

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«Тольяттинский государственный университет»

ИНСТИТУТ ХИМИИ И ИНЖЕНЕРНОЙ ЭКОЛОГИИ

(наименование института полностью)

Кафедра «Химия, химические процессы и технологии»

(наименование кафедры)

04.03.01 «Химия»

(код и наименование направления подготовки, специальности)

«Медицинская и фармацевтическая химия»

(направленность (профиль)/ специализация)

БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА

на тему Особенности поведения некоторых замещенных бетаинов в растворах

Студент

М.В. Герасименко

(И.О. Фамилия)

(личная подпись)

Руководитель

О.Б. Григорьева

(И.О. Фамилия)

(личная подпись)

Консультанты

Е.Ю. Аношина

(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)

« _____ » _____ 2018 г.

Тольятти 2018

АННОТАЦИЯ

Выпускная квалификационная работа изложена на 96 страницах, включает в себя, 63 схемы, 8 таблиц, 10 рисунков и 9 формул. Список литературы представлен 124 источниками.

Объектами исследования в данной работе являются некоторые замещенные бетаины.

Цель работы – выявление закономерности поведения бетаинов в растворах.

В литературном обзоре изложены классификация, методы синтеза, особенности структуры и химические свойства бетаинов и их производных.

В экспериментальной части приведены исследования влияния среды на форму существования некоторых производных бетаинов, произведен анализ бетаинов с помощью ВЭЖХ и исследованы кислотно-основные свойства замещенных бетаинов.

В обсуждении рассмотрены полученные данные. Проанализированы кислотно-основные свойства и произведен анализ влияния среды и природы заместителя на хроматографическое поведение бетаинов. В данной работе также приведены вероятности проявления биологической активности исследуемых бетаинов, найденные с помощью онлайн сервиса PASS online.

ABSTRACT

The title of the graduation work is “Behavioral features of some substituted betaines in solutions”. The relevance of this work involves the fact that betaines are biologically active, and they are used in medicine.

The aim of the work is to give some information about behavioral identification of betaines in solutions. The object of the graduation work is some substituted betaines.

The graduation work consists of an introduction, two chapters, a conclusion, list of 124 references, including 87 foreign sources. The text of the work contains 10 figures, 8 tables, 63 schemes and 9 formulas.

The first part of the work describes ideas and concepts from known literature on a given topic about properties and synthesis of betain.

The second part of the work studies the acid-base properties, the effect of the nature of the substituents and the chromatographic behavior of betaines

Results of the study reflect the presence of several molecular forms of betaines, depending on the pH of the solution medium. In the UV spectra of betaines containing electron-donor substituent, there are observed bathochromic shifts. The test compounds are referred to as weak acids. The correlation of the biological activity with acid properties is also established.

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	6
1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР	7
1.1. Общие сведения о бетаиновых структурах.....	7
1.2. Применение бетаиновых структур в различных отраслях промышленности.....	9
1.3. Азотсодержащие бетаины	11
1.3.1. Физические свойства глицин бетаина	15
1.3.2. Кристаллическая структура глицин бетаина	17
1.3.3. Химические свойства азотсодержащих бетаинов	18
1.4. Эфиры бетаинов	21
1.5. Мышьякосодержащие бетаины	25
1.5.1. Химические и физические свойства мышьякосодержащих бетаинов...	27
1.6. Серосодержащие бетаины.....	29
1.7. Йодониевые бетаины.....	30
1.8. Фосфорорганические бетаины.....	32
1.8.1. Карбоксилатные фосфобетаины	35
1.8.3. Значение бетаина в механизме реакции Виттига	45
1.8.4. Образование бетаина в реакции Виттига	47
1.8.5. Разложение бетаина в реакции Виттига	50
1.8.6. Стереохимия реакции Виттига	51
1.8.7. Влияние условий на стереохимию реакции Виттига	53
1.9. Хроматографические методы анализа	55
1.9.1. Классификация хроматографических методов анализа	56
1.9.2. Связь формы хроматографического пика с характером изотермы сорбции	59
1.9.3. Влияние рН в хроматографическом методе анализа.....	59
1.10. Анализ бетаиновых структур методом ВЭЖХ	63
1.10.1. Анализ бетаинов с помощью хроматографии.....	63
1.10.2. Анализ бетаинов в биологических жидкостях прямым методом	67
2. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ.....	70

2.1. Объекты исследования	70
2.2. Реагенты и оборудование	70
2.3. Хроматографический метод	71
2.3.1. Методика количественного определения 2-карбоксии-5-(фенил)-5-(пиридиinium-1-ил) пента-2,4-диеноата в условиях ВЭЖХ	71
2.3.2. Методика определения времени удерживания 2-карбоксии-5-(фенил)-5-(пиридиinium-1-ил) пента-2,4-диеноата в зависимости от его рН среды	71
2.3.3. Методика определения времени удерживания 2-карбоксии-5-(4-метоксифенил)-5-(пиридиinium-1-ил) пента-2, 4-диеноата и 2-карбоксии-5-(фенил)-5-(2-аминопиридиinium-1-ил) пента-2,4-диеноат в зависимости от его рН-среды	72
2.4. Потенциометрический метод	72
2.4.1. Методика приготовления раствора гидроксида натрия и щавелевой кислоты для его стандартизации	72
2.4.2. Определение изменения потенциала индикаторного электрода в процессе титрования 2-карбоксии-5-(фенил)-5-(пиридиinium-1-ил) пента-2,4-диеноата, 2-карбоксии-5-(4-метоксифенил)-5-(пиридиinium-1-ил) пента-2, 4-диеноата и 2-карбоксии-5-(фенил)-5-(2-аминопиридиinium-1-ил) пента-2,4-диеноат	73
2.5. Прогноз спектров биологической активности	73
3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ	74
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	83
СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ	84

ВВЕДЕНИЕ

Бетаиновые структуры являются на настоящий момент перспективными для изучения, в особенности это касается фосфорорганических производных. Интерес ученых к таким соединениям обусловлен тем, что бетаины являются цвистер-ионными соединениями, в которых катионный и анионный центр связаны при помощи ковалентной и ионной связи. Также эти соединения являются биологически активными и обладают широким спектром свойств. Сейчас бетаиновые структуры используются во многих отраслях промышленности, в том числе и в медицине. Так, например, в фармацевтической промышленности бетаины используются в качестве начального сырья для дальнейшего производства лекарственных препаратов. Предпринимаются попытки лечения некоторых заболеваний, например, таких как рак молочной железы, ожирение и болезнь Альцгеймера, при помощи данного соединения. В большинстве случаев бетаиновые структуры содержатся в растительном мире. В меньшей степени они встречаются в организме животных.

Объектами исследования в данной работе были азотсодержащий бетаин и его производные. Целью исследования в настоящей работе является выявление особенностей поведения некоторых замещенных бетаинов в растворах. Для достижения поставленной цели необходимо выполнить ряд задач:

1. Изучить литературу по методам синтеза, особенностям структуры и свойствам бетаинов и их производных;
2. Исследовать влияние среды на форму существования некоторых производных бетаинов, снять УФ-спектры;
3. Провести исследование влияния природы заместителя на хроматографическое поведение бетаинов;
4. Исследовать кислотно-основные свойства замещенных бетаинов;
5. Провести анализ полученных результатов и сделать выводы по проделанной работе.

1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

1.1. Общие сведения о бетаиновых структурах

Классические бетаины – соединения, которые представляют собой форму внутрисолевых органических аминокислот. В структуре таких соединений содержится карбоксильная группа и четвертичный атом азота. Но на сегодняшний день ученые начали относить к бетаинам все подобные структуры, в состав которых входят ковалентно связанные анионные и катионные центры.

Изучение бетаиновых структур это развивающаяся в наше время наука, которая представляет огромный интерес химиков, за счет разнообразия свойств данных соединений. Впервые бетаины животного и природного происхождения были выделены еще в 19 веке Шейблером. Им был получен глицин бетаин из патоки сахарной свеклы [1]. В середине 20 века началось усиленное изучение соединений различных бетаинов со стороны исследования их структуры и свойств.

В. С. Гулевич является одним из первых в России биохимиков, который работал в данном направлении. Им впервые были получены карнитин, карнозин и ансерин, выделенные из мышечной ткани. Наиболее изученными бетаинами являются азотосодержащие структуры. А вот, например бетаиновые структуры, в состав которых входит мышьяк, сера, фосфор и другие соединения изучены уже в меньшей степени. Соединения, в которые входят эти атомы, называются элементоорганическими бетаинами.

Структура бетаинов является интересной для изучения учеными, в связи с тем, что такие структуры обладают биологической активностью и разнообразным спектром полезных свойств. Фосфорорганические бетаиновые структуры в будущем, возможно, использовать как межфазные катализаторы. Так как часто активность таких бетаиновых структур превосходит таковую у межфазных катализаторов – аммониевых солей. Производные элементоорганических бетаинов обладают дезинфицирующими

и бактерицидными свойствами. А, например, фенолятные бетаины являются красителями. Они обладают сольватохромизмом, а также некоторыми другими нелинейнооптическими свойствами. Наибольшим значением сольватохромизма обладают красители Райхардта. Материалы, обладающие такими свойствами, используются все чаще в технологиях устройства телекоммуникаций.

В настоящее время большая часть ученых, изучающих бетаиновые структуры, занимается изучением фосфорорганических бетаинов. Бетаины, в состав которых входит фосфор являются наиболее интересными, так как такие структуры являются интермедиатами в некоторых фосфорорганических реакциях, например в реакции Виттига.

Помимо всего вышесказанного элементоорганические бетаины являются своего рода органическими аминокислотами, которые обладают разнообразными химическими и биологическими свойствами.

Также как и аминокислоты, бетаины существуют в виде биполярных ионов и растворимы в растворах кислот и щелочей.

Синтетические бетаины, которые содержат в своей структуре от 10 до 18 атомов углерода, являются амфотерными поверхностно-активными веществами. Они используются в качестве эмульгаторов при полимеризации, антистатиков, смачивателей в различных отраслях промышленности и диспергаторов.

За время изучения данного класса соединений была выявлена непредсказуемая токсичность соединений бетаинов. Так И. В. Галкина и соавторы предоставили данные о мышьякосодействующем бетаине с низкой токсичностью (LD_{50} 10 г/кг) и бутиробетаине обладающем высокой токсичностью, наподобие курареподобных ядов [2].

Люди получают бетаин из продуктов, которые содержат либо бетаин, либо холин-содержащие соединения (путем окисления холина в митохондриях) [3]. Он присутствует в пищевых продуктах в переменных количествах, которые обычно связаны с условиями роста и осмотического

стресса [4]. Высокий уровень бетаина также встречается в продуктах для животных, особенно моллюсков и цыплят, причем основным источником являются мучные продукты, такие как хлеб и макароны, а также продукты из зерновых культур [5]. Бетаин играет важную роль в развитии и размножении, начиная с преимплантации эмбриона до младенчества [6]. Он также считается антиоксидантом, и исследования показывают, что он может быть использован в качестве терапевтического компонента для контроля неврологических расстройств [7].

1.2. Применение бетаиновых структур в различных отраслях промышленности

Бетаиновые структуры являются соединениями с исключительными свойствами. Они используются в таких отраслях промышленности как медицина (лекарственные препараты). Так, например хлорид глицин бетаина используют в качестве препарата, который повышает кислотность желудочного сока. Бетаины используют, в том числе при лечении таких заболеваний как ревматизм, дерматоз, заболевания печени и при других нарушениях в организме. Лечебные свойства имеют и производные глицин бетаина, обладающие антидиабитическими и кардиопротекторными свойствами. В общем случае данные соединения оказывают как лечебное, так и профилактическое действие.

Производные бетаинов используют в качестве цвиттер-ионных амфотерных поверхностно-активных веществ (ПАВ). Соединения с бетаиновыми структурами часто используются в производстве косметических средств, таких как: жидкое мыло, шампуни и гели, в детской косметике, так же присутствуют в составе кремовой основы. В кремообразных косметических средствах они играют роль эмульгаторов, а в жидкие моющие средства их вносят в качестве пенообразователя и загустителя.

Бетаины предлагают использовать в гипоаллергенных средствах и детской косметики, так как они проявляют более мягкие свойства по сравнению с другими ПАВ. Также бетаиновые структуры используют как межфазные катализаторы. Такое использование этих соединений определяется каталитической активностью бетаинов. У таких структур в сравнении с аммониевыми солями она выше. Поэтому бетаиновые структуры могут заменить обычные межфазные катализаторы.

В сельскохозяйственной промышленности бетаин используют в качестве прикорма для животных. Так используются для этого технологические процессы, в которых бетаиновые структуры получают из отходов сахарных производств в виде хлоргидратов [8].

Использование триметильного производного глицина, проявляет положительные свойства в эффективности развития свиноводства и птицеводства. Метильные группы, входящие в состав бетаина, обеспечивают функцию донора метильных групп в метаболизме. В связи с тем, что в молекуле бетаина присутствуют одновременно положительный и отрицательный заряд, это способствует накоплению бетаина в значительных концентрациях, без нарушения метаболизма. В свою очередь, бетаин обладает осмопротекторными свойствами, что выражается в понижении потребностей организма во внутриклеточной воде, следовательно способствует понижению затрат энергии при поддержании осмотического баланса [8].

Растения производят бетаин в ответ на экологические стрессы, такие как засуха, соленость, экстремальная температура и УФ-излучение [9]. Например, бетаин (глицин бетаин, триметилглицин) является одним из самых мощных органических осмолитов в живых организмах.

В условиях водного стресса многие растения, животные и бактерии накапливают высокорастворимые низкомолекулярные соединения, называемые осмолитами, которые позволяют организму удерживать воду в организме. Осмолиты представляют собой небольшие молекулы,

продуцируемые клетками в ответ на измененные водные условия в окружающей среде. Они позволяют организмам выдерживать суровые условия, такие как высокие температуры, обезвоживание и высокое содержание соли [10]. Осмолиты представляют собой небольшие молекулярно-массовые соединения, например, такие как глицин бетаин, сахароза и пролин. Глицин бетаин, является типичным осмолитом в организмах, живущих в сложных экологических условиях.

Среди бетаиновых структур были найдены соединения, имеющие бактерицидные и дезинфицирующие свойства. В общем случае, область применения бетаинов и их производных обширна.

1.3. Азотсодержащие бетаины

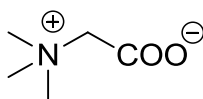
В растительном мире большее распространение имеют азотсодержащие бетаины. Бетаины, содержащие в своей структуре азот, представляют собой алколоиды. Это гетероциклические азотистые соединения, входящие в состав различных растений. В них они находятся в виде солей и органических кислот, которые хорошо растворимы в воде [11].

В растительном мире и в животных организмах учеными были обнаружены глицин бетаин, бутиробетаин (бетаин масляной кислоты), карнитин (бетаин β -оксимасляной кислоты), гипафорин (бетаин триптофана), тригонеллин (бетаин никотиновой кислоты) и герцинин (бетаин гистидина), который был найден в грибах, и многие другие.

Самой распространенной азотсодержащей бетаиновой структурой является глицин бетаин, также известный как производное триметиламиноуксусной кислоты. Глицин бетаин проявляет обширную биологическую роль, поскольку он действует, как органический осмолит, а также как донор метильных групп для важных биологических процессов, таких как одноуглеродный метаболизм и метилирование ДНК [12]. Данное соединение является родоначальником класса бетаиновых соединений. На схеме 1 изображена структура азотсодержащего бетаина. Это соединение

представляет собой бесцветное кристаллическое вещество, которое хорошо растворимо в воде:

Схема 1



Эта небольшая молекула с молекулярной массой 117 г/моль, очень гигроскопична, сохраняет несколько молекул воды в непосредственной близости. Противоположные гидрофобные (триметил) и гидрофильные (глицин) стороны молекулы бетаина повышают подвижность воды вокруг нее. Цвиттерионная характеристика бетаина увеличивает его гидрофильность и позволяет ей адаптироваться к большому диапазону pH [13]. Данное вещество содержится в сахарной свёкле, мышцах беспозвоночных животных, а также в тканях и моче млекопитающих.

Растения могут синтезировать глицин бетаин и накапливать его в больших количествах. Данный синтез и накопление происходит, когда растения подвергаются воздействию абиотических стрессовых состояний, таких как засуха, избыток воды и солей в почве [14]. Накопление глицин бетаина при высокой концентрации в галотолерантных растениях объясняется с точки зрения совместимости осмолита с макромолекулярными структурами и функциями [14]. Совместимость осмолита – это химическая характеристика, в которой отсутствуют возмущающие эффекты при взаимодействии окружающих молекул воды и макромолекул. Неорганические ионы легко возмущают гидратную сферу белков, вынуждая разворачиваться макромолекулы. Однако совместное растворение вещества, например, такого как глицин бетаин, исключено с поверхности макромолекул с их областью гидратации в клетках. Это приводит к стабилизации правильно сложенного состояния макромолекулярных структур при относительно низком потенциале воды [15]. Совместимые растворы в растениях должны быть локализованы в цитоплазме, потому что они обычно присутствуют при умеренно высокой концентрации, чтобы быть

эффективными. Глицин бетаин может защищать белки от термодинамического возмущения, вызванного обезвоживанием и тепловой денатурацией. Физико-химический эффект осмозащитного вещества называется «осмофобным» [15]. Глицин бетаин, как полагают, распространяется исключительно в цитоплазме и хлоропластах растительных клеток.

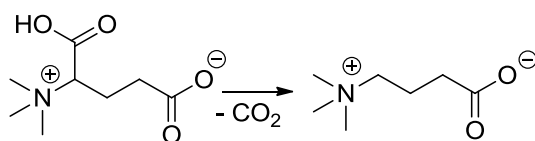
Накопление осмолитов в растительных клетках приводит к уменьшению осмотического потенциала клетки и, следовательно, к поддержанию абсорбции воды и давления тургора, что может способствовать поддержанию физиологических процессов, таких как устьичное открытие, фотосинтез и увеличение роста [16]. Поддержание тургора необходимо для поддержания роста через удлинение клеток.

Несмотря на то, что экзогенное применение глицин бетаина оказывает положительное влияние на растениеводство, следует упомянуть и возможный недостаток, что глицин бетаин является мощным растительным субстратом для некоторых видов патогенных грибов и может выступать в качестве аттрактора для тлей.

Глицин бетаин участвует в процессе переметилирования в организме животных и является донором метильных групп. Так, например он выступает в качестве донора в метелировании гуанидинуксусной кислоты и в обновлении метильных групп холина и метионина [17].

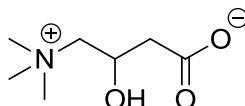
Бутиробетаин является сильным ядом, который при попадании в кровотоки вызывает паралич двигательного аппарата. Этот бетаин был выделен из сгнившего мяса. Он выделяется в ходе бактериального декарбоксилирования бетаина глютаминовой кислоты:

Схема 2



В 1905 году биохимиками Гулевичем и Кримбергом было написано несколько работ посвященных выделению карнитина (бетаин β-оксимасляной кислоты) [18]:

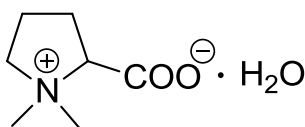
Схема 3



Бетаин β-оксимасляной кислоты впервые выделили из мышц млекопитающих. Но на протяжении долгого времени функция данного вещества в организме была неизвестна.

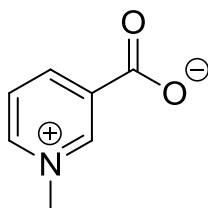
В 1948 году был найден ростовой фактор для личинки мучного червя, который назвали витамином В_Т, который оказался карнитином. В дальнейшем при изучении бетаина β-оксимасляной кислоты стало известно, что карнитин участвует в липидном обмене в роли переносчика ацетильных групп [19]. Это вещество является одним из основных источников энергии для мышечной ткани. Также в его свойства входит усиление антиоксидантного действия витаминов С и Е. Карнитин синтезируется в организме при наличии железа, тиамин, пиридоксина и аминокислот – лизина и метионина [20]. Простейшим алкалоидом пирролидинового типа является распространенный в растительном мире бетаин стахидрин:

Схема 4



Бетаин N-метилникотиновой кислоты (тригонеллин) является внутренней солью никотиновой и бетаиновой кислот:

Схема 5

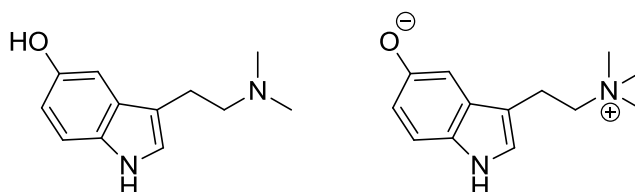


Тригонеллин – это алкалоид, который содержится в кофе, злаках и горохе [21]. В растительном мире соединение образуется путем метилирования никотиновой кислоты.

Хольц, Кучер и Тейлманн обнаружили его наличие в организме ряда животных [22]. Данный бетаин является растительным регулятором, который контролирует темп деления клеток. В организме млекопитающих, данное свойство позволяет замедлять рост образования злокачественных опухолей [23].

Г. О. Виландом, Ченом и Йенсенем были выделены два вещества, являющиеся производными индола, буфотенин и соответствующий ему бетаин бутенидин [24], данные структуры представлены на схеме 6. Эти вещества были выделены из яда, выделяемого жабами.

Схема 6



Бетаиновые структуры, в последнее время, вызывают большой интерес ученых химиков за счет своей биологической активности и широкого спектра использования данного класса веществ. В случае же азотсодержащих бетаинов ученые заинтересованы изучением данного класса за счет того, что эти вещества уникальны по своему строению, стабильности и универсальной биологической активностью.

1.3.1. Физические свойства глицин бетаина

Глицин бетаин характеризуется множеством уникальных физико-химических свойств, таких как способность взаимодействия со многими анионами и его существование в виде цвиттериона в водных растворах, приводящее к осмозащите клеток [25]. Также он термодинамически стабилизирует белковые структуры в воде [26]. Более того, глицин бетаин

участвует в одноуглеродном метаболизме и метилировании ДНК, и его клиническое значение также подчеркивается его ролью в снижении повышенных концентраций гомоцистеина в сыворотке, связанных с гипергомоцистинурией [27]. Молекулярная формула глицин бетаина представляет собой $C_5H_{11}NO_2$, а его молекулярная масса равна 117,15 г/ моль.

Цвет порошка глицин бетаина варьируется от кремового до белого, с характерным запахом. Что касается точки плавления, то в литературе указано несколько значений, а именно в широком диапазоне 250-260°C, 293°C и 310°C. Он имеет pK_a равную 1,83 (при 0°C) и объемную плотность в диапазоне 0,35-0,50 г см⁻³ [28].

Согласно докладу EFSA [28], бетаин был признан генотоксичным в серии анализов *in vitro* и *in vivo*. Данные о размерах частиц показывают, что безводный аддитивный бетаин содержал около 36% частиц диаметром <50 мкм, но не имел частиц вдыхаемого размера (<10 мкм). Никаких исследований по ингаляционной токсичности не имеется, однако EFSA сообщает, что безводный бетаин может вызвать раздражение дыхательных путей и дополнительно вызвать раздражение глаз и кожи, таким образом представляя опасность для здоровья.

