

На правах рукописи



Иванова Юлия Павловна

**РАЗДЕЛЕНИЕ, ИДЕНТИФИКАЦИЯ И ПРОГНОЗИРОВАНИЕ
СОРБЦИОННОГО ПОВЕДЕНИЯ НОВЫХ АЗОТСОДЕРЖАЩИХ
ГЕТЕРОЦИКЛИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ В УСЛОВИЯХ
ХРОМАТО-МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ**

1.4.4. – Физическая химия

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Москва
2026

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина Российской академии наук (ИФХЭ РАН).

Научный руководитель: член-корреспондент РАН, д.х.н., профессор
Буряк Алексей Константинович.

Официальные оппоненты: член-корреспондент РАН, д.х.н.,
Хамизов Руслан Хажсетович
Федеральное государственное бюджетное
учреждение науки Ордена Ленина и Ордена
Октябрьской Революции Институт геохимии и
аналитической химии им. В.И. Вернадского
Российской академии наук.

кандидат химических наук,
Борисов Роман Сергеевич
Федеральное государственное бюджетное
учреждение науки Институт нефтехимического
синтеза им. А.В. Топчиева Российской академии
наук.

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего
образования «Российский химико-
технологический университет имени
Д.И. Менделеева»

Защита состоится «24» декабря 2026 года в 14:00 часов на заседании совета по защите докторских и кандидатских диссертаций Д 24.1.141.03 при ИФХЭ РАН по адресу: 119071, г. Москва, Ленинский пр-т, д. 31, корп. 4.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ИФХЭ РАН (г. Москва, Ленинский пр-т, д. 31, корп. 4).

Просим электронные варианты отзывов направлять по адресу: t.aslamazova@yandex.ru

Автореферат разослан «___» _____ 2026 года.

Ученый секретарь Совета

кандидат химических наук



Т.Р. Асламазова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность и степень разработанности темы исследования

Поиск новых лекарственных препаратов и разработка методик их синтеза и анализа является важной задачей современной науки, так как существует множество примеров адаптации патогенных микроорганизмов к имеющимся медикаментозным средствам снижения их активности или подавления жизнедеятельности. Развитие методов диагностики и исследования механизмов лечения различных заболеваний также нуждаются в подборе препаратов, имеющих в своём составе действующие вещества с определёнными заданными биологическими или физико-химическими свойствами. В связи с этим особое значение приобретают методы качественного и количественного анализа не только синтезируемых соединений, но и выделяемых из биологических объектов их метаболитов. Применяемые средства исследования должны обладать достаточной чувствительностью, эффективностью и экспрессностью, при этом обеспечивать надёжную идентификацию определяемых лекарственных соединений как на стадии их синтеза и очистки, так и при оценке фармакокинетики и фармакодинамики по образующимся метаболитам. Подобным сочетанием качеств обладают физико-химические методы, зарекомендовавшие себя не только в области химии, но и в междисциплинарных исследованиях.

Наибольшее распространение среди таких методов получила высокоэффективная жидкостная хроматография в комбинации с масс-спектрометрическим детектированием в тандемном режиме (ВЭЖХ-МС/МС). Хроматография – это высокоинформативный инструмент анализа, позволяющий получать данные о влиянии структурных параметров соединений на их физико-химические характеристики, приводящие к пониманию реализуемых в различных системах межмолекулярных взаимодействий. На основании этого удаётся разрабатывать эффективные методики разделения изомерных соединений, а привлечение квантово-химических методов способствует развитию прогностических моделей, необходимых для оптимизации условий эксперимента. Важным этапом является выбор сорбентов, которые за счёт определённых межмолекулярных взаимодействий обеспечат различия в скорости элюирования молекул, тем самым обеспечив высокую селективность разделения. Метод масс-спектрометрии позволяет установить молекулярную массу соединений, а исследование спектров ионизации, полученных в тандемном режиме, помогает в определении их структурной формулы (особенно в сочетании с данными других физико-химических методов, таких как спектроскопия ядерного магнитного резонанса и инфракрасная спектроскопия). Получение информации о структурной формуле молекул является важным аспектом в установлении связи между их строением и физико-химическими, биологическими и сорбционными характеристиками, что особенно актуально при прогнозировании свойств по структуре не синтезированных ранее веществ. Такой подход направлен на совершенствование гибридных методик исследования, разделения и идентификации комплексными хромато-масс-спектрометрическими методами.

Гетероциклические соединения на основе азота прекрасно проявили себя в качестве средств лекарственной терапии, направленной против вирусов, грибов и бактерий. Структура данного класса органических веществ легко поддаётся разнообразным модификациям, в результате которых могут быть привиты к циклу различные заместители, кардинальным образом изменяющие свойства молекул. Среди известных на сегодняшний день медикаментозных средств большой популярностью пользуются препараты на основе пяти- и шестичленных азотсодержащих гетероциклов, такие как триазолы, пиридины, пиримидины и др. По этой причине в качестве объектов исследования были выбраны производные 1,2,4-триазола, урацила и флексимерные производные пиридина, пиримидина, пиррола и пиазола, в которых пяти- и шестичленные гетероциклы связаны через гибкую углерод-углеродную связь.

