

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования

«Тольяттинский государственный университет»

ИНСТИТУТ ХИМИИ И ИНЖЕНЕРНОЙ ЭКОЛОГИИ

(институт)

Химия, химические процессы и технологии

(кафедра)

020100.62 «Химия»

(код и наименование направления подготовки, специальности)

«Медицинская и фармацевтическая химия»

(наименование профиля, специализации)

БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА

на тему «ЗАКОНОМЕРНОСТИ ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОГО ПОВЕДЕНИЯ
НЕКОТОРЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ПИРАЗОЛИНОВ В РАЗЛИЧНЫХ
РЕЖИМАХ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ»

Студент(ка)

С. И. Басырова

(И.О. Фамилия)

_____ (личная подпись)

Руководитель

О. Б. Григорьева

(И.О. Фамилия)

_____ (личная подпись)

Допустить к защите

Заведующий кафедрой, д.х.н, профессор Г.И. Остапенко

(ученая степень, звание, И.О. Фамилия)

_____ (личная подпись)

« _____ » _____ 2016г.

Тольятти 2016 г.

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования

«Тольяттинский государственный университет»

ИНСТИТУТ ХИМИИ И ИНЖЕНЕРНОЙ ЭКОЛОГИИ

Кафедра «Химия, химические процессы и технологии»

УТВЕРЖДАЮ

Зав. кафедрой

_____ Г.И. Остапенко

(подпись) (И.О. Фамилия)

«___» _____ 20__ г.

ЗАДАНИЕ

на выполнение бакалаврской работы

Студенту Басыровой Саре Ильдаровне.

1. Тема: Закономерности хроматографического поведения некоторых производных пиразолинов в различных режимах жидкостной хроматографии

2. Срок предоставления законченной готовой работы 27 июня 2016 г.

3. Исходные данные к проекту (работе): литературные данные, ЖХ Agilent 1220, программное обеспечение OpenLAB, производные пиразолинов, пакет программ HyperChem

4. Содержание текстового документа (перечень подлежащих разработке вопросов):

4.1. Литературный обзор по механизмам удерживания в различных вариантах ВЭЖХ, влиянию составов подвижной и неподвижной фаз, по особенностям структуры и свойств исследованных в работе соединений

4.2. Проведение хроматографического эксперимента в различных вариантах ВЭЖХ для исследования влияния природы подвижной и неподвижной фаз на удерживание изучаемых соединений

4.3. Анализ полученных экспериментальных данных, исследование корреляций «структура-удерживание»

5. Перечень графического материала (с точным указанием обязательных чертежей): структурные формулы соединений, таблицы с экспериментальными и расчетными данными, графики зависимости удерживания от физико-химических параметров

6. Дата выдачи задания на выполнение Бакалаврской работы – 26.02.2016г.

Руководитель _____ О.Б. Григорьева

Задание принял к исполнению _____ С.И. Басырова

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования

«Тольяттинский государственный университет»

ИНСТИТУТ ХИМИИ И ИНЖЕНЕРНОЙ ЭКОЛОГИИ

Кафедра «Химия, химические процессы и технологии»

УТВЕРЖДАЮ

Зав. кафедрой

Г.И.Остапенко

(подпись) (И.О. Фамилия)

«___» _____ 20__ г.

КАЛЕНДАРНЫЙ ПЛАН

выполнения бакалаврской работы

Студента: Басыровой Сары Ильдаровны

по теме: Закономерности хроматографического удерживания некоторых производных пирозолинов в различных режимах жидкостной хроматографии

Наименование раздела работы	Плановый срок выполнения раздела	Фактический срок выполнения раздела	Отметка о выполнении	Подпись руководителя
Подбор литературных источников и написание раздела «Литературный обзор»	01.04.2016 г.	01. 04. 2016 г.		
Выполнение экспериментальной части работы	02.05.2016 г.	02. 05. 2016 г.		
Написание раздела «Экспериментальная часть»	11.05.2016 г.	11. 05. 2016 г.		
Написание остальных разделов	15.05.2016 г.	15. 05. 2016 г.		
Верстка работы, проверка научным руководителем	18.05. 2016 г.	18. 05. 2016 г.		
Проверка ВКР в системе «Антиплагиат.ВУЗ»	20-30 мая 2016 г.	30. 05.2016 г. 27. 06. 2016 г.		
Верстка и переплетение пояснительной записки	Первая неделя июня 2016 г.	21. 06. 2016 г.		
Оформление демонстрационного материала и устного доклада	За пять дней до защиты ВКР	21. 06. 2016 г.		

Руководитель бакалаврской
работы

(подпись)

О.Б. Григорьева

(И.О. Фамилия)

Задание принял к исполнению

(подпись)

С. И. Басырова

(И.О. Фамилия)

АННОТАЦИЯ

Выпускная квалификационная работа изложена на 46 страницах, включает в себя 10 рисунков, 7 таблиц, приложение. Список литературы представлен 43 источниками.

Объектами исследования в данной работе являются 3-Арил-5-(2-фенилэтинил)-4,5-дигидро-1*H*-пиразолины, синтезированные на кафедре Тольяттинского Государственного Университета.

Цель работы – оценка влияния природы заместителя на удерживание в условиях высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ), рассмотрение ВЭЖХ, как метода оценки физико-химических взаимодействий на границе раздела фаз, установления закономерностей удерживания сорбатов в зависимости от выбранного режима проведения ЖХ.

В литературном обзоре рассмотрены механизмы удерживания в основных вариантах ВЭЖХ, влияние структуры и природы заместителей на удерживание соединений.

В экспериментальной части приведены объекты исследования, методики экспериментов и теоретического расчета физико-химических параметров.

В обсуждении проанализированы полученные результаты, рассмотрена взаимосвязь химического строения и удерживания, оценен вклад заместителя в удерживание, выявлены закономерности хроматографического поведения производных пиразолинов.

СОДЕРЖАНИЕ

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ	7
ВВЕДЕНИЕ.....	8
1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР.....	9
1.1. Основные теории ВЭЖХ: НФ- и ОФ-варианты (модели удерживания).....	9
1.4. Физико-химические приложения ЖХ: сорбент – элюент – сорбат	17
1.5. Влияние структуры сорбатов на удерживание: вклады заместителей	18
1.6. Особенности электронного и геометрического строения азотсодержащих соединений.	21
2. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ.....	24
2.1. Реагенты и оборудование.....	24
2.2. Объекты исследования	24
2.3. Методика эксперимента	26
2.4. Определение фактора удерживания.....	27
2.5. Теоретический расчет физико-химических параметров квантово- химическим методом	31
3. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ	33
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	42
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	43
ПРИЛОЖЕНИЕ	48

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ

ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография

НФ – нормально-фазовый

ОФ – обращено-фазовый

УФ – ультрафиолетовый

ЖХ – жидкостная хроматография

C₈ – сорбент *n*-октилсиликагель

C₁₈ – сорбент *n*-октадецилсиликагель

C₂₂ – сорбент *n*-докозенсиликагель

C₃₀ – сорбент *n*-триаконтилсиликагель

pH – показатель кислотности

ГЦ – гетероциклический

НСМО – низшая свободная молекулярная орбиталь

ВЗМО – высшая занятая молекулярная орбиталь

ВВЕДЕНИЕ

Азотсодержащие гетероциклы, в частности производные пиразолинов, представляют большой интерес, благодаря наличию широкого спектра биологической активности: противоопухолевой, противовоспалительной, антибактериальной, противогрибковой. Изучение таких соединений вносит большой вклад в развитие медицинской и фармацевтической химии. Также использование пиразолинов в надмолекулярной химии, химии полимеров, пищевой промышленности играет существенную роль. Следовательно, рассмотрение таких соединений является актуальной задачей.

Изучение и поиск новых соединений с программируемыми свойствами на основе гетероциклов является перспективным направлением в химии. Интерес представляет изучение хроматографического поведения производных пиразолинов в различных вариантах ВЭЖХ, установление зависимости между удерживанием и свойствами соединений, влияние природы и структуры заместителей на удерживание, возможность прогнозирования сорбции из водно-органических растворов веществ.

Цель настоящей работы – исследование особенностей хроматографического поведения производных пиразолинов в различных вариантах хроматографии, выявление закономерностей хроматографического удерживания данных соединений в зависимости от их структуры и наличия заместителей. Установления корреляций типа «структура – удерживание».

В связи с этим были поставлены задачи:

- провести анализ литературных данных, посвященных закономерностям хроматографического поведения сорбатов различной природы;
- провести хроматографическое исследование производных пиразолинов в условиях ОФ и НФ вариантов ВЭЖХ при различных составах элюентов;
- рассчитать квантово-химическими методами основные физико-химические параметры исследованных соединений;
- исследовать корреляционные зависимости «структура-удерживание».

1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

1.1. Основные теории ВЭЖХ: НФ- и ОФ-варианты (модели удерживания)

Как аналитический метод хроматография основана на разделении веществ, имеющих различную структуру. Она рассматривает перемещение образца над стационарной фазой. В зависимости от силы взаимодействия с неподвижной фазой скорость движения исследуемых соединений будет различна, а соответственно и время, которое потребуется для того, чтобы вещества вышли из хроматографической колонки, однако фазы не должны смешиваться друг с другом [1].

Благодаря подвижной фазе в жидкостной хроматографии осуществляется ряд функций:

- 1) обеспечивается перенос десорбированных молекул по колонке;
- 2) регулируются константы равновесия, а, таким образом, и удерживание в следствии взаимодействия со стационарной фазой(сорбируясь на поверхности)и с молекулами разделяемых веществ[2].

В зависимости от того, какими являются подвижная и стационарная фаза, т.е. полярными или неполярными, хроматографию подразделяют на нормально-фазовую и обращенно-фазовую жидкостную хроматографию. Если стационарная фаза является более полярной по сравнению с подвижной фазой, то это нормально-фазовый вариант жидкостной хроматографии. Главным фактором удерживания является взаимодействие сорбата с поверхностью сорбента, либо его объемом.

Если подвижная фаза более полярна, чем стационарная, то это обращенно-фазовый вариант жидкостной хроматографии, и удерживание определяется контактом частиц сорбата с поверхностью сорбента без обмена ионов сорбата на ионы подвижной фазы [3].

В ОФ ВЭЖХ при разделении сильнополярных веществ необходимым является изменение условий сорбции. Это добавление в элюент

низкомолекулярной добавки. Поскольку площадь стационарной фазы малополярная, то из хроматографической колонки будут выходить асимметричные пики. Их асимметрия вызвана взаимодействием с силанольными группами. Модифицирующая добавка способствует изменению свойств всей системы в целом. Также она увеличивает время удерживания. Совокупность всех этих факторов оказывает значительное влияние на разделение исследуемых соединений.

При добавлении модифицирующей добавки возрастает ионная сила раствора, уменьшается степень гидратации сильнополярных веществ, оказывающая влияние на водородные связи. Изменение условий влияет на липофильность [4].

В качестве модифицирующей добавки могут быть использованы соли органических или минеральных кислот, буферные системы, основанные на них.

В нормально-фазовой хроматографии подвижной фазой служит силикагель, а элюентом являются жидкие углеводороды или дихлорметан, также применяют модифицирующие добавки – простые и сложные эфиры, спирты, галогеналканы [5].

В качестве стационарной фазы можно использовать оксид алюминия и пористый графит. В данном виде хроматографии адсорбционный механизм удерживания [6].

Основным элюентом в нормально-фазовом варианте жидкостной хроматографии является гексан с добавкой растворителя, например, простых и сложных эфиров, спиртов или кетонов. Подбирают именно тот растворитель, который неограниченно с ним смешивается.

Способность вытеснять данный компонент из стационарной фазы (элюирующая сила растворителя) напрямую зависит от полярности растворителя, чем больше полярность, тем она выше. Растворители, имеющие её максимальное значение являются модификаторами, изменяющими структуру поверхности адсорбента [7]. Для того, чтобы понять,

как происходит разделение и удерживание веществ в хроматографической колонке необходимо выяснить механизмы вытеснения молекул сорбента с поверхности сорбата. Однако существуют такие модели, при помощи которых можно оценить удерживание: модели Снайдера, Скотта-Кучеры и Сочевинского.

Модель Снайдера заключается в вытеснении молекул элюента из адсорбированного монослоя (образованного молекулами чистого элюента, либо молекулами сорбата), которым покрыта вся однородная поверхность сорбента.

Математически зависимость коэффициента удерживания от состава бинарного элюента можно выразить при помощи уравнения [8-10]:

$$\lg k = a - n' \cdot X_m \quad (1)$$

X_m – мольная доля более сильно сорбирующегося компонента элюента (модификатора M).

Отношение площадей молекул адсорбата S_i и модификатора M.

$$n' = A_S / A_X \quad (2)$$

Однако в модели Сочевинского поверхность сорбента неоднородна и состоит из обособленных активных центров (на которых происходит адсорбция), так и неактивных, расположенных между ними.