Но так как глицин бетаин широко распространен в природе как эндогенный метаболит у большинства организмов, включая микроорганизмы, растения и животных. Следовательно, добавление в корм безводного бетаина и гидрохлорида бетаина не создает риска для окружающей среды. Бетаин представляет собой молекулу с низкой симметрией, так как она состоит только из двух элементов симметрии: тождества E и зеркальной плоскости σ_h . Поэтому он принадлежит к группе C_s [29]. Глицин бетаин полностью растворим в воде, растворяется в метаноле и этаноле, а также в эфире. Следовательно, для органического синтеза других бетаиновых структур используют метанол в качестве субстрата (где происходит соответствующая реакция), а их выделение и очистка происходит

в воде [30]. Некоторые физические свойства глицин бетаина приведены в таблице 1:

Таблица 1 – Физические свойства глицин бетаина

Молекулярная формула	$C_5H_{11}NO_2$
Молекулярный вес	117.15 г/моль
Регистрационный номер CAS	107-43-7
Регистрационный номер EINECS	203-490-6
Физическое состояние	твердый
Цвет и форма	Белый порошок; Расплывающиеся чешуйки или призма
Вкус и запах	Сладкий вкус; Незначительный характерный запах
Точка плавления	310°C; 293°C; 250-260°C
Массовая плотность	0,35-0,50 г/см ³
Растворимость в воде (г/100 г растворителя)	157 г; 160 г
Растворимость в органических растворителях (г/100 г растворителя)	Метанол: 57 Этанол: 8,7 Эфир: умеренно растворимый Хлороформ: слаборастворимый
Константа диссоциации	$pK_a = 1,83 (0^\circ C)$

1.3.2. Кристаллическая структура глицин бетаина

Рентгеноструктурный анализ безводного глицин бетаина показал, что он кристаллизуется в орторомбической пространственной группе P_{nma} с $a=14,544 \text{ \AA}$, $b=6,885(3) \text{ \AA}$, $c=6,131 \text{ \AA}$, $V=6,117 (3) \text{ \AA}^3$ (Рис. 1.):

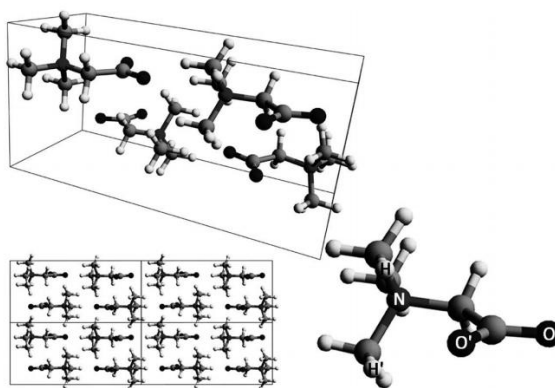


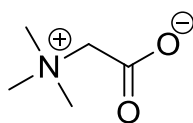
Рис. 1. Безводная элементарная ячейка глицин бетаина

Кроме того, бетаин преимущественно кристаллизуется в высокосимметричной форме, как в безводных, так и в моногидратных кристаллических структурах, сохраняя свою локальную симметрию C_s . Теоретические расчеты связывают это с внутримолекулярными взаимодействиями между карбоксильным кислородом и ближайшими метилгидрогенами, что приводит к образованию внутренней водородной связи и небольшому переносу заряда, как показывают расчеты НРА. Это подтверждается энергетически высоким вращательным барьером (9,68 ккал/моль) карбоксильной связи С-С [31].

1.3.3. Химические свойства азотсодержащих бетаинов

Азотсодержащие бетаины являются наиболее изученными структурами, поскольку именно они были впервые выведены и изучены учеными.

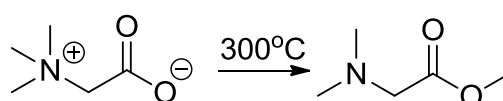
Схема 7



В зависимости от положения атома азота относительно карбоксильной группы отличают α -, β - и другие бетаины. Такие бетаиновые соединения обладают высокой температурой плавления, чаще всего они хорошо растворимы в воде, реже в спирте, но в эфире их растворимость снижается до минимума [32].

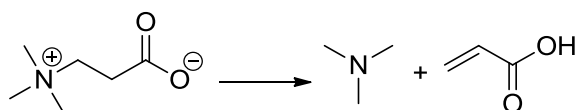
Расположение атома азота влияет на ход реакции при нагревании [32]. Например при нагревании до 300 °С бетаинов N-метелированных α -аминокислот получают метиловые эфиры аминокарбоновых кислот:

Схема 8



При нагревании же N-метелированных β-аминокислот образуется непредельная кислота, и третичный амин:

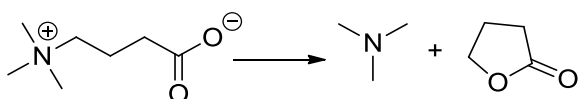
Схема 9



При реакции с солями тяжелых металлов бетаины могут образовывать комплексы. Такие комплексы не растворимы в растворителях органической природы. Бетаины реагируют с сильными кислотами, при этом в ходе реакции образуются аммониевые соли [32].

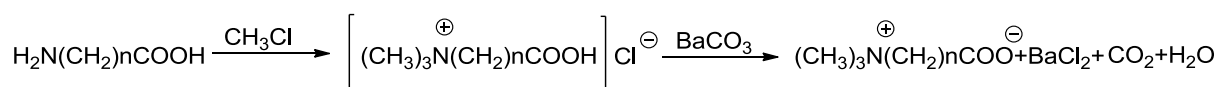
В случае же бетаинов γ-аминокислот при нагревании получают третичный амин и лактон, внутренние циклические сложные эфиры, содержащие группировку (—COO—) в кольце:

Схема 10



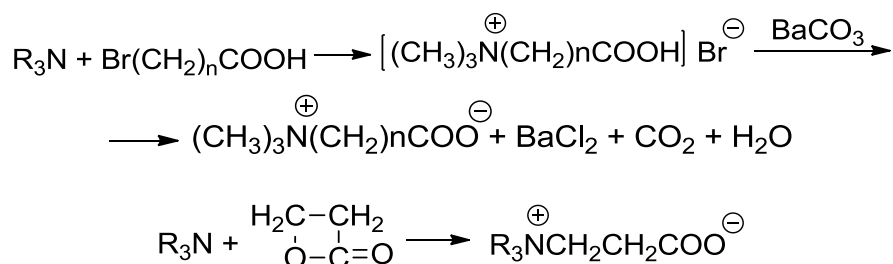
Бетаины, метилированные по атому азота, получают действием на аминокислоты $(\text{CH}_3)_2\text{SO}_4$ или CH_3Cl с последующей реакцией образующегося гидрохлорида триметиламинокарбоновой кислоты с BaCO_3 [33]:

Схема 11



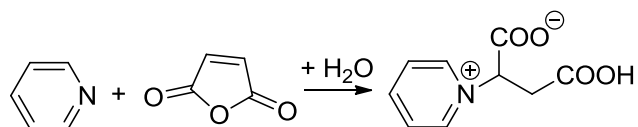
Другой способ получения таких бетаинов, состоит из взаимодействия триалкиламинов с галогенкарбоновыми кислотами и β-лактонами [33]:

Схема 12



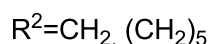
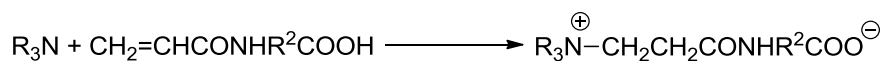
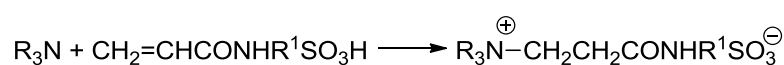
Взаимодействием малеинового ангидрида с пиридином получают бетаин с пиридиновым циклом:

Схема 13



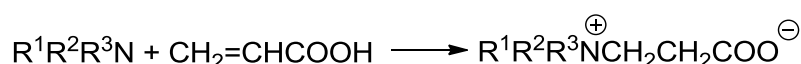
Казанцевой О. А. и соавторами [33] был описан метод получения карбокси- и сульфобетаинов на базе третичных аминов и непредельных кислот. Взаимодействие осуществляется по схеме 14:

Схема 14



В данной работе также приведено исследование влияния строения третичных аминов на скорость взаимодействия с акриловой кислотой:

Схема 15



В соответствии с данными полученными в работе реакция ускоряется акцепторными заместителями в амине. Это можно объяснить с учетом влияния солеобразования (процесс является побочным) между акриловой кислотой и амином. В результате этого влияния молекулы акриловой кислоты, которые находятся в виде анионной пары, начинают превращаться в менее реакционноспособный ион $CH_2=CHCOO^-$.

Данный ион не способен к присоединению амина по двойной связи $C=C$. Поэтому можно прийти к выводу о том, что чем более основным является амин, тем большая доля кислоты дезактивируется, связываясь в дальнейшем в соль.

Однако нуклеофильные свойства амина сводятся на нет, так как происходит связывание в соль. В соответствии с вышеперечисленными выводами можно сделать заключение о том, что ускоряющее действие акцепторных заместителей было трудно предсказать.

В статье [34] ученые рассмотрели соединение бетаиновой структуры, которое образуется при взаимодействии кетена с арилгидразонами. Данная реакция приводит к образованию гетероциклической системы - 2-арилметилен-5-оксо-1,4-дифенил-2,5-дигидро-1Н-2-пиразолий-3-олатов. В другой статье данное соединение рассматривается как кросс-сопряженный гетероциклический мезомерный бетаин [35]. В данных бетаиновых структурах сопряжение между катионными и анионными делаколизированными системами молекулы отсутствует.

1.4. Эфиры бетаинов

В последние годы устойчивые диалкильные четвертичные аммониевые соединения все чаще вытесняются диалкилэфирными, использующиеся в качестве мягчителей в промывочных циклах (полоскание).

Данная область применения является основной для четвертичных аммониевых соединений.

Смена диалкильных четвертичных аммониевых соединений обусловлена влиянием данного вида соединений на окружающую среду.

В отличие от диалкильных диалкилэфирные четвертичные аммониевые соединения с точки зрения защиты окружающей среды наиболее выгодны, так как они обладают хорошим показателем биоразлагаемости и токсичности в водной среде [36].

Диалкильные четвертичные аммониевые соли были вытеснены диалкилэфирными из различных отраслей промышленности.

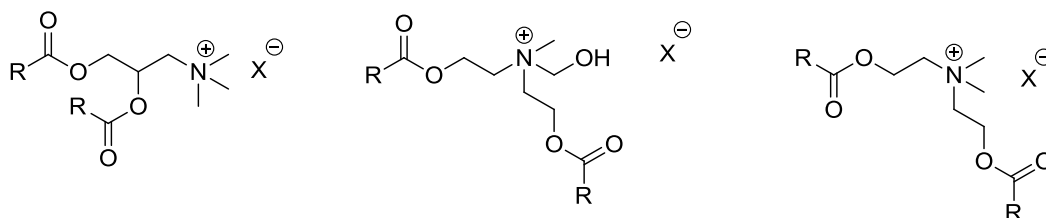
Вблизи сложноэфирной связи расположен катионный заряд, который в свою очередь стабилизирует эфиры четвертичных аммониевых соединений в кислых средах, а в щелочных делает их лабильными. Такая сильная

зависимость от pH используется для иницирования быстрого разложения поверхностно активных веществ. У бетаинов содержащих в своей структуре эфирные мостики такой эффект выражен наиболее сильно.

В зависимости от расположения электронодонорных или электроноакцепторных групп по отношению к эфирной связи скорость щелочного гидролиза меняется.

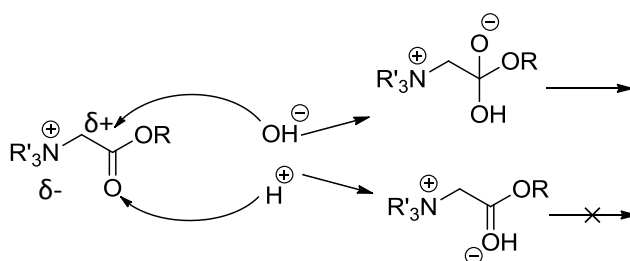
В таком типе соединений, который рассматривается в статье [36] четвертичная аммониевая группа отнесена к сильным акцепторам. В таком случае снижение электронной плотности на сложноэфирной связи происходит за счет индуктивного эффекта.

Схема 16



Скорость щелочного гидролиза возрастает сильнее, если в структуре соединения заряд будет расположен по другую сторону от эфирной связи. В таком случае они устойчивы в сильнокислой среде и в тоже время лабильны в щелочной. Аммониевая группа влияет на скорость гидролиза, так как это вызвано стабилизационными и дестабилизационными эффектами основного состояния:

Схема 17



Атака ионов гидроксила ослабляет отталкивание положительно заряженных атомов углерода в карбонильной группе и азота, а при протонировании происходит увеличение отталкивания [36]. Так как сложные

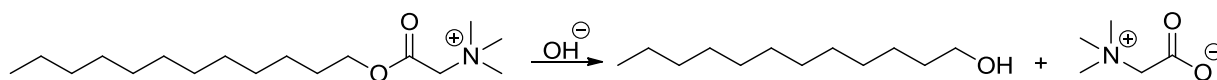
эфиры не обладают катионным зарядом, то в таких соединениях скорость кислотного гидролиза уменьшается, а щелочного увеличивается.

Скорость щелочного гидролиза для поверхностно-активных сложных эфиров бетаина и длинноцепочечных алифатических спиртов увеличивается еще больше, так как протекает по механизму мицеллярного катализа. Присутствие поляризуемых противоионов, например бромид-ионов, сводит на нет мицеллярный катализ. Время жизни эфиров бетаина в кислотных средах довольно продолжительное, а скорость гидролиза зависит от pH, при которых они используются [36].

Недавно было установлено, что длинноцепочечные алкилбетаины (алоксикарбонил-N, N, N-триметилметанаминия хлориды) обладают хорошей антимикробной активностью [37]. Эти соединения имеют преимущества перед обычными катионными поверхностно-активными веществами. Из некоторых статей известно, что соединения с короткой цепью показывают более высокую скорость щелочного гидролиза и более медленную скорость кислотного гидролиза, чем обычные эфиры [38].

Одноцепочечные поверхностно-активные вещества такого типа используют, например, в качестве «временных» бактерицидов в гигиенических средствах или в отраслях в которых требуется такое временное действие [38]. На схеме 18 изображен гидролиз эфира бетаина, который обладает бактерицидными действиями, с образованием алифатического спирта и бетаина (безвредные продукты):

Схема 18



Установлено, что скорость гидролиза длинноцепочечного эфира подвержена мицеллярному катализу. Данный вид катализа щелочного гидролиза длинноцепочечных эфиров бетаина изучен подробно.

Эфиры бетаина, включающие остатки нормальных спиртов, которые содержат в гидрофобной цепи 10-14 атомов углерода, представляют большой

интерес, так как период их полураспада возможно регулировать. Катионный заряд, таких соединений отдает частично положительный заряд углероду, который входит в состав карбонильной группы. Такой эфир является чувствительным к щелочному гидролизу и устойчивым к кислотному, вследствие повышенной электрофильности этой группы.

На рисунке 2 показан график влияния концентрации субстрата на скорость гидролиза некоторых соединений эфиров бетаина при постоянном рН:

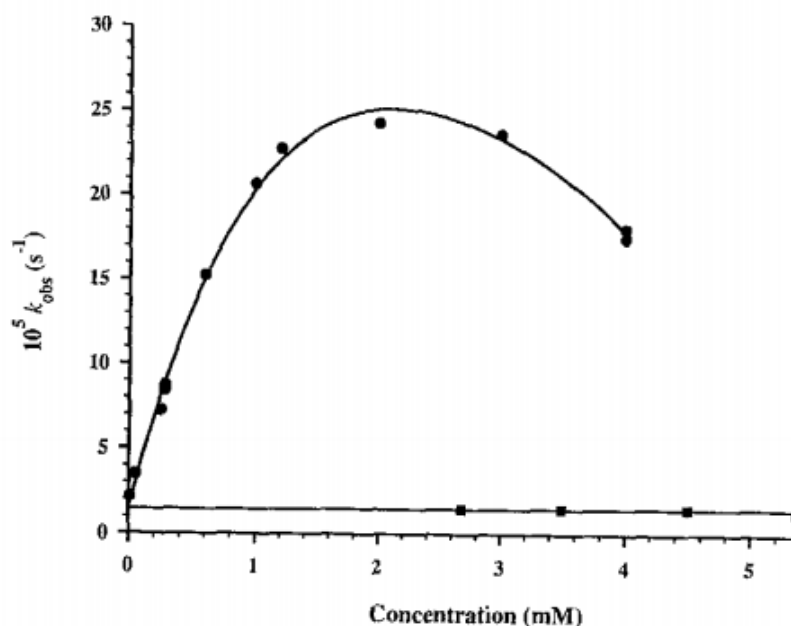


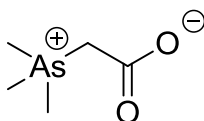
Рис. 2. Зависимость скорости гидролиза эфира бетаина от концентрации субстрата

Длинноцепочечные алкилбетаины показывают повышенную скорость гидролиза в сравнении с короткоцепочечными соединениями. Увеличение скорости зависит от концентрации и является, скорее всего, результатом мицеллярного катализа. Влияние добавленных гидрофильных и гидрофобных ионов на константы скорости хорошо согласуется с моделью псевдофазного ионообмена для мицеллярного катализа. Гидрофобные ионы влияют на скорость гидролиза, так как это обусловлено электростатическими и гидрофобными взаимодействиями с мицеллами.

1.5. Мышьякосодержащие бетаины

В настоящее время, часто можно встретить работы, в которых из биологических объектов выделяют органические соединения мышьяка, в том числе и арсенобетаинов. Впервые, Эдмондс и Францескони [39] показали, что соединение, выделенное из хвостовых мышц лангуста, является арсенобетаином:

Схема 19



Данное соединение водорастворимо. Известно, что мышьяк в морских организмах присутствует в неорганических формах (арсенаты, арсениты), а также в виде жирорастворимых и водорастворимых органических соединений.

Арсенобетаин выделяют из морских организмов и некоторых видов грибов, при этом на долю данного бетаина приходится 95% от всего содержания органического мышьяка. Токсичность мышьяка зависит напрямую от химической формы и степени окисления.

Методы выделения мышьякосодержащего бетаина, хорошо разработаны. Эти методы включают в себя стадии экстракции соединений мышьяка водно-метанольным раствором, затем экстракт пропускают через ионообменные смолы и проводят хроматографический анализ через колонку с цеолитом.

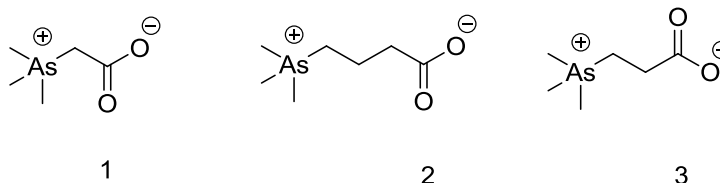
Большинство ученых утверждают, что выделенный таким образом бетаин не является токсичным. Однако изучение токсичности арсенобетаинов на мышцах выявило, что величина LD₅₀ составила более 10 г/кг. Животные, которым ввели такую дозу стали вялыми и менее подвижными. Однако через какой-то промежуток времени симптомы легкого отравления пропадали полностью [40]. Ученые при изучении бетаинов, в

состав которых входит мышьяк, сделали вывод о том, что мутагенная способность у данного вида соединений отсутствует [41].

В работах канадских ученых [42] изучался метаболизм соединений мышьяка в клетках водорослей. Так ими описывалось превращение соединений неорганического мышьяка в его органические производные. Водоросли поглощают арсенаты из воды наравне с фосфатами. Как только арсенат попадает в клетку водоросли, он восстанавливается в арсенит. Так как арсенит является ядовитым веществом, водоросли научились их обезвреживать при помощи метелирования, присоединения трех метильных групп. В результате данной реакции получается триметиларсин. В клетках водорослей он реагирует с промежуточным продуктом фотосинтеза, в результате чего получается не ядовитое вещество – триметиларсонийлактат [43]. Водоросли направляют весь арсенат на метелирование, если в окружающей среде концентрация арсената не высокая. После этого азот замещается на мышьяк. При этом среди продуктов метаболического превращения оказывается арсенобетаин. В общем случае данный подход является процессом детоксикации мышьяка в клетках водорослей.

В настоящее время выделено несколько типов карбоксилатных арсенобетаинов:

Схема 20



Чаще всего встречается триметиларсонийметилкарбоксилат и только недавно стали появляться сведения о получении 2 и 3 типа арсенобетаинов (схема 20). Также учеными были выделены триметиларсиноксид, арсониевые соли и арсенохолин. К тому же К. Накамура и соавторами [44] был разработан патент, в котором концепцией метода является метелирование неорганических соединений мышьяка, сурьмы и селена.

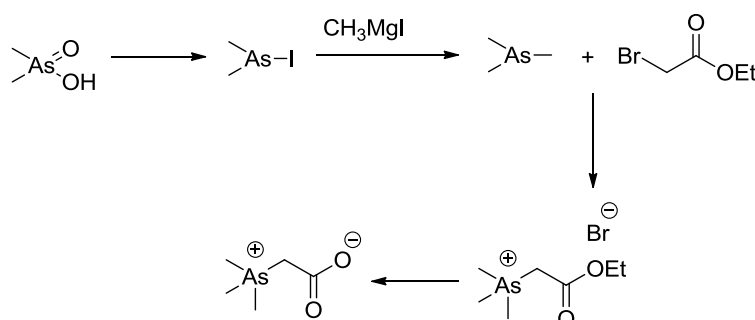
Этот патент относится к области утилизации промышленных отходов и реагентов. Он может быть использован в качестве защиты окружающей среды.

Способ, рассмотренный в этом патенте результативен, так как полученное соединение при детоксификации вредного соединения является стабильным и наиболее безопасным.

1.5.1. Химические и физические свойства мышьякосодержащих бетаинов

Физико-химические свойства и строение арсенобетаинов были изучены в работах Дж. С. Эдмондса и К. А. Францескони [45]. Также в их работах был разработан встречный синтез бетаина, который приведен на схеме 21. Получение арсенобетаина было осуществлено в несколько стадий:

Схема 21



Арсенобетаин представляет собой кристаллическое бесцветное вещество, плавящиеся при 200-210 °С.

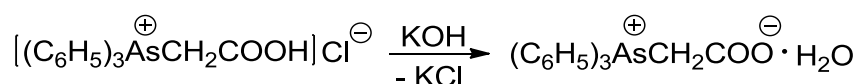
Метилированный арсенобетаин хорошо изученное соединение, в плане его структуры, метаболизма и его токсичности. Но экспериментальных данных по синтезу данных бетаинов еще не так много.

Впервые, немецким ученым – Михаэлисом, был синтезирован арсенобетаин $\text{Ph}_3\text{As}^{\oplus}\text{CH}_2\text{COO}^{\ominus}$, обработкой галоидоводородной соли спиртовым раствором едкого кали. Однако при этом арсенобетаину была приписана структура, в которой атом мышьяка являлся пентакоординированным [46]. В 1902 году Михаэлис синтезировал

трифенилметиларсенокетобетаин и тетрафениларсенокетобетаин обработкой кетосолей водным раствором бикарбоната натрия. Но попытки повторить данный синтез не привели к успеху.

Но в последующем в 1967 году была установлена истинная структура арсенобетаина, при помощи рентгеноструктурного анализа [47]. Полученный бетаин оказался стабильным соединением и хорошо растворялся в спирте и воде, но не растворялся в диэтиловом эфире.