Бесконтрольное применение пациентами антибиотиков, а также естественные мутации вирусов и бактерий, приводят к появлению у последних резистентности к имеющимся лекарствам, однако изменение состава и структуры действующих веществ, содержащих азотистые гетероциклические фрагменты, позволяет добиться требуемой терапии. Последние исследования в области иммунологии, направленные на выявление связи между действием фермента человеческой пуриновой нуклеозидфосфорилазы (*hPNP*) и появлением некоторых аутоиммунных и онкологических заболеваний, привели к открытию веществ-ингибиторов данного фермента. Их практическое применение обусловлено плановыми хирургическими вмешательствами при трансплантологии, когда появляется необходимость искусственного подавления иммунитета с целью предотвращения отторжения организмом-реципиентом чужеродных донорских клеток. В качестве таких ингибиторов могут применяться аналоги пуриновых оснований и нуклеозидов с очень гибкой структурой, такие как флексимерные производные пиридина и пиримидина.

Поскольку в процессе синтеза целевых соединений в качестве побочных продуктов реакции могут образовываться вещества, близкие по структуре, но не имеющие требуемой биологической активности, то большое внимание следует уделять подбору аналитической методики, направленной на идентификацию и эффективное разделение синтезируемых веществ. Методы жидкостной хроматографии являются в данном случае приоритетными, поскольку обладают возможностью добиваться высокой эффективности и селективности при правильной оптимизации условий и выборе подходящего сорбента. Однако задача идентификации структурно близких гетероциклических соединений с помощью методов масс-спектрометрии является довольно трудоёмкой, поскольку имеющиеся базы данных спектров, получаемых совместимыми с жидкостной хроматографией способами ионизации, зачастую невелики. К тому же, органические вещества обладают довольно сложным строением, так как образуют изомерные соединения (оптические, геометрические, конформационные), не позволяющие достоверно идентифицировать структурную формулу их молекул, поскольку результаты фрагментации изомеров приводят к получению схожих масс-спектров.

В связи с указанными трудностями большую популярность приобретают методы математического моделирования, направленные на установление корреляционных зависимостей между структурой органических соединений и их свойствами. Возможность прогнозирования сорбционного поведения органических соединений в условиях жидкостной хроматографии позволила бы сократить время эксперимента и помочь в идентификации ранее не изученных веществ. Таким образом, результаты комплексного исследования азотсодержащих гетероциклов, включающего установление закономерностей адсорбции и фрагментации в зависимости от состава и строения молекул, могут быть полезны при разработке эффективных и надёжных аналитических методик качественного и количественного определения как на стадии производства, так и при изучении механизмов действия лекарственных препаратов на их основе.

Цели и задачи исследования

Цель работы заключалась в разработке наиболее эффективных методик разделения и идентификации хроматографическими и масс-спектрометрическими методами структурно близких азотсодержащих гетероциклических соединений, являющихся производными 1,2,4-триазола, пиридина и пиримидина и проявляющих биологическую активность, основанных на физико-химических представлениях о влиянии строения и положения заместителей на адсорбцию. Для достижения поставленной цели выполнены следующие задачи:

1. Изучить особенности сорбционного поведения азотсодержащих гетероциклов на поверхности различных сорбентов в условиях ОФ ВЭЖХ с применением квантово-химических методов характеристики структуры молекул.
2. Получить методом регрессионного анализа корреляционные уравнения, связывающие хроматографические параметры с физико-химическими, зависящими от структурной формулы гетероциклических соединений, и оценить возможность их применения при прогнозировании сорбционного поведения в условиях ОФ ВЭЖХ ранее не исследованных соединений.
3. Изучить закономерности фрагментации молекул производных пиридина и пиримидина при ионизации электрораспылением для поиска набора характеристических ионов, позволяющих ускорить процесс идентификации производных урацила и флексимерных производных пиридина и пиримидина с использованием метода tandemной масс-спектрометрии.
4. Провести квантово-химические вычисления наиболее устойчивых протонированных форм молекул для определения наиболее вероятных направлений фрагментации производных пиридина и пиримидина в условиях tandemной масс-спектрометрии.

Научная новизна

1. Методом ВЭЖХ на различных сорбентах исследована сорбция ряда производных 1,2,4-триазола, урацила и флексимерных производных пиридина и пиримидина, содержащих два различных гетероциклических фрагмента.
2. Разработана методика разделения структурно близких азотсодержащих гетероциклических соединений на поверхности пористого графитированного углерода с применением ВЭЖХ, а также охарактеризовано влияния заместителей на адсорбционное поведение.
3. С помощью методов квантово-химического моделирования и множественной линейной регрессии впервые получены корреляционные уравнения, описывающие взаимосвязь между физико-химическими параметрами и топологическими индексами производных урацила и флексимерных производных пиримидина, которые могут быть использованы для прогнозирования удерживания близких по структуре соединений из указанных рядов гетероциклов.
4. Методом ВЭЖХ-МС/МС высокого разрешения при ионизации электрораспылением получены наборы характеристических фрагментных ионов и определены их брутто-формулы для упрощения идентификации структурно близких производных пиридина, пиримидина.
5. С применением методов квантово-химического моделирования рассчитаны энергетические параметры и определены наиболее вероятные места протонирования молекул флексимерных производных пиридина и пиримидина, необходимые для прогнозирования наиболее вероятных путей фрагментации.

Теоретическая и практическая значимость работы

Теоретическая значимость работы заключается в применении квантово-химических методов расчета и методов множественной линейной регрессии для решения задач целевого и нецелевого анализа сложных смесей.

Практическая значимость работы заключается в определении параметров удерживания ранее неизученных азотсодержащих гетероциклических соединений на различных типах сорбентов и получении набора характеристических фрагментных ионов, а также в разработке способов разделения и идентификации структурно близких гетероциклических соединений методом хромато-масс-спектрометрии.