Зависимость коэффициента удерживания от состава бинарного элюента выражается уравнением, аналогичным уравнению Снайдера, с одной лишь разницей, что n'' – это число активных центров адсорбента, которые участвуют в адсорбции 1 молекулы сорбата:

$$\lg k = a - n'' \cdot X_m \quad (3)$$

Существует также объединенная модель Снайдера – Сочевинского, обусловленная тем, что в рассматриваемых моделях поверхность адсорбента покрыта адсорбционным слоем.

Зависимость удерживания от концентрации полярной добавки в ОФ-варианте жидкостной хроматографии можно выразить при помощи уравнения:

$$\lg k = a - n \cdot \lg N \quad (4)$$

где N – мольная доля полярной добавки в элюенте, a и n – константы, k – фактор удерживания сорбата [11-12].

Модель Скотта-Кучеры можно описать уравнением [13]:

$$\frac{1}{k} = A + B X_m \quad (5)$$

где A и B – коэффициенты, X_m – мольная доля более сильно сорбирующегося компонента элюента (модификатора M), k – фактор удерживания сорбата

Эта модель рассматривает строение силикагеля, состоящего из 4-х слоев и определяющего активность сорбции. Первым слоем являются поверхностные силанольные группы, за ним следует слой, состоящий из воды. Между этими слоями существуют достаточно прочные водородные связи, следовательно, удаление первого слоя невозможно осуществить при помощи растворителей, но возможно его исключение нагреванием сорбента до 200 – 650°C. Удаление при помощи сухих растворителей характерно для третьего слоя, состоящего из воды. А восстановление данного слоя возможно пропусканием через колонку влажных растворителей. Состав четвертого слоя может быть представлен в виде молекул воды или полярного компонента подвижной фазы [14-17].

Взаимодействие с сорбентом зависит от полярности сорбата:

- 1) при наименее полярном сорбате происходит замещение молекул подвижной фазы в наружном слое;
- 2) возможна ассоциация с адсорбционным слоем;
- 3) при наиболее полярном сорбате происходит ассоциация и замещение молекул воды в адсорбционном слое.

1.2. Влияние состава элюента на удерживание:

основнымодификации и подбор растворителей

Сорбция соединений зависит не только от природы, но и в значительной степени от состава элюента. Так его компоненты взаимодействуют со стационарной фазой, образуют слой и изменяют поверхность сорбента[18].

При замене одного растворителя на другой изменяется и фактор удерживания, возможно в 100 и более раз. Однако этот факт не имеет практического значения, так как приемлемо использование узкого диапазона коэффициента емкости (от 1 до 20). Если эта величина будет меньше 1, то пики будут перекрываться больше, если же больше 20, то, потребуется много времени для определения компонентов смеси [19]. Если в составе подвижной фазы содержание компонента больше 5%, то он является основным, если меньше, то второстепенным (модификатором). В основном в качестве модификаторов используют неразбавленные кислоты, например, уксусную, трифторуксусную или фосфорную кислоты; также и основания, например, триэтиламин, диэтиламин; буферные системы и ион-парные реагенты (додецилсульфат натрия и фосфат тетрабутиламмония).

При обращенно-фазовой хроматографии в качестве растворителей используют воду, тетрагидрофуран, ацетонитрил, метанол. Их применение обусловлено небольшой оптической плотностью. «Идеальным» растворителем является соединение, имеющее оптическую плотность менее 195 нм. Такому критерию соответствует вода. Но не менее важным свойством является растворяющая способность растворителя. У ацетонитрила оптическая плотность менее 190 нм, он имеет хорошую растворяющую способность, что делает его удобным и наиболее востребованным растворителем при проведении данного метода анализа. Метанол же имеет границу прозрачности, равную 205 нм.

ТГФ является достаточно неустойчивым соединением, со временемраспадается на пероксиды и проявляет высокую химическую

активность. Следовательно, для него необходимы стабилизаторы, например, 2,6-ди-трет-бутил-4метилфенол, но использование его в сочетании с УФ-детектором нецелесообразно, поскольку данная добавка имеет высокий молярный коэффициент в УФ-области < 280 нм с максимумом поглощения при 270 нм.

Особенностью ТГФ без добавки является возможность его использования в сочетании с УФ-детектором, но необходимо учитывать образование пероксидов, так как они приводят к изменению спектра поглощения и способны взаимодействовать с растворенными веществами [20].

Полярность растворителей влияет на элюирующую способность. Так в НФ-варианте ЖХ с возрастанием полярности подвижной фазы она увеличивается, а в ОФ-варианте ЖХ уменьшается.

Критерием оценки полярности растворителя служит диэлектрическая проницаемость (ϵ_r). Но она имеет существенные недостатки, поскольку она не может описать молекулярные взаимодействия между растворителем и растворенным веществом, в отличие от дипольного момента (μ), который также характеризует полярность. Что позволяет установить корреляцию между удерживанием и дипольным моментом, а, соответственно, свойства растворителей, обладающих высоким или небольшим дипольным моментом.

Другим критерием полярности растворителя является его элюирующая сила, которую раньше оценивали по параметру растворимости Гильдебранда. Но данный способ не являлся надежным, поэтому необходимо было ввести параметр R' , при помощи которого можно было оценить активность растворителя [21].

Последовательность растворителей в порядке возрастания элюирующей силы называется элюотропным рядом. Самый известный элюотропный ряд Снайдера.

Подбор растворителя играет огромную роль при анализе компонентов смеси и осуществляется в зависимости от варианта ВЭЖХ. На практике применяют смесь растворителей, поскольку это помогает регулировать

элюирующую силу подвижной фазы.

Если это обращенно-фазовый вариант жидкостной хроматографии, то необходимо для начала промыть колонку сильным растворителем (например, метанолом). Далее вводят трудно элюируемую пробу (можно стандарт). При быстром элюировании компонента можно сделать вывод о том, что растворитель не подходит, поскольку является слишком сильным. Далее необходимо его соотнести с более слабым растворителем, например, водой, приготовить элюент с несколькими соотношениями и выбрать наиболее подходящий растворитель (60:40, 40:60, 20:80 об. % и т.д.), при котором будет наблюдаться максимальное разделение пиков и время элюирования, удовлетворяющим необходимым требованиям. В том случае, если не удалось добиться нужного разделения компонентов смеси, то необходимо заменить элюент на ацетонитрил – воду (содержание ацетонитрила немного меньше, чем по сравнению с системой метанол-вода). Далее возможны испытания системы ТГФ-вода (однако содержание ТГФ должно быть значительно меньшим).

Если рассматривать нормально-фазовый вариант хроматографии, в качестве подвижной фазы использовать систему гексан – изопропанол, то в начале необходимо взять эти растворы в соотношении 100:10 об. %. Затем уменьшить элюирующую силу, снизив содержание изопропанола, 100:3; 100:1; 100:0,3, 100:0,1 об. % до тех пор, пока разделение компонентов не достигнет нужных результатов. Также можно заменить изопропанол на другой модификатор [22].

1.3. Основные виды неподвижных фаз

Стационарные фазы являются наиболее важным компонентом в системе ВЭЖХ и представляют собой различные характеристики.

Распространенными являются неподвижные фазы на основе кремнезема, поскольку он имеет поверхность, которую можно легко модифицировать. Двуокись кремния существует в аморфном и

кристаллическом состоянии, а при взаимодействии с водой образует коллоидные растворы.

Самыми известными среди аморфных кремнеземов являются силикагели (сухие гели поликремневой кислоты), которые получают из золя кремниевой кислоты $\text{Si}(\text{OH})_4$. Они представляют собой слипшиеся, сросшиеся частицы разнообразной формы, между которыми существуют поры. Их наличие приводит к многообразию параметров пористой структуры.

Также существуют силохромы или аэросилогели, получение которых возможно суспендированием аэросила (пирогенного кремнезема) в воде. Далее из этого получают гидрогель, который необходимо высушить и обработать водяным паром. Данный вид стационарной фазы представляет собой чистую, однородную форму пористого аморфного кремнезема.

В зависимости от режима хроматографии используется тот или иной тип неподвижной фазы [23].

В обращенно-фазовой ВЭЖХ используют неполярные сорбенты (силикагель с привитыми гидрофобными алкильными группами C_8 , C_{18} , C_{22} , C_{30}) и полярный элюент, а в нормально-фазовой ВЭЖХ применяют полярные сорбенты (с нитрильными, аминными, диольными функциональными группами) и неполярную подвижную фазу.

Несмотря на широкое применение сорбентов, используемых в ОФ ВЭЖХ, они имеют ряд недостатков:

- не обладают селективностью по отношению к сильнополярным сорбатам;
- влияние рН, так при $\text{pH} > 10$ происходит растворение основы силикагеля, а при $\text{pH} < 3$ связь $\equiv \text{Si} - \text{O} - \text{Si} \equiv$ гидролизуются;
- вещества, имеющие основной характер выходят из хроматографической колонки выходят в виде асимметричных пиков;
- недостаточная химическая стабильность.

Большое значение в хроматографическом анализе имеет чистота силикагеля, способ привития алкильных группировок.

В настоящее время ряд этих недостатков стараются устранить путем

получения силикагелей с улучшенными свойствами (например, малым содержанием тяжелых металлов).

Интерес представляют сорбенты на основе алюминия, цинка, кремния, титана.

Немаловажную роль играют полимерные сорбенты, фенилгексильные, дифенильные, пентафторфенильные. Проводятся исследования сорбентов, имеющих полярные «вставки» при углеводородной цепи, что делает его использование целесообразным при большом содержании воды в элюенте [24-25].

Не менее интересной является реакция оксида титана с диоксидом кремния, в ходе которой получается кремнезем с привитыми частицами титана. Титан обладает химической стабильностью, а подложка в виде кремнезема имеет превосходные свойства. Данная стационарная фаза показала наиболее лучшие результаты, чем аналогичные неизменные неподвижные фазы. Затем иммобилизацией полиметилоктадецилсилоксана на поверхности измененного кремнезема можно получить стационарную фазу с улучшенным набором свойств. Благодаря данному методу увеличивается срок службы колонки [26].

1.3. Физико-химические приложения ЖХ: сорбент – элюент – сорбат

ВЭЖХ можно рассмотреть, как физико-химический метод межмолекулярных взаимодействий на границе между жидкостью и твердым телом (на границе раздела фаз). Твердое тело модифицируется частицами раствора, что способствует сорбции нестабильных комплексов (которые перестают существовать при выходе в объем элюента). Это связано с системой взаимодействий сорбент – элюент – сорбат [27].

Данный механизм был описан Хорватом. Он заключается в зависимости сорбции от природы стационарной и подвижной фаз.

При рассмотрении ОФ ВЭЖХ формирование ассоциатов обусловлено

сильным кулоновским взаимодействием и образованием водородных связей. Это характерно для полярной подвижной фазы. Поскольку нужна «полость» для того, что молекулы сорбата могли проникнуть в эту среду. Затраты энергии при этом компенсируются за счет взаимодействия полярных молекул

растворителя с полярными группами сорбата. Энергетически выгодна минимальная поверхность раздела между растворителем, неполярными группами стационарной фазы и молекулами сорбата. Это достигается путем сорбции.

В ОФ-варианте жидкостной хроматографии сорбция происходит за счет диполь-дипольных взаимодействий между молекулами элюента. В следствие чего происходит выталкивание менее полярных частиц к поверхности стационарной фазы (которая направлена к сорбату гидрофобной частью). Между неподвижной фазой и сорбатом возникает слабое дисперсионное взаимодействие.

При рассмотрении полярной неподвижной фазы модификация сорбента играет важную роль, выравнивая его поверхность по геометрическим и электрическим параметрам. Это НФ режим ВЭЖХ, при котором происходит вытеснение одних молекул с поверхности адсорбента, (то есть происходит адсорбция одних частиц), и десорбция других. Энергия межмолекулярных взаимодействий компонента при сорбции – это разность энергий взаимодействия молекул компонента с сорбентом и молекулами, расположенными на поверхности или в объеме раствора.

Удерживание сорбатов определяется дипольным моментом, объемом молекул сорбатов, поляризуемостью и тем, как изменяется площадь неполярной поверхности при сорбции [28].

1.4. Влияние структуры сорбатов на удерживание: вклады заместителей

Заместители могут быть как донорами электронов (определяются положением ВЗМО), так и акцепторами (обусловлены положением НСМО),

что в свою очередь оказывает влияние на удерживание[29]. Доноры увеличивают электронную плотность, а акцепторы уменьшают.