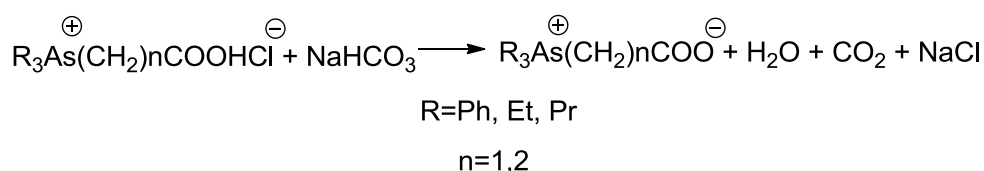
Схема 22



Казанскими учеными – химиками под руководством В. С. Гамаюровой был проведен цикл работ, в которых проводился синтез, и рассматривалась структура полученных соединений, также были рассмотрены физические и химические свойства арсенобетаинов [48, 49, 50].

Таким образом, были разработаны методы синтеза арсенобетаинов и галоидоводородных солей, изучены физические и химические свойства. Так, например, в работе Шулаева были получены арсониевые соединения (галоидоводородные арсенобетаины) взаимодействием третичных арсинов с галогенкарбоновыми кислотами и эфирами [49]. Также в данной работе использован анионообменный метод синтеза триметиларсенобетаинов из биологических объектов. Этот метод основан на пропускании водных растворов галоидных солей арсенобетаинов через колонку с сильноосновной, ионообменной смолой.

Схема 23



Согласно данным полученными авторами данной статьи бетаины, содержащие мышьяк в своей структуре, являются более стабильными, если

относительно мышьяка карбоксильная группа находится в α -положение [49]. Стабилизация происходит за счет сольватных молекул воды.

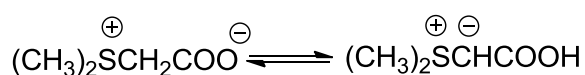
В общем случае арсенобетаины хорошо растворимы в воде и спирте, однако в ацетоне растворимость снижается до минимальных значений, а в случае полярных растворителей - не растворимы, например, таких как бензол, эфир и гексан.

1.6. Серосодержащие бетаины

К сожалению, изучение серосодержащих бетаинов в настоящее время не так развито, как например азотсодержащих. Но есть несколько работ основанных на изучении серосодержащих бетаинов, которые являются основополагающими. Так, например, в работе Зидлера и Витмана [51] рассматриваются такие структуры. Серосодержащие бетаины при реакции с фенилизотиоцианатом протекают без отщепления углекислого газа, в отличие от азотсодержащих бетаинов.

Тетин, является одним из серосодержащих бетаинов, он более реакционноспособен, чем азотсодержащие бетаины. Наличие высокого резонансного взаимодействия илидного карбаниона с ионом сульфония обуславливает его реакционную способность. В результате таких взаимодействий равновесие будет смещаться в сторону илидного устойчивого соединения:

Схема 24



Тетин не вступает в реакции этерификации и гидролиза, поэтому авторы статьи [52] сделали вывод о том, что смещение равновесия в сторону устойчивого илидного соединения подтверждается. Также следует отметить реакции тетина с трихлоруксусным и монохлоруксусным ангидридом, в результате реакции получают стабильные диацидилиды [53].

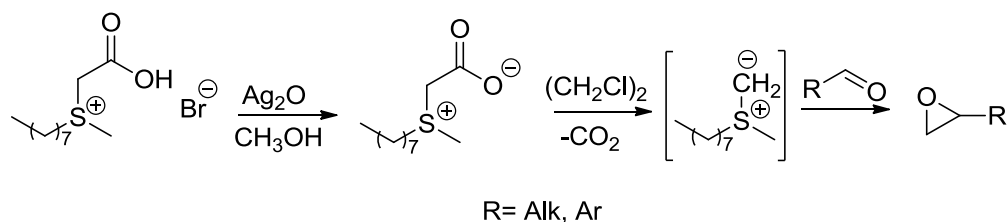
В 2009 году, была опубликована статья американских химиков, в которой описан способ получения илидов, содержащих серу [54].

При этом осуществлялось термическое декарбоксилирование карбоксиметилсульфониевых бетаинов в апротонных условиях. В данной работе образование илидов путем декарбоксилирования имеет ряд преимуществ перед более традиционными методами. Во-первых, этот процесс не требует использования сильных и часто пирофорных оснований, таких как бутиллитий или гидрид натрия. Во-вторых, этот метод не требует дорогостоящих металлических катализаторов. В-третьих, этот подход совместим с экологически безопасными системами растворителей. И, наконец, в-четвертых, благодаря тонкой настройке электроники бетаина может быть «набран» диапазон активности и времени жизни агента переноса метилидена.

Полученные при термическом декарбоксилировании илиды при взаимодействии с альдегидами образуют эпоксиды.

Одной из целей работы американских ученых была в том, чтобы решить вопрос о том, можно ли использовать альтернативные реагенты и системы растворителей без значительного снижения уровня конверсии при сохранении высоких уровней стереоселективности. Ключевой бетаиновый реагент получается по методу Раттса и Яо [55] из тетин бромида:

Схема 25

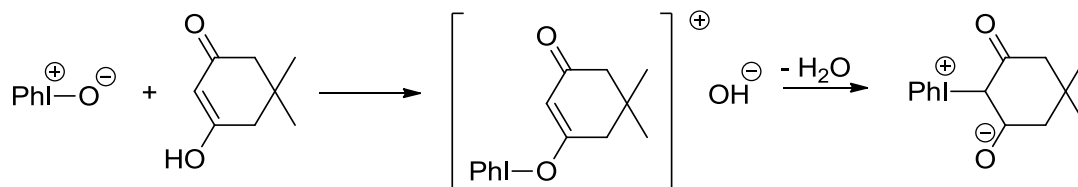


1.7. Йодониевые бетаины

Впервые йодсодержащие бетаины были открыты в 1957 году латвийским химиком Ванагом [56]. Взаимодействием 5,5-диметилциклогексана-1,3 с йодобензолом в щелочной среде. При реакции

йодозосоединений с нуклеофильным компонентом продуктами реакции являются арильодониевые бетаины [56]. В данной работе Ванаг и соавторы получили новое соединение, которое было названо фенилдимедонилйодоном. Ему была приписана структура внутренней соли:

Схема 26



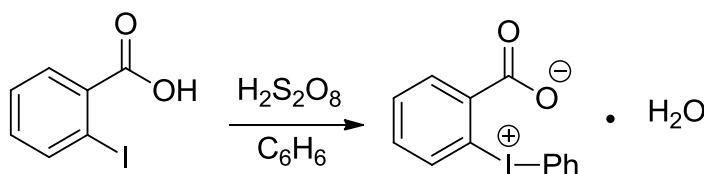
Изолированные фенильодониевые бетаины малоустойчивы и быстро разлагаются при хранении или их перекристаллизации. Точка разложения зависит от скорости их нагревания.

Йодониевые бетаины малоустойчивы, но очень реакционноспособны, что возможно в дальнейшем поспособствует превращениям и синтезам. Также в данной работе Ванагом были исследованы структуры фенильодониевых енолятбетаинов, при помощи ИК-спектров поглощения было выявлено, что в полученных результатах не выявлены валентные колебания нормальных карбонильных групп.

Наблюдаются пониженные частоты, что является свидетельством образования систем с нецелочисленными связями (сопряженные енолятанионы). Также структура подтверждается малой устойчивостью по отношению к кислотам, добавление кислоты ускоряет разложение соединений.

Физером и соавторами [57] был получен арильодониевый бетаин, дифенилиодоний-2-карбоксилат моногидрат из о-йодбензойной кислоты:

Схема 27

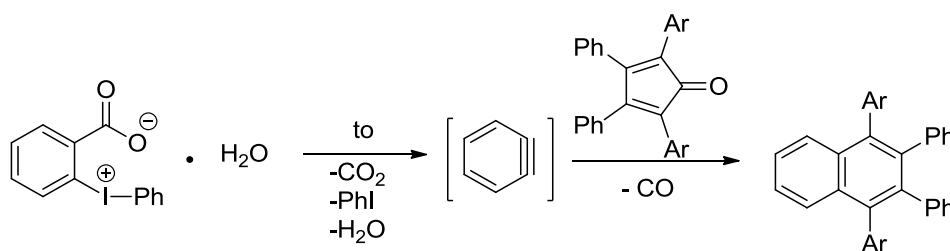


Не так давно возобновились исследования в области изучения йодониевых бетаинов. Ученые выяснили, что бетаины содержащие йод вступают в реакции внедрения и циклоприсоединения.

В присутствии родиевых или медных катализаторов, соединения с тройной и двойной связью вступают в такие реакции. Реакция внедрения и образование циклопропанов осуществляется при взаимодействии с алкенами. Но по итогу в данной реакции также возможно получить и нециклический продукт.

Так, например, в работе Берингера [58] бетаин, использовался в синтезе замещенного нафталина (1,4-бис (метоксифенил)-2,3-дифенилнафталин) по схеме:

Схема 28



Из этого следует, что арилийодозосоединения с нуклеофильными частицами и в щелочной среде с легкостью образуют йодониевые бетаины.

Продукты реакции неустойчивы, но зато реакционноспособны. Вероятнее всего они используются дальше, так как такие структуры способны предоставить сильно нуклеофильный центр, а после замещения превращаться в бетаин.

1.8. Фосфорорганические бетаины

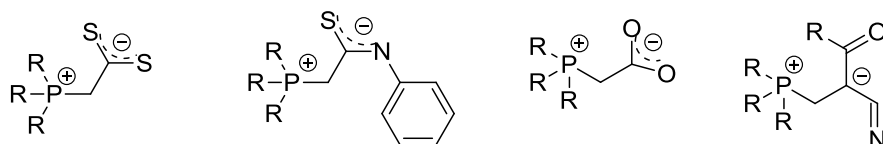
Большой интерес представляет собой получение фосфорорганических бетаинов. Однако на сегодняшний день, в литературе очень мало сведений о выделении и методах синтеза таких бетаинов.

До сих пор производные фосфобетаиновых структур в природе не найдены. Интерес к данным структурам обусловлен тем, что

фосфорорганические бетаины образуются в роли интермедиатов важнейших фосфорорганических реакций. Например, таких как реакция Виттига.

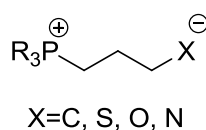
В настоящее время существуют также и относительно стабильные соединения. Фосфорорганические бетаины являются интермедиатами во многих химических реакциях. Но, существуют и стабильные формы таких бетаиновых структур, они представлены на схеме 29.

Схема 29



Так же интерес обусловлен тем, что фосфоробетаины представляют собой внутренние фосфониевые соли [59]. В них катионный и анионный центр соединены системой ковалентных связей:

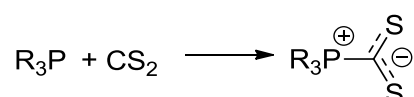
Схема 30



Фосфоробетаины являются аналогами органических аминокислот, при этом они обладают широким спектром химических и биологических свойств. По причине этого интерес к ним возрастает.

Гофманом и Михаэлисом, в 1885 году, были открыты первые стабильные фосфоробетаины [60, 61]. Реакцией триалкил- и триарилфосфинов с сероуглеродом:

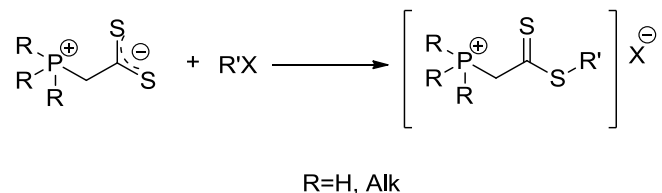
Схема 31



Такие реакции протекают хорошо в среде бензола или других органических растворителей, в результате чего получают окрашенные в красный соединения.

В работах Йенсена [62] было исследовано, что при обработке бетаиновых структур аддуктов фосфинов галоидоводородными кислотами или галоидными алкилами, получают соли четвертичного фосфония:

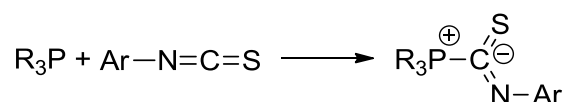
Схема 32



В 1961 году Маргулис [63] с помощью рентгеноструктурного анализа аддукта триэтилфосфина с сероуглеродом показал, что валентные углы фосфора соответствуют тетраэдрическому строению, а атом углерода является sp^2 -гибридизованным. В итоге Маргулис доказал строение соединения, которое предполагал Йенсен в своих работах.

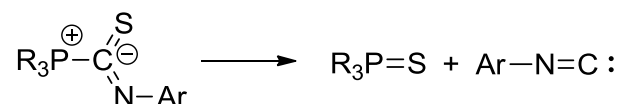
Подобно сероуглероду также с третичными фосфинами реагируют изотиоцианаты [64, 65]:

Схема 33



Но полученные в результате данной реакции фосфорорганические бетаины разлагаются при нагревании с образованием третичных фосфинов и изонитрилов:

Схема 34



В том случае, если используются изоцианаты, у которых кислород не способен делокализовывать отрицательный заряд, в отличие от серы, такие реакции проводят при наличии акцепторов у атома азота. Такие сильные акцепторы стабилизируют, полученную бетаиновую структуру [66].

В общем случае на сегодняшний день изучение фосфорсодержащих бетаинов является перспективным направлением, но еще мало изученным.

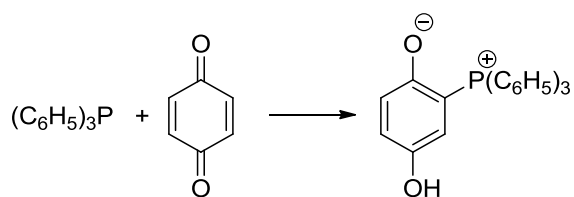
Возрастающий интерес объясняется тем, что данные соединения имеют разнообразную реакционную способность и необычные химические свойства.

1.8.1. Карбоксилатные фосфобетаины

Изучение данного подкласса фосфорорганических бетаинов началось не так давно. Первые попытки изучения таких структур появились еще в 1961 году [67]. Акнес пытался получить карбоксилатные фосфорорганические бетаины на основе фосфониевых солей, полученные при нагревании трифенилфосфина с галоидными производными карбоновых кислот и спиртов. Однако при дальнейшей обработке данных солей щелочью это не привело к образованию предполагаемых бетаинов.

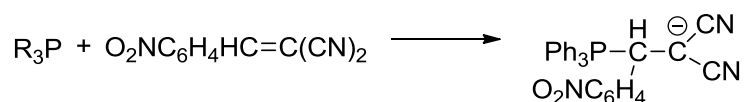
В 1962 году изучение фосфобетаинов дало результаты, которые считаются основополагающими. Так американские ученые опубликовали статью, в которой они получили карбоксилатные фосфорсодержащие бетаины, реакцией ω -хлорзамещенных карбоновых кислот с трифенилфосфином [68]. В статье 1956 года Хорнером и соавторами [69] было установлено, что продуктам реакций между третичными фосфинами и хиноном, приписывается также бетаиновая структура:

Схема 35



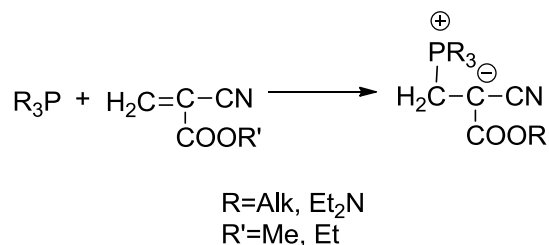
Стоит отметить получение фосфобетаинов, реакцией фосфина с нитробензальмалодинитрилом и 1,2-дibenзоилэтиленом [70]. В таких случаях электроноакцепторные группы стабилизируют карбанионный центр:

Схема 36



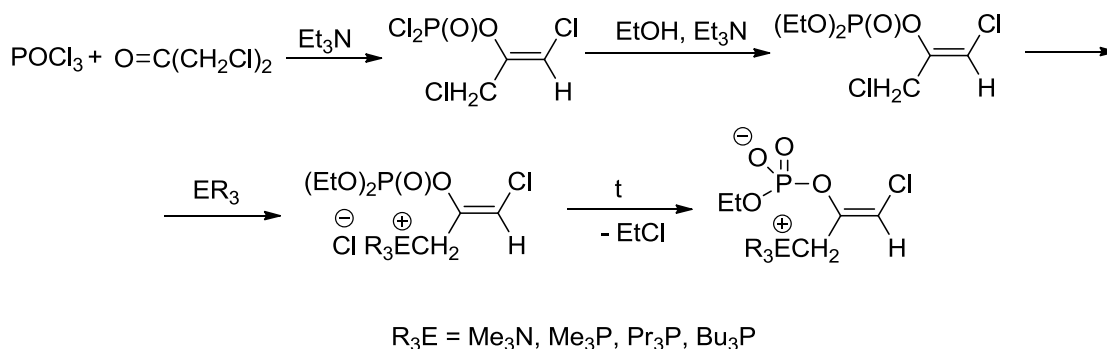
Также очень важны в исследовании фосфорорганических бетаинов работы Ю. Г. Гололобова [71, 72, 73]. В его работах был разработан метод получения фосфоробетаинов, стабильной структуры, взаимодействием триалкил- и триаминофосфинов с этилцианакрилатом:

Схема 37



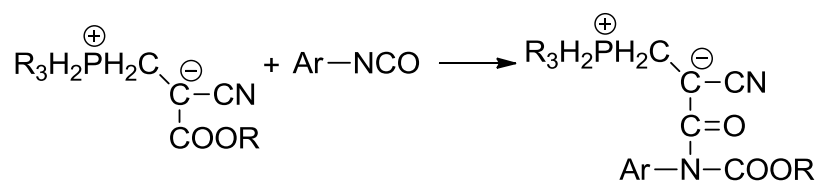
Гололобовым и соавторами [71] были получены бетаиновые структуры, которые содержали в своей структуре атомы фосфора в анионном и катионном центре молекулы:

Схема 38



Исследования Гололобова и соавторов позволило открыть новую реакцию бетаиновых соединений с арилизоцианатом. Данное взаимодействие приводит к разрыву C-C связи за счет внедрения арилизоцианатов в анионную часть цвитер-иона:

Схема 39



Первые масштабные работы по изучению карбоксилатных фосфоробетаинов были проведены в 1962 году Денни и Смитом [74]. Данная

работа была основана на синтезе ω- хлорзамещенных карбоновых кислот с трифенилфосфином.

Реакцией хлорпропионовой и хлормасляной кислоты можно получить бетаины, которые по агрегатному состоянию являются кристаллическими веществами [74]. Все данные подтверждены с помощью ИК и ЯМР спектроскопии. Изучив данную статью, можно сделать вывод о том, что фосфоробетаины, у которых карбоксилатный и фосфониевый центр, располагаются в α-положении являются нестабильными и предрасположены к декарбоксилированию, при котором образуется более выгодный продукт с β-расположением этих же центров.

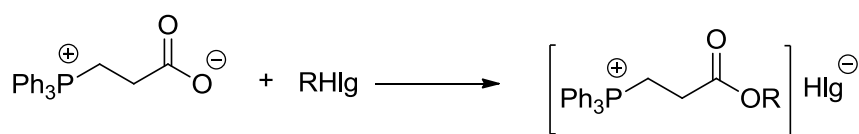
Такие выводы из данной статьи можно сделать, так как попытки получения трифенилфосфонийметилкарбоксилата не увенчались успехом. Но в тоже время, если рассматривать арсобетаины, то в этом случае наиболее устойчивыми будут α- арсонийкарбоксилаты.

Особенностью карбоксилатных фосфоробетаинов является образование прочных комплексов с протонодонорными реагентами.

По изученной литературе о свойствах и методах синтеза фосфоробетаинов можно сделать вывод о том, что их стабильность сильно зависит от исходных фосфинов и непредельных карбоновых кислот.

Промежуточным продуктом реакции получения олефеинов по методу Виттига является бетаин. Данное соединение является нестабильным и в результате разложения получается олефеин и фосфиноксид.

Фосфоробетаины, содержащие карбоксилатный центр вступают в реакции ацилирования и алкилирования галоидными алкилами и ацилами с образованием фосфониевых солей [75, 76]:

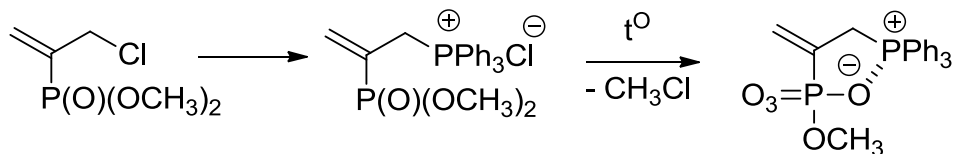


R = Me, Et, Pr, i-Pr, Bu, i-Bu, CH₂Br
Hlg = Cl, Br, I

Схема 40

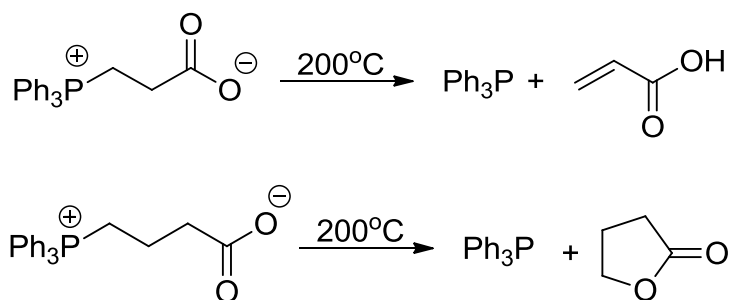
Также в литературе отмечена реакция 3-хлорпропен-2-фосфоната и трифенилфосфина с образованием фосфониевой соли [77], которая при дальнейшем ее нагревании разлагается на бетаин:

Схема 41



Пиролиз бетаинов примерно при 200°C приводит к разрыву связи P-C, при этом разрыве образуется трифенилфосфин и акриловая кислота или же бутиролактон [77]:

Схема 42

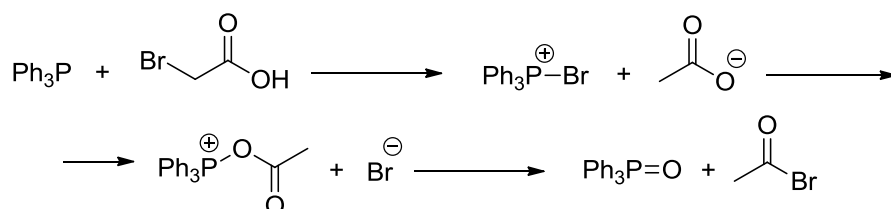


Хлоруксусная кислота при реакции с трифенилфосфином образует соль карбоксилфосфония.

Однако бромуксусная кислота в противоположность, при этой же реакции не образует данные соли [77].

В результате взаимодействия продуктами реакции с бромуксусной кислотой являются ацетилбромид и трифенилфосфиноксид:

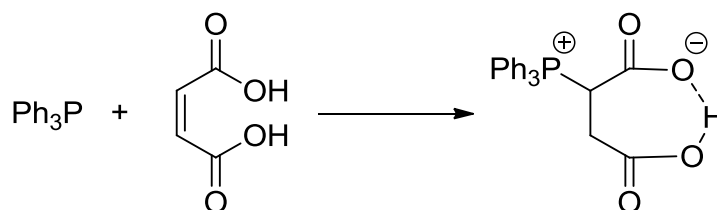
Схема 43



Аддукт, не подвергающийся растворению в растворителях органического типа, образуется при взаимодействии малеиновой кислоты и трифенилфосфина в среде диэтилового эфира и мягких условиях [77].