Методология и методы исследования

Основными методами исследования в работе были высокоэффективная жидкостная хроматография со спектрофотометрическим детектором и масс-спектрометрией высокого разрешения, матрично-активированная лазерная десорбция/ионизация, молекулярно-статистическое моделирование и теория функционала плотности. Обработка экспериментально полученных результатов осуществлялась с применением программного обеспечения Compass DataAnalysis (Bruker Daltonics, Германия). Квантово-химические расчеты физико-химических и энергетических параметров органических молекул гетероциклов проводились с использованием программного пакета *Spartan 14* для Windows (Wavefunction Inc., Ирвайн, Калифорния, США). Расчёт топологических индексов и молекулярных дескрипторов, описывающих структуру исследуемых азотсодержащих гетероциклов проводился с применением специального программного пакета *Mordred*, созданного группой Мориваки¹ и находящегося в свободном доступе в репозитории GitHub. С использованием автоматизированного квантово-химического протокола, основанного на методе локализации орбиталей Фостера-Бойса и реализованного в программном пакете *CREST* (находится в свободном доступе в репозитории GitHub), получена информация о наиболее вероятных местах протонирования молекул флексимерных производных пиридина и пиримидина при ионизации электрораспылением. Молекулярно-статистические расчеты получены с помощью программного обеспечения, разработанного в лаборатории физико-химических основ хроматографии и хромато-масс-спектрометрии ИФХЭ РАН им. А.Н. Фрумкина.

Положения, выносимые на защиту

1. Результаты применения метода ВЭЖХ для определения хроматографического удерживания производных 1,2,4-триазола, пиридина и пиримидина на различных сорбентах (пористый графитированный углерод (ПГУ), цианопропилсиликагель (ЦПС), октадецилсиликагель (ОДС)).
2. Методика выбора параметров, необходимых для прогнозирования хроматографического поведения неизвестных соединений производных пиримидина на основе квантово-химических расчётов и метода множественной линейной регрессии.
3. Результаты масс-спектрометрического исследования фрагментации структурно близких флексимерных производных пиридина и пиримидина.
4. Результаты применения метода Фостера-Бойса для определения наиболее вероятных мест протонирования молекул производных пиридина и пиримидина при ионизации в газовой фазе.
5. Методика разделения и идентификации структурно близких производных 1,2,4-триазола, пиридина и пиримидина методами жидкостной хроматографии и масс-спектрометрии.

Степень достоверности и апробация результатов

Научные результаты выполненной работы обладают высокой степенью достоверности, что обеспечивается использованием разнообразных современных инструментов, способов и приемов научного исследования, применением методов математической статистики для определения погрешности измерений, а также сопоставлением с теоретическими и экспериментальными результатами других работ.

Результаты оформлены в виде рецензируемых научных статей, получивших оценку специалистов в области физической химии, хроматографии, масс-спектрометрии

¹ Moriwaki, H., Tian, Y. S., Kawashita, N., Takagi, T. Mordred: a molecular descriptor calculator. *Journal of Cheminformatics*, 2018; 10 (1): 4. <https://doi.org/10.1186/s13321-018-0258-y>.

и квантовой химии. Результаты работы прошли апробацию на научных конференциях и опубликованы в высокорейтинговых журналах, рекомендованных ВАК РФ.

Основные положения диссертации докладывались и обсуждались на IV Всероссийской конференции по аналитической спектроскопии с международным участием (Краснодар, 2023), 22-й Международной выставке лабораторного оборудования и химических реактивов «Аналитика Экспо 2024» (Москва, 2024), XI Всероссийской конференции с международным участием «Масс-спектрометрия и ее прикладные проблемы» (Москва, 2025), XX Конференции молодых ученых, аспирантов и студентов ИФХЭ РАН «Физикохимия-2026» (Москва, 2026), XII Международной конференции «Современные проблемы адсорбции», посвященной 125-летию академика М.М. Дубинина (Москва, 2026).

Работа выполнена в лаборатории «Физико-химических основ хроматографии и хромато-масс-спектрометрии» Института физической химии и электрохимии имени А.Н. Фрумкина Российской академии наук.

Публикации

По материалам диссертации опубликовано 3 публикации в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК, и 6 тезисов докладов конференций.

Структура диссертационной работы

Диссертация изложена на 144 страницах, содержит 18 таблиц, 19 рисунков, состоит из введения, 3 глав, списка используемой литературы, включающего 206 источников.

Личный вклад автора

Автором с учетом рекомендаций научного руководителя сформулированы проблемы, поставлены цель и задачи, выбраны методы и объекты исследования. Автором выполнены работы по анализу теоретического материала по теме исследования, изучению методик проведения лабораторных исследований и вычислительных экспериментов, а также обобщены и интерпретированы полученные результаты, подготовлены публикации по результатам выполненной работы. Экспериментальные и расчетные данные, представленные в диссертации, получены лично автором и сотрудниками лаборатории физико-химических основ хроматографии и хромато-масс-спектрометрии и опубликованы в соавторстве с научным руководителем и сотрудниками, работавшими совместно с автором в процессе выполнения исследований.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во **Введении** дано обоснование темы, отражены актуальность исследований, их научная новизна, теоретическая и практическая значимость, сформулированы цели и задачи исследования, перечислены основные результаты работы и положения, выносимые на защиту.

Первая глава представляет собой обзор имеющихся литературных данных об объектах исследования, хроматографических, масс-спектрометрических и квантово-химических методах их изучения.

Во **Второй главе** дано описание объектов и методов хроматографического и масс-спектрометрического исследования. Также приводятся применяемые квантово-химические и молекулярно-статистические методы расчёта физико-химических и энергетических молекулярных параметров.

