A., Bhakhoa H., Sergeieva T. et al. A theoretical study of the hydrolysis mechanism of A-234; the suspected Novichok agent in the Skripal attack // RSC Advances. 2020. V. 47. <https://doi.org/10.1039/D0RA05086E>
2. Lyagin I., Efremenko E. Theoretical evaluation of suspected enzymatic hydrolysis of Novichok agents // Catalysis Communications. 2019. V. 120. P. 91–94. <https://doi.org/10.1016/j.catcom.2018.11.019>
3. Bhakhoa H., Rhyman L., Ramasami P. Theoretical study of the molecular aspect of the suspected novichok agent A234 of the Skripal poisoning // R. Soc. Open. Sci. 2019. V. 6. <https://doi.org/10.1098/rsos.181831>
4. Hosseini S.E., Saedian H., Amozadeh A. et al. Fragmentation pathways and structural characterization of organophosphorus compounds related to the Chemical Weapons Convention by electron ionization and electrospray ionization tandem mass spectrometry // Rapid. Commun. Mass Spectrom. 2016. V. 30. № 24. P. 2585e2593. <https://doi.org/10.1002/rcm.7757>
5. Harvey S.P., McMahon L.R., Berg F.J. Hydrolysis and enzymatic degradation of Novichok nerve agents // Heliyon. 2020. V. 6. № 1. P. e03153. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e03153>
6. Eskandari M., Faraz S.M., Hosseini S.E. et al. Fragmentation pathways of chemical weapons convention-related organophosphorus Novichok agents: The electron ionization and electrospray ionization tandem mass spectroscopy and DFT calculation studies // Intern. J. Mass Spectrometry. 2022. V. 473. P. 116794. <https://doi.org/10.1016/j.ijms.2021.116794>
7. Jeong W.H., Lee J.Y., Lim K.C., Kim H.S. Identification and Study of Biomarkers from Novichok-Inhibited Butyrylcholinesterase in Human Plasma // Molecules. 2021. V. 26. № 13. P. 3810. <https://doi.org/10.3390/molecules26133810>
8. Noort D., Fidler A., van der Riet-van Oeveren D. et al. Verification of exposure to Novichok nerve agents utilizing a semitargeted human butyrylcholinesterase nonapeptide assay // Chem. Res. Toxicology. 2021. V. 34. № 8. P. 1926–1932. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrestox.1c00198>
9. Yamaguchi A., Miyaguchi H., Tokeshi M. Dimethoxytriadinylation LC-MS/MS of Novichok A-series degradation products in human urine // Anal. Chem. 2022. V. 94. № 11. P. 4658–4665. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.1c04634>
10. de Bruin-Hoegée M., Lamriti L., Langenberg J.P. et al. Verification of exposure to chemical warfare agents through analysis of persistent biomarkers in plants // Anal. Methods. 2023. V. 15. P. 142. <https://doi.org/10.1039/D2AY01650H>
11. Jacquet P., Rémy B., Bross R.P.T. et al. Enzymatic decontamination of G-type, V-type and Novichok nerve agents // Int. J. Mol. Sci. 2021. V. 22. P. 8152. <https://doi.org/10.3390/ijms22158152>

12. Lee J.Y., Lim K.C., Kim H.S. Characterization and study on fragmentation pathways of a novel nerve agent, 'Novichok (A234)', in aqueous solution by liquid chromatography–tandem mass spectrometry // *Molecules*. 2021. V. 26. P. 1059. <https://doi.org/10.3390/molecules26041059>

Об авторах

Федеральное государственное бюджетное учреждение «27 Научный центр» Министерства обороны Российской Федерации, Российская Федерация, 1111024, г. Москва, проезд Энтузиастов, д. 19.

Браун Аркадий Владимирович. Старший научный сотрудник отдела, канд. хим. наук.

Рыбальченко Игорь Владимирович. Главный научный сотрудник управления, доктор хим. наук, профессор.

Фатеенков Владимир Николаевич. Начальник отдела, канд. военных наук, доцент.

Яшкир Вадим Анатольевич. Старший научный сотрудник отдела, канд. хим. наук, доцент.