Согласно данным ИК-спектроскопии, полученными Галкиной и соавторами, этот продукт является дикарбоксилатным фосфоробетаином:

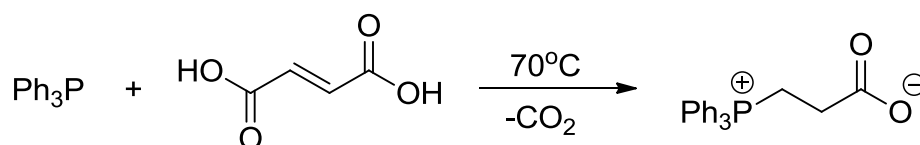
Схема 44



Этот продукт является нестабильным, и при хранении образуется соль фосфония.

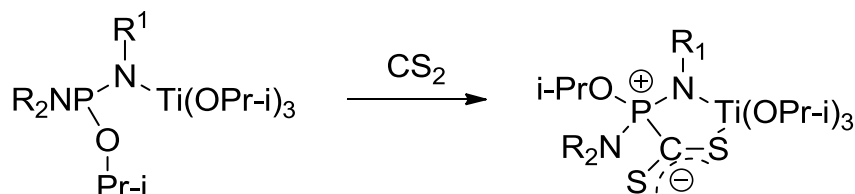
Реакция трифенилфосфина с фумаровой кислотой, также изучалась И. В. Галкиной и Ю. В. Бахтияровой, в данном исследовании они выяснили, что реакция протекает только при высоких температурах, из-за чего им не удалось выделить и зафиксировать интермедиат [77]. В результате получен бетаин, который был стабилизирован за счет молекулы ацетонитрила:

Схема 45



Украинскими учеными [78] был получен необычный по своей структуре бетаин. Его синтезировали на основе 1,3,2,4-оксаазафосфатитанетидинов с сероуглеродом:

Схема 46

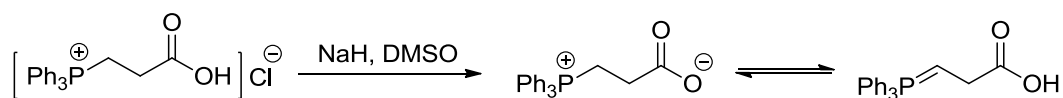


Следует также отметить статью американских ученых из университета штата Оклахома, Нараянана и Даррела [79].

В данной статье описывается метод получения солей трифенилфосфония из ω-галогеналкилкарбоновых кислот и

трифенилфосфина, обработкой гидридом натрия в среде диметилсульфоксида:

Схема 47



В данной статье, авторы не подтверждают свои предположения с помощью каких-либо методов, они только делают предположения об образовании таких соединений. Поэтому структура продуктов и промежуточных соединений может подвергаться сомнениям. В доказательство того что возможна ошибка можно привести статью Кори [80], так проведя ту же реакцию, что и Нараянан и Даррел, он приписал продукту форму илида.

Данный вывод был сделан из того, что продукт легко вступал в реакцию Виттига, в результате чего продуктами этой реакции являлся алкен. Поэтому авторы из Казанского государственного университета химического института имени А. М. Бутлерова, сделали вывод, что предположение о существовании прототропного равновесия между бетаиновой структурой и илидной формой возможно в случае вклада ионизирующей способности диметилсульфоксида [81].

Можно заключить, что фосфоробетаины являются очень интересным классом соединений. Они обладают разнообразной реакционной способностью, что открывает перед исследователями перспективы для дальнейшего изучения данного класса.

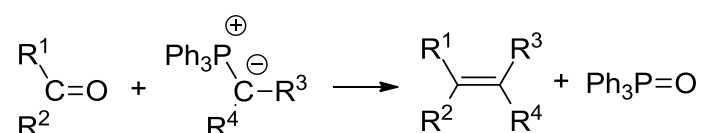
Также карбоксилатные фосфоробетаины являются своеобразными аналогами природных аминокислот с большим спектром потенциальных биологических и химических свойств. Этим объясняется возрастающий интерес к фосфорорганическим соединениям и их свойствам, которые в свою очередь изучены в незначительной степени.

1.8.2. Фосфоробетаины как промежуточные соединения в реакции Виттига

Область применения реакции Виттига определяется химическими особенностями илида и карбонильного соединения. Так главным фактором является реакционная способность этих соединений и их стабильность по отдельности. Также очень важна специфика способа осуществления реакции.

Реакция Виттига заключается в конденсации илидов фосфора с кетонами или альдегидами с последующим элиминированием окиси фосфина с образованием олефина:

Схема 48



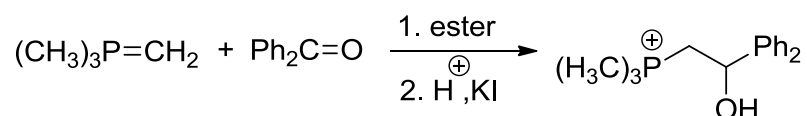
В органической синтетической химии реакция Виттига играет большую роль, также изучение в дальнейшем этой реакции привело к пристальному вниманию к химии илидов как отдельной области. В 1919 году Мейером и Штауденгером было выдвинуто первое сообщение о реакции карбонильных соединений с илидом фосфора, в данной статье они рассматривали конденсацию фенилизоната и бензгидрилдентрифенилфосфорана, при этом продуктами реакции является трифеникетимин и окись трифенилфосфина [82]. А в 1922 году Лушер [83] отметил, что при нагревании того же илида с дифенилкетеном получается окись трифенилфосфина и тетрафенилаллен.

В 1949 году Виттигом и Рибером [84] были предприняты попытки получения пентаметилфосфора. Так в своей работе они обработали йодистый тетраметилфосфоний метиллитием.

Однако желаемый результат не был достигнут, так как вместо пентаметилфосфора был получен метилентрифенилфосфоран. Далее при взаимодействии этого продукта с бензофеноном образовался бетаин, который

удалось выделить при помощи обработки его кислотой и иодидом калия в виде йодистого (2-окси-2,2-дифенил) этилтриметилфосфония:

Схема 49



Преимуществом реакции Виттига является в том, что она позволяет ввести олефиновую группу и одновременно с этим увеличить углеводородную цепь. Также более важной особенностью этой реакции является определенность положения двойной связи.

Обычно по реакции Виттига илид получают путем воздействия основания на фосфониевую соль в среде эфира, а в дальнейшем прибавляют карбонильное соединение при нагревании смеси в течение нескольких часов [85].

При использовании нестабильных илидов, которые являются реакционноспособными, условия этой реакции могут быть более мягкими. Так Хаузер и соавторы [86] предоставили данные о том, что бензилидентрифенилфосфоран и бензальдегид реагируют уже при 10°C за 5 минут, при этом образуется стильбен с выходом 79%. В случае же стабильных илидов используются более жесткие условия, так как нереакционноспособные илиды обладают пониженной нуклеофильностью. Так, например Сугасава и Мацуо [87] провели реакцию этоксикарбонилметилентрифенилфосфорана с циклогексаноном при комнатной температуре в течение длительного времени, при этом образуется продукт с выходом 44%, однако при нагревании до 100°C за короткий промежуток времени получают тот же продукт, но уже с выходом 60%.

Важным условием при проведении реакции Виттига также является выбор растворителя. Этот выбор зависит от характера илида. Так, например растворители с различной полярностью используются в реакции Виттига. Нереакционноспособные илиды, которые используют в реакции Виттига,

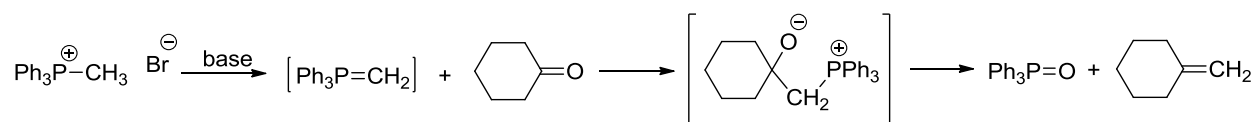
выделяются отдельно и возможно ввести их в реакцию с карбонильными соединениями без посторонних ионов, после предварительной очистки [88].

Появляющиеся анионы и катионы, при образовании нестабильного ильида из его соли, влияют на реакцию Виттига.

Шолкопф совместно с Виттигом провели реакцию циклогексанона с метилентрифенилфосфораном, при этом полученный метиленициклогексан образовывался с выходом 48%. В этой работе метилтрифенилфосфоран получали из хлористого метилтрифенилфосфония при его обработке фениллитием.

Шлоссер и Кристман [89] использовали в качестве основания трет-бутилат калия вместо фениллития, благодаря этому выход олефина возрос до 91%. Также данные авторы в своей работе предположили, что катион лития образует комплекс с бетаином, вследствие чего препятствует разложению этого бетаина на продукты реакции. При этом ион калия уже не образует такого прочного комплекса. Данная реакция представлена на схеме 50.

Схема 50



Хорнер и Хоффман [90] предоставили данные относительно реакции карбонильных соединений с карбанионами, которые получены из окисей замещенных фосфинов. При проведении данной реакции в присутствии ионов лития возможно выделить промежуточный продукт – бетаин. Если же проводить реакцию в присутствии ионов калия, выделение интермедиата не удастся. Используя в качестве основания метилсульфинильный карбанион, выход метилентрифенилфосфорана составил 86% [91].

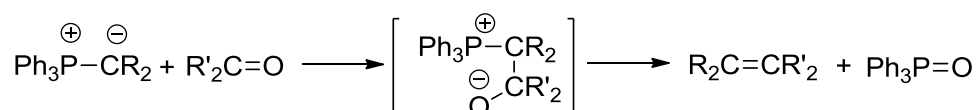
Несколько ученых выявили, что анион галогена, который очень часто присутствует в реакционной среде, влияет на реакцию Виттига. Хаузер и Брукс [86] обнаружили, что при реакции бензилидентрифенилфосфорана с некоторыми карбонильными соединениями, реакция идет быстрее в случае,

когда фосфоран синтезируют из хлористой фосфониевой соли, а не бромистой.

Они предположили, что данное явление происходит из-за того, что анион брома образует комплекс с фосфониевой группой бетаина. При этом затрудняется дальнейший распад бетаина на продукты реакции.

Не все илиды вступают в реакцию Виттига, обычно этому приписывается их неустойчивость в свободном виде или малой реакционной способностью. Пониженная нуклеофильность влияет на первую стадию реакции Виттига. Эта атака карбаниона на карбонильный атом углерода приводит к промежуточному продукту, который называют бетаином:

Схема 51



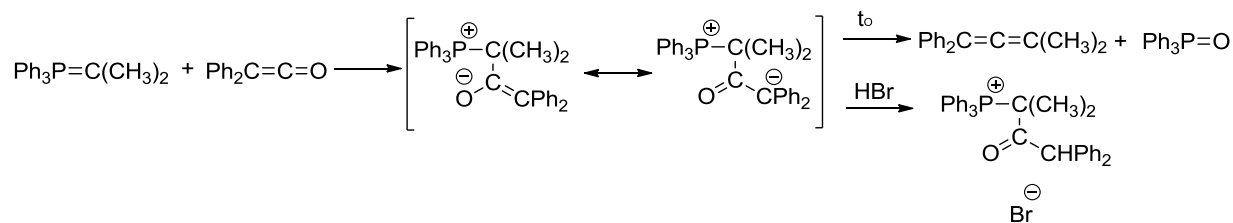
Понижение нуклеофильности чаще всего связано с сильной делокализацией отрицательного заряда илидного атома углерода его заместителями. На вторую стадию реакции Виттига влияет природа заместителей у атома фосфора. В этой стадии происходит разложение бетаина на олефин и окись фосфина.

Виттиг и соавторы в своей работе [92] выявили, что при использовании метиленфосфоранов электронодонорные группы у атома фосфора замедляют стадию, при этом основным продуктом реакции является бетаин. В этом случае его можно выделить в свободном виде.

Выделение бетаина в чистом виде по реакции Виттига удастся только в том случае, если вторая стадия является медленной.

В 1963 году появилось сообщение о необычном протекании реакции Виттига, обусловленного строением карбонильного фрагмента [93].

Виттиг и Хааг установили, что при мягких условиях реакция изопропилидентрифенилфосфорана с дифенилкетеном заканчивается на стадии образования бетаина:

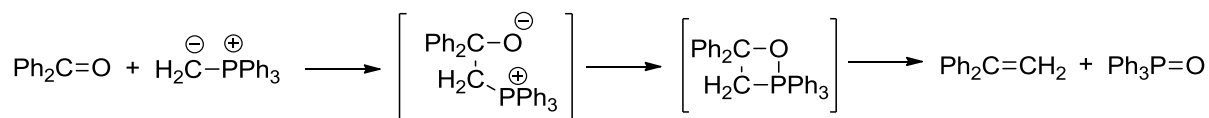


Устойчивость бетаина в таком взаимодействии, скорее всего, обусловлена енольным строением.

При взаимодействии нестабильных илидов с карбонильными соединениями вторая стадия, разложение бетаина до продуктов реакции, является самой медленной. В таких случаях кетоны более реакционноспособны по сравнению с альдегидами.

1.8.3. Значение бетаина в механизме реакции Виттига

Виттиг и Гейслер [94] провели реакцию илида фосфора с карбонильным соединением, на примере метилентрифенилфосфорана и бензофенона. В своей статье они предположили, что образование бетаина и четырехчленного промежуточного соединения происходит постадийно. Постадийным образованием они объяснили получение 1,1-дифенилэтилена и окиси трифенилфосфина:



Согласно некоторым данным реакция Виттига между метилентриметилфосфораном и бензофеноном не идет, при этом после обработки смеси минеральной кислотой образуется оксифосфониевая соль. Вероятнее всего данная соль получается за счет протонирования промежуточного продукта (бетаина).

Механизм, предложенный Виттигом, используется большинством исследователей, которые работают в данной области науки.

Биссинг [95] на основании своих исследований предположили, что взаимодействие стабильных илидов и карбонильных соединений проходит в две стадии.

Первая стадия – медленная и обратимая, в результате нее образуются бетаины, вторая стадия – разложение бетаина на продукты реакции (олефин и окись фосфина).

Джонсон [88] также предположил, что первая стадия реакции Виттига является медленной, на данной стадии образуется бетаин. Такое предположение он сделал благодаря своим работам, в которых показал, что реакция между флуоренилидентрифенилфосфораном и кетонами не идет, но реагирует с бензальдегидом и его производными, при этом образуются производные бензальфлуорена. Такой характер влияния заместителей ожидается в случаях нуклеофильной атаки на углеродный атом карбонильной группы. Вследствие этого, строение карбонильного соединения при стабильном илиде влияет на скорость первой стадии реакции (образование бетаиновой структуры), а в случае стабильных – сказывается на скорости последней стадии (разложение бетаина).

Некоторые илиды реагируют со всеми кетонами и альдегидами, тогда как другие взаимодействуют либо с альдегидами, либо с кетонами, либо не реагируют вовсе. Чаще всего это зависит от нуклеофильности самого илида. Рибер и Виттиг [84] отметили, что при реакции между метилентриметилфосфораном и бензофеноном олефин не образуется. Но при дальнейшей обработки реакционной смеси минеральной кислотой и йодидом калия выделяется сопряженная кислота бетаина.

Отсутствие дальнейшего разложения бетаина на продукты реакции Рибер и Виттиг объяснили высокой электронной плотностью на атоме фосфора, в данном случае фосфор не может принять анион кислорода. Три метильные группы у атома фосфора обладают индукционным эффектом, в результате чего увеличивается электронная плотность. Далее Виттиг и Шлоссер показали, что метиленфосфораны, у атома фосфора которых

находятся другие электронодонорные группы, например, такие как морфолинильная и пиперидильная, вступают в первую стадию реакции, при этом образуя бетаин, разложение его очень затруднено.

Электронодонорные группы, находящиеся у атома фосфора, благоприятствуют образованию бетаина. Такие группы увеличивают электронную плотность на атоме фосфора, вследствие чего происходит затруднение нуклеофильной атаки фосфора анионом кислорода в бетаине.

Природа заместителей у атома фосфора имеет влияние на нуклеофильность самого иллада. Благодаря своим электронодонорным свойствам алкильные группы увеличивают нуклеофильность илладов фосфора, что проявляется в увеличении их основности. Изменение характера заместителей у атома фосфора чаще всего влияет на стадию образования бетаиновой структуры [95].

Изменение в строение в случае стабильных илладов отражаются на величине константы скорости образования бетаина, зависящей от нуклеофильности иллада и электрофильности карбонильной группы.

В случае же нестабильных илладов изменение их строения сказывается уже на константе скорости разложения бетаиновой структуры, которая в свою очередь зависит от устойчивости получаемого олефина и легкости передачи атому фосфора отрицательно заряженного кислорода.

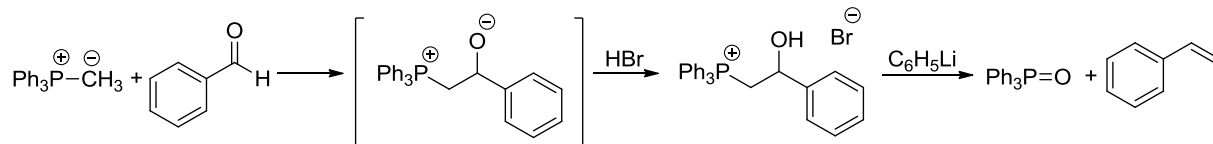
1.8.4. Образование бетаина в реакции Виттига

Впервые Виттиг выдвинул предположение об образовании бетаина как промежуточного вещества в одноименной реакции в 1949 году. Он выделил и идентифицировал бетаин, полученный при взаимодействии метилентрифенилфосфорана и бензальдегида. Полученный бетаин был выделен в виде его гидробромида.

Завершение реакции Виттига удалось осуществить при обработке бетаина фениллитием при нагревании, при этом выделились продукты реакции – стирол и окись трифенилфосфина.

При дальнейших исследованиях, Виттиг использовал другие метиленфосфораны [92], которые содержат у атома фосфора электронодонорные заместители, соответствующие бетаины они описали в виде их сопряженных кислот:

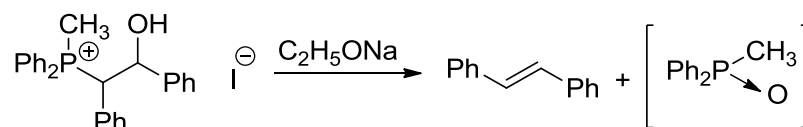
Схема 54



Также Виттиг и Хааг [96] подтвердили свое предположение, об образовании такой бетаиновой структуры, тем, что при нагревании реакционной смеси трифенилфосфина и окиси стирола до 166°C получили стирол и окись трифенилфосфина. Выход реакции составил соответственно 50 и 86%. Они объяснили это тем, что окись стирола претерпевает атаку фосфина по первичному атому углерода, при этом получая бетаиновую структуру.

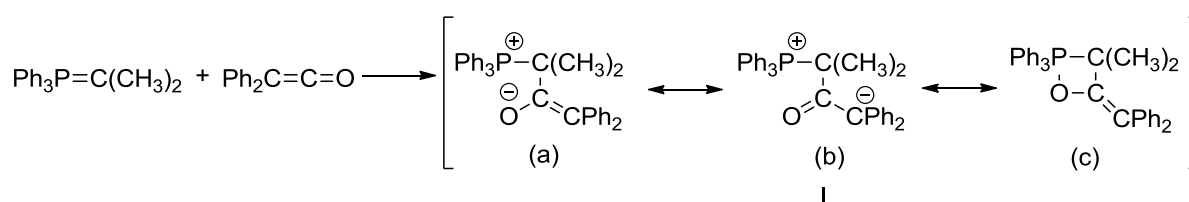
В дальнейшем Трипет [97] в 1964 году показал, что оксифосфониевая соль, полученная при обработке ее спиртовым раствором этилата натрия дает смесь двух стереоизомеров стилибена, скорее всего с промежуточным образованием бетаина:

Схема 55



В своей статье [93] Виттиг и Хааг охарактеризовали и получили бетаин (I), представленный на схеме 56, взаимодействием изопропилидентрифенилфосфорана с дифенилкетеном:

Схема 56



Полученный бетаин плавится при 140°C и в бензольном растворе существует в виде мономера. Алкилирование бетаина происходит по углеродному атому метилиодидом, а в случае взаимодействия с бромоводородом образуется сопряженная кислота, так как он является енолят-ионом.

При нагревании до 140°C бетаин начинает разлагаться, при этом образуется окись трифенилфосфина и 1,1-диметил-3,3-дифенилпропадиен-1,2.

Данная работа Виттига помогла получить первые данные о строении бетаинов и решить главный вопрос о том, имеют они открытую (I(a) и I(b)) или циклическую (I(c)) структуру.

При выделении бетаинов использовались нестабильные илиды, чаще всего применяют метилентрифенилфосфоран или его C-алкильные производные. При взаимодействии стабильных илидов и карбонильных соединений выделить бетаин не удалось [88]. В случае стабильных илидов разложение бетаина идет намного быстрее, чем его образование, из этого следует, что в растворе нет бетаиновых структур. В случае же нестабильных илидов скорость разложения бетаинов меньше скорости его образования, в связи с этим в реакционной смеси присутствует небольшое количество бетаина, которое впоследствии можно выделить.

Скорость образования бетаина предположительно зависит от нуклеофильности илида и электрофильности карбонильного соединения.

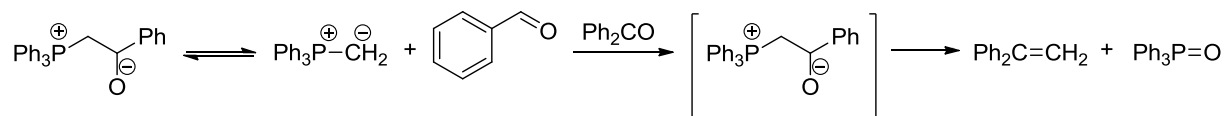
Вопрос об обратимости стадии образования бетаиновой структуры важен для полноценного описания механизма реакции Виттига и ее стереохимии.

Виттиг и соавторы [92] показали, что при нагревании бетаина с бензофеноном образуются следы дифенилэтилена, а в реакционной смеси полностью выделяется бензофенон.

В случае если бы эта реакция была обратимой (бетаин превращался в карбонильное соединение и илид), то илид реагировал с бензофеноном,

образуя при этом новую бетаиновую структуру, которая в дальнейшем распадается на олефин и окись фосфина быстрее, чем исходный бетаин:

Схема 57

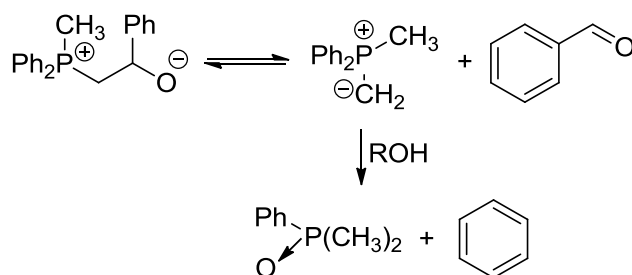


Исходя из этого, Виттиг сделал вывод о том, что стадия образования бетаина необратима.

Однако в 1963 году Флисзар и сотрудники [98] показали, что стадия образования этого же бетаина обратима. Свое предположение они доказали при помощи метода инфракрасной спектроскопии, определив концентрацию бензальдегида в смеси.