В **третьей главе** приводятся результаты работы и их обсуждение. В настоящей работе рассматриваются физико-химические закономерности сорбции в условиях высокоэффективной жидкостной хромато-масс-спектрометрии высокого разрешения и фрагментации в тандемном режиме при ионизации электрораспылением

азотсодержащих гетероциклических соединений, обладающих биологической активностью. Продемонстрирована возможность применения квантово-химических и молекулярно-статистических расчётов для определения типов межмолекулярных взаимодействий, реализуемых между сорбатом, сорбентом и элюентом. Методом множественной линейной регрессии получены корреляционные уравнения, которые могут быть использованы для прогнозирования удерживания структурно близких азотсодержащих соединений. Показано, что с применением методов ВЭЖХ-МС/МС высокого разрешения возможна идентификация соединений, имеющих общий гетероциклический фрагмент и отличающихся структурой заместителей.

3.1 Квантово-химическое и молекулярно-статистическое моделирование для описания структуры азотсодержащих гетероциклических соединений.

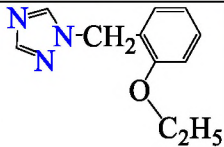
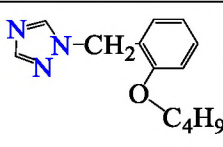
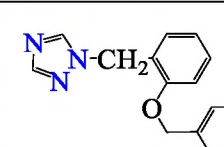
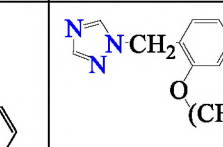
В первой части работы проведены квантово-химические расчёты физико-химических и энергетических параметров молекул азотсодержащих гетероциклов, являющихся производными 1,2,4-триазола, пиридина и пиримидина, выполненные с применением методов теории функционала плотности (ТФП). По результатам расчётов для оптимизированных полуэмпирическим методом PM3 структур получены значения ван-дер-Ваальсова объёма V [Å³], общей S_W [Å²] и полярной PSA [Å²] площади поверхности молекул, липофильности $\log P$, поляризуемости α [Å³] и дипольного момента μ [D], а также топологические индексы Загреба ($Zag1$) и Балабана (J), топологическая полярная площадь молекулы $TPSA$ [Å²], индекс электротопологического состояния атомов ($VSA_EState1$), трёхмерный топологический дескриптор плоской формы (PBF), характеризующие геометрическое строение молекул. Рассчитанные параметры использовались для оценки влияния строения заместителей на различные физико-химические свойства молекул.

Так, например, установлено, что при введении в структуру гетероциклов гидроксильной группы наблюдается снижение численных значений липофильности и поляризуемости молекул, причём изменения данных параметров симбатны. В случае 2-(1H-триазол-1-илметил)фенола (**T1**) и 4-(1H-триазол-1-илметил)фенола (**T2**), являющихся *орто*- и *пара*-изомерами, положение гидроксильной группы не оказывает влияния на указанные параметры, и они изменяются незначительно, однако замена гидроксильной группы на эфирную путём введения алифатического заместителя (соединение **T3** – 1-[2-(бензилокси)этил]-1H-триазол) приводит к возрастанию липофильности и поляризуемости. Увеличение длины углеводородного заместителя (**T7** – 1-[2-(бензилокси)бутил]-1H-триазол) также способствует росту значений данных параметров, что приводит к изменению способности растворяться в воде, т.е. соединения становятся менее гидрофильными, но приобретают лучшую проникающую способность через липофильную оболочку клеточных мембран. Также результаты квантово-химических вычислений показали, что все исследованные флексимерные производные пиридина и пиримидина, связанные лабильной углерод-углеродной связью с пиррольным или пиразольным циклом и обладающие повышенной гибкостью (соединения **П1** – **П9**), являются гидрофильными соединениями, т.к. значения липофильности у них отрицательны. Это свойство у данных молекул обусловлено наличием amino- или кето-группы у шестичленных циклов и присутствием гидроксильной группы в линейном или циклическом заместителе, связанным с пятичленным гетероциклическим фрагментом. Полученная в ходе исследований информация о липофильности является важным фактором при разработке лекарственных препаратов и методов их разделения и доставки до клеточных структур.

Расчёт таких параметров как ван-дер-Ваальсов объём и площадь поверхности молекул является важной характеристикой заместителей, описывающих изменение геометрических размеров молекул вследствие введения различных заместителей в структуру гетероциклов. Например, в случае исследуемых производных 1,2,4-триазола положение гидроксильной группы ввиду её малых размеров не оказывает значительного

влияния на геометрические параметры молекул в целом (пара *орто*- и *пара*-изомеров **T1** и **T2**) также, как и положение этокси-группы (соединения **T3** и **T4** – 1-[4-(бензилокси)этил]-1H-триазол). При расположении заместителей в *пара*-положении площадь поверхности возрастает на 2-6 Å² по сравнению с их *орто*-изомерами. Более заметным оказывается влияние циклических заместителей, связанных с молекулой гетероцикла через алифатические мостики. Например, с увеличением длины углеводородного радикала от этила до бензопропила наблюдается закономерный рост численных значений объёма и площади поверхности молекул (таблица 1). При этом наблюдается увеличение численных значений поляризуемости, которое приводит к усилению межмолекулярных дисперсионных взаимодействий и проявлению гидрофобного эффекта при адсорбции на неполярных сорбентах в водной среде.