Правила для p-систем, на которых базируются представления о мезомерном и сопряженном эффекте, резонансе[30]:

- 1) перекрываниер-орбиталей с p-орбиталями соседних атомов должно соответствовать требованиям компланарности;
- 2) 1 пара электронов может образовывать несколько связей и иметь свойства неподеленной пары электронов;
- 3) Частичное компенсирование своего спина с другими p-электронами.

Возможные электронные эффекты:

- индуктивный эффект – последовательная поляризация связей.
- эффект поля, который возникает при наличии у заместителя отрицательного или положительного заряда. В последствии возникает электрическое поле, действующее не только вдоль линии связи, но и через пространство.
- эффект сопряжения обусловлен наличием заместителя при кратных связях или ароматической системе.

Если заместитель увеличивает электронную плотность при сравнении с вкладом атома водорода, либо происходит уменьшение положительного заряда (вызванное другой полярной группой), то это положительный индуктивный эффект (+I)

Отрицательный индуктивный эффект (-I) может быть вызван в том случае, если заместитель оттягивает на себя электронную плотность, а, другие атомы испытывают частично положительный заряд.

Для оценки индуктивного эффекта существует уравнение Гаммета. В основном виде его можно представить:

$$\lg(k_X/k_H) = \rho \lg(K_X/K_H) \quad (6)$$

k_X и k_H – константы скоростей замещенного и незамещенного бензола; K_X и K_H – константы ионизации при тех же заместителях; ρ – постоянная реакционной

серии, которая отражает интенсивность влияния заместителей на реакционный центр.

Из этого уравнения можно вывести уравнение для константы Гаммета, отражающей степень её влияния на реакционный центр:

$$\sigma_x = \lg(k_x/k_H) \quad (7)$$

В общем виде уравнение Гаммета представляет:

$$A_{in} = \lg K_{in} = \alpha + \rho_i \sigma_n + \epsilon_{in}; \quad (8)$$

где α – свободный член, ρ –коэффициент реакции, ϵ – некоторый «остаток», i –реакционная серия, A_{in} –изменениекакого-либо свойства для реакционной серии, n –переменный заместитель[31].

Передача эффектов через π систему называется эффектом сопряжения, мезомерным эффектом или резонансом. Он проявляется в том случае, если у заместителя есть вакантная орбиталь или p -электроны, и он сопряжен с системой, содержащей углерод двойной или тройной связи (sp^2 или sp^3 гибридизованный). При этом происходит перекрывание орбиталей заместителя с орбиталями ароматической системы, либо системы с орбиталями углеродных связей. В зависимости от того подает заместитель электроны или оттягивает их на себя различают положительный и отрицательный эффекты.

Отрицательный мезомерный эффект пропорционально растет:

- с увеличением заряда, возникающего на заместителе и электроотрицательности его атомов
- при меньшей внутренней мезомерии заместителей

Положительный мезомерный эффект растет:

- при меньшей электроотрицательности атомов заместителя
- к исключениям относятся галогены [32-33].

В ОФ ВЭЖХ неподвижная фаза неполярна и гидрофобна, между

стационарной фазой и сорбентом существует дисперсионное взаимодействие, которое связано с липофильностью, поляризуемостью и объемом. А между подвижной фазой и сорбентом межмолекулярные силы, обусловленные наличием полярных групп в молекуле адсорбата. В следствие чего элюат быстрее выходит из хроматографической колонки. Поэтому вклад заместителей в удерживание играет огромную роль [34].

Для оценки вклада заместителей в биологическую активность существует математическая аддитивная модель ряда соединений Y_1, Y_2, Y_3 , а X_1, X_2, X_3 —заместители. Её можно выразить через уравнение[35]:

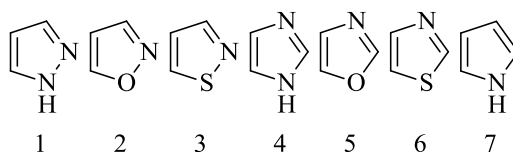
$$A = a_i x_i + \lambda \quad (9)$$

где A – биологическая активность, a_i —математическое выражение вклада i -го заместителя, x_j – величина, равная 0 при отсутствии i -го заместителя и 1 при его присутствии, λ – постоянный математический вклад остова в биологическую активность.

1.5. Особенности электронного и геометрического строения азотсодержащих соединений.

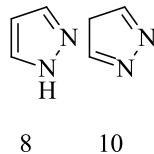
Очень трудной задачей является установление влияния заместителей на распределение электронной плотности. Поэтому целесообразным будет рассмотрение строения пиразола, как основной части исследуемых соединений.

Пятичленные ГЦ с 2-мя атомами азота делятся на 2 группы в зависимости от расположения гетероатомов в цикле: 1,2-азолы (пиразол**1**, изоксазол**2**, изотиазол**3**) и 1,3-азолы (имидазол**4**, оксазол**5**, тиазол**6**) [36].



Для пиразола характерны 3 таутомерные формы: 1 – Н8, 3 – Н9, 4 – Н–

таутомеры **10**. Соединение **8** является ароматичным, а два других имеют sp^3 гибридизованный атом углерода в цикле. Следовательно, отсутствует делокализация отрицательного заряда и данные соединения не проявляют ароматичности [37].



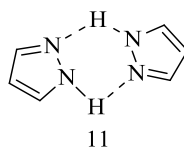
Пиразол представляет собой сопряженную ароматическую систему, которая подчиняется правилу Хюккеля и состоит из 6 π электронов: 4 π электрона предоставляет гетеродиеновая система и один атом азота (подобен тому, который находится в пиролле) дает 2 π электрона, атом азота при двойной связи содержит неподеленную пару электронов, которая расположена в плоскости цикла и, соответственно, в сопряжении не участвует.

Химические свойства азолов обусловлены строением, а именно тем, что они являются сильными основаниями. Протонирование данных соединений идет по неподеленной паре электронов. Они более устойчивы, чем их аналоги (пятичленные гетероциклы, имеющие в своем составе один гетероатом – пирролы) [38].

Предшественники пиразолов имеют симметричное распределение электронной плотности. Однако оно нарушается при введении в молекулу 2-го атома азота. Следовательно, возрастает дипольный момент. И данные соединения имеют ряд особенностей: склонность к комплексообразованию и образованию межмолекулярных водородных связей, способность как к электрофильному замещению, так и к нуклеофильному, способность образовывать соли с ионами металлов. Пиразолы являются одновременно и слабой кислотой, и сильным основанием [39].

Появление кислотных свойств связаны с делокализацией отрицательного заряда, при рассмотрении сопряженного основания, в котором участвуют оба атома азота [40].

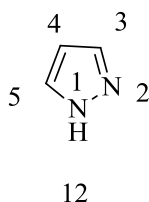
Так пиразол может существовать в виде димеров **11** и тримеров:



Однако пиразолы менее реакционноспособны, чем их аналоги. В кислой среде производные ГЦ с одним ГА более устойчивы.

У пиразолов отсутствует тенденция к окислению, реакциям присоединения. Однако они хорошо вступают в реакции электрофильного замещения (хотя эта активность ниже), чем соответствующие аналоги. Это связано с условиями проведения реакции, в кислых средах атом азота протонируется и становится азолиевым катионом [41].

Нахождение 2-х атомов азота непосредственно друг рядом с другом приводит к возникновению сильного отрицательного индуктивного эффекта. И на соседних атомах углерода за счет этого присутствует избыточный положительный заряд. Следовательно, реакции электрофильного замещения, приведенные на схеме 1 будут идти по 4-му положению, которое наиболее удалено от атомов азота **12** [42].



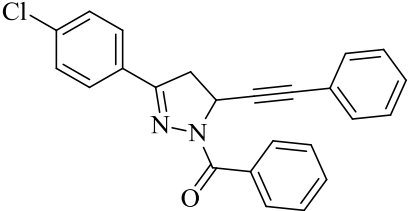
2. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

2.1. Реагенты и оборудование

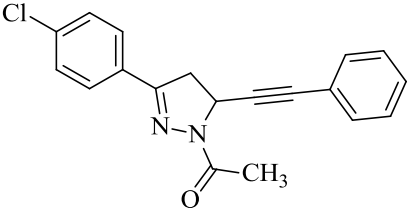
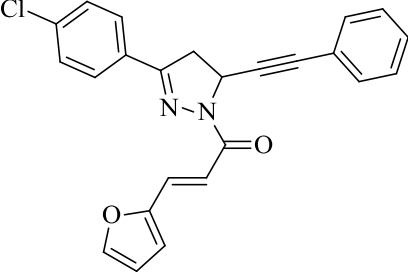
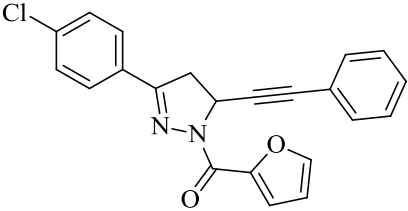
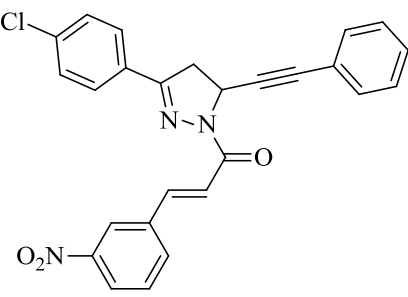
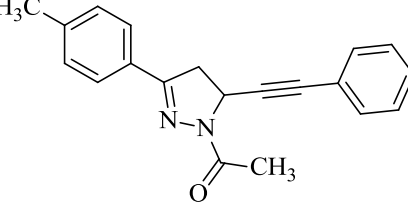
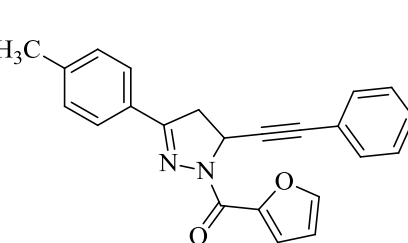
1. Жидкостный хроматограф фирмы Agilent Technologies 1220 Infinity LC
2. Хроматографическая колонка фирмы Zorbax Eclipse Plus C-18 (4.6 × 100) мм, размер частиц сорбента 5 мкм
3. Хроматографическая колонка фирмы Zorbax RX-Sil (4.6 × 150) мм, размер частиц сорбента 5 мкм
4. Микрошприц Agilent, объемом 50 мкл
5. Кран-дозатор с петлей объемом 20 мкл
6. Ультразвуковая ванна «Сапфир»,
7. Программное обеспечение OpenLab
8. Пенициллиновые флаконы
9. Ацетонитрил для ВЭЖХ, 99.9%
10. Дистиллированная вода
11. Гексан для ВЭЖХ, 99.85%
12. Четыреххлористый углерод х.ч.
13. Нитрит натрия х.ч.
14. Ацетон, х.ч.
15. Фильтровальная бумага

2.2. Объекты исследования

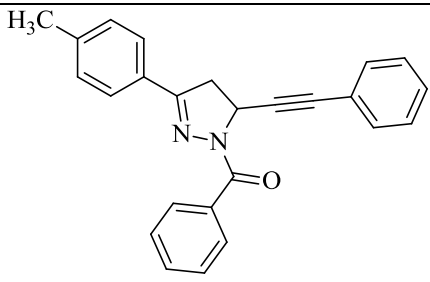
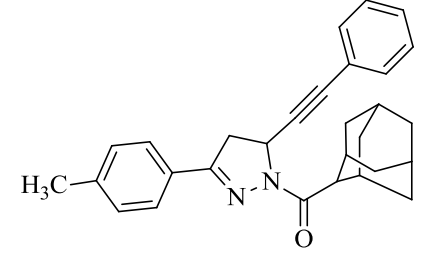
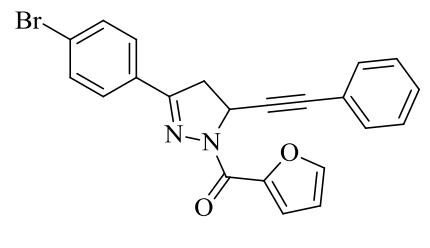
Таблица 1 – Производные пиразолинов

№	Химическая формула	Название
1		1-Бензоил-3-(4-хлорфенил)-5-(2-фенилэтинил)-4,5-дигидро-1H-пиразол

Продолжение таблицы 1

2		1-Ацетил-3-(4-хлорфенил)-5-(2-фенилэтинил)-4,5-дигидро-1 <i>H</i> -пиразол
3		1-(<i>E</i> -3-фуран-2-ил-проп-2-енил)-5-(2-фенилэтинил)-4,5-дигидро-1 <i>H</i> -пиразол
4		1-Фуроил-3-(4-хлорфенил)-5-(2-фенилэтинил)-4,5-дигидро-1 <i>H</i> -пиразол
5		1-(<i>E</i> -3-нитрофенил-проп-2-енил)-5-(2-фенилэтинил)-4,5-дигидро-1 <i>H</i> -пиразол
6		1-Ацетил-3-(4-метилфенил)-5-(2-фенилэтинил)-4,5-дигидро-1 <i>H</i> -пиразол
7		1-Фуроил-3-(4-метилфенил)-5-(2-фенилэтинил)-4,5-дигидро-1 <i>H</i> -пиразол

Продолжение таблицы 1

8		1-Бензоил-3-(4-метилфенил)-5-(2-фенилэтинил)-4,5-дигидро-1 <i>H</i> -пиразол
9		1-Адамантаноил-3-(4-метилфенил)-5-(2-фенилэтинил)-4,5-дигидро-1 <i>H</i> -пиразол
10		1-Фуроил-3-(4-бромфенил)-5-(2-фенилэтинил)-4,5-дигидро-1 <i>H</i> -пиразол

2.3. Методика эксперимента

Исследования были проведены на высокоэффективном жидкостном хроматографе AgilentTechnologies 1220 InfinityLC с изократическим насосом в различных режимах жидкостной хроматографии. Хроматографирование было проведено при комнатной температуре.