Трипет [97] в своей работе описал образование бетаина при обработке йодистого (2-фенил-2-окси) этилдиметилфосфония этилатом натрия в этаноле или едким натром в воде:

Схема 58



В этих случаях удалось выделить только окись диметилфенилфосфина и бензальдегид, что, скорее всего, указывает на превращение бетаиновой структуры обратно в альдегид и илид, с последующим гидролизом. Таким образом, стадия образования бетаиновых структур из стабильных илидов и карбонильных соединений является обратимой. Скорее всего, тоже самое имеет место и в случае нестабильных илидов.

1.8.5. Разложение бетаина в реакции Виттига

За счет атаки кислорода на атом фосфора происходит разложение бетаина на олефин и окись фосфина. Осуществляемое при этом переходное

состояние имеет олефеиновый характер. Вероятнее всего, движущей силой разложения бетаина является образование окиси фосфина, которое представляет собой устойчивое соединение.

Следует сказать, что существует как минимум два электронных фактора, которые оказывают влияние на превращение бетаина в окись фосфина и олефина [99]. В первую очередь это стабилизация в переходном состоянии, зарождающейся двойной связи, А во-вторых – скорость, с которой отрицательно заряженный кислород атакует атом фосфора.

Так как бетаины, возможно, выделить в свободном виде, то целесообразным является синтез и исследование кинетики разложения таких соединений.

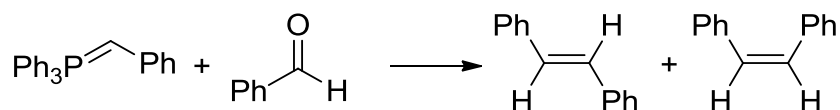
Алкильные группы обладают электронодонорными свойствами и вследствие этого предположили, что они препятствуют разложению бетаина. А, например, фенильные группы, обладающие электроноакцепторными свойствами напротив, способствуют разложению бетаина, при этом увеличивается чувствительность атома фосфора к нуклеофильной атаке.

Следует заметить, что факторы, которые благоприятствуют образованию бетаина, а именно нуклеофильный илид и электрофильное карбонильное соединение, очень часто затрудняют разложение бетаиновой структуры.

1.8.6. Стереохимия реакции Виттига

При реакции Виттига между илидами фосфора и карбонильным соединением (альдегид, кетон) получают цис- или транс-олефины. Впервые это наблюдалось в реакции бензилидентрифенилфосфорана с бензальдегидом, в результате получили смесь стильбенов с выходом 82% , состоящую из 70% транс-изомера и 30% цис-изомера:

Схема 59



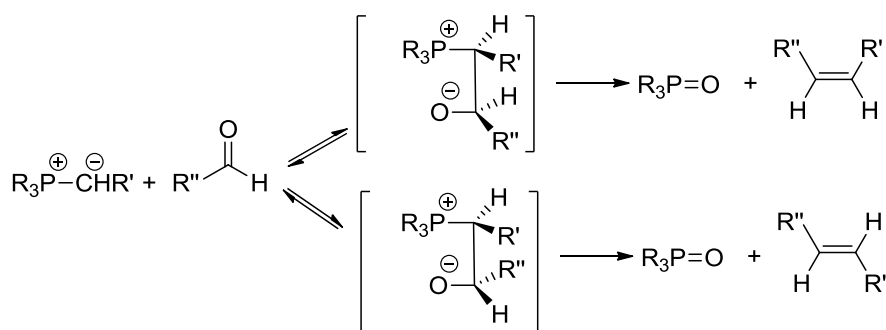
В данной статье [85] илид был получен из хлористого бензилтрифенилфосфония действием фениллития.

В другой же работе [96] были получены данные о том, что если илид получают действием этилата натрия в спиртовом растворе, то соотношение цис- и транс-измеров стильбенов меняется (47:53).

Стоит отметить, что делать выводы о стереохимии реакции Виттига стоит с осторожностью, так как очень часто происходит термическая изомеризация цис-олефинов в транс-изомеры.

Предполагается, что цис- и транс-олефины образуются из промежуточных эритро- и treo-бетаинов:

Схема 60



Транс-олефины являются основными продуктами чаще, так как транс-изомеры более устойчивы. Но более существенным является вероятность достижения переходных состояний для образования цис- и транс-измеров из эритро- и treo-бетаинов соответственно [99]. В случае treo-бетаинов переходное состояние должно быть наименее пространственно затруднено, так как объемные группы (R' и R'') не мешают друг другу, и образующаяся двойная связь стабилизирована за счет сопряжения с этими же группами. В случае эритро-бетаинов такое сопряжение затруднено в переходном состоянии из-за того что группы R не могут быть копланарными относительно зарождающейся двойной связи [99].

Трипет в свою очередь [97] показал, что прямого превращения одного бетаина в другой не происходит. При обработке фосфониевой соли этилатом

натрия в этаноле образуется смесь цис- и транс-стильбенов одновременно с окисью дифенилметилфосфина.

Прежде всего образующийся эритро-бетаин через промежуточный илид превращается в результате в смесь трео- и эритро-бетаинов, так как эти бетаины представляют собой источники цис- и транс-олефинов. Кетчам и соавторы [100] считают, что при взаимодействии стабильных илидов образование бетаинов является обратимым процессом, а стереохимия реакции определяется на стадии разложения бетаиновой структуры. В случае же реакций нестабильных илидов стадия образования бетаина уже является необратимой и определяет стереохимию реакции.

Сtereохимия реакции Виттига в случае нестабильных илидов мало изучена. Предполагается, что быстрой стадией, в этом случае, является образование бетаина, а влияние различных структурных факторов в переходном состоянии, соответствующем образованию бетаина, выражено слабо. Если данное соображение является верным то эритро-бетаин диссоциирует быстрее, чем трео-бетаин.

Основываясь на полученных данных, рассмотренных выше можно сделать выводы о том, что на стереохимию реакции Виттига оказывают воздействие многие факторы. Есть предположения, что между скоростями образования, диссоциации и разложения бетаинов существует взаимосвязь.

Из этого следует, что в случае стабильных илидов стереоселективность реакции, определена факторами, которые проявляются на стадии образования и разложения бетаина, тогда как в случае нестабильных илидов стереоселективность определяется уже равновесием между диссоциацией и разложением бетаина.

1.8.7. Влияние условий на стереохимию реакции Виттига

Существенное влияние на стереоселективность реакции Виттига и ее направления оказывают различные условия проведения. Хаузер [86] установил, что при повышении температуры реакции между н-

гексилидентрифенилфосфораном и ацетальдегидом происходит увеличение количества цис-олефина.

Скорее всего это связано с тем, что при повышении температуры ослабляется влияние, которое связано с различной устойчивостью эритро- и трео-бетаинов. Но в противоположность этому Дрефал [101] определил, что в случае взаимодействия бензилидентрифенилфосфорана с α -нафтальдегидом изменение температуры влияет слабо.

Бергелсон [102] выявил, что избыток альдегида или илида позволяет увеличить относительное количество цис-изомера. Также установлено два типа влияния растворителей. В случае стабильных илидов апротонные растворители, не влияют на соотношение цис- и транс-олефинов [103].

Это, возможно, связано с тем, что общая сольватация бетаина не влияет на образование этого бетаина или же, что влияние сольватации компенсируется за счет электронных эффектов, которые действуют на стадии разложения бетаина.

Но было найдено, что при использовании протонных полярных растворителей, например метанола, увеличивается отношение между цис- и транс-изомерами [103].

В данной статье выдвинуто предположение о том, что в этом случае замедляется диссоциация сольватированных бетаинов на илид и альдегид, либо происходит изменение устойчивости стереоизомерных бетаинов за счет ослабления электростатического притяжения.

Трипет показал, что при наличии сильной сольватации или же комплексообразования эритро-бетаин более устойчив и существует в виде конформации:

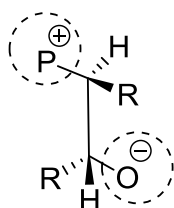


Схема 61

Если это предположение, верно, то произойдет резкое изменение в соотношении скоростей образования и диссоциации бетаина. Относительные скорости бетаинов не изменятся, но соотношение между цис- и транс-изомерами увеличится, так как стадии диссоциации и образования играют важную роль в определении стереоселективности процесса. Любое изменение отношения изомерных олефинов, предполагает влияние комплексообразования на относительные скорости диссоциации и разложения бетаина.

Выводы относительно стереохимии реакции Виттига необходимо делать с учетом условий проведения процесса. Как уже говорилось выше, при нормальном течении реакции образуются преимущественно транс-олефины, но при использовании полярных протонных растворителей, протонных катализаторов, льюисовских кислот и высоких температур при такой же реакции получаются в основном уже цис-изомеры.

1.9. Хроматографические методы анализа

Хроматография – это один из самых распространенных и в тоже время универсальных методов, с помощью которого производится разделение различных веществ, входящих в смесь. Разделение таких смесей веществ происходит между несколькими фазами (подвижной и неподвижной). Преимуществом хроматографии по сравнению с другими методами разделения являются возможность разделения небольших количеств веществ и высокая разделяющая способность. Хроматографические методы определения веществ обладают высокой чувствительностью и точностью.

Препаративная хроматография является наиболее высокоселективным и эффективным методом. Вследствие этого она используется в случае разделения сложных смесей (близкие физико-химические свойства), например, таких как кровь или вещества растительного происхождения. В препаративных целях чаще всего используется газовая хроматография, а для разделения ионов применяют ионообменную хроматографию.

Хроматография является очень важным методом распознавания веществ. В настоящее время с помощью хроматографических методов можно определять вещества в различных агрегатных состояниях (газообразные, жидкие, твердые) с молекулярной массой от 1 до 10^6 [104]. Также, например, с помощью газовой хроматографии можно определять летучие термостабильные вещества с молекулярной массой меньше 400 г/моль. Жидкостная хроматография – это метод распознавания и разделения смесей веществ, которые являются нелетучими в растворах.

В задачу теоретических основ хроматографии входит установление законов движения и размывания хроматографических зон [104]. Очень часто для этого используют несколько подходов:

1. Теория теоретических тарелок.

Концепция данной теории заключается в том, что колонка разбита на участки, которые называются тарелками. В данных областях происходит установление равновесного распределения вещества между фазами.

2. Кинетическая теория.

Принцип этой теории основан на связывании эффективности разделения с процессами диффузии вещества в колонке, которое происходит за счет передвижения потока газа-носителя. При этом вещество находится то в подвижной, то в неподвижной фазе. Это говорит о том, что хроматографический процесс является по своему характеру ступенчатым.

Также следует отметить, что в настоящее время аппаратура для хроматографии совершенствуется, и разделение веществ можно осуществлять за минуты.

1.9.1. Классификация хроматографических методов анализа

Существуют различные классификации хроматографических методов анализа [105]:

1. Классификация по агрегатному состоянию подвижной и неподвижной фазы:

- a) Газовая хроматография (подвижной фазой является газ или пар);
 - b) Жидкостная хроматография (подвижная фаза – жидкость).
2. По механизму взаимодействия вещества с сорбентом:
- a) Адсорбционная хроматография – это хроматографический метод анализа, в котором неподвижной фазой является твердый адсорбент, а разделение смеси веществ происходит в результате различных констант их адсорбции;
 - b) Распределительная хроматография – это хроматографический метод, в котором стационарная фаза связана с поверхностью неподвижного носителя. Подвижная фаза в данном случае жидкость, которая служит растворителем, или газ. Разделение осуществляется за счет различной полярности разделяемых веществ;
 - c) Ионообменная хроматография – этот метод позволяет разделять молекулы на основании ионных взаимодействий. Неподвижной фазой является соединение, которое имеют в своей структуре заряженные функциональные группы;
 - d) Осадочная хроматография – метод, который основан на способности разделяемых веществ, образовывать малорастворимые соединения с различными произведениями растворимости. Неподвижной фазой является инертный носитель, который покрыт слоем осадителя;
 - e) Окислительно-восстановительная хроматография – это хроматография, основанная на образовании и распределении хроматографических зон на колонке, которая содержит окислитель или восстановитель в соответствии с различной способностью к окислению и восстановлению анализируемых веществ. Окисление или восстановление анализируемого вещества в колонке происходит в последовательности, соответствующей их окислительно-восстановительному потенциалу;
 - f) Комплексообразовательная хроматография и другие.

3. В зависимости от техники выполнения анализа (способа оформления процесса):
 - а) Колоночная хроматография – процесс разделения происходит в колонках, которые заполнены сорбентом;
 - б) Плоскостная хроматография – включает в себя два способа: хроматографию на бумаге и тонкослойную.
4. В зависимости от способа продвижения вещества через колонку (способа хроматографирования):
 - а) Элюентная хроматография – это метод разделения и анализа веществ, при котором поток элюента непрерывно проходит через слой сорбента. При этом элюент сорбируется хуже анализируемого вещества. В то время как элюент продвигается по колонке с веществами, которые уже сорбированы, они передвигаются вдоль слоя сорбента с различными скоростями. И вследствие этого выходят из колонки отдельными зонами, которые в свою очередь разделены элюентом;
 - б) Вытеснительная хроматография – концепция метода заключается в том, что при введении смеси в поток подвижной фазы, через нее непрерывно пропускают поток вещества-носителя, который сорбируется сильнее других веществ. Вытеснитель десорбирует сорбированную смесь в порядке увеличения сорбционной способности;
5. В зависимости от цели проведения хроматографического анализа:
 - а) Аналитическая хроматография – это метод разделения, а также метод для определения качественного и количественного анализа;
 - б) Препаративная хроматография – это метод выделения чистых веществ из смеси.

1.9.2. Связь формы хроматографического пика с характером изотермы сорбции

Хроматограмма показывает статистическое поведение молекул. В связи с некоторыми факторами различные атомы или молекулы передвигаются по колонке с разными скоростями, поэтому наблюдается некоторое отклонение от средних значений скорости. Усредненное поведение в движение молекулы изображается различной формой пика. Такая форма имеет вид Гауссовой кривой распределения [106]. Изотерма сорбции и форма пика связаны, данная взаимосвязь заключается в отношении концентрации веществ, находящихся в подвижной фазе, от концентрации уже в неподвижной фазе.

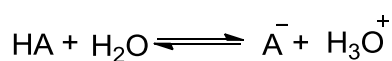
1.9.3. Влияние рН в хроматографическом методе анализа

Величина рН подвижной фазы влияет на удерживание в жидкостной хроматографии, если структура молекул аналита зависит от рН [107]. Из этого можно сделать вывод о влиянии рН только в случае, если молекулы образца могут находиться в двух формах (протонированной и непротонированной). Также значение рН может влиять на фактор удерживания, но этот эффект незначителен. В условиях обращено-фазной хроматографии (ОФХ) время удерживания зависит от рН в случае:

1. Если в подвижной фазе могут находиться различные формы аналита, которые имеют разное время удержания;
2. Если содержание различных форм аналитов меняется с изменением рН.

Если соединение, которое анализируется, находится в двух различных формах, то чаще всего выполняется первое условие [107]. Примером может являться диссоциация слабой кислоты в водной среде:

Схема 62



Из схемы 62 мы видим, что НА эта молекула, которая не имеет заряда (нейтральной), а вот A^- - имеет отрицательный заряд. Если учитывать эти

факторы можно говорить о том, что параметры удерживания двух форм такого соединения сильно разнятся [107].

Второе условие, в котором говорится о том, что изменение рН меняет содержание различных форм аналитов, зависит от изменения водородного показателя относительно равновесной константы соединения. Константу диссоциации НА находят по формуле (1):

$$K_a = A^- \cdot H_3O^+ / HA \quad (1)$$

Так что для соотношения концентраций двух различных форм аналита А (R_a) получаем:

$$R_a = A^- / HA = K_a / H_3O^+ \quad (2)$$

$$\lg R_a = \lg K_a + pH = pH - pK_a \quad (3)$$

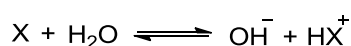
Формула 3, показывает, что наибольшие изменения ожидаются вблизи $pH=pK_a$ при $R_a=1$. В случае если pH выше pK_a на две единицы, значение R_a будет равно 100, из этого следует, что около 100% аналита диссоциировано. Если же $pH < pK_a$ на две единицы это означает, что менее 1% молекул присутствует в диссоциированной форме ($R_a = 0,01$). Рассмотрев второе условие, можно заключить, что оно выполняется только в случае, если водородный показатель изменяется в области pK_a образца [107].

Так как определенный рабочий диапазон (pH от 2 до 7) установлен для колонок обращено-фазового типа на силикагельной основе, ожидается, что образцы с pK_a от 1 до 8 при изменении pH будут иметь различное время удерживание.

Другими словами, для слабых кислот у которых pK_a находится в диапазоне от 1 до 8, pH является важным параметром.

Такие же выводы используются и для основных образцов:

Схема 63



Константе диссоциации соответствует выражение:

$$K_b = HX^+ \cdot OH^- / X \quad (4)$$

Так что

$$R_x = \frac{HX^+}{X} = K_b / OH^- \quad (5)$$

$$\lg R_x = \lg K_b + \lg OH^- = 14 - pH - pK_a \quad (6)$$

Из этого следует, что максимальное изменение R_x отмечается при $pH=14-pK_b$ [107]. Для обращено-фазовых колонок, на основе силикагеле, диапазон pH равен от 2 до 7, это соответствует основаниям с pK_b от 7 до 12. Очень важным параметром для слабых оснований является pH . Так, например, полностью протонированы основания, у которых pK_b меньше 6. Так как ионизация таких соединений на химически связанных фазах, на силикагельной основе, подавить невозможно, эти соединения разделяют как ионы. В таких случаях говорят об ионообменной или ион-парной хроматографии.

В последнее время появилась необходимость в разработке систем на основе обращено-фазовой хроматографии с широким диапазоном pH . Для этого чаще всего используются органические полимерные материалы. Из множества литературных источников по обращено-фазовой хроматографии понятно, что для разделения основных соединений такие неподвижные фазы подходят больше.

Со стороны pK_a буфера контролю подвергается диссоциация молекул образца, но это условие возможно только в случае если буфер находится в подвижной фазе. Слабые кислоты являются буферными соединениями, так как их диапазон pH ограничен. В качестве примера можно привести диссоциацию слабой кислоты (НА), в присутствии буферной кислоты (НВ). Так можно записать следующее уравнение:

$$R_a = K_{a,A}/K_{a,B} R_b = K_{AB}R_b \quad (7)$$

В данном уравнение $K_{a,A}$ – константа диссоциации образца, $K_{a,B}$ – константа диссоциации буфера, R_b – степень диссоциации буфера и K_{AB} – постоянная величина. Из уравнения можно сделать вывод о том, что степень диссоциации А пропорциональна степени диссоциации буфера [107].

Если предположить, что скорость установления равновесия велика, так что можно считать этот процесс мгновенным, тогда для наблюдаемого фактора удерживания $k_{\text{набл}}$ способного к ионизации соединения, можно записать уравнение, которое описывает связь между степенью удерживания диссоциации буфера для слабых кислот:

$$k_{\text{набл}} = k_{\text{НА}} + k_{\text{А}}k_{\text{АВ}}R_{\text{В}} / 1 + k_{\text{АВ}}R_{\text{В}} \quad (8)$$

В обращено-фазовой хроматографии чаще всего однозарядные и многозарядные ионы имеют низкие факторы удерживания, если сравнивать их с нейтральными молекулами. Значит всеми константами диссоциации, которые приведены в уравнение, кроме одной, можно пренебречь.

Если же рассматривать разделение, которое основано на ионном характере исследуемого соединения, то здесь уже, наоборот, необходимо придавать значение возможного образования многозарядных ионов. Как слабое основание или кислоту можно рассматривать электролиты. Такие соединения способны к ионизации.

Однако большое количество функциональных групп, присутствующих в таких электролитах, приводит к непрерывному изменению суммарного заряда вещества.

Суммарный заряд имеет положительное значение в случае низких показателей рН, а отрицательное значение при уже высоких значениях. При некотором же значении рН суммарный заряд может также равняться нулю. В этом случае число положительных и отрицательных зарядов одинаково, тогда говорится об изоэлектрической точке. Что относится к ионной силе элюента, то она одинаково влияет на удерживание заряженных и нейтральных соединений.

Для количественного описания влияния ионной силы элюента на удерживание заряженных соединений используется уравнение Дэвиса [107]. Это уравнение показывает, что ионная сила оказывает одинаковое влияние на соединения, которые несут одинаковый заряд:

$$\lg k = \lg k_0 - \frac{Az^2 \bar{I}}{1 + \bar{I}} + 0.04z^2 I \quad (9)$$

где, k_0 – коэффициент емкости при нулевой ионной силе, A – константа, которая зависит от температуры, z – заряд иона соединения, а I – ионная сила.

Из данного уравнения можно сделать вывод о том, что для изменения хроматографической селективности ионная сила используется только в случае, если разделяемые соединения имеют разный заряд. Экспериментальные зависимости параметров удерживания оснований и слабых кислот в условиях обращено-фазовой хроматографии от pH и соотношения воды и ацетонитрила в подвижной фазе рассмотрено в работе Боша [108], также в этой статье проверены уравнения и различные модели, которые описывают эффект pH на удерживание. При контроле влияния pH на параметры удерживания в водно-органических модификаторах следует обращать внимание на точность применяемой шкалы pH.

1.10. Анализ бетаиновых структур методом ВЭЖХ

Развитие в изучении химии бетаинов и заинтересованности ученых в структуре данного соединения, потребовало проведения анализа хроматографическим методом. Но так как бетаины очень лабильные вещества, данный метод не удобен.

Ученые разрабатывают новые хроматографические методы, которые позволяют упростить, ускорить и более точно определять данные вещества.

1.10.1. Анализ бетаинов с помощью хроматографии

Большинство существующих знаний о бетаинах было получено с помощью качественных и полуколичественных методов, главным образом тонкослойной хроматографии, тонкослойного электрофореза и ядерного магнитного резонанса ^1H и ^{13}C (ЯМР), который использовался для качественного анализа этих соединений в морских водорослях и

растительных материалах [109]. Однако помимо требования обширных стадий очистки для удаления значительной части возможных мешающих веществ, ЯМР не подходит для количественного определения вторичных метаболитов, как правило, присутствующих в небольших количествах. Методы высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) широко используются для количественного определения бетаинов, даже если на применение этого метода сильно влияют внутренние характеристики этих соединений. Фактически, бетаины представляют собой вещества, которые обладают плохим поглощением в УФ-диапазоне и не обладают заметной флуоресценцией. Из-за объективной трудности обнаружения этих веществ методы ВЭЖХ почти не использовались в течение длительного периода времени.

Хроматография гидрофильного взаимодействия (HILIC) была впервые введена Эндрю Альпертом в 1990 году. Первоначально метод HILIC был предложен в качестве альтернативы более обычным методам нормальной фазы и обращенной для разделения чрезвычайно полярных и гидрофильных соединений [110]. С момента своего создания хроматография гидрофильного взаимодействия широко используется во многих областях исследований, включая пищевой, экологический, фармацевтический и клинический анализ. Было показано, что благодаря этим применениям HILIC является ценным методом разделения для анализа как полярных, так и ионных соединений [111]. Данный вид хроматографии используют для разделения полярных соединений, слабоудерживаемых в обращено-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии. В качестве подвижной фазы в хроматографии гидрофильного взаимодействия используется водно-ацетонитрильная смесь с добавлением различных солей, кислот и оснований. Силикагели, которые модифицированы полярными группами, например, такими как аминогруппа, являются неподвижными фазами. С помощью данного метода элюирующая способность подвижной фазы с увеличением полярности возрастает, а более полярные соединения удерживаются сильнее.