Таблица 1 – Физико-химические параметры, рассчитанные для производных 1,2,4-триазола

№	T3	T7	T8	T9
Формула				
$V [\text{\AA}^3]$	217.06	253.89	282.87	319.72
$S_w [\text{\AA}^2]$	241.89	282.38	303.48	345.08
$\alpha [\text{\AA}^3]$	57.62	60.61	62.96	65.95

Оценку термодинамического поведения молекул органических соединений с плоской поверхностью сорбента, например, графитированной термической сажей (ГТС), проводилась с привлечением молекулярно-статистических расчётов и алгоритма Метрополиса. Данный метод позволяет рассчитать значения констант Генри адсорбции органических соединений на поверхности ГТС из газовой фазы на основании данных о геометрической структуре молекул. Полученные результаты продемонстрировали линейную корреляцию между значениями констант Генри с ростом молекулярной массы заместителей, что обусловлено увеличением энергии дисперсионных взаимодействий в системе «адсорбат – адсорбент». На основании полученных результатов можно предположить, что при взаимодействии с другими неполярными сорбентами будет наблюдаться похожая связь термодинамических и адсорбционных параметров, однако необходимо учитывать дополнительные факторы, которые могут вносить свой вклад в удерживание.

Таким образом, расчёт физико-химических характеристик молекул является важным этапом в оценке физико-химических свойств соединений, определяемых составом, геометрическим строением и положением заместителей.

3.2 Высокоэффективная жидкостная хроматография азотсодержащих гетероциклических соединений.

Во второй части работы были исследованы особенности сорбционного поведения производных 1,2,4-триазола, урацила и флексимерных производных пиридина и пиримидина на пористом графитированном углероде (ПГУ), цианопропилсиликагеле (ЦПС) и октадецилсиликагеле (ОДС) в условиях ВЭЖХ с использованием молекулярно-статистического подхода. Разработана методика разделения данных соединений на поверхности ПГУ водно-ацетонитрильным элюентом в изократическом режиме.

Исследуемые азотсодержащие гетероциклические соединения содержат несколько сорбционно-активных центров, поэтому их взаимодействие с сорбентом будет определяться также и конкурентными межмолекулярными силами, возникающими при взаимодействии с молекулами элюента. Удерживание на поверхности ОДС определяется преимущественно дисперсионными взаимодействиями, однако исследуемые гетероциклы, содержащие различные функциональные группы (например, гидроксигруппы, амино- или кетогруппы), способны образовывать водородные связи с молекулами элюента, что способствует снижению величины адсорбции. Исследование показало, что увеличение концентрации воды в элюенте не оказывает существенного влияния на адсорбцию таких молекул гетероциклов. Введение углеводородных заместителей, блокирующих функциональные группы, приводит к росту удерживания за счёт изменения физико-химических свойств молекул. Например, при сравнении значений фактора удерживания 4-(1H-триазол-1-илметил)фенола (**T2**) и 1-[4-(бензилокси)пропил]-1H-триазола (**T6**) при соотношении ацетонитрила и воды в элюента 30:70 % (об.) следует, что адсорбция возрастает многократно (рисунок 1). Однако для других производных 1,2,4-триазола значения фактора удерживания оказались ниже, поэтому данный сорбент является малоэффективным для разделения подобных гетероциклов.

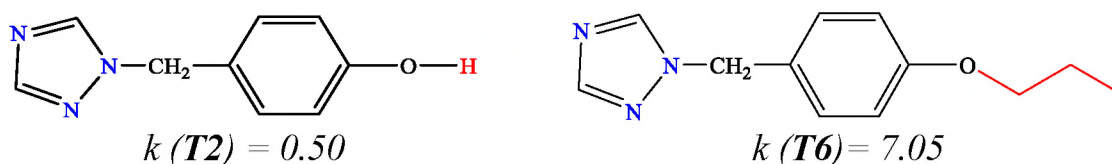


Рисунок 1 – Влияние углеводородного заместителя на адсорбцию производных 1,2,4-триазола на поверхности ОДС (элюент: ацетонитрил – вода 30:70 % об.; объёмная скорость потока $F = 500$ мкл/мин; $T_c = 298$ К):

T2 – 4-(1H-триазол-1-илметил)фенол; **T6** – 1-[4-(бензилокси)пропил]-1H-триазол.

Применение пористого графитированного угля в качестве сорбента позволило получить более высокие значения фактора удерживания, которые варьировались в пределах от 2.4 для 2-(1H-триазол-1-илметил)фенола до 163.3 для 1-[2-(бензилокси)бензил]-1H-триазола (**T8**) при элюировании в изократическом режиме раствором ацетонитрил – вода 50/50 % (об.) со скоростью потока подвижной фазы 250 мкл/мин и температуре колонки $T_c = 313$ К. Столь высокий фактор удерживания соединения **T8**, вероятно, обусловлен ориентацией ароматических заместителей относительно поверхности сорбента, в результате которой бензилоксибензильный заместитель оказывается в одной плоскости с триазольным и бензильным фрагментами. Производные 1,2,4-триазола, содержащие в составе гидроксильные (**T1** и **T2**) и карбоксильную (**T10** – 4-[1H-1,2,4-триазол-1-илметил] бензойная кислота) группы, как и в случае адсорбции на ОДС, элюируются в числе первых ввиду наличия конкурентных взаимодействий с элюентом. Трудно разделяемыми оказались соединения **T1** и **T9** (1-[2-(бензилокси)бензопропил]-1H-триазол), имеющих одинаковые факторы удерживания (2.44), а также пара **T4** (1-[4-(бензилокси)этил]-1H-триазол) и **T5** (1-[4-(бензил)этил]-1H-триазол), факторы удерживания которых составили 9.0 и 8.8 соответственно. Такие слабые различия в адсорбции для второй пары являются закономерными, поскольку указанные соединения отличаются лишь наличием атома кислорода между этильным заместителем и бензольным кольцом. Однако производное **T9** выпадает из общих представлений об удерживании на ПГУ, что, вероятно, обусловлено стерическими препятствиями, возникающими при ориентации ароматических фрагментов относительно плоскости сорбента вследствие высокой конформационной подвижности молекулы.