При обращенно-фазовом варианте хроматографии была использована колонка фирмы ZorbaxEclipsePlusC-18 (4.6 ×100 мм) с размером частиц сорбента 5 мкм, а в качестве подвижной фазы водно-ацетонитрильная смесь в различных соотношениях 20:80, 50:50, 60:40 объемных %. Объектами исследования (сорбатами) были производные пиразолинов, синтезированные на кафедре «Химия, химические процессы и технологии» Тольяттинского государственного университета. Детектирование было проведено при длине волны $\lambda = 290$ нм. В качестве несорбирующегося соединения для определения

«мертвого» времени применяли нитрит натрия, который детектировали при длине волны $\lambda = 220$ нм. Скорость движения подвижной фазы (расход элюента) 0.6 мл/мин. Данные условия были использованы при соотношении ацетонитрил- вода 80:20 об. %, в качестве растворителя для производных пиразолинов был использован ацетонитрил.

При соотношении 50:50 об. % необходимым условием было увеличение скорости потока подвижной фазы, поэтому расход элюента составлял 1 мл/мин. Но также соединение №1 было рассмотрено при расходе 2 мл/мин для того, чтобы оценить влияние условий на фактор удерживания.

При нормально-фазовом варианте жидкостной хроматографии была использована колонка фирмы ZorbaxRX-Sil (4.6×150 мм) и размером частиц сорбента 5 мкм. В качестве подвижной фазы рассматривали чистый гексан с изопропиловым спиртом в соотношениях 100%, 90:10 и 99:1 об. %, а в качестве объектов были те же соединения, что и при обращенно-фазовом варианте жидкостной хроматографии – производные пиразолинов. Детектирование проводили при длине волны $\lambda = 290$ нм. Использовали четыреххлористый углерод в качестве несорбирующегося соединения, детектирование которого проводилось при длине волны $\lambda = 220$ нм. Скорость движения подвижной фазы составляла 1 мл/мин. В качестве растворителя для исследуемых соединений был выбран хлороформ.

2.4. Определение фактора удерживания

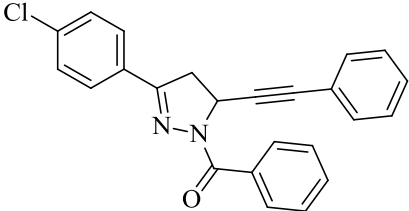
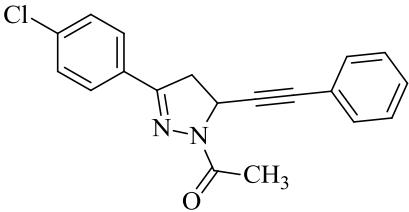
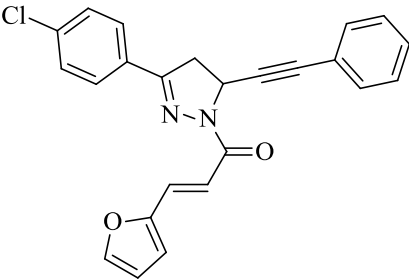
Удерживание производных пиразолинов характеризовали фактором удерживания, рассчитанного по формуле:

$$k = (t_R - t_M)/t_M \quad (10)$$

где t_R – время удерживания исходных соединений, t_M – мертвое время, т.е. время несорбирующегося компонента, в данном случае нитрит натрия в ОФ и четыреххлористый углерод в НФ режимах.

В таблице 2-5 приведены значения фактора удерживания в различных режимах жидкостной хроматографии. Хроматограммы, на основе которых были рассчитаны коэффициенты удерживания, приведенные в Приложении.

Таблица 2 – Значение факторов удерживания в ОФ (ацетонитрил-вода 80:20 об. %) и НФ (гексан-изопропиловый спирт 90:10 об. %)

№ соединения	Структурная формула	k	
		ОФ (расход элюента 0.6 мл/мин)	НФ (расход элюента 1 мл/мин)
1		1.89	0.42
2		1.17	1.04
3		3.55	0.74

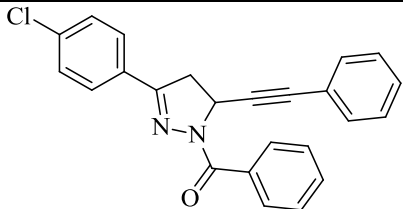
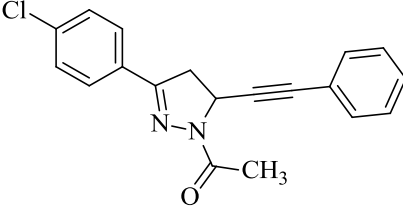
4		1.37	1.07
Продолжение таблицы 2			
5		1.60	1.07
6		1.12	0.85
7		1.27	1.0
8		1.70	0.37

9		7.83	0.71
10		9.63	1.04

Таблица 3 – Значение факторов удерживания в ОФ ВЭЖХ (ацетонитрил-вода 50:50 об. %)

№ соединения	Структурная формула	k	
		Расход 1 мл/мин	Расход 2 мл/мин
1		58.58	60.65
2		19.33	-
3		63.37	-

Таблица 4 – Значение факторов удерживания в НФ варианте ВЭЖХ (гексан – изопропиловый спирт 99:1 об. %)

№ соединения	Структурная формула	k расход элюента 1 мл/мин
1		2.73
2		6.86

2.5. Теоретический расчет физико-химических параметров квантово-химическим методом

Нами, при помощи программы HyperChem 8.0 полуэмпирическим методом PM3 с полной оптимизацией геометрии были вычислены физико-химические параметры исследованных соединений. Такие как, гидрофобность (lgP), молекулярная рефракция (MR), площадь поверхности (Sgrid, Sappr), молекулярная масса (Mr), дипольный момент (μ), энергия высшей занятой молекулярной орбитали (ВЗМО), энергия низшей свободной молекулярной орбитали (НСМО). Данные параметры приведены в таблице 5.

Таблица 5 – Квантово-химические расчеты

№	lgP	MR, Å ³	α , Å ³	V, Å ³	Sappr, Å ²	Sgrid Å ²	Mr, а.е.м.	μ , Д	E _{ВЗМО} , эВ	E _{НСМО} , эВ
1	5.86	112.24	43.19	1092.45	561.51	643.56	384.86	5.33	-8.84	-0.66
2	3.95	92.07	35.36	943.36	537.89	573.47	322.79	5.28	-8.88	-0.63
3	4.84	109.29	41.54	1084.40	571.61	645.50	372.85	3.47	-8.57	-0.61
4	4.81	104.64	39.98	1046.78	547.46	618.77	374.83	5.47	-8.91	-0.69
5	6.04	133.34	48.41	1248.09	681.30	718.24	435.48	0.91	-8.86	-1.43
6	3.90	92.31	35.27	954.13	546.67	576.92	302.38	4.87	-8.80	-0.49
7	4.76	104.87	39.89	1067.41	561.50	628.95	354.41	4.27	-8.82	-0.47
8	5.81	112.48	43.09	1103.85	570.64	638.47	364.45	4.78	-8.77	-0.49
9	6.42	128.05	49.46	1223.62	566.08	691.17	422.57	3.78	-8.89	-0.41
10	5.09	107.45	40.68	1076.70	562.81	633.19	419.28	5.18	-9.04	-0.68

3. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Исследование производных пиразолинов представляет большой интерес и как веществ с потенциальной биологической активностью, и как моделей для решения ряда теоретических задач органической химии.

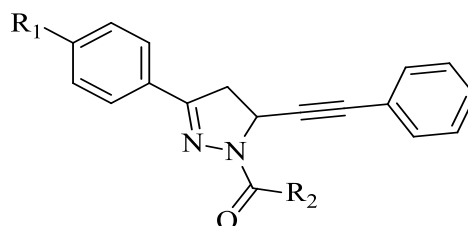
Большое значение в том числе имеет и оценка закономерностей их удерживания в условиях высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

С одной стороны, удерживание в условиях ВЭЖХ обусловлено перераспределением вещества между раствором и сорбентом, зачастую происходит при комнатной температуре и по механизму этого распределения схоже с распределением веществ в живых организмах.

Поэтому исследование поведения сорбата с потенциальной биологической активностью в условиях жидкостной хроматографии может оказаться полезным для прогнозирования его поведения в организме, а также для получения моделей распределения и адсорбции в теории физической химии.


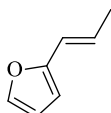

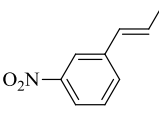


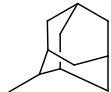

Кроме того, на сегодняшний день не разработана и теория растворов, поэтому накопление и систематизация знаний о поведении вещества в растворе, также представляет собой практически важную и актуальную задачу.

Объектами исследования в данной работе являются 3-Арил-5-(2-фенилэтинил)-4,5-дигидро-1Н-пиразолины, синтезированные на кафедре Тольяттинского государственного университета "Химия, химические процессы и технологии", базовым scaфолдом которых является следующий фрагмент:



В таблице 6 приведены заместители при неизменном остове.

Таблица 6 – ряд заместителей базового скафолда

№ соединения	Заместители	
	R ₁	R ₂
1	-Cl	
2	-Cl	-CH ₃
3	-Cl	
4	-Cl	
5	-CH ₃	
6	-CH ₃	-CH ₃
7	-CH ₃	
8	-CH ₃	
9	-CH ₃	
10	-Br	

Исследования сорбатов были проведены в ОФ и НФ вариантах ВЭЖХ при различных соотношениях подвижных фаз.

В ОФ ВЭЖХ были исследованы соединения на неподвижной фазе силикагеля с привитыми С18 в различных соотношениях элюента (80:20, 50:50, 40:60 об.%).

В ОФ-варианте дольше удерживаются гидрофобные молекулы с неполярными фрагментами в структуре. Сравним соединения 1, 2 и 4. Данные сорбаты отличаются радикалом R₂ при неизменном остове. Дольше всего удерживается соединение 1, поскольку фенильное кольцо имеет большую поляризуемость, и занимает больший объем, фурильное кольцо занимает

промежуточное положение, а метил удерживается меньше всего.

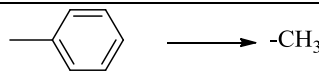
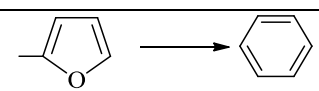
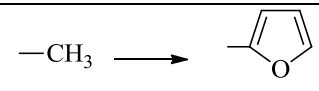
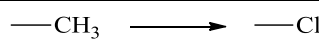
На примере соединений под номерами 4, 7, 10 можно отследить поведение молекул при неизменном радикале R2 и смене радикала R1. Удерживание бромпроизводного значительно выше, чем соответствующего хлорпроизводного, а метильная группа удерживается меньше всего.

Адамантан в соединении 9 резко повышает удерживание в связи со своей объемной непердельной структурой с высокой гидрофобностью,обладающей высоким сродством к неподвижной фазе.

Влияние природы заместителя было проанализировано на примере структурных аналогов, результаты анализа хроматографических данных приведены в таблице 7. Энергия сорбции линейно определяется логарифмом константы, поэтому имеет смысл оценить изменения именно в логарифме фактора удерживания.

Как видно из таблицы 7, инкременты логарифма удерживания при аналогичных заменах заместителей сопоставимы между собой независимо от остального окружения в молекуле, следовательно, можно сделать вывод об аддитивном вкладе заместителей в сорбцию.