Несмотря на то, что хроматография гидрофильного взаимодействия была разработана и широко применяется в течение нескольких десятилетий, соответствующие механизмы разделения все еще недостаточно хорошо изучены. Поскольку схема разделения способом HILIC может быть результатом нескольких типов взаимодействий между аналитом и стационарной фазой, то на него могут влиять многие хроматографические условия, например такие как: тип стационарной фазы, подвижный фазовый состав и структурные свойства целевых растворенных веществ [112]. Есть два общепринятых механизма удержания, которые, как полагают, применяются в условиях хроматографии гидрофильного взаимодействия. Первый механизм был предложен Эндрю Альпертом [113], который предположил, что удержание на колонках HILIC основано на разделении аналитов между обогащенным водой слоем, адсорбированным на поверхности гидрофильной стационарной фазы и относительно менее полярным органическим элюентом. В этой модели частично иммобилизованный богатый водой слой формируется посредством взаимодействий между полярными функциональными группами на неподвижной фазе и молекулами воды в подвижной фазе.

Таким образом, гидрофильные аналиты, перенесенные в подвижную фазу, преимущественно распределяются в иммобилизованном богатом водой слое, ведут к сильному удержанию на колонке. Это объясняет порядок элюирования в хроматографии гидрофильного взаимодействия, так как менее полярные соединения элюируют из колонки раньше, чем более полярные из них. Тем не менее, следует отметить, что существует предел насыщения для количества воды, которое может быть адсорбированным на поверхности неподвижной фазы [114]. Вне этого предела, избыточные молекулы воды будут оставаться в органическом обогащенном элюенте, что делает слой, богатый водой, и органическую объемную фазу более похожими друг на друга. В соответствии с этой идеей Хемстрем и Иргум [115] обсудили результаты, полученные Ортом и Энгельгардтом [114], в которых

отмечалось, что сохранение растворенных веществ уменьшается вместе с уменьшением разности полярности между двумя фазами.

Следовательно, существует определенный диапазон содержания воды, необходимый для подвижной фазы при использовании метода HPLC. Нижний предел 3% воды обычно достаточен, чтобы гарантировать образование водного слоя вокруг частиц стационарной фазы, тогда как верхний предел 30% воды обеспечивает достаточное удержание полярных растворенных веществ. Механизм разделения широко обсуждается и подтверждается экспериментально во многих публикациях [116, 117].

В общем, подвижная фаза в хроматографии гидрофильного взаимодействия состоит из двойной системы воды и смешивающегося с водой полярного органического растворителя. Таким образом, водно-органическая фаза в хроматографии гидрофильного взаимодействия обеспечивает большую растворимость в полярных и гидрофильных аналитах [116]. Важно отметить, что полярная подвижная фаза делает HPLC совместимой с детектированием электрораспылительной ионизационной масс-спектрометрии (ESI-MS), обеспечивающей высокую эффективность ионизации и чувствительность.

Обычно используется ацетонитрил, являющийся апротонным органическим растворителем с низкой вязкостью, так что сепарацию можно оптимизировать при низких противодавлениях [118]. Также растворители, такие как этанол, изопропанол, тетрагидрофуран и метанол, растворимые в воде, использовались как компоненты входящие в подвижную фазу в хроматографии гидрофильного взаимодействия. Однако стоит упомянуть, что спирты являются протонными и более сильными элюирующими растворителями, чем ацетонитрил [118].

Эти характеристики могут приводить к снижению удерживания и снижению эффективности разделения. Более того, поскольку тетрагидрофуран является лучшим акцептором водородной связи, чем ацетонитрил, его внедрение вместо ацетонитрила приведет к конкуренции с

водой для активных объектов на стационарной фазе. Это будет влиять на формирование иммобилизованного слоя воды на поверхности стационарной фазы [119]. Следовательно, в общем случае установлено, что ацетонитрил является предпочтительным выбором органического модификатора в подвижной фазе HPLC.

Водная фаза, которая может содержать летучие соли или слабые кислоты (например, ацетат аммония, формиат аммония, трифторуксусная кислота), является более сильным элюирующим растворителем в подвижной фазе хроматографии гидрофильного взаимодействия [120]. Соли или слабые кислоты добавляют в небольших количествах для того чтобы влиять на разделение или эффективность ионизации [121]. Различия в селективности и удержании благодаря выбору добавки были подробно исследованы в работе [122], в данной статье было показано, что они важны для оптимизации разделения HPLC.

В последние годы в экспериментах хроматографии гидрофильного взаимодействия было использовано очень большое количество стационарных фаз. Как правило, они могут быть разделены на стационарные фазы на основе кремния и стационарные фазы на основе полимера. Из этих двух типов стационарных фаз колонки на основе диоксида кремния гораздо чаще используются в HPLC.

1.10.2. Анализ бетаинов в биологических жидкостях прямым методом

Анализ бетаиновых структур методом ВЭЖХ, крайне неудобен, так как данные соединения являются лабильными и не предполагают каких-либо жестких воздействий при приготовлении пробы. В данный момент схема анализа бетаиновых структур включает в себя очистку, концентрирование и дериватизацию аналитов в более удобные для хроматографирования вещества [123]. Анализа проводимые по этой схеме является многостадийными в плане подготовки пробы, что приводит к потерям и искажению экспериментальных данных. Поэтому ученые стремятся

разработать метод, при котором минимизируется время затрачиваемое на пробоподготовку, за счет уменьшения стадий, а также достоверность состава анализируемого вещества.

В работе Сапрыкина и соавторов были предприняты попытки прямого определения некоторых бетаинов в нетрадиционном режиме жидкостной хроматографии, как на обычном силикагеле, так и на специально разработанном для таких разделений оригинальном сорбенте на основе силикагеля [123]. В данной статье в качестве аналитов использовались: глицинбетаин, β -аланин-бетаин, γ -трионин-бетаин (карнитин), бетаин γ -аминомасляной кислоты, милдронат. Эти вещества имеют высокую полярность и обладают видимой областью поглощения УФ-спектра только в коротковолновой области, так как они не имеют хромофорных групп.

С помощью обращено-фазового варианта ВЭЖХ не удалось добиться удовлетворяющего удерживания и разделения анализируемого вещества, так как сорбаты обладают высокой полярностью [123]. Также в этой работе был отвергнут ион-парный вариант ВЭЖХ, так как в данном методе пики обладали асимметрией и вследствие этого данные были размыты. Наилучшие результаты были получены с помощью нетрадиционного метода хроматографии на немодифицированном силикагеле с водосодержащими элюентами.

В работе Сапрыкина использовался дигидрофосфат калия, так как он является прозрачным в коротковолновой области УФ-спектра, а также обладает буферными свойствами, что является необходимым для стабилизации условий ионизации аналитов в растворе, от которых зависит их гидрофильность [124]. Метанол и другие спирты не используются для данного метода из-за порядка выхода изучаемых сорбатов, при их размытости на хроматограмме. При проведении опытов, Сапрыкиным был выявлен подходящий элюент, который показал хорошее время удерживание.

Данный элюент содержит 70% ацетонитрила в 0,1М растворе фосфатного буфера с pH=6,2. В данной работе были сделаны выводы о

влиянии рН среды на время удерживания. Так с увеличением рН удерживание пропорционально возрастает, что можно связать с увеличением их гидрофильности за счет образования в растворе цвиттер-ионов. Но так как при увеличении рН усиливается растворение силикагеля в колонке, то это сокращает срок службы сорбента. Поэтому было необходимо использование такого значения рН, при котором разрушение силикагеля проходит в минимальных количествах.

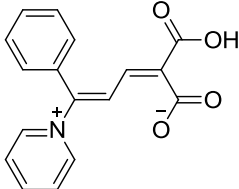
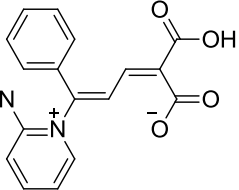
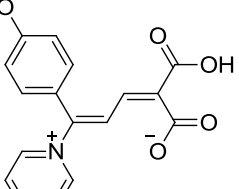
Бетаины можно определять и ион-парной обращено-фазовой хроматографией, но это является трудоемким методом. Образовавшуюся асимметрию пиков можно исправить с помощью сильного закисления элюента (рН=2,0) и пробы (рН=0). Но разделение все равно получится не селективным и любая примесь может сделать определение невозможным.

2. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

2.1. Объекты исследования

В настоящей работе объектом исследования является бетаин и его производные, синтезированные на кафедре «Химия, химические процессы и технологии» Тольяттинского государственного университета. Названия и структуры исследуемых соединений представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Объекты исследования

№	Структурная формула	Брутто-формула	Название
1		$C_{17}H_{15}NO_4$	2-карбоксии-5-(фенил)-5-(пиридиinium-1-ил) пента-2,4-диеноат
2		$C_{17}H_{14}N_2O_4$	2-карбоксии-5-(4-метоксифенил)-5-(пиридиinium-1-ил) пента-2,4-диеноат
3		$C_{18}H_{15}NO_5$	2-карбоксии-5-(фенил)-5-(2-аминопиридиinium-1-ил) пента-2,4-диеноат

2.2. Реагенты и оборудование

1. Хроматограф жидкостный фирмы Agilent LC-1220
2. Хроматографический шприц Hamilton на 10 мкл
3. Весы аналитические
4. Ванна ультразвуковая «Сапфир»
5. Лабораторный рН-метр
6. Спектрофотометр
7. Водно-ацетонитрильная смесь, для хроматографии

8. 2-карбоксит-5-фенил-5-(пиридиinium-1-ил) пента-2,4-диеноат
9. 2-карбоксит-5-фенил-5-(2-аминопипидиниум-1-ил) пента-2,4-диеноат
10. 2-карбоксит-5-(4-метоксифенил)-5-(пиридиinium-1-ил) пента-2,4-диеноат
11. Дистиллированная вода
12. Буферные растворы для калибровки рН-метра
13. Гидроксид натрия, х.ч.
14. Щавелевая кислота, ч.д.а.
15. Фенолфталеин, х.ч.

2.3. Хроматографический метод

2.3.1. Методика количественного определения 2-карбоксит-5-(фенил)-5-(пиридиinium-1-ил) пента-2,4-диеноата в условиях ВЭЖХ

В процессе настоящего исследования хроматографию проводили в режиме ВЭЖХ (элюентом являлась водно-ацетонитрильная смесь в соотношении 80:20). В флакон пенициллиновый было внесено определенное количество исследуемого вещества, взвешенного на аналитических весах (0,0695 г). Навеску растворили в дистиллированной воде и далее разбавили в 2, 5, 10, 20, 30, 50 и 100 раз. Каждый раствор вводили в хроматограф. Далее провели аналогичные исследования, используя в качестве растворителя водно-ацетонитрильную смесь в соотношении 80:20. По полученным результатам измерений исследуемых растворов в программе Excel были построены градуировочные графики, в которых изображена зависимость площади хроматографического пика от концентрации вещества.

2.3.2. Методика определения времени удерживания 2-карбоксит-5-(фенил)-5-(пиридиinium-1-ил) пента-2,4-диеноата в зависимости от его рН среды

В три пенициллиновых флакона были помещены навески исследуемого вещества, растворенные в дистиллированной воде. После полного

растворения 2-карбоксии-5-(фенил)-5-(пиридиниум-1-ил) пента-2,4-диеноата с помощью буферных растворов была создана различная рН среды (нейтральная, кислая и щелочная). В дальнейшем растворы были введены в хроматограф и сняты хроматограммы на различных длинах волн. Для сравнения были сняты хроматограммы этих растворов на длине волны равной длине волны стандартного раствора бетаина, растворенного в первом случае в воде, а во втором в водно-ацетонитрильной смеси (80:20).

2.3.3. Методика определения времени удерживания 2-карбоксии-5-(4-метоксифенил)-5-(пиридиниум-1-ил) пента-2, 4-диеноата и 2-карбоксии-5-(фенил)-5-(2-аминопиридиниум-1-ил) пента-2,4-диеноат в зависимости от его рН-среды

В данном исследовании брались навески исследуемых веществ и растворялись в дистиллированной воде. С помощью буферных растворов была достигнута различная рН растворов. Далее растворы были введены в хроматограф и были получены данные о времени удерживания данных соединений при различных длинах волн.

2.4. Потенциометрический метод

Кислотные свойства бетаинов были исследованы методом потенциометрического титрования. В качестве титранта использовался водный раствор гидроксида натрия.

2.4.1. Методика приготовления раствора гидроксида натрия и щавелевой кислоты для его стандартизации

В две колбы на 500 и 250 мл были внесены навески. В первую навеска гидроксида натрия, а во вторую щавелевая кислота необходимые для приготовления 0,01 М растворов. Массы были рассчитаны по формуле:

$$m = \frac{C_M * M * V}{1000}$$

Проводилась стандартизация щелочи щавелевой кислотой. Точка эквивалентности определяется по изменению окраски фенолфталеина.

2.4.2. Определение изменения потенциала индикаторного электрода в процессе титрования 2-карбокситрифтенил-5-(пиридиний-1-ил) пента-2,4-диеноата, 2-карбокситрифтенил-5-(4-метоксифенил)-5-(пиридиний-1-ил) пента-2,4-диеноата и 2-карбокситрифтенил-5-(2-аминопиридиний-1-ил) пента-2,4-диеноат

Для анализа были приготовлены растворы бетаинов (20 мл каждый), которые поочередно подвергались потенциометрическому титрованию. Для этого в каждый раствор было добавлено несколько капель фенолфталеина и фиксировалось изменение значения на лабораторном рН-метре.

2.5. Прогноз спектров биологической активности

С помощью программы PASS Online была спрогнозирована биологическая активность исследуемых бетаинов по их структурным формулам.

PASS Online прогнозирует более 3500 видов биологической активности, включая фармакологические эффекты, механизмы действия, токсические эффекты и другие виды биологической активности. Для получения списка биологической активности изображались структурные формулы исследуемых соединений. Предсказание основано на анализе структурных отношений активности более 250 тысяч биологически активных веществ. Точность предсказания биологической активности данной программы составляет около 95%.

3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ

Спектрофотометрический анализ растворов бетаинов позволил выявить закономерности влияния рН среды на длины волн.

В таблице 3 представлены длины волн стандартных растворов бетаинов. А в таблице 4 длины волн растворов бетаинов с различным значением рН среды.

Таблица 3 – Значение рН среды и длины волн стандартных растворов бетаинов

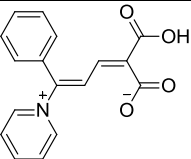
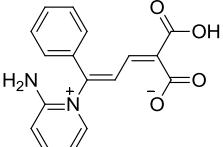
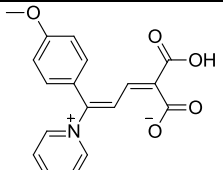
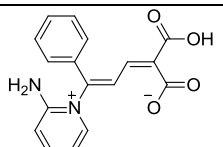
Структурная формула	Значение рН среды	Длина волны, нм	Время удерживания
	3.527	317	0.951
	4.912	235	0.855
	5.633	326	0.918

Таблица 4 – значения длин волн при различном значении рН

Структурная формула	Значение рН	Длина волны, нм	Время удерживания
	2.345	235	1.141
	8.654	306	1.457
	8.654	235	0.995
	11.958	247	1.068
	2.344	235	0.855
	4.154	241	0.990
	4.154	238	0.956
	9.361	206	0.946
	5.745	326	0.918
	5.745	200	0.773
	9.352	229	0.906

В таблице 5 показаны времена удерживания для незамещенного бетаина при нескольких значениях рН, но при одной длине волны, которая соответствует стандартному раствору незамещенного бетаина. Также в таблице 6 представлены значения времени удерживания при различных длинах волн. В качестве раствора использовался незамещенный бетаин.

Таблица 5 – время удерживания незамещенного бетаина при различных значениях рН. Длина волны 317 нм

Значение рН	Время удерживания
1.640	0.984
3.527	0.955
9.100	1.075

Таблица 6 – время удерживания незамещенного бетаина при различных значениях длин волн

Длина волны, нм	Время удерживания
352	1.214
306	1.125
247	1.040
235	1.062

В случае замещенных бетаинов, были выявлены батохромные сдвиги. Это согласуется с тем что в нашем соединении присутствуют электронодонорные заместители, в нашем случае метокси- и амино- группы. Также с помощью хроматографического метода анализа были выявлены различные времена удерживания в зависимости от рН среды. В результате исследования было предположено, что данное соединение может существовать в двух различных формах (протонированное соединение и соль).

При изучение хроматографического поведения бетаинов были приготовлены растворы незамещенного бетаина с различными значениями разбавления и по полученным данным построены градуировочные графики

зависимости площади от концентрации приготовленных растворов. Они представлены на рисунках 3 и 4. Данные графики также требовались для возможного анализа вещества при изучении его сорбции. Но так как при построение графиков обнаружилось аномальные точки, дальнейшее исследование оказалось невозможным.

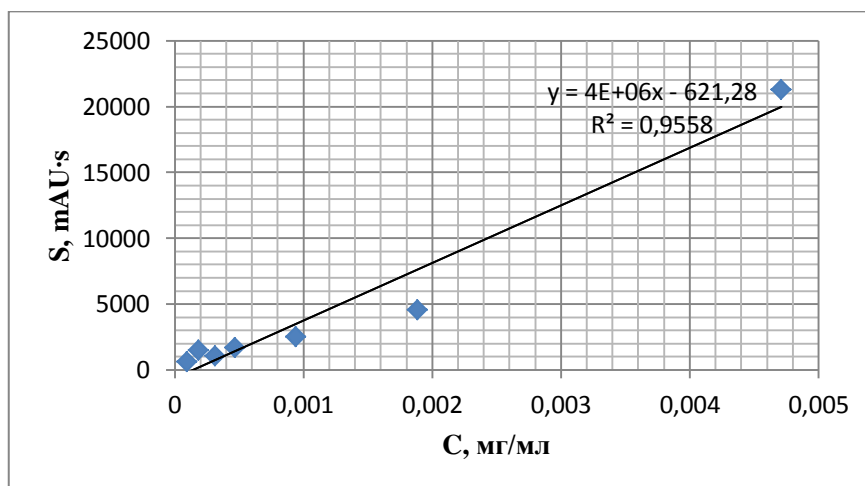


Рис. 3. Градуировочный график для 2-карбокси-5-фенил-5-(пиридиниум-1-ил) пента-2,4-диеноат, растворенного в дистиллированной воде.

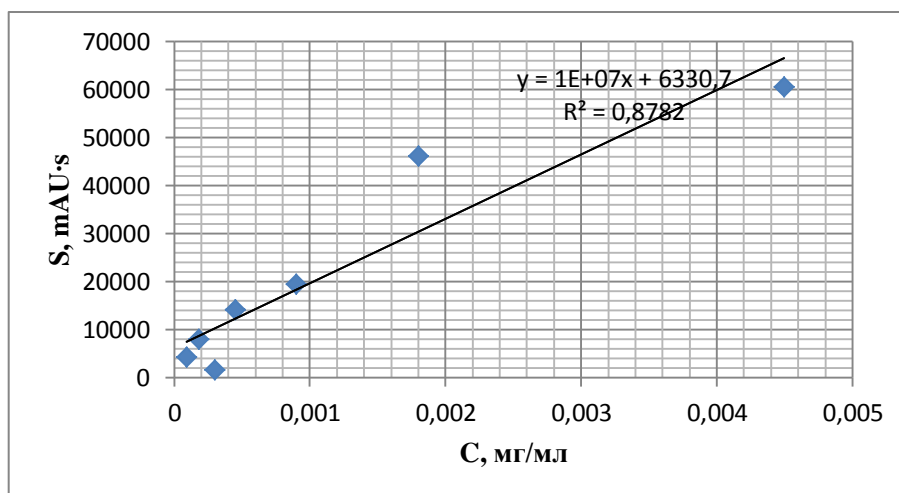


Рис. 4. Градуировочный график для 2-карбокси-5-фенил-5-(пиридиниум-1-ил) пента-2,4-диеноат, растворенного в водно-ацетонитрильной смеси.

В данной дипломной работе изучались также и кислотно-основные свойства. Исследование производилось с помощью лабораторного рН-метра. Потенциометрическое титрование проводилось в водной среде.

Изменения значения потенциала индикаторного электрода на приборе заносилось в таблицы 5-7. При расчете средней константы диссоциации использовали значения процента нейтрализации от 30 до 70%.

По полученным данным были рассчитаны константы диссоциации исследуемых веществ и построены графики (рисунки 5-10).

Были построены интегральные и дифференциальные графики, которые показывают зависимость потенциала от количества титранта. Построение данных графиков было осуществлено для возможности более точного определения точки эквивалентности.