Исследование адсорбционного поведения производных урацила в условиях ВЭЖХ показало, что удерживание на всех сорбентах (ОДС, ЦПС и ПГУ) существенно различается. Наименее подходящим для селективного разделения данных соединений оказался ОДС, т.к. значения фактора удерживания для одной половины соединений оказался меньше единицы, для другой – варьировался от 1 до 3. Переход к составу элюента, содержащего большее количество воды нецелесообразен, поскольку он может вызвать коллапс неподвижной фазы и привести к потере хроматографической колонкой разделяющей способности.

Применение цианопропильной фазы для разделения производных урацила возможно, однако все анализируемые соединения группируются, элюируясь в диапазонах значений фактора удерживания от 0 до 1 и от 1 до 2.5 (при соотношении ацетонитрила и воды в элюенте 50/50 % (об.)). Наибольшие значения фактора удерживания на цианопропильной фазе наблюдаются для производных урацила, содержащих 4-гексилфенильный (**У12**) и 4-хлорфенильный (**У6**) заместители (5-((4-гексилфенил) амино)-1,3-бис(4-гидроксициклопент-2-ен-1-ил) пиримидин-2,4(1H,3H)-дион и 5-(4-хлорфенокси)-1-(4-гидроксициклопент-2-ен-1-ил) пиримидин-2,4(1H,3H)-дион соответственно). Значения факторов удерживания для соединений **У12** и **У6** при этом составили 2.23 и 8.42. Причина подобного сорбционного поведения соединения **У6**, вероятно, заключается в проявлении индукционных эффектов, возникающих из-за смещения электронной плотности хлорсодержащей молекулы. При этом структурно близкое производное урацила 5-(4-хлорфенокси)-1,3-бис(4-гидроксициклопент-2-ен-1-ил) пиримидин-2,4(1H,3H)-дион (**У10**), содержащее в составе два гидроксициклопентеновых заместителя, элюируется значительно быстрее ($k = 0.92$), что, обусловлено возможностью образования большего количества водородных связей с молекулами воды за счёт наличия дополнительной гидроксильной группы. Наличие линейных алкильных заместителей в структуре производных урацила способствует усилению проявляющихся дисперсионных взаимодействий с поверхностью сорбента, поэтому более высокое значение фактора удерживания, по сравнению с другими производными, в исследуемом ряду имеет соединение **У12**.

Более высокие значения селективности разделения производных урацила достигаются при сорбции на пористом графитированном углероде, поскольку удерживание данных соединений на поверхности сорбента определяется как дисперсионными, так и специфическими π - π -взаимодействиями, а также электростатическими силами. Соединение ароматических фрагментов молекул через углерод-азотные или углерод-углеродные связи способствует проявлению у гетероциклов конформационной подвижности, при которой заместители оказываются лабильны и ориентируются относительно поверхности сорбента таким образом, что в данной хроматографической системе влияние конкурентных взаимодействий типа «сорбат – элюент» несколько нивелируется.

Изучение результатов анализа производных урацила методом ВЭЖХ продемонстрировало некоторые закономерности в их удерживании. Так, при элюировании соединений водно-ацетонитрильным раствором в соотношении 50:50 % (об.) через колонку, заполненную пористым графитированным углеродом, порядок выхода производных, отличающихся по структуре заместителя, находящегося в пятом положении гетероциклического основания, не зависит от числа гидроксициклопентеновых фрагментов (рисунок 2). При этом значения фактора удерживания у соединений с одним гидроксициклопентеновым заместителем меньше их аналогов с двумя такими фрагментами.

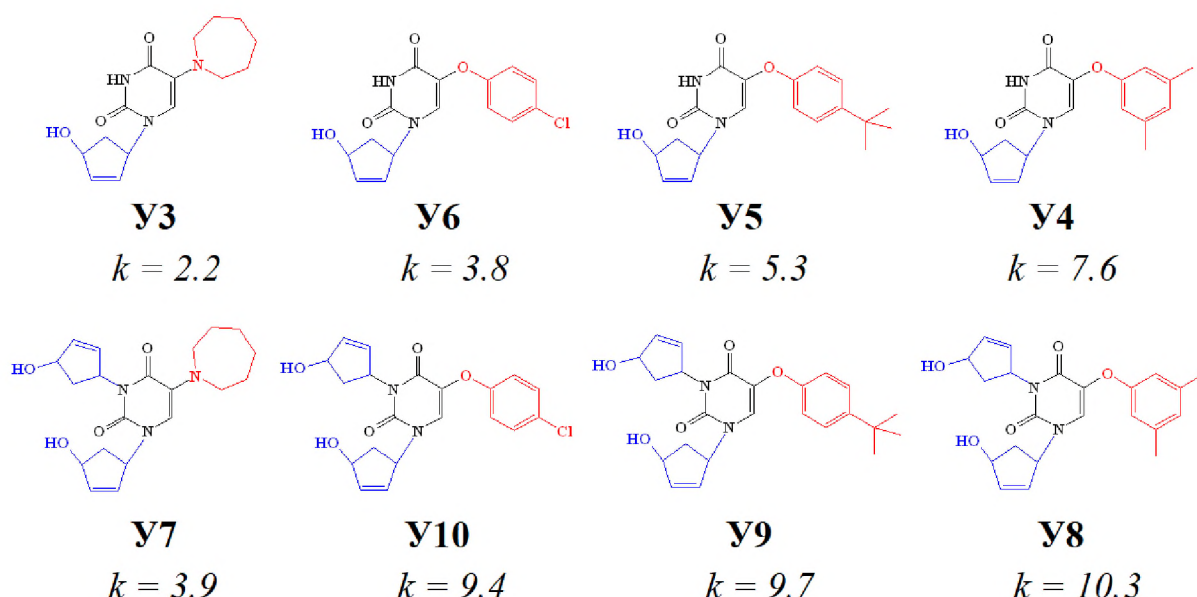


Рисунок 2 – Значения фактора удерживания некоторых производных урацила, отличающихся структурой заместителя и числом гидроксциклопентеновых фрагментов (значения фактора удерживания получены при условиях: элюент: водно-ацетонитрильный раствор в соотношении 50:50 % (об.) с добавлением 0.1% муравьиной кислоты, объёмная скорость потока – 250 мкл/мин; сорбент: ПГУ, температура колонки – 313 K)