Таблица 7 –Изменение в удерживании, обусловленное изменением структуры

№ соединений	Δk	$\Delta \lg k$	Замена заместителя
1 и 2 6 и 8	0.72 0.85	0.11 0.19	
1 и 4 7 и 8	0.52 0.43	0,14 0.13	
2 и 4 6 и 7	0.20 0.15	0.07 0.06	
2 и 6 1 и 8 4 и 7	0.05 0.19 0.10	0.03 0.05 0.04	

Также были проведены испытания в условиях ОФ ВЭЖХ при соотношении ацетонитрил -вода 50:50 и 40:60 об. %. При увеличении доли воды в элюенте наблюдается закономерное увеличение удерживания за счет усиления сил притяжения между молекулами сорбата и неподвижной фазы, обусловленное увеличением выталкивания неполярных молекул к неподвижной фазе из элюента с возросшей полярностью. Это свидетельствует о реализации при сорбции пиразолинов в ОФ варианте гидрофобного механизма согласно теории Хорвата [43]. Так при соотношении ацетонитрил – вода 40:60 результаты не были получены из-за большого содержания воды, т.е. наблюдается необратимая сорбция.

В НФ ВЭЖХ предполагается смена порядка выхода сорбата. В чистом гексане соединения не элюировались. Для увеличения элюирующей силы были внесены в элюент добавки изопропилового спирта. При этом вещества хроматографируются очень быстро, однако система снижает свою эффективность и становится неизбирательной к соединениям.

Исходя из полученных закономерностей, для анализа пиразолинов рекомендуется использовать ОФ-вариант ВЭЖХ с большим содержанием органического элюента. Классический вариант НФ ВЭЖХ для их анализа не подходит в связи с необратимой сорбцией.

В работе также были рассчитаны некоторые физико-химические параметры и построены корреляционные зависимости, приведенные на рисунках 1-10.

На рисунках 1-3 показаны зависимости фактора удерживания от молекулярной рефракции, поляризуемости, липофильности. Данные графики имеют одинаковую тенденцию. В соединении 9 адамантил обладает большим объемом, следовательно, вступает в более сильные взаимодействия с неподвижной фазой и дольше удерживается.

Соединение 10 – бромзамещенное производное в отличие от хлорпроизводного соединения 4 обладает аномально высоким удерживанием,

не согласующимся с изменением поляризуемости. Аномальное поведение бромсодержащих производных винилацетиленовых кетонов наблюдалось и ранее в газовой хроматографии эксперименте [44]. Данный факт требует дальнейших исследований.

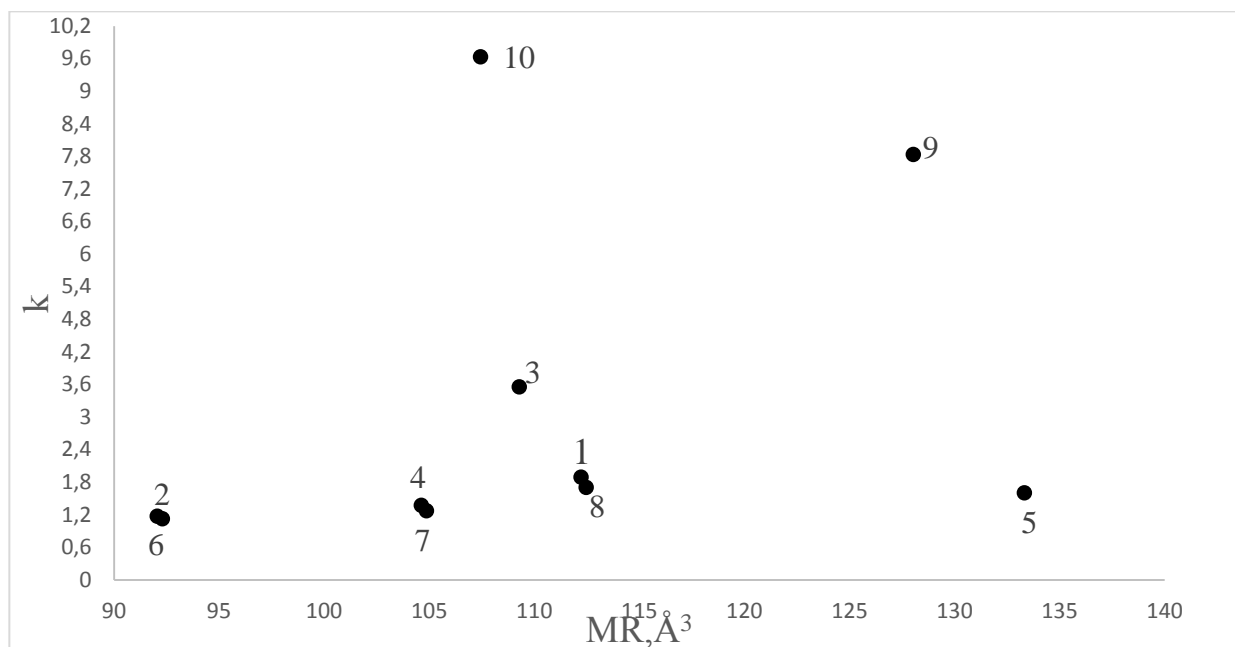


Рисунок 1 - Зависимость фактора удерживания от молекулярной рефракции в ОФ-варианте

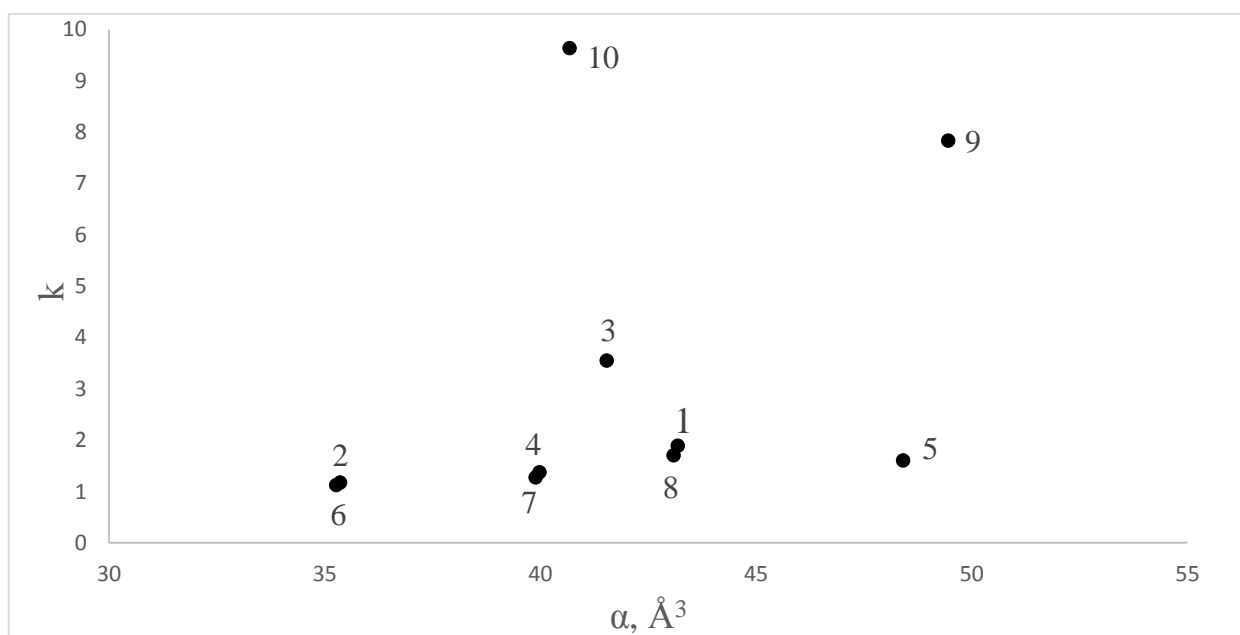


Рисунок 2 - Зависимость фактора удерживания от поляризуемости в ОФ-варианте

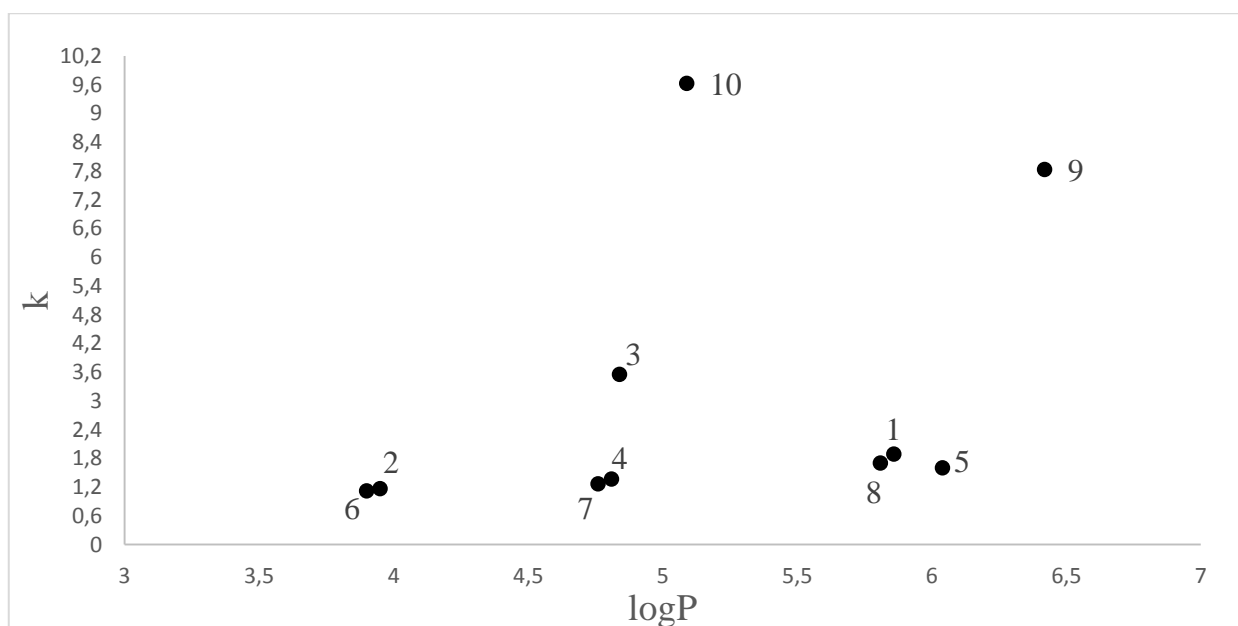


Рисунок 3 – Зависимость фактора удерживания от липофильности в ОФ-варианте

Исходя из зависимости, приведенной на рисунке 2, была выделена группа структурных аналогов, рассмотренная в дальнейшем отдельно (рис. 4).

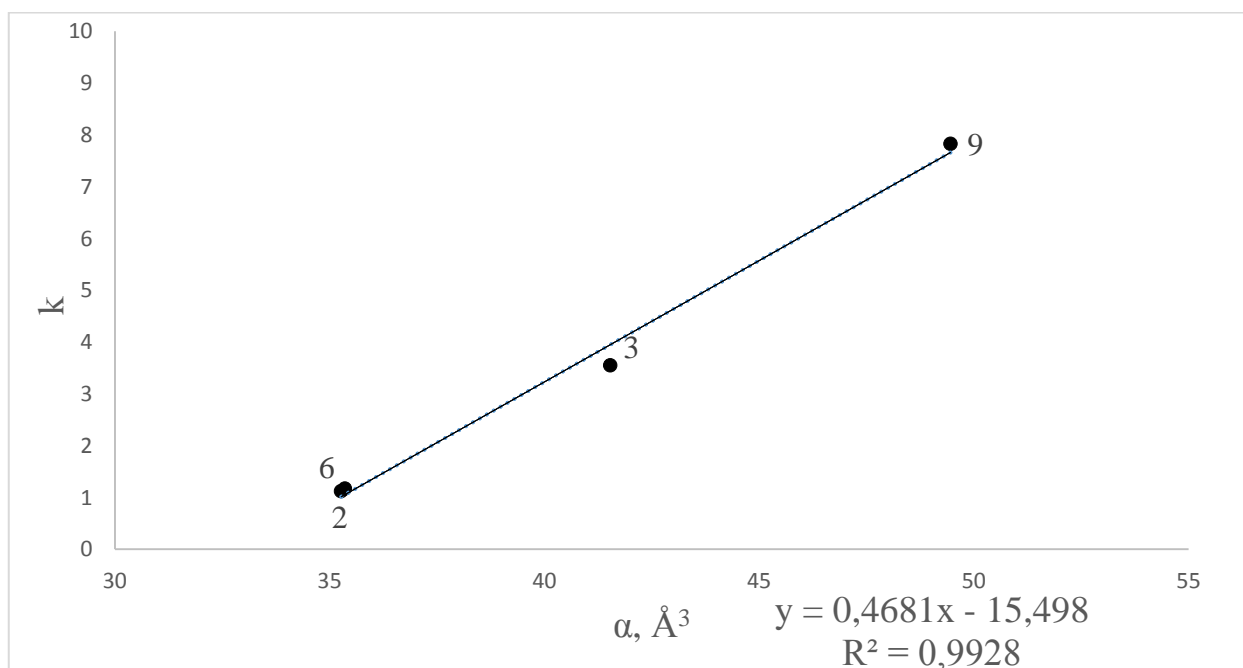


Рисунок 4 – Зависимость фактора удерживания от поляризуемости в ОФ-варианте

Аналогично можно представить зависимость фактора удерживания от дипольного момента, приведенная на рисунке 5.