Контактная информация для всех авторов: 27nc_1@mil.ru

Контактное лицо: Браун Аркадий Владимирович, 27nc_1@mil.ru

Investigation of Features of Mass-Fragmentation of Some N-(N,N-diethylacetamidino)-O-alkylfluorophosphates and Related Alkylfluorophosphonates and their Detection by Liquid Chromatography-High Resolution Mass Spectrometry

A.V. Braun, I.V. Rybalchenko, V.N. Fateenkov, V.A. Yashkir

Federal State Budgetary Establishment «27 Scientific Centre» of the Ministry of Defense of the Russian Federation. Entuziastov passage, 19, Moscow 111024, Russian Federation
e-mail: 27nc_1@mil.ru

Received June 2, 2023. Accepted June 27, 2023.

The timely detection of violations of the Convention on the Prohibition of the Development, Production, Stockpiling and Use of Chemical Weapons and on Their Destruction (CWC) requires reliable methods for detecting toxic chemicals that can be used for chemical attacks. *The purpose of this investigation* is to estimate chromatographic and mass-spectral characteristics of some toxic chemicals recently included into Schedule 1 of the Annex on Chemicals of the CWC, in particular N-(N,N-diethylacetamidino)-methylfluorophosphonate (DEAMP), N-(N,N-diethylacetamidino)-O-methylfluorophosphate (DEAOMP) and N-(N,N-diethylacetamidino)-O-ethylfluorophosphate (DEAOEP) and the improvement of the qualification of the Chemical Analytical Control Laboratory experts taking part in the OPCW Proficiency Tests. *Materials and methods.* The technique of high efficient liquid chromatography coupled with tandem high resolution mass spectrometry (LC-MS/HRMS) was used during the investigation. *The results.* The results of optimization of conditions of mass-spectrometric detection, selection of optimal pairs of ion reactions and program of gradient elution during separation of chemicals in reversed-phase liquid chromatography were presented. Presented approach was tested in analysis of model aqueous samples; metrological parameters of detection of compounds were estimated. *Conclusion.* It was shown during investigation that electrospray ionization mass-spectra of DEAMP, DEAOMP and DEAOEP contain intensive peaks of protonated molecular ions, which after further fragmentation produce characteristic product-ions used for identification and high sensitive detection of parent compounds by LC-MS/HRMS. Limits of detection of DEAMP, DEAOMP and DEAOEP were 1.0 ng/mL, 0.5 ng/mL and 0.5 ng/mL, respectively.

Keywords: high-resolution mass-spectrometry; high-efficiency liquid chromatography; Convention on the Prohibition of the Development, Production, Stockpiling and Use of Chemical Weapons and on Their Destruction.

For citation: Braun A.V., Rybalchenko I.V., Fateenkov V.N., Yashkir V.A. Investigation of Features of Mass-Fragmentation of Some N-(N,N-diethylacetamidino)-O-alkylfluorophosphates and Related Alkylfluorophosphonates and their Detection by Liquid Chromatography-High Resolution Mass Spectrometry // *Journal of NBC Protection Corps*. 2023. V. 7. No 2. P. 127–139. EDN:epofps. <https://doi.org/10.35825/2587-5728-2023-7-2-127-139>

Conflict of interest statement

The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationship that could be construed as a potential conflict of interest.

Peer review information

The article has been peer reviewed by two experts in the respective field. Peer reviews are available from the Editorial Board and from Russian Science Citation Index database.

Funding. Federal State Budgetary Establishment «27 Scientific Centre» of the Ministry of Defence of the Russian Federation. (RFBR) (Grant № 18-29-17069).

References

See P. 137–138.

Authors

Federal State Budgetary Establishment «27 Scientific Centre» of the Ministry of Defense of the Russian Federation. Entuziastov passage, 19, Moscow 111024, Russian Federation.

Arkady Vladimirovich Braun. Senior Researcher. Cand. Sci. (Chem.).

Igor Vladimirovich Rybalchenko. Leading Researcher. Dr. Sci. (Chem.), Professor.

Vladimir Nikolaevich Fateenkov. Head of Department. Cand. Sci. (Mil.), Associate Professor.

Vadim Anatolievich Yashkir. Senior Researcher. Cand. Sci. (Chem.), Associate Professor.

Contact information for all authors: 27nc_1@mil.ru

Contact person: Arkady Vladimirovich Braun; 27nc_1@mil.ru