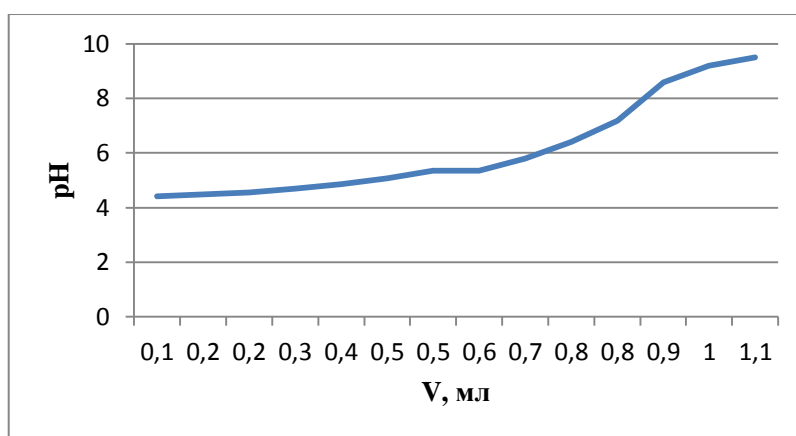


Рис. 5. Интегральный график потенциометрического титрования незамещенного бетаина, 2-карбоксо-5-фенил-5-(пиридиниум-1-ил) пента-2,4-диеноата

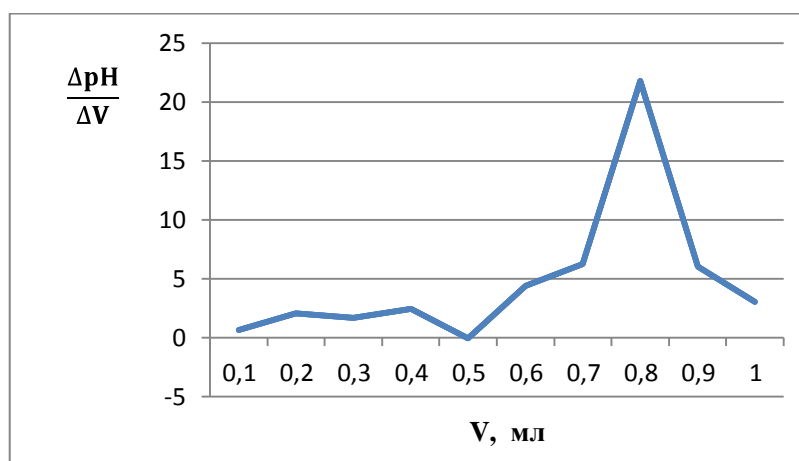


Рис. 6. Дифференциальный график потенциометрического титрования незамещенного бетаина, 2-карбоксо-5-фенил-5-(пиридиниум-1-ил) пента-2,4-диеноата

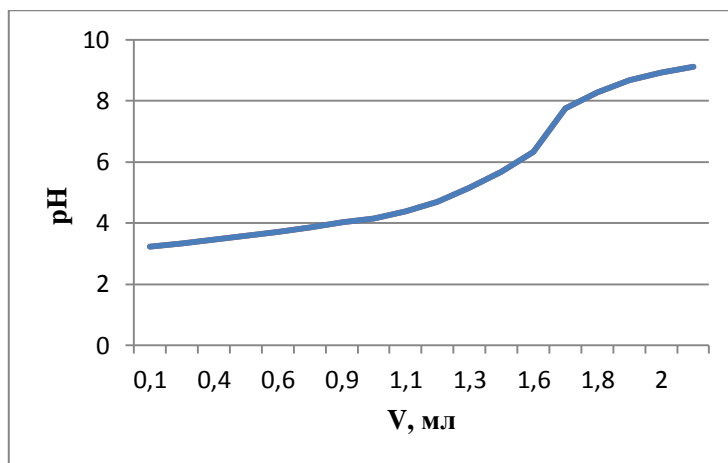


Рис. 7. Интегральный график потенциометрического титрования 2-карбоксии-5-фенил-5-(2-аминопиридиinium-1-ил) пента-2,4-диеноата

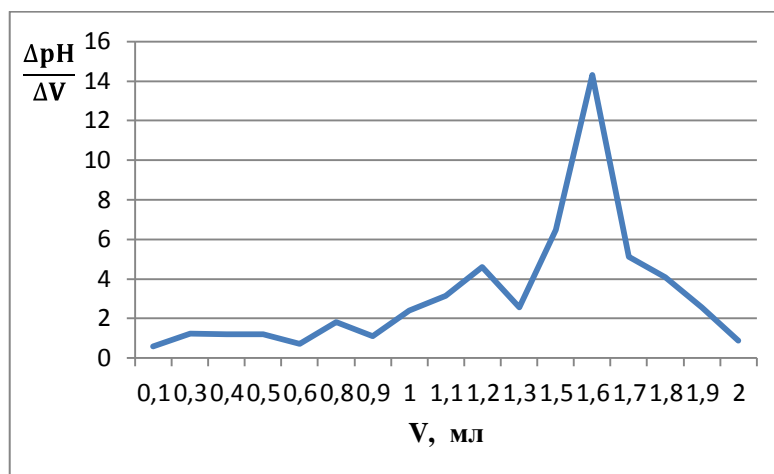


Рис. 8. Дифференциальный график потенциометрического титрования 2-карбоксии-5-фенил-5-(2-аминопиридиinium-1-ил) пента-2,4-диеноата

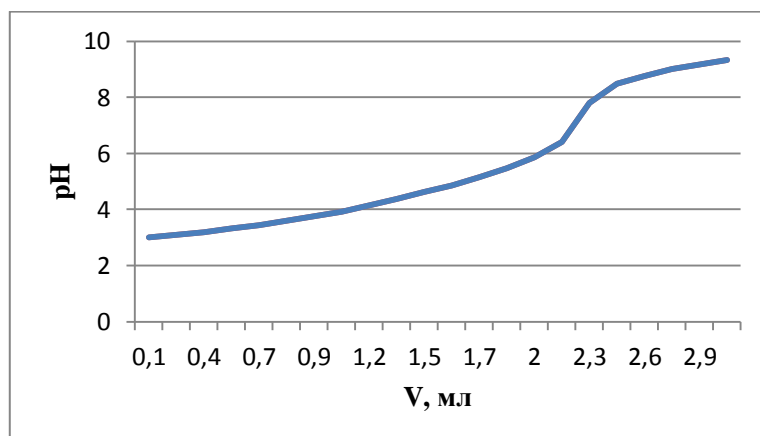


Рис. 9. Интегральный график потенциометрического титрования 2-карбоксии-5-(4-метоксифенил)-5-(пиридиinium-1-ил) пента-2,4-диеноата

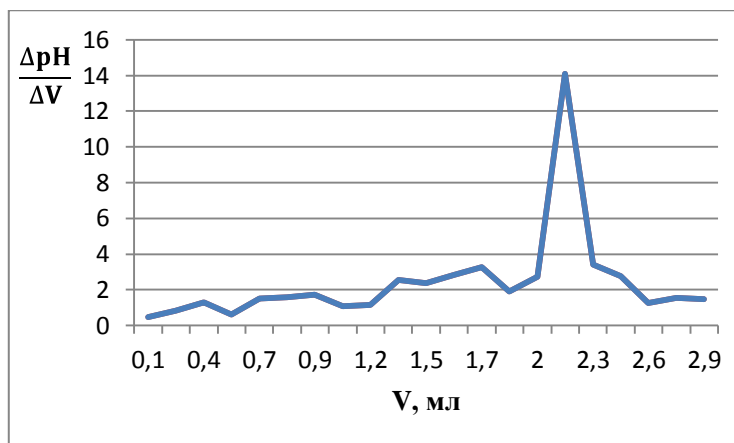
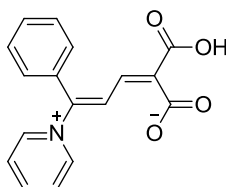


Рис. 10. Дифференциальный график потенциометрического титрования 2-карбоксит-5-(4-метоксифенил)-5-(пиридиниум-1-ил) пента-2,4-диеноата

Таблица 5 – расчет константы диссоциации 2-карбоксит-5-фенил-5-(пиридиниум-1-ил) пента-2,4-диеноата



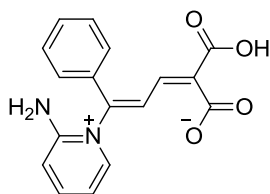
$C_{\text{кисл.}}/C_{\text{исх.}} = 0,605 \cdot 10^{-3}$	$C_{\text{щ.}} = [\text{An}^-]$	$[\text{HAn}] = C_{\text{кисл.}} - C_{\text{щ.}}$	% нейтр.	$\text{pK} = \text{pH} + \lg \frac{[\text{HAn}]}{[\text{An}^-]}$
$0.602 \cdot 10^{-3}$	$0.547 \cdot 10^{-4}$	$0.547 \cdot 10^{-3}$	9	–
$0.599 \cdot 10^{-3}$	$0.109 \cdot 10^{-3}$	$0.49 \cdot 10^{-3}$	18	–
$0.596 \cdot 10^{-3}$	$0.163 \cdot 10^{-3}$	$0.433 \cdot 10^{-3}$	27	–
$0.593 \cdot 10^{-3}$	$0.216 \cdot 10^{-3}$	$0.377 \cdot 10^{-3}$	36	5.10
$0.590 \cdot 10^{-3}$	$0.268 \cdot 10^{-3}$	$0.322 \cdot 10^{-3}$	45	5.15
$0.587 \cdot 10^{-3}$	$0.320 \cdot 10^{-3}$	$0.267 \cdot 10^{-3}$	54	5.27
$0.584 \cdot 10^{-3}$	$0.372 \cdot 10^{-3}$	$0.212 \cdot 10^{-3}$	64	5.55
$0.582 \cdot 10^{-3}$	$0.423 \cdot 10^{-3}$	$0.159 \cdot 10^{-3}$	73	–
$0.579 \cdot 10^{-3}$	$0.474 \cdot 10^{-3}$	$0.105 \cdot 10^{-3}$	82	–
$0.576 \cdot 10^{-3}$	$0.524 \cdot 10^{-3}$	$0.052 \cdot 10^{-3}$	91	–

$$\text{pK}_a = -\lg K_a$$

$$-\lg K_a = 5.27 \pm 0.10$$

$$K_a = (1.86 \pm 0.1) \cdot 10^{-5}$$

Таблица 6 – расчет константы диссоциации 2-карбоксит-5-фенил-5-(2-аминопиридиinium-1-ил) пента-2,4-диеноата



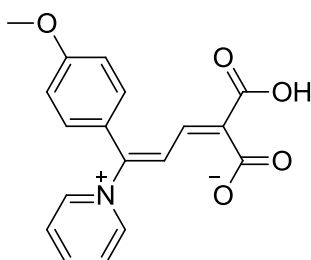
$C_{\text{кисл.}}/C_{\text{исх.}} = 1.21 \cdot 10^{-3}$	$C_{\text{щ.}} = [\text{An}^-]$	$[\text{HAn}] = C_{\text{кисл.}} - C_{\text{щ.}}$	% нейтр.	$pK = pH + \lg \frac{[\text{HAn}]}{[\text{An}^-]}$
$1.20 \cdot 10^{-3}$	$0.547 \cdot 10^{-4}$	$1.145 \cdot 10^{-3}$	5	–
$1.192 \cdot 10^{-3}$	$0.163 \cdot 10^{-3}$	$1.029 \cdot 10^{-3}$	14	–
$1.186 \cdot 10^{-3}$	$0.216 \cdot 10^{-3}$	$0.97 \cdot 10^{-3}$	18	–
$1.180 \cdot 10^{-3}$	$0.268 \cdot 10^{-3}$	$0.912 \cdot 10^{-3}$	23	–
$1.175 \cdot 10^{-3}$	$0.320 \cdot 10^{-3}$	$0.855 \cdot 10^{-3}$	27	–
$1.163 \cdot 10^{-3}$	$0.423 \cdot 10^{-3}$	$0.74 \cdot 10^{-3}$	36	4.09
$1.158 \cdot 10^{-3}$	$0.474 \cdot 10^{-3}$	$0.684 \cdot 10^{-3}$	41	4.19
$1.152 \cdot 10^{-3}$	$0.524 \cdot 10^{-3}$	$0.628 \cdot 10^{-3}$	45	4.22
$1.147 \cdot 10^{-3}$	$0.573 \cdot 10^{-3}$	$0.574 \cdot 10^{-3}$	50	4.38
$1.141 \cdot 10^{-3}$	$0.623 \cdot 10^{-3}$	$0.518 \cdot 10^{-3}$	55	4.62
$1.136 \cdot 10^{-3}$	$0.671 \cdot 10^{-3}$	$0.465 \cdot 10^{-3}$	59	5.00
$1.126 \cdot 10^{-3}$	$0.767 \cdot 10^{-3}$	$0.359 \cdot 10^{-3}$	68	5.34
$1.120 \cdot 10^{-3}$	$0.815 \cdot 10^{-3}$	$0.305 \cdot 10^{-3}$	73	–
$1.115 \cdot 10^{-3}$	$0.862 \cdot 10^{-3}$	$0.253 \cdot 10^{-3}$	77	–
$1.110 \cdot 10^{-3}$	$0.908 \cdot 10^{-3}$	$0.202 \cdot 10^{-3}$	82	–
$1.105 \cdot 10^{-3}$	$0.95 \cdot 10^{-3}$	$0.155 \cdot 10^{-3}$	86	–
$1.1 \cdot 10^{-3}$	$1 \cdot 10^{-3}$	$0.1 \cdot 10^{-3}$	91	–

$$pK_a = -\lg K_a$$

$$-\lg K_a = 4.55 \pm 0.11$$

$$K_a = (3.56 \pm 0.1) \cdot 10^{-6}$$

Таблица 7 – расчет константы диссоциации 2-карбоксит-5-(4-метоксифенил)-5-(пиридиinium-1-ил) пента-2,4-диеноата



$\frac{C_{\text{кисл.}}}{C_{\text{исх.}}} = 1.65 \cdot 10^{-3}$	$C_{\text{щ.}} = [\text{An}^-]$	$[\text{HAn}] = C_{\text{кисл.}} - C_{\text{щ.}}$	% нейтр.	$\text{pK} = \text{pH} + \lg \frac{[\text{HAn}]}{[\text{An}^-]}$
$1.64 \cdot 10^{-3}$	$0.547 \cdot 10^{-4}$	$1.585 \cdot 10^{-3}$	3	–
$1.63 \cdot 10^{-3}$	$0.163 \cdot 10^{-3}$	$1.467 \cdot 10^{-3}$	10	–
$1.62 \cdot 10^{-3}$	$0.216 \cdot 10^{-3}$	$1.404 \cdot 10^{-3}$	13	–
$1.61 \cdot 10^{-3}$	$0.268 \cdot 10^{-3}$	$1.342 \cdot 10^{-3}$	17	–
$1.594 \cdot 10^{-3}$	$0.372 \cdot 10^{-3}$	$1.222 \cdot 10^{-3}$	23	–
$1.586 \cdot 10^{-3}$	$0.423 \cdot 10^{-3}$	$1.163 \cdot 10^{-3}$	27	–
$1.579 \cdot 10^{-3}$	$0.474 \cdot 10^{-3}$	$1.105 \cdot 10^{-3}$	30	4.12
$1.571 \cdot 10^{-3}$	$0.524 \cdot 10^{-3}$	$1.047 \cdot 10^{-3}$	33	4.22
$1.557 \cdot 10^{-3}$	$0.623 \cdot 10^{-3}$	$0.934 \cdot 10^{-3}$	40	4.32
$1.542 \cdot 10^{-3}$	$0.72 \cdot 10^{-3}$	$0.822 \cdot 10^{-3}$	47	4.43
$1.535 \cdot 10^{-3}$	$0.767 \cdot 10^{-3}$	$0.768 \cdot 10^{-3}$	50	4.63
$1.528 \cdot 10^{-3}$	$0.815 \cdot 10^{-3}$	$0.713 \cdot 10^{-3}$	53	4.81
$1.521 \cdot 10^{-3}$	$0.862 \cdot 10^{-3}$	$0.659 \cdot 10^{-3}$	57	5.03
$1.514 \cdot 10^{-3}$	$0.908 \cdot 10^{-3}$	$0.606 \cdot 10^{-3}$	60	5.30
$1.5 \cdot 10^{-3}$	$1 \cdot 10^{-3}$	$0.5 \cdot 10^{-3}$	67	5.55
$1.486 \cdot 10^{-3}$	$1.09 \cdot 10^{-3}$	$0.396 \cdot 10^{-3}$	73	–
$1.48 \cdot 10^{-3}$	$1.13 \cdot 10^{-3}$	$0.35 \cdot 10^{-3}$	76	–
$1.47 \cdot 10^{-3}$	$1.2 \cdot 10^{-3}$	$0.27 \cdot 10^{-3}$	82	–
$1.46 \cdot 10^{-3}$	$1.26 \cdot 10^{-3}$	$0.2 \cdot 10^{-3}$	86	–
$1.45 \cdot 10^{-3}$	$1.35 \cdot 10^{-3}$	$0.1 \cdot 10^{-3}$	93	–
$1.44 \cdot 10^{-3}$	$1.39 \cdot 10^{-3}$	$0.05 \cdot 10^{-3}$	96.5	–

$$\text{pK}_a = -\lg K_a$$

$$-\lg K_a = 4.7 \pm 0.11$$

$$K_a = (5.01 \pm 0.1) \cdot 10^{-6}$$

Проведя анализ возможной биологической активности, при помощи онлайн сервиса Pass online были сделаны выводы о том, что в большей степени бетаиновые структуры обладают противоопухолевой активностью и возможным противосеборейным эффектом. Незамещенный бетаин обладает наибольшим значением этих активностей.

В таблице 8 представлены некоторые значения биологической активности исследуемых веществ при вероятности их возникновения до 70%.

Таблица 8 – Биологическая активность веществ, рассчитанная онлайн сервисом Pass Online

Структурная формула	P_a	P_i	Проявляемая биологическая активность
	0.900	0.003	Ингибитор фосфолипазы
	0.893	0.002	Ингибитор дегидрогеназы
	0.840	0.008	Противоопухолевая
	0.823	0.031	Агонист целостности мембран
	0.818	0.027	Лечение фобических расстройств
	0.801	0.019	Противосеборейное
	0.810	0.011	Ингибитор глюкозооксидазы
	0,755	0,006	Митохондриальный ингибитор пептидазы
	0.738	0.020	Противоопухолевая
	0.854	0.007	Ингибитор глюконата 2-дегидрогеназы
	0.819	0,023	Агонист целостности мембран
	0.798	0.020	Противосеборейное
	0.794	0.013	Противоопухолевое

При изучении полученных данных биологической активности можно увидеть, что проявляемая активность незамещенного бетаина и его производных сходна. Так как выше были рассчитаны константы диссоциации, для каждого из исследуемых веществ, можно вывести некоторую закономерность проявляемой биологической активности от нее.

При этом получается, что чем меньше константа диссоциации, тем выше противоопухолевая биологическая активность. Тот же вывод можно сделать и при противосеборейной активности.

Соединения, входящие в класс бетаинов, за счет гетероциклической структуры являются биологически активными. В связи с этим обусловлен интерес к данным соединениям.

При анализе полученных данных можно сделать вывод о том, что введение различных заместителей придает соединению новые различные биологические активности.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При анализе УФ-спектров и хроматографического поведения бетаинов и их производных в растворах было выявлено наличие нескольких молекулярных форм бетаинов в зависимости от рН среды растворов. По всей видимости, в щелочной среде образуются солевые формы, а в кислой среде идет протонирование атомов, на которых сосредоточен отрицательный заряд.

В Уф-спектрах бетаинов, содержащих электронодонорные заместители, наблюдаются батахромные сдвиги.

Потенциометрическим методом определены константы кислотности исследованных соединений, все они относятся к слабым кислотам.

Структура бетаинов является гетероциклической, поэтому они и проявляют биологическую активность. В программе PASS online были рассчитаны предполагаемые виды биологической активности соединений бетаинов. Установлена корреляция противоопухолевой и противосеборейной активности с кислотными свойствами. БА уменьшается с ростом кислотности. Незамещенный бетаин обладает наибольшим значением этих биологических активностей.

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Lever, M. The clinical significance of betaine, an osmolyte with a key role in methyl group metabolism / M. Lever, S. Slow // *Clinical Biochemistry*. – 2010. – № 43. – P. 732-744.
2. Бахтиярова Ю. В., Галкина И. В., Галкин В. И. Синтез карбоксилатных фосфабетаинов : учеб. метод. пособие к курсам «Органическая химия», «Прикладная химия», «Химическая технология» – Казань: Казан. ун-т, 2013. – 42 с.
3. Ueland, P. M. Betaine: a key modulator of one-carbon metabolism and homocysteine status / P. M. Ueland, P. I. Holm, S. Hustad // *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. – 2005. – № 10. – P. 1069-1075.
4. Craig, S. A. Betaine in human nutrition / S. A. Craig // *American Journal of Clinical Nutrition*. – 2004. – № 80. – P. 539-549.
5. Glycine betaine and glycine betaine analogues in common foods / F. J. Zwart, S. Slow, R. J. Payne, M. Lever et al. // *Food Chemistry*. – 2003. – № 2. – P. 197-204.
6. Relationship of dimethylglycine, choline, and betaine with oxoproline in plasma of pregnant women and their newborn infants / R. W. Friesen, E. M. Novak, D. Hasman, S. M. Innis // *Journal of Nutrition*. – 2007. – № 12. – P. 2641-2646.
7. Recognition of betaine as an inhibitor of lipopolysaccharide-induced nitric oxide production in activated microglial cells / B. Amiraslani, F. Sabouni, S. Abbasi, H. Nazem et al. // *Iran Biomedical Journal*. – 2012. – № 2. – P. 84-89.
8. Хорн, Т. Бетаин или холин с метионином? Каковы преимущества / Т. Хорн, Ж. Ремус // *Журнал комбикорма*. – 2013. – № 8. – С. 64-66.
9. Ashraf, M. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance / M. Ashraf, M. R. Foolad // *Environmental and Experimental Botany*. – 2007. – № 59. – P. 206–216.

10. Living with water stress: Evolution of osmolyte system / P. H. Yancey, M. E. Clark, S. C. Hand, R. D. Bowles et al. // *Science*. – 1982. – № 217. – P. 1214–1222.
11. Савина О. В. Биохимия растениеводческой продукции. – Рязань: РГАТУ, 2013. – 210 с.
12. Bruzdziak, P. Influence of osmolytes on protein and water structure: a step to understanding the mechanism of protein stabilization / P. Bruzdziak, A. Panuszko, J. Stangret // *Journal of Physical Chemistry B*. – 2013. – № 46. – P. 11502–11508.
13. Mathlouthi, M. Physicochemical properties of betain-water solutions and their possible applications to cosmetic formulations / M. Mathlouthi // Final report of contract with Finnsugar Bioproducts, University of Reims. 1997.
14. Rhodes, D. Quaternary ammonium and tertiary sulfonium compounds in higher plants / D. Rhodes, A. D. Hanson // *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*. – 1993. – № 44. – P. 357–384.
15. Bolen, D. W. The osmophobic effect: natural selection of a thermodynamic force in protein folding / D. W. Bolen, I. V. Baskakov // *Journal of Molecular Biology*. – 2001. – № 310. – P. 955–963.
16. Glycine betaine accumulation, ionic and water relations of red-beet at contrasting levels of sodium supply / G. V. Subbarao, R. M. Wheeler, L. H. Levine, G. W. Stutte // *Journal of Plant Physiology*. – 2001. – № 158. – P. 767–776.
17. Synthesis of Carboxylate Phosphobetaines from 3-(Diphenylphosphino) propanoic Acid and Unsaturated Monocarboxylic Acids / Yu. V. Bakhtiyarova, R. R. Minnullin, I. V. Galkina, R. A. Cherkasov et al. // *Russian journal of general chemistry*. – 2015. – V. 85, № 9. – P. 2037-2041.
18. Сатхеев, В. В. Карбоксилатные фосфабетайны в реакциях алкилирования и комплексообразования: автореф. дис. ... канд. хим. наук : 02.00.08 / В. В. Сатхеев. – Казань, 2011. – 21 с.

19. Мальцев, Д. Б. Кинетика и механизм реакций образования фосфабетаинов и реакций с их участием: дис. ... канд. хим. наук : 02.00.08 / Д. Б. Мальцев – Казань, 2007. – 116 с.

20. The synthesis and reactions of betaines formed in reactions of tertiary phosphines with unsaturated carboxylic acids and their derivatives / V. I. Galkin, Yu. V. Bakhtiyarova, R. I. Sagdieva, I. V. Galkina et al. // *Heteroatom Chemistry*. – 2006. – V. 17, № 6. – P. 557-566.

21. Добрынина, В. И. Руководство к практическим занятиям по биологической химии / В. И. Добрынина, Е. Я. Свешникова. – М. : Медицина, 1967. – 343 с.

22. Садыков, А. С. Химия алкалоидов / А. С. Садыков. – Ташкент: Акад. наук УзССР, 1956. – 224 с.

23. Семенов, А. А. Очерк химии природных соединений / А. А. Семенов. – Новосибирск: Наука, 2000. – 664 с.

24. Synthesis, structure and reactivity of carboxylate phosphobetaines / V. I. Galkin, Yu. V. Bakhtiyarova, N. A. Polezhaeva, R. A. Cherkasov et al. // *Phosph. Sulfur. Silicon and Relat. Elem.* – 1999. – V. 919. – P. 144-146.

25. Living with water stress: Evolution of osmolyte system / P. H. Yancey, M. E. Clark, S. C. Hand, R. D. Bowles // *Science*. – 1982. – № 217. – P. 1214–1222.

26. Bruzdziak, P. Influence of osmolytes on protein and water structure: a step to understanding the mechanism of protein stabilization / P. Bruzdziak, A. Panuszko, J. Stangret // *Journal of Physical Chemistry B*. – 2013. – № 46. – P. 11502–11508.

27. Ueland, P. M. Betaine: a key modulator of one-carbon metabolism and homocysteine status / P. M. Ueland, P. I. Holm, S. Hustad // *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. – 2005. – № 10. – P. 1069–1075.

28. EFSA Scientific Opinion on the safety and efficacy of betaine anhydrous as a feed additive for all animal species based on a dossier submitted by Danisco Animal Nutrition // *EFSA Journal*. – 2013. № 11(5). – P. 3209.