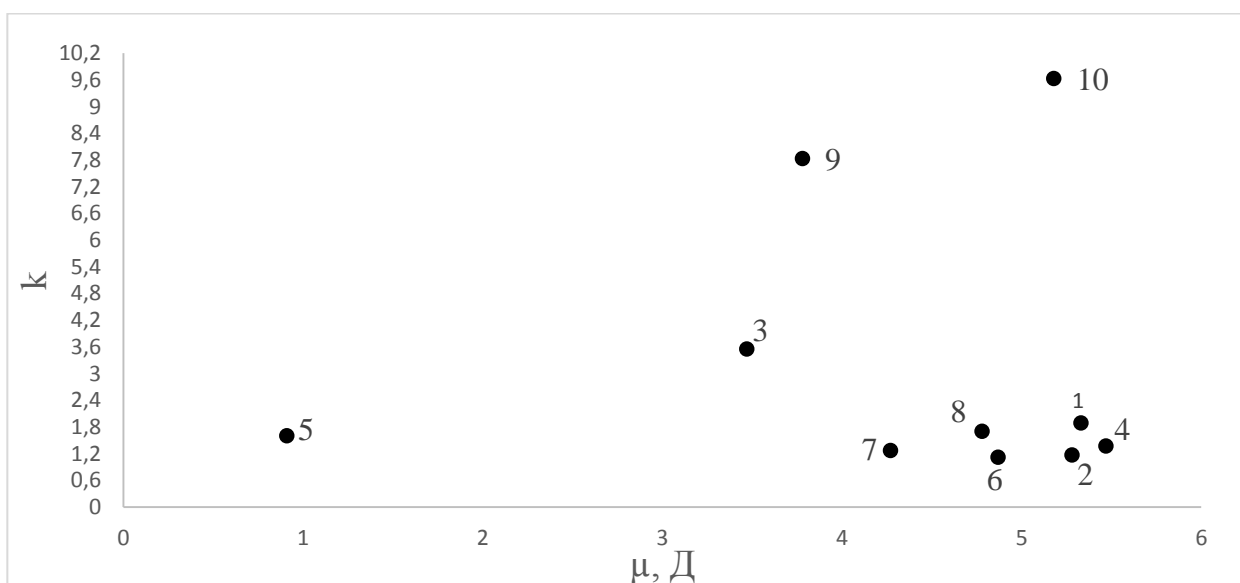


Рисунок 5 – Зависимость фактора удерживания от дипольного момента

На рисунке 6 представлена группа структурных аналогов, выделенная при анализе рисунка 5. Стоит заметить, что фактор удерживания в ОФ ВЭЖХ обратно пропорционален дипольному моменту сорбата, что также хорошо согласуется с теорией.

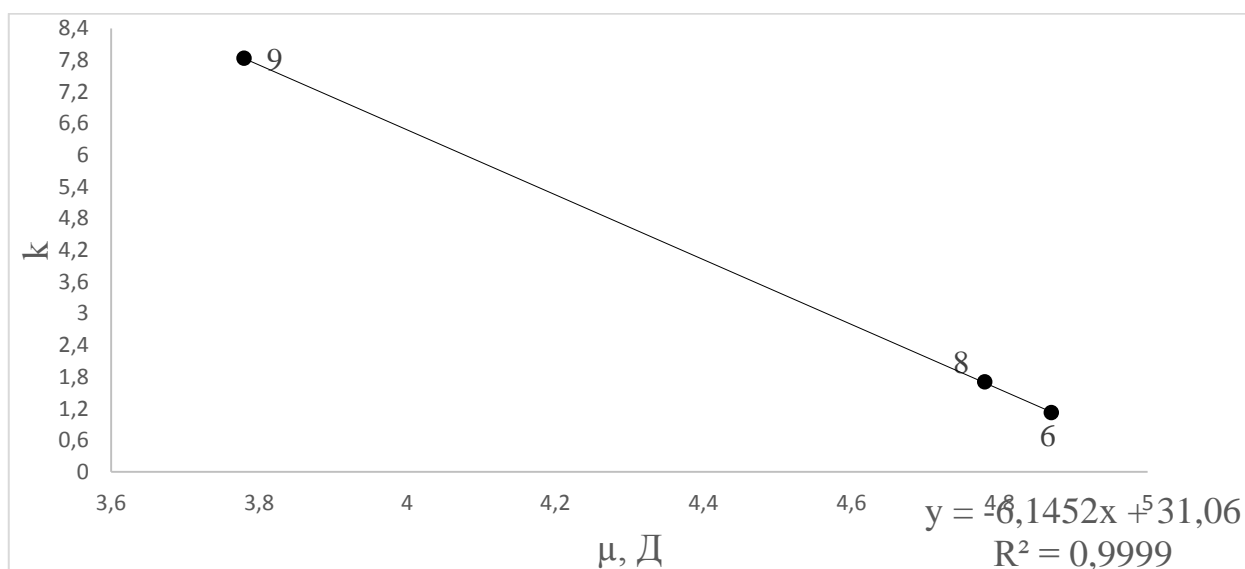


Рисунок 6 – Зависимость фактора удерживания от дипольного момента в ОФ-варианте для группы структурных аналогов

Также в НФ варианте ВЭЖХ были построены зависимости фактора удерживания от молекулярной рефракции, поляризуемости, дипольного момента, приведенные на рисунках 7-10.

Для разработки аддитивной схемы необходимо расширять набор соединений.

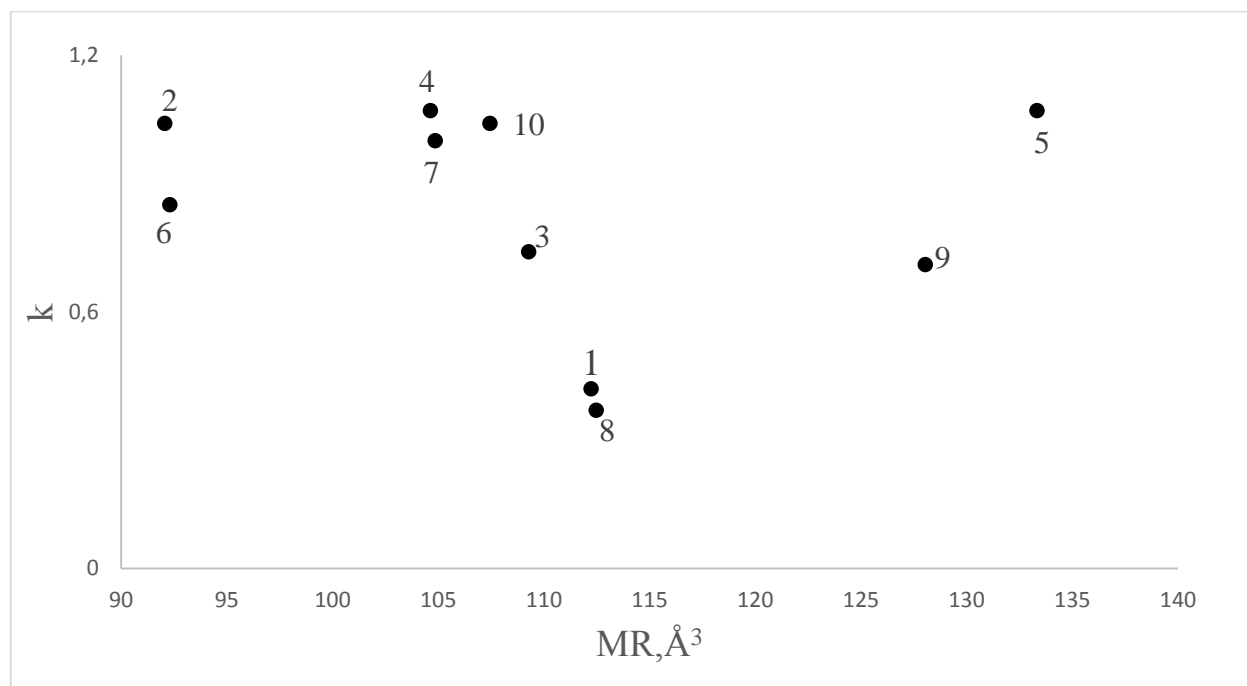


Рисунок 7 – Зависимость фактора удерживания от молекулярной рефракции в НФ

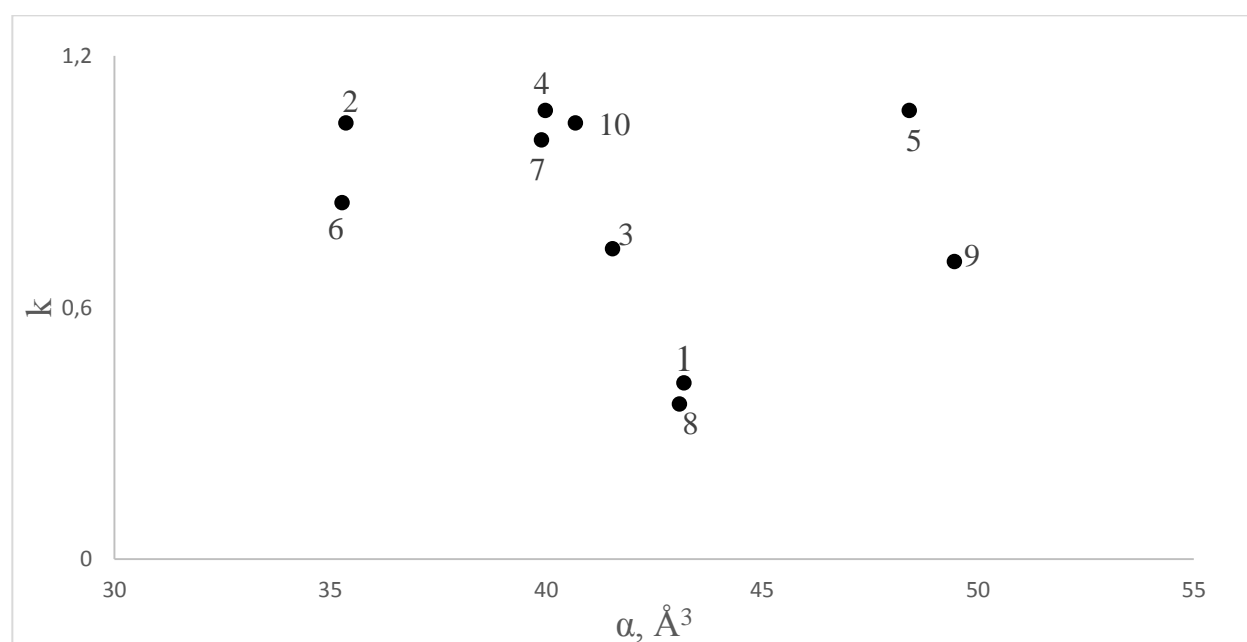


Рисунок 8 – Зависимость фактора удерживания от поляризуемости в НФ

На рисунке 9 видно, что с ростом дипольного момента удерживание растёт, что соответствует закономерностям удерживания в НФ варианте жидкостной хроматографии.

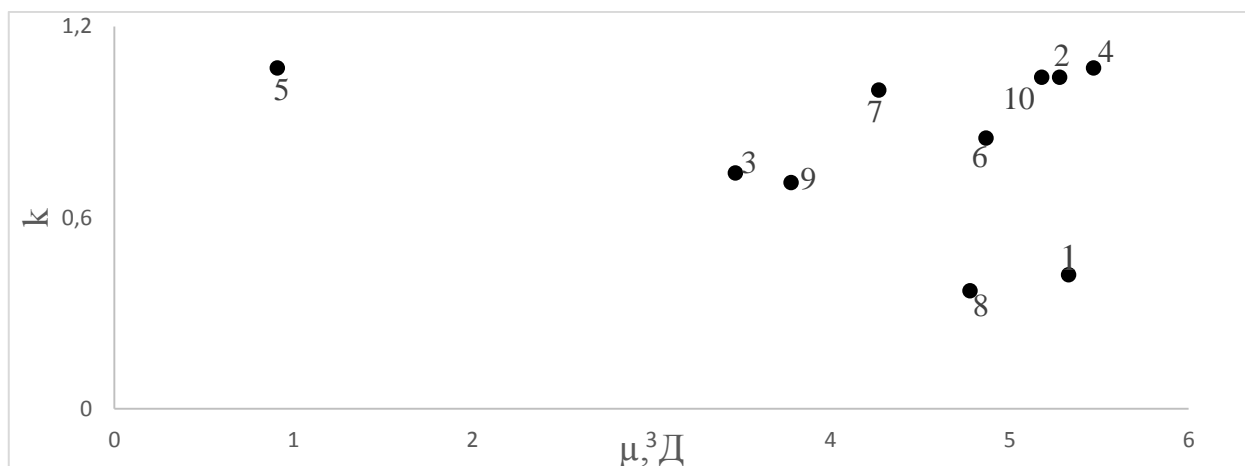


Рисунок 9 – Зависимость фактора удерживания от дипольного момента в НФ-варианте

При анализе рисунка 9, была выделена группа структурных аналогов, отличающихся радикалом R₂, однако имеющие в качестве радикала R₁ метильную группу, для которой получена отдельная корреляционная зависимость, представленная на рисунке 10.