Исследование адсорбции флексимерных азотсодержащих гетероциклических соединений, в которых различные по структуре гетероциклы связаны углерод-углеродной связью, также продемонстрировало лучшие характеристики удерживания при использовании ПГУ в качестве сорбента. По сравнению с производными урацила, значения фактора удерживания на ОДС, полученные при аналогичных условиях эксперимента, для флексимерных (т.е. обладающих повышенной гибкостью) производных пиридина и пиримидина не превышают единицы (исключение 4-(4-(4-аминопиридин-3-ил)-1Н-пирразол-1-ил) циклопент-2-ен-1-ол – **П7**, $k = 1.21$). Увеличение содержания воды в элюенте несколько повышает значения удерживания, но не оказывает влияния на селективность разделения ввиду особенностей строения соединений. Применение цианопропилсиликагеля также не позволяет добиться высокой разделяющей способности: большинство анализируемых флексимерных производных элюируются вблизи мёртвого времени ($k < 1$). Для 5-(1Н-пиррол-3-ил)пиримидин-4-амина (**П1**) и 5-(1Н-пиррол-3-ил)пиримидин-4(3Н)-она (**П2**) значения фактора удерживания оказались одинаковы и составляли 8.96, что может быть обусловлено наличием функциональных групп, сила взаимодействия которых с циано-группами неподвижной фазы оказывается выше, чем с молекулами воды элюента.

Использование ПГУ для анализа указанных гетероциклов показало более высокую разделяющую способность, однако для нескольких соединений наблюдаются близкие значения фактора удерживания. Так, например, различные прототипы гетероциклических соединений, такие как 5-(пиридин-3-ил)-1Н-индазол (**П8**) и 5-(пиримидин-5-ил)-1Н-индазол (**П9**), содержащие общий индазольный фрагмент и не имеющие каких-либо заместителей, практически не разделяются на ПГУ: значения фактора удерживания для них составили 2.75 и 2.83, соответственно (рисунок 3).

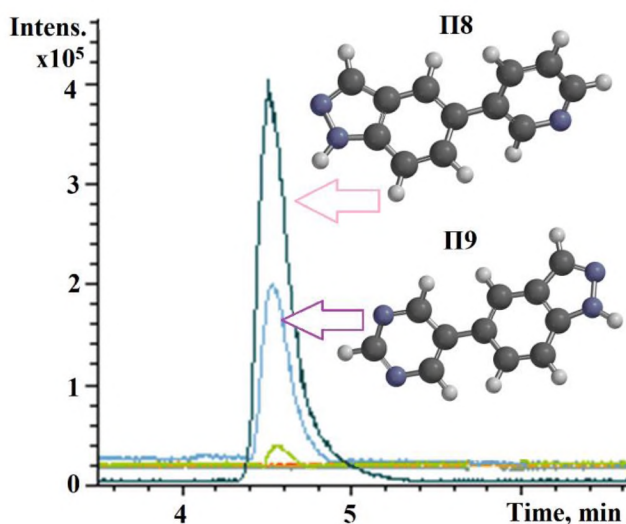


Рисунок 3 – Хроматограмма элюирования 5-(пиридин-3-ил)-1Н-индазола (**П8**) и 5-(пиримидин-5-ил)-1Н-индазола (**П9**) на ПГУ (элюент: ацетонитрил – вода 50:50 % (об.), объёмная скорость потока – 250 мкл/мин, $T_c = 313\text{ K}$)

При введении в структуру гетероциклов различных функциональных групп происходит заметное изменение их сорбционного поведения. Например, соединения **П1** и **П2**, совместно элюируемые с цианопропильной фазы, на поверхности ПГУ разделяются с селективностью $\alpha = 2.22$. Значение фактора удерживания у аминопроизводного (**П1**) выше и составило 12.58, в то время как у кетона (**П2**) $k = 5.67$. Такое сорбционное поведение зависит не только от природы функциональной группы и способности молекулы за их счёт образовывать водородные связи с молекулами воды элюента, но и от пространственной ориентации циклических заместителей относительно поверхности ПГУ.

Рассчитанные квантово-химическим методов физико-химические параметры молекул, такие как ван-дер-Ваальсов объём и площадь поверхности, позволяют предположить, что внедрение циклического фрагмента в структуру гетероцикла приведёт к уменьшению времени удерживания на ПГУ ввиду стерических препятствий. Однако при сравнении экспериментальных значений фактора удерживания соединений 2-((4-(4-аминопиримидин-5-ил)-1Н-пиразол-1-ил)метокси)этан-1-ола (**П3**) и 4-(4-(4-аминопиримидин-5-ил)-1Н-пиразол-1-ил)циклопент-2-ен-1-ола (**П4**), содержащих у пиразольного фрагмента линейный и циклический заместители, значения факторов удерживания составили 1.7 и 4.9 соответственно. Вероятно, наличие кратной связи в гидроксциклопентеновом заместителе приводит к усилению π - π -взаимодействий с π -электронной системой пористого графитированного углерода. Наличие лабильных углерод-углеродных связей между циклическими фрагментами позволяет им ориентироваться относительно поверхности сорбента наиболее выгодным образом, в результате чего площадь контакта с сорбентом, а, следовательно, и время удерживания, будут выше.