29. Поклонский, Н. А. Точечные группы симметрии / Н. А. Поклонский. – Мн.: БГУ, 2003. – 222 с.
30. Betaines derived from amino and hydrazino acids as phase transfer catalysts / Y. Goldberg, E. Åbele, G. Bremanis, P. Trapenciers et al. // *Tetrahedron*. – 1990. – № 6. – P. 1911–1922.
31. Nyrönen, T. H. Why betaine crystallizes in high local Cs symmetry. An ab initio MO and DFT study of anhydrous betaine and betaine monohydrate / T. H. Nyrönen, R. Suontamo, I. Pitkänen // *Theoretical Chemistry Accounts*. – 1999. – V. 101, № 1–3. – P. 209–214.
32. Бетаины / И. Л. Кнунянц. – М. : Советская энциклопедия, 1961. – Т. 1. – С. 428.
33. Казанцев О. А. Синтез карбокси- и сульфобетаинов на основе третичных аминов и ненасыщенных кислот / О. А. Казанцев, С. А. Казаков, К. В. Ширшин // *Ж. орг. химии*. – 1999. – Т. 35, № 3. – С. 363–368.
34. Schmidt, A. On Benzo[b][1.4]diazepinium-olates, -thiolates and -carboxylates as Anti-Hückel Mesomeric Betaines. / A. Schmidt, A. G. Shilabin, M. Nieger // *Org. Biomol. Chem*. – 2003. – V. 1 – P. 4342–4350.
35. Синтез и свойства фосфобетаиновых структур: трифенилфосфоний этилкарбоксилат в реакциях с диполярными электрофильными реагентами / В. И. Галкин, Ю. В. Бахтиярова, Р. И. Сагдиева, И. В. Галкина, Р. А. // *Ж. общ. химии*. – 2007. – Т. 76, № 3. – С. 452–458.
36. Поверхностно-активные вещества и полимеры в водных растворах / К. Холмберг ; под ред. Б. Д. Сумма ; пер. с англ. Г. П. Ямпольской. – 2-е изд. – Москва : Бинум. Лаб. знаний, 2013. – 528 с.
37. Antimicrobial activity of betaine esters, quaternary ammonium amphiphiles which spontaneously hydrolyze into nontoxic components Antimicrob / M. Lindstedt, S. Allenmark, R. A. Thompson, L. Edebo // *Agents Chemother*. – 1990. – № 34. – P. 1949–1954.

38. Thompson, R. A. Factors Influencing the Micellar Catalyzed Hydrolysis of Long-Chain Alkyl Betainates / R. A. Thompson, S. Allenmark // *J. Colloid Interface Sci.* – 1992. – V. 148, № 1. – P. 241-246.

39. Edmonds, I. S. Arseno-sugars from brown kelp (*Ecklonia radiata*) as intermediates in cycling of arsenic in a marine ecosystem / I. S. Edmonds, K. A. Francesconi // *Nature.* – 1981. – V. 289, № 5798. – P. 602-604.

40. Kaise, T. The acute toxicity of arsenobetaine / T. Kaise, Sh. Watanabe, K. Itoh // *Chemosphere.* – 1985. – V. 14, № 9. – P. 1327-1332.

41. Genotoxicity testing of arsenic in marine fisher products / W. M. Jongen, J. M. Cardinaals, P. M. Bos, P. Hagel // *Food and Chem. Toxicol.* – 1985. – V. 23, № 7. – P. 669-673.

42. Conway, H. A. Sorption of arsenic and cadmium and their effects in growth, micronutrient utilization, and photosynthetic pigment composition of *Asteionella Formosa* / H. A. Conway // *J. Fish Res. Board. Canad.* – 1988. – V. 35, № 3. – P. 286-294.

43. Бенсон, Е. О мышьяке, водорослях, безоаровом камне и загрязнении среды / Е. Бенсон // *Химия и жизнь.* – 1980. – № 3. – С. 27-30.

44. Производное метил-аквокобириновой кислоты, композиция для алкилирования и способ детоксификации вредного соединения путем использования композиции : пат. 2441014 Рос. Федерация: МПК⁷ C07F 15/06 B09C 1/02 C02F 11/00 / К. Накамура, Й. Хисаеда, Л. Пан; заявитель и патентообладатель Nippon Sheet Glass Co., Ltd. – № 2009106658/04; заявл. 24.07.07; опубл. 27.01.12, Бюл. № 3. – 43 с.

45. Edmonds, I. S. Arseno-sugars from brown kelp (*Ecklonia radiata*) as intermediates in cycling of arsenic in a marine ecosystem / I. S. Edmonds, K. A. Francesconi // *Nature.* – 1981. – V. 289, № 5798. – P. 602-604.

46. Michaelis, A. Uber aromatische Arsenverbindungen / A. Michaelis // *Lieb. Ann.* – 1902. – Bd.321. – S. 208-211.

47. Ramirez, F. Triphenylphosphineacylmethylenes / F. Ramirez, S. Dershowits // *J. Org. Chem.* – 1967. – V. 32, № 11. – P. 41-45.

48. Гамаюрова, В. С. Мышьяк в экологии и биологии / В. С. Гамаюрова. М.: Наука, 1993. – 208 с.
49. Шулаева, М. М. Синтез и исследование арсенобетайнов и их галоидоводородных солей : автореф. дис. ... канд. хим. наук : 02.00.08 / М. М. Шулаева. – Казань, 1997. – 17 с.
50. Гамаюрова, В. С. Синтез и исследование галоидных солей трифениларсенобетайнов / В. С. Гамаюрова, М. М. Шулаева, М. А. Сысоева, Ф. Г. Халитов // ЖОХ. – 1997. – Т. 67, № 8. – С. 1294-1300.
51. Wittmann, H. Uber Reaktionen mit Betain, 3 Mitt. Uber das Verhalten von Betainen gegenuber Phenylisocyanat / H. Wittmann, E. Ziegler // Monatsh. Chem. – 1969. – Bd. 100. – S. 1362 -1367.
52. Wittmann, H. Uber Reaktionen mit Betain, 23 Mitt. Uber Umsetzungen von Nund S-Betainen mit reaktiven Halogenverbindungen / H. Wittmann, E. Ziegler // Monatsh. Chem. – 1988. – Bd. 119. – S. 103-111.
53. Wittmann, H. Uber Reaktionen mit Betain, 20 Mitt. Senthesen stabiler S-Yliden / H. Wittmann, E. Ziegler, H. Sterk // Monatsh. Chem. – 1985. – Bd. 116. – S. 1189-1198.
54. Forbes, D. C. Sulfur Ylides via Decarboxylation of Carboxymethylsulfonium Betaines: A Novel and Mild Protocol for the Preparation of Oxiranes / D. C. Forbes, M. C. Standen, D.L. Lewis // Org. Lett. – 2003. – V. 5, № 13. – P. 2283-2286.
55. Ratts, K. W. Stable Sulfonium Ylids / K. W. Ratts, A. N. Yao // J. Org. Chem. – 1966. – V. 31. – P. 1185-1188.
56. Нейланд, О. Новый принцип получения йодониевых соединений / О. Нейланд, Г. Ванаг // Докл. АН СССР. – 1961. – Т. 141, 4. – С. 872–874.
57. Fieser, L. F. 1,2,3,4-tetraphenylnaphthalene / L. F. Fieser, H. Haddadin // J. Org. Synth. Coll. – 1973. – V. 5. – P. 1037.
58. Beringer, F. M. Rearrangement and Cleavage of 2-Aryliodonobenzoates. Trapping Agents for Benzyne / F. M. Beringer, S. J. Huang // J. Org. Chem. – 1964. – V. 29. – P. 445-448.

59. Synthesis, structure and reactivity of carboxylate phosphobetaines / V. I. Galkin, Yu. V. Bakhtiyarova, N. A. Polezhaeva, R. A. Cherkasov et al. // *Phosph. Sulfur. Silicon and Relat. Elem.* – 1999. – V. 919. – P. 144-146.
60. Пурдела, Д. Химия органических соединений фосфора / Д. Пурдела, Р. Вылчану. – М. : Химия, 1972 . – 752 с.
61. Michaelis, A. Ueber Triphenylphosphine und einige Derivate desselben. / A. Michaelis, H. V. Soden // *Ann.* – 1885. – Bd. 229. – S. 295-340.
62. Jensen, K. A. Uber die Konstitution einiger Additions Verbindungen von tertiaren Aminen und Phosphinen / K. A. Jensen // *J. Prakt. Chem.* – 1937. – Bd. 148. – S. 101-106.
63. Margulis, T. N. Crystal and molecular structure of the compound of the triethylphosphine and disulfide / T. N. Margulis, D. H. Templeton // *J. Am. Chem. Soc.* – 1961. – V. 83, № 4. – P. 995-996.
64. Hofmann, A. Beobachungen vermischten inhalts / A. Hofmann // *Ber.* – 1870. – Bd. 3. – S. 761-772.
65. Horner, L. Zum Nachweis des polaren Characters in DoppelbindungsSystemen. II. Phosphororganische Verbindungen. / L. Horner, K. Klupfel // *Ann.Chem.* – 1955. – V. 591, № 2. – P. 69-98.
66. Roesky, H. W. Phosphorbetaine. / H. W. Roesky, Y. Sidiropoulos // *Angew. Chem.* – 1976. – V. 88, № 22. – P. 759-762.
67. Acsness, G. Alkaline decomposition of some quarternary phousphonium compounds containing oxygen. / G. Acsness // *Acta. Chem. Scand.* – 1961. – V. 15, № 2. – P. 438-440.
68. Denney, D. B. Synthesis and structure of some phosphobetaines / D. B. Denney, L. C. Smith // *J. Org. Chem.* – 1962. – V. 27, № 10. – P. 2214-2217.
69. Ramirez, F. The Structure of Quinone-Donor Adduct. I. The Action of triethylphosphine on p-Benzoquinone 2,5-Dichloro-P-benzequinone and Chloranil / F. Ramirez, S. Dershowits // *J. Am. Chem. Soc.* – 1956. – V. 78, № 5 – P. 5614-5622.

70. Horner, L. Zur anionotropen polymerisationsauslösung bei olefinen. Tetriäre Phosphine / L. Horner, K. Klupfel // Ann. Chem. – 1955. – V. 591, № 2. – P. 69-98.

71. Гололобов, Ю. Г. Новая химия 2-цианакрилатов / Ю. Г. Гололобов, Г. Д. Коломникова, Т. О. Крылова // Ж. общ. хим. – 1994. – Т. 64, № 3. – С. 411-419.

72. Стабильные цвиттер-ионы на основе этил-2-цианоакрилата и третичных фосфинов / Т. О. Крылова, Г. Д. Коломникова, И. А. Гарбузова, Ю. Г. Гололобов // Ж. общ. хим. – 1994 – Т. 64, № 3. – С. 409-410.

73. Алкилирование Р-содержащих цвиттер-ионов на основе 2-цианакрилатов / Т. О. Крылова, Г. Д. Коломникова, П. В. Петровский, Ю. Г. Гололобов // Изв. АН. Серия химическая. – 1994. – № 9. – С. 1641-1643.

74 Denney, D. V. Synthesis and structure of some phosphobetaines / D.V. Denney, L. C. Smith // J. Org. Chem. – 1962. – V. 27, № 10. – P. 2214-2217.

75. Бахтиярова, Ю. В. Синтез, строение и реакционная способность фосфабетайнов на основе третичных фосфинов и непредельных карбоновых кислот : дис. ... канд. хим. наук. – Казань, 2001. – 124 с.

76. Галкин В. И. Синтез и свойства фосфабетайновых структур. II. Синтез и молекулярная структура трифенилфосфонийэтилкарбоксилата и продуктов его алкилирования / В. И. Галкин, Ю. В. Бахтиярова, Н. А. Полежаева, И. В. Галкина и др. // ЖОХ. – 2002. - Т. 72, № 3. – С. 404-411.

77. Галкина, И. В. Элементоорганические бетаины / И. В. Галкина, Ю. В. Бахтиярова, В. И. Галкин // Казань – 2007. – 24 с.

78. Брусиловец, А. И. Реакция 1,3,2,4-оксазафосфатитанетидинов с сероуглеродом. / А. И. Брусиловец, В. Г. Бджола // Докл. НАН Украины. – 1998. – № 4. – С. 171-173.

79. Narayanan, S. Novel synthesis of ω -(diphenylphosphinyl)alkylcarboxylic acids from triphenyl- ω -carboxyalkylphosphonium salts / Narayanan S. Kolazi K. Darell // J. Org. Chem. – 1980. – V. 45, № 7. – P. 2240-2243.

80. Corey, E. J. Dimethylsulfonium Methylide, a Reagent for Selective Oxirane Synthesis from Aldehydes and Ketones / E. J. Corey, M. Chaykovsky // J. Am. Chem. Soc. – 1962. – V. 84 (19). – P. 3782-3783.

81. Галкин, В. И. Кинетика и механизм образования карбоксилатных фосфабетаинов в реакции третичных фосфинов с непредельными карбоновыми кислотами / В. И. Галкин, Д. Б. Мальцев, А. А. Собанов, Ю. В. Бахтиярова, В. Л. Горохов // Ученые записки Казанского университета. Естественные науки. – 2006. – Т. 148, № 4. – С. 17-26.

82. Staudinger, H. Über neue organische Phosphorverbindungen III. Phosphinmethylenderivate und Phosphinimine / H. Staudinger, J. Meyer // Helv. Chem. Acta. – 1919. – Bd. 2, H. 1. – S. 635-646.

83. Lüscher, G. Beitrag zur Konstitution der aliphatischen Diazokörper und Hydrazone neue organische Phosphorverbindungen / Lüscher G. // Reaktionen tertiärer Phosphine mit aliphatischen Diazokörpern, ein Beitrag zur Konstitutionsaufklärung der Diazokörper und Hydrazone: Von der Eidgenössischen Technischen Hochschule in Zürich. – Zürich, 1922. – P. 4-19.

84. Wittig, G. Darstellung und Eigenschaften des Pentaphenylphosphors / G. Wittig, M. Rieber // EurJoc. – 1949. – V. 562, № 3. – P. 187-192.

85. Wittig, G. Über Triphenylphosphinmethylene als olefinbildende Reagenzien I. Mitteil. / G. Wittig, U. Schöllkopf // Chem. Ber. – 1954. – V. 87, № 9. – P. 1318-1330.

86. The Wittig Synthesis. I. Use of Certain Aliphatic Aldehydes As Intermediates in the Synthesis of Olefins / C. F. Hauser, T. W. Brooks, M. L. Miles, M. A. Raymond, G. B. Butler // J. Org. Chem. – 1963. V. 28 (2). – P. 372-379.

87. Sugasawa, S. α , β -Unsaturated esters by application of Wittig reaction / S. Sugasawa, H. Matsuo // Chem. Pharm. Bull. – 1960. – V. 8, № 9. – P. 819-826.

88. Johnson, A. W. The Chemistry of Ylids. VI. Dimethylsulfonium Fluorenylide-A Synthesis of Epoxides / A. W. Johnson, R. B. LaCount // J. Am. Chem. Soc. – 1961. – V. 83. – P. 417-423.

89. Schlosser, M. Zwischenstufen der Wittig-Reaktion mit nicht stabilisierten Phosphoryliden / M. Schlosser, K. F. Christmann // *Angew. Chem.* – 1964. – V. 76, № 15. – P. 6823-684.
90. Horner, L. Phosphororganische Verbindungen, XIX. Reduktion von Phosphorverbindungen mit Alkalimetallen / L. Horner, P. Beck, H. Hoffmann // *Chem. Ber.* – 1959. – V. 92, № 9. – P. 2088-2094.
91. Greenwald, R. The Wittig Reaction Using Methylsulfinyl Carbanion-Dimethyl Sulfoxide / R. Greenwald, M. Chaykovsky, E. J. Corey // *J. Org. Chem.* – 1963. – № 28(4). – P. 1128-1129.
92. Wittig, G. Abwandlung der Phosphylen- Methodik; zugleich III. Mitteil. über Phosphin-alkylene als olefinbildende Reagenzien / G. Wittig, H. D. Weigmann, M. Schlosser // *Chem. Ber.* – 1961. – V. 94, № 3. – P. 676-689.
93. Wittig, G. Über Phosphin-alkylene als olefinbildende Reagenzien, VIII. Allenderivate aus Ketenen / G. Wittig, A. Haag // *Chem. Ber.* – 1963. – V. 96, № 6. – P. 1535-1543.
94. Wittig, G. Zur reaktionsweise des pentaphenyl-phosphors und einiger derivate / G. Wittig, G. Geissler // *Liebigs Ann. Chem.* – 1953. – V. 580. – P. 44-57.
95. Speziale, A. J. The Reactions of Phosphorus Compounds. VIII. Kinetics and Mechanism of the Wittig Reaction / A. J. Speziale, D. E. Bissing // *J. Am. Chem. Soc.* – 1963. – V. 85(23). – P. 3878-3884.
96. Wittig, G. Über Triphenyl-phosphinmethylene als olefinbildende Reagenzien (II. Mitteil) / G. Wittig, W. Haag // *Chem. Ber.* – 1955. – V. 88, № 11. – P. 1654-1666.
97. Trippett, S. The Wittig Reaction / S. Trippett // *Pure and Applied Chem.* – 1964. – V. 9. – P. 255-269.
98. Fliszár, S. Etude du mécanisme de la réaction des dérivés phosphométhyléniques et des phosphobétaïnes avec le benzaldéhyde / S. Fliszár, R. F. Hudson, G. Salvadori // *Helv. Chim. Acta.* – 1963. – V. 46, № 5. – P. 1580-1588.

99. Джонсон, А. Химия илидов / А. Джонсон. – М.: Мир, 1969. – 400 с.
100. Ketcham, R. The Preparation of cis-4-Nitro-4'-methoxystilbene via the Wittig Reaction / R. Ketcham, D. Jambotkar, L. Martinelli // J. Org. Chem. – 1962. – № 27(12). – P. 4666-4667.
101. Drefahl, G. Zur Stereochemie der WITTIG- Reaktion / G. Drefahl, D. Lorenz, G. Schnitt // J. Prakt. Chem. – 1964. – V. 23, № 3-4. – P. 143-148.
102. Бергельсон, Л. Д. Влияние внешних факторов на механизм и стерическую направленность реакции Виттига / Л. Д. Бергельсон, В. А. Вавер, Л. И. Барсуков, М. М. Шемякин. – Докл. АН СССР, 1962. – С. 111–114.
103. House, H. O. The Chemistry of Carbanions. VI. Stereochemistry of the Wittig Reaction with Stabilized Ylids / H. O. House, V. K. Jones, G. A. Frank // J. Org. Chem. – 1964. – № 29(11). – P. 3327-3333.
104. Сакодынский, К. И. Аналитическая хроматография / К. И. Сакодынский, В. В. Бражников, С. А. Волков, В. Ю. Зельвенский, Э. С. Ганкина, В. Д. Шатц. - М.: Химия, 1993. – С.464 .
105. Березкина, В. Г. Препаративная газовая хроматография / В. Г. Березкина, К. И. Сакодынский. – М.: Мир, 1994 - 408 с.
106. Шатц, В. Д. Высокоэффективная жидкостная хроматография / В. Д. Шатц, О. В. Сахартова. – Рига: Зинатне, 1988. – С.390.
107. Схунмакерс, П. Оптимизация селективности в хроматографии / П. Схунмакерс // – Москва: Мир, 1989. – 399 с.
108. Espinosa, S. Retention of ionizable compounds in high-performance liquid chromatography IX. Modelling retention in reversedphase liquid chromatography as a function of pH and solvent composition with acetonitrile - water mobile phases II / S. Espinosa, E. Bosch, M. Roses // J. Chrom. A. – 2002. – № 947. – P. 47-58.
109. NMR spectra of betaines from marine algae / G. Blunden, S. M. Gordon, T. A. Crabb, O. G. Roch et al. // Magnetic Resonance in Chemistry. – 1986. – № 24. – P. 965-971.

110. Deletion of the betaine-GABA transporter (BGT1; slc6a12) gene does not affect seizure thresholds of adult mice / A. C. Lehre, N. M. Rowley, Y. Zhou, S. Holmseth et al. // *Epilepsy Research*. – 2011. – № 95. – 70-81.

111. McCalley, D. V. Is hydrophilic interaction chromatography with silica columns a viable alternative to reversed-phase liquid chromatography for the analysis of ionisable compounds? / D. V. McCalley // *Journal of Chromatography A*. – 2007. – № 1171. – P. 46-55.

112. Hydrophilic interaction chromatography / M. R. Gama, R. G. da Costa Silva, C. H. Collins, C. B. G. Bottoli // *Trends in Analytical Chemistry*. – 2012. – № 37. – P. 48-60.

113. Alpert, A. J. Hydrophilic-interaction chromatography for the separation of peptides, nucleic acids and other polar compounds / A. J. Alpert // *Journal of Chromatography A*. – 1990. – № 499. – P. 177–196.

114. Orth, P. Separation of sugars on chemically modified silica gel / P. Orth, H. Engelhardt // *Chromatographia* 2. – 1982. – № 15. – P. 91-96.

115. Hemström, P. Hydrophilic interaction chromatography / P. Hemström, K. Irgum // *Journal of Separation Science*. – 2006. – № 12. – P. 1784–1821.

116. Dejaegher, B. Method development for HILIC assays / B. Dejaegher, D. Mangelings, Y. Vander Heyden // *Journal of Separation Science*. – 2008. – № 9. – P. 1438–1448.

117. Dejaegher, B. HILIC methods in pharmaceutical analysis / B. Dejaegher, Y. Vander Heyden // *Journal of Separation Science*. – 2010. – № 6. – P. 698–715.

118. Hydrophilic interaction chromatography / M. R. Gama, R. G. da Costa Silva, C. H. Collins, C. B. G. Bottoli // *Trends in Analytical Chemistry*. – 2012. – № 37. – P. 48–60.

119. Li, R. Chromatographic behavior of epirubicin and its analogues on high-purity silica in hydrophilic interaction chromatography / R. Li, J. Huang // *Journal of Chromatography A*. – 2004. – № 1. – P. 163–169.

120. Recent advances in application of hydrophilic interaction chromatography for quantitative bioanalysis / W. Jian, R. W. Edom, Y. Xu, N. Weng // *Journal of Separation Science*. – 2010. – № 6. – P. 681–697.

121. Lehnert, P. Underivatized amylose and cellulose as new stationary phases for hydrophilic interaction chromatography / P. Lehnert, M. Douša, K. Lemr // *Journal of Separation Science*. – 2013. – № 20. – P. 3345–3350.

122. McCalley, D. V. Is hydrophilic interaction chromatography with silica columns a viable alternative to reversed-phase liquid chromatography for the analysis of ionisable compounds? / D. V. McCalley // *Journal of Chromatography A*. – 2007. – № 1–2. – P. 46–55.

123. Сапрыкина, Л. В. Новые методические приемы разделения высокополярных соединений в практике ВЭЖХ : автореф. дис. ... канд. хим. наук: 05.11.11 / Л. В. Сапрыкина. – Москва, 2008. - 23 с.

124. Сапрыкин, Л. В. Динамическое модифицирование хроматографических систем в практике ВЭЖХ / Л. В. Сапрыкин, Л. В. Сапрыкина // Тезисы доклада. Всероссийской конференции «Теория и практика хроматографии. Применение в нефтехимии». – Самара, 2005. – С. 43.