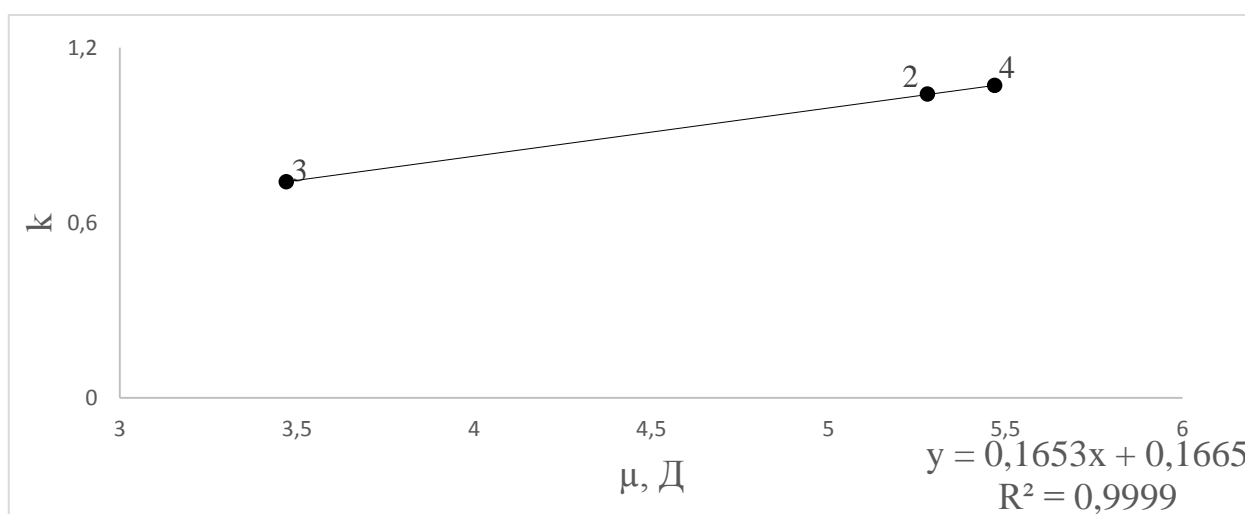


Рисунок 10 – Зависимость фактора удерживания от дипольного момента в НФ варианте для группы структурных аналогов

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследовано влияние структуры и природы заместителей производных пиразолинов на их удерживание в высокоэффективной жидкостной хроматографии, показано, что удерживание в ОФ-варианте закономерно растет с ростом поляризуемости и объема заместителя.

Для ОФ-варианта ВЭЖХ производных пиразолинов исследовано влияние доли воды в подвижной фазе, увеличение которой приводит к росту полярности элюента, вследствие чего увеличивается удерживание сорбатов и подтверждается вытеснительная модель Хорвата.

ОФ ВЭЖХ как метод физико-химического анализа может быть рекомендован для исследования производных пиразолинов, а НФ вариант не подходит в связи с необратимой сорбцией.

Показана аддитивность вклада заместителей, что позволяет создавать прогностические модели, выделив инкременты логарифма фактора удерживания пиразолинов в условиях ОФ ВЭЖХ. Однако для разработки аддитивной схемы необходимо расширить выборку соединений.

Построены и проанализированы корреляции типа «удерживание-структура», получены корреляционные уравнения, связывающие коэффициент удерживания с поляризуемостью, молекулярной рефракцией, гидрофобностью, дипольным моментом. Исходя из полученных корреляций, были выделены группы структурных аналогов, для которых получены уравнения, связывающие их физико-химический параметр с удерживанием.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Kupiec, T. Quality-Control Analytical Methods: High-Performance Liquid Chromatography / T. Kupiec // Int. J. Pharm. Compd. – 2004. – Vol. 8. – P. 223-227.
2. Шаповалова, Е.Н. Хроматографические методы анализа: метод. пособие / Е. Н. Шаповалова, А. В. Пирогов. – М.: МГУ им. Ломоносова, 2007. – 57с.
3. Шатц, В. Д. Высокоэффективная жидкостная хроматография. / В. Д. Шатц, О. В. Сахартова – Рига: Зинатне, 1988. – 7с.
4. Сапрыкина Л. В. Новые методические приемы разделения высокополярных соединений на практике ВЭЖХ: диссертация / Л. В. Сапрыкина. – Москва, 2008. – 7-8 с.
5. Спутник хроматографиста / О. Б. Рудаков [и др.]; под ред. В. Ф. Селеменева. – Воронеж: Водолей, 2004. – 28, 40 с.
6. Дорофеев, В. Л. Проект общей фармакопейной статьи "Высокоэффективная жидкостная хроматография" / В. Л. Дорофеев, А.П. Арзамасцев, Н.П. Садчикова // Химия. Биология. Фармация. – 2004. – №1. – 171 с.
7. Сычев, К.С. Практическое руководство по жидкостной хроматографии / К. С. Сычев. – М.: Техносфера, 2010 г, 46-47 с.
8. Сафронова, И.А. Физико-химические особенности сорбции азолов из водно-ацетонитрильных растворов на неполярном сорбенте, диссертация на соискание ученой степени кандидата химических наук / И. А. Сафронова. – Самара: СамГУ, 2015г. – 19с.
9. Snyder, L. R. Principles of adsorption chromatography. – New York: Marcel Dekker. – 1968. – 413 p.
10. Snyder, L. R. Mechanism of solute retention in liquid-solid chromatography and the role of the mobile phase in affecting separation. Competition versus «sorption» / L. R. Snyder, Poppe H. // Journal of Chromatography. – 1980. – V.

184 (4). – P. 363 – 413.

11. Комисарова, Н. В. Изучение хроматографического поведения некоторых азолов в условиях Высокоэффективной жидкостной хроматографии / Н. В. Комисарова, А. В. Буланова, П. П. Пурыгин, А. В. Соколов // Сорбционные и хроматографические процессы: сб. науч. трудов. – Самара: СамГУ, 2008. – Т.8. – Вып.6. – С. 964-970.

12. Scott, R.P.W., Kucera P.
Examination of five commercially available liquid chromatographic reversed phases (including the nature of the solute-solvent-stationary phase interactions associated with them) // J. Chromatogr. – 1977. – V. 142. – P. 213.

13. Константинов, А. В. Физико-химические закономерности сорбции соединений рядовизатина и адамантана изв одно-ацетонитрильных растворов на сверхсшитом полистироле и октадецилсиликагеле / А. В. Константинов. – автореф. дис. на соиск. учен. степ. канд. хим. наук. – Саратов: СГУ, 2013 г. – 16 с.

14. Scott R.P.W. The role of molecular interactions in chromatography // J. Chromatogr. – 1976. – V.122. – № 1. – P.35-53.

15. Scott R.P.W. The silica gel surface and its interactions with solvent and solute in liquid chromatography // J. Chromatogr. Sci., 1980. – V.18. – № 7. – P.297-306

16. Scott R.P.W., Kucera P. Examination of five commercially available liquid chromatographic reversed phases (including the nature of the solute-solvent-stationary phase interactions associated with them) // J. Chromatogr. 1977. – V.142. – № 1. – P.213-232.

17. Scott R.P.W., Kucera P. Solute interactions with the mobile and stationary phases in liquid-solid chromatography // J. Chromatogr. – 1975. – V.112. – № 1. – P.425-442.

18. Прокопов, С. В., Влияние состава элюента на удерживание сверхсшитым полистиролом в ОФВЭЖХ / С. В. Прокопов, И. В. Фролова, С. В. Курбатова //

Сорбционные и хроматографические процессы: сб. науч. трудов.– Самара: СамГУ, 2012. – Т.12. – Вып.3.–С. 370- 379.

19. Аналитическая хроматография: учебник / К.И.Сакодынский [и др.]– М.: Химия, 1993. – 289 с

20. Садек, П. Растворители для ВЭЖХ: учебник – пер. с англ. – М.: Бином, 2006. – 6-9 с.

21. Рудаков О. Б., Обобщенные критерии элюирующей способности растворителей в высокоэффективной жидкостной хроматографии / О. Б. Рудаков, Л. В. Рудакова // Сорбционные и хроматографические процессы: сб. науч. трудов - 2012. – Т. 12. – Вып. 2. – С. 231 – 239.

22. Стыскин, Е. Л. Практическая высокоэффективная жидкостная хроматография / Е. Л. Стыскин, Л. Б. Ициксон, Е. В. Брауде. – М.: Производственное издание, 1986. – 129, 136-137 с.

23. Киселев А. В. Межмолекулярные взаимодействия в адсорбции и хроматографии. – учеб. пособие / А. В. Киселев. – М.: Высш. шк., 1986. – 48-49 с.

24. Яшин, Я.И. ВЭЖХ и ультра-ВЭЖХ: состояние и перспективы / Я. И. Яшин, А. Я. Веденин // Аналитика. – 2015. – № 2. – С. 70 – 84

25. Яшин, Я. И. Высокоэффективная жидкостная хроматография. Состояние и перспективы / Я. И. Яшин, А. Я. Яшин // Рос. Хим. ж. –2003. – №1. – С. 66-67.

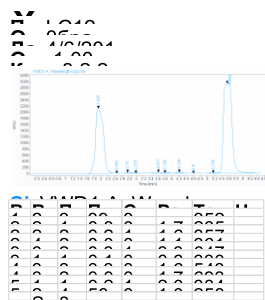
26. Carla G. A. da Silva, Carol H. Collins, Stationary phases based on poly(methyloctadecylsiloxane) thermally immobilized onto tetanized silica for high – performance liquid chromatography// G. A. Carla da Silva // Microchem. J. – 2013. – P. 150-157.

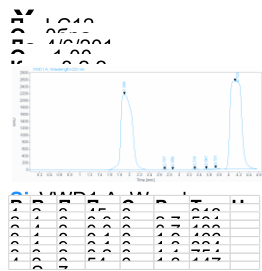
27. Сычев, С. Н., Гаврилина В. А. Высокоэффективная жидкостная хроматография: аналитика, физическая химия, распознавание многокомпонентных систем: учеб. пособие / С. Н. Сычев, В. А. Гаврилина. – Спб.: Лань, 2013. – 164 с.

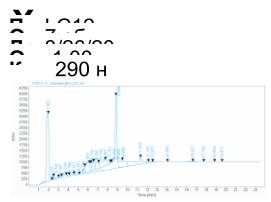
28. Рудаков О. Б. Физико-химические системы сорбат – сорбент – элюент в жидкостной хроматографии: монография / О. Б. Рудаков, В. Ф. Селеменев. – Воронеж: РИЦ ВГУ, 2003. – 29-30, 36-37 с.
29. Донорно-акцепторная сила заместителей, степень ПЗ [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://books.alnam.ru>. – Научная библиотека. – (Дата обращения: 13. 06. 2016).
30. Пальм В. А. Введение в теоретическую органическую химию / В. А. Пальм. – М.: Высшая школа. –1974. – 48 с.
31. Верещагин А. Н. Индуктивный эффект / А. Н. Верещагин. – М.: Наука.– 1987.– 20-21 с.
32. Днепроvский, А. С. Теоретические основы органической химии: учебник для вузов/ А. С. Днепроvский, Т. И. Темникова. – 2-е изд., перераб. – Ленинград: Химия, 1991. – 54, 56, 64 с.
33. Гаупман, З. Органическая химия: учебник / З. Гаупман, Ю. Грефе, Х. Ремане. – М.: Химия, 1979. – 179-180 с.
34. Квантово-химические расчеты: структура и реакционная способность органических и неорганических молекул [Электронный ресурс]. – Режим доступа:<http://window.edu.ru>. - Материалы 4-й школы – семинара молодых ученых, Иваново 20 -29 мая, 2009 г. – (Дата обращения: 13.06.2016)
35. Нижний С. В. Количественные соотношения «Химическая структура – Биологическая активность»/ С. В. Нижний, С. В. Эпштейн // Успехи химии. – 1978. – Т.47. –№ 4. –С. 739-772.
36. Юровская, М. А. Химия ароматических гетероциклических соединений: учебн. пособие/ М. А. Юровская, А. В. Куркин, Н. В. Лукашѐв. – М.: МГУ им. Ломоносова, 2007. – 24-25 с.
37. Джилкрист, Т. Химия гетероциклических соединений: учебник/ Т. Джилкрист – пер. с англ. – М.: Мир,1996. – 24-25 с.
38. Крыльский, Д. В. Гетероциклические лекарственные вещества: учеб. пособие / Д. В. Крыльский, А. И. Сливкин. – Воронеж: ВГУ, 2007. – 18

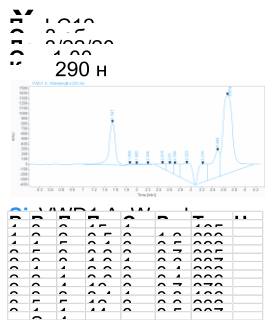
39. Трофимов, В. А. Гетероциклические соединения: учеб. пособие / В. А. Трофимов. – Нижний Тагил: НТГСПА, 2006. – 20 с.
40. Антонова, М. И. Биоорганическая химия, часть 4: учеб. пособие / М. И. Антонова, А. С. Берлянд. – М.: МГМСУ, 2010. – 34-35 с.
41. Тимощико, Л. В. Гетероциклические соединения: учеб. пособие / Л. В. Тимощенко, Т. А. Сарычева. – ТПУ, 2013. – 25-26 с
42. Гузиков, А. Я. Химия гетероциклических соединений: метод. указание / А.Я. Гузиков. – Могилев: МГУП, 2004. – 25-26 с.
43. Харитонов, А. Г. Исследование удерживания гетероциклических соединений в условиях ВЭЖХ / А. Г. Харитонов., А. Б. Буланова, В. А. Овсянин // Сорбционные и хроматографические процессы: сб. науч. трудов– Самара: СамГУ, 2005. – Т.5. – Вып. 3. – С. 289 – 295
44. Григорьева О. Б. Использование системного подхода при исследовании веществ с потенциальной биологической активностью / О. Б. Григорьева [и др.] // Башкирский химический журнал. – 2012. – Т. 19. – № 5. – С. 37-42.

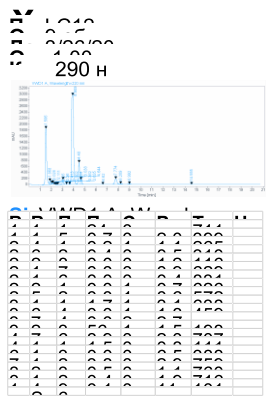
ПРИЛОЖЕНИЕ

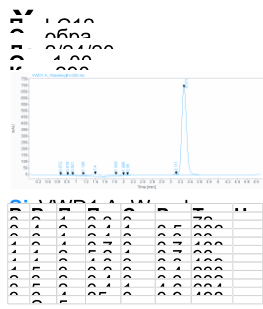






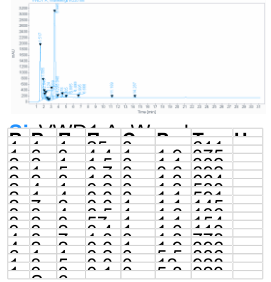




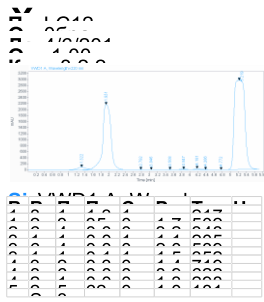


Retention Time (min)	Abundance
3.5	100

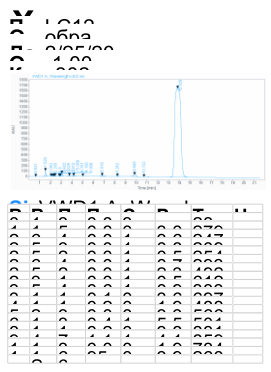
290 H



Time	Amplitude
0	0
1	10
2	0
3	0
4	0
5	0
6	0
7	0
8	0
9	0
10	0
11	0
12	0
13	0
14	0
15	0
16	0
17	0
18	0
19	0
20	0
21	0
22	0
23	0
24	0
25	0
26	0
27	0
28	0

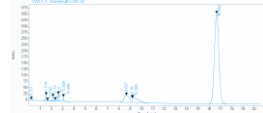


Retention Time (min)	Abundance
10.5	High
15.5	High
16.5	Low
17.5	Low
18.5	Low
19.5	Low
20.5	Low
21.5	Low
22.5	Low
23.5	Low
24.5	Low
25.5	Low
26.5	Low
27.5	Low
28.5	Low
29.5	Low
30.5	Low
31.5	Low
32.5	Low
33.5	Low
34.5	Low
35.5	Low
36.5	Low
37.5	Low
38.5	Low
39.5	Low
40.5	Low
41.5	Low
42.5	Low
43.5	Low
44.5	Low
45.5	Low
46.5	Low
47.5	Low
48.5	Low
49.5	Low
50.5	Low
51.5	Low
52.5	Low
53.5	Low
54.5	Low
55.5	Low
56.5	Low
57.5	Low
58.5	Low
59.5	Low
60.5	Low
61.5	Low
62.5	Low
63.5	Low
64.5	Low
65.5	Low
66.5	Low
67.5	Low
68.5	Low
69.5	Low
70.5	Low
71.5	Low
72.5	Low
73.5	Low
74.5	Low
75.5	Low
76.5	Low
77.5	Low
78.5	Low
79.5	Low
80.5	Low
81.5	Low
82.5	Low
83.5	Low
84.5	Low
85.5	Low
86.5	Low
87.5	Low
88.5	Low
89.5	Low
90.5	Low
91.5	Low
92.5	Low
93.5	Low
94.5	Low
95.5	Low
96.5	Low
97.5	Low
98.5	Low
99.5	Low
100.5	Low

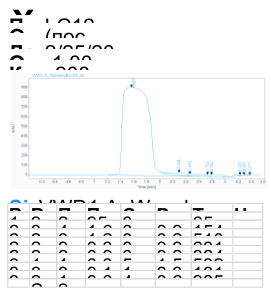


Time (min)	Area	Height	Width	Resolution	Asymmetry	Tailing	Skewness	Kurtosis
10.5	1000000	100000	0.5	1.0	1.0	0.0	0.0	0.0

Образ

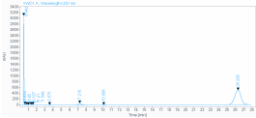


Retention Time (min)	Peak Label
10.5	1

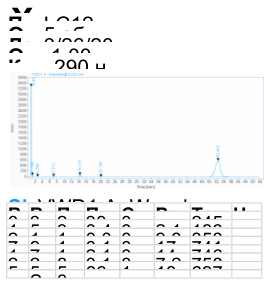


Time (min)	Area	Height	Width
10.5	1.00	1.00	0.10

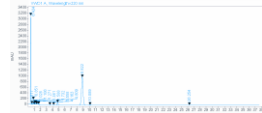
290 H



Time (min)	Abundance
0	0
10	0
20	0
30	0
40	0
50	0
60	0
70	0
80	0
90	0
100	0
110	0
120	0
130	0
140	0
150	0
160	0
170	0
180	0
190	0
200	0
210	0
220	0
230	0
240	0
250	0
260	0
270	0
280	0
290	100
300	0

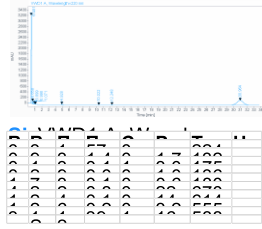


290 H

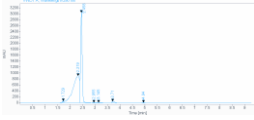


0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99
---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----

290 H

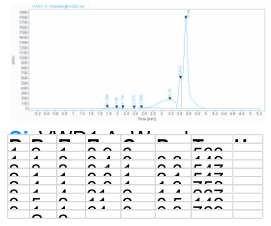


290 H



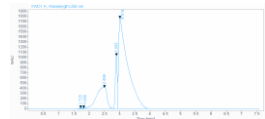
Retention Time (min)	Peak Label
~1.2	Peak 1
~2.5	Peak 2
~3.8	Peak 3
~4.5	Peak 4
~5.2	Peak 5

290 H
 200
 150
 100
 50
 0



Chemical Shift (ppm)	Integration	Assignment
7.2	1.00	Aromatic H
7.1	1.00	Aromatic H
7.0	1.00	Aromatic H
6.9	1.00	Aromatic H
6.8	1.00	Aromatic H
6.7	1.00	Aromatic H
6.6	1.00	Aromatic H
6.5	1.00	Aromatic H
6.4	1.00	Aromatic H
6.3	1.00	Aromatic H
6.2	1.00	Aromatic H
6.1	1.00	Aromatic H
6.0	1.00	Aromatic H
5.9	1.00	Aromatic H
5.8	1.00	Aromatic H
5.7	1.00	Aromatic H
5.6	1.00	Aromatic H
5.5	1.00	Aromatic H
5.4	1.00	Aromatic H
5.3	1.00	Aromatic H
5.2	1.00	Aromatic H
5.1	1.00	Aromatic H
5.0	1.00	Aromatic H
4.9	1.00	Aromatic H
4.8	1.00	Aromatic H
4.7	1.00	Aromatic H
4.6	1.00	Aromatic H
4.5	1.00	Aromatic H
4.4	1.00	Aromatic H
4.3	1.00	Aromatic H
4.2	1.00	Aromatic H
4.1	1.00	Aromatic H
4.0	1.00	Aromatic H
3.9	1.00	Aromatic H
3.8	1.00	Aromatic H
3.7	1.00	Aromatic H
3.6	1.00	Aromatic H
3.5	1.00	Aromatic H
3.4	1.00	Aromatic H
3.3	1.00	Aromatic H
3.2	1.00	Aromatic H
3.1	1.00	Aromatic H
3.0	1.00	Aromatic H
2.9	1.00	Aromatic H
2.8	1.00	Aromatic H
2.7	1.00	Aromatic H
2.6	1.00	Aromatic H
2.5	1.00	Aromatic H
2.4	1.00	Aromatic H
2.3	1.00	Aromatic H
2.2	1.00	Aromatic H
2.1	1.00	Aromatic H
2.0	1.00	Aromatic H
1.9	1.00	Aromatic H
1.8	1.00	Aromatic H
1.7	1.00	Aromatic H
1.6	1.00	Aromatic H
1.5	1.00	Aromatic H
1.4	1.00	Aromatic H
1.3	1.00	Aromatic H
1.2	1.00	Aromatic H
1.1	1.00	Aromatic H
1.0	1.00	Aromatic H

290 H



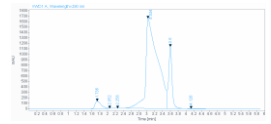
Retention Time (min)	Area	Height	Width	Signal
11.5	1.0	1.0	0.1	1.0

290 H



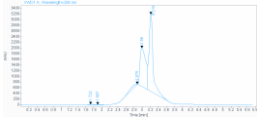
Chemical Shift (ppm)	Integration
7.2	1.00
3.5	0.25

290 H



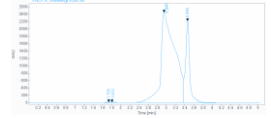
Retention Time (min)	Area	Height	Width
2.146	1500000	1500000	0.05

290 H



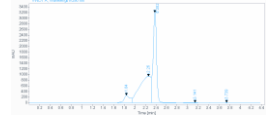
Peak #	Retention Time (min)	Height	Area	Width
1	2.1	150	1500	0.2
2	2.3	350	3500	0.2

1000
800
600
400
200
0
290 H



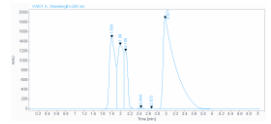
Chemical Shift (ppm)	Integration
1.2	0.00
2.1	0.00
7.2	0.00

290 H



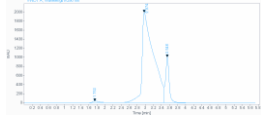
Retention Time (min)	Peak Label
22.5	1

21.0
 21.2
 21.4
 21.6
 21.8
 22.0
 290 H

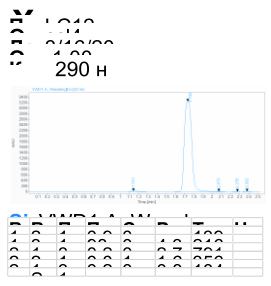


Retention Time (min)	Peak Label
21.0	1
21.2	2
21.4	3
21.6	4
21.8	5

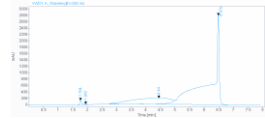
290 H



Time (min)	Abundance
2.2	High
2.4	Medium



290 H



Time (min)	Abundance
0	0
5	0
10	0
15	0
20	0
25	0
28	0
29	0
29.5	0
30	0