Анализ корреляционных зависимостей между фактором удерживания флексимерных производных пиридина и пиримидина и отдельными физико-химическими параметрами показали слабую взаимосвязь: коэффициенты детерминации (R^2) не превышали значений 0.45 и 0.43 для объёма и площади поверхности, соответственно. Для остальных параметров коэффициенты детерминации составили менее 0.25. Полученные результаты свидетельствуют о том, что при адсорбции на поверхности ПГУ большое влияние на удерживание оказывают стерические факторы. Совместный учёт нескольких физико-химических параметров позволил с применением

метода множественной линейной регрессии получить корреляционные уравнения, наиболее точно связывающие геометрические параметры молекул гетероциклов с экспериментальными параметрами удерживания (таблица 2).

Таблица 2 – Уравнения множественной линейной регрессии зависимости физико-химических параметров от фактора удерживания производных пиридина на поверхности ПГУ (элюент: ацетонитрил-вода в соотношении 50:50 % (об.), скорость потока – 250 мкл/мин)

№	Регрессионное уравнение	R^2
(1)	$\lg k = 0.095 \cdot \mu + 0.546 \cdot \log P - 0.081 \cdot \alpha + 5.167$	0.88
(2)	$\lg k = 0.150 \cdot V - 0.169 \cdot S_W + 0.086 \cdot PSA + 3.297$	0.99

Примечание: μ – дипольный момент, Д; $\log P$ – липофильность; α – поляризуемость, Å²; V – объём молекулы, Å³; S_W – площадь поверхности молекулы, Å²; PSA – полярная площадь молекулы, Å²; R^2 – коэффициент детерминации.

При попытке включить в данную зависимость результаты, полученные для производных пиридина, было показано, что указанная модель оказывается крайне чувствительна к типу гетероциклических фрагментов, входящих в состав молекулы (даже к числу атомов азота в цикле). Значения коэффициентов детерминации для первого уравнения снизились до 0.831, а для второго – до 0.639. Следовательно, при попытке получить уравнения, способные спрогнозировать факторы удерживания для ранее не исследованных производных пиридина, необходимо получить значения для выборки структурно близких соединений, содержащих указанный гетероциклический фрагмент и различные заместители.

Использование указанных в таблице 2 комбинаций физико-химических параметров для получения аналогичных корреляционных уравнений применительно к производным урацила не показало столь высоких значений коэффициентов детерминации. С помощью метода множественной линейной регрессии было необходимо проанализировать большое значение физико-химических параметров, а также учесть топологические индексы, характеризующие строение заместителей, провести выборку наиболее статистически значимых показателей.

Использование топологических индексов при исследовании влияния природы заместителей на различные физико-химические свойства молекул позволяет проводить анализ структуры органических соединений и прогнозировать поведение других близких по строению веществ. К числу таких параметров относятся индексы Загребца (*Zag1*) и Балабана (*J*). Первый описывает связь числа и типа химических связей в молекуле с учётом электронного сопряжения в системе для предоставления информации о гибкости и стабильности структуры. Второй индекс помогает идентифицировать пространственные изомеры за счёт учёта топологического расстояния и компактности молекулы. Расчёт стереохимических индексов, например, дескриптора плоской формы молекулы (*PBF*), полезен в описании пространственного расположения заместителей, а гибридный индекс топологического состояния атомов (*VSA_EState1*) характеризует локальную полярность молекулы и её способность к индукционным межмолекулярным взаимодействиям. Значения физико-химических и топологических параметров, вычисленные квантово-химическим методом теории функционала плотности для производных урацила, представлены в таблице 3. Данные параметры были рассчитаны для построения корреляционных уравнений по методу множественной линейной регрессии, связывающих логарифмы факторов удерживания производных урацила с их физико-химическими характеристиками, с целью получения уравнений, способных

прогнозировать адсорбционное поведение структурно близких веществ. Рассчитанные параметры использовались для оценки влияния строения заместителей на сорбционные характеристики, поэтому в данной таблице также приведены значения фактора удерживания производных урацила на поверхности пористого графитированного углерода, полученные при элюировании соединений водно-ацетонитрильной смесью в соотношении растворителей 50:50 % об. с добавлением муравьиной кислоты 0.1% в каждый растворитель, скоростью потока – 250 мкл/мин.

Таблица 3 – Физико-химические параметры и топологические индексы, рассчитанные для производных урацила

№	<i>k</i>	Физико-химические параметры					Топологические индексы				
		μ , Д	$\log P$	α , Å ³	V , Å ³	S_w , Å ²	$Zag1$	J	$TPSA$, Å ²	$VSA_{EState1}$	PBF
У1	3.67	5.16	-0.87	60.58	251	277	92	1.87	196	6.28	0.52
У2	1.25	6.33	0.11	62.79	278	301	102	1.86	160	6.26	0.65
У3	2.17	5.70	1.22	64.94	301	316	110	1.66	148	1.52	0.79
У4	7.58	7.32	2.19	64.02	312	336	122	1.59	164	7.03	1.06
У5	5.33	5.92	1.59	68.69	351	372	146	1.56	155	2.86	0.97
У6	3.75	7.54	3.15	63.95	292	315	134	1.53	163	7.04	1.00
У7	3.92	7.05	1.94	71.09	378	388	116	1.56	149	6.83	0.78
У8	10.25	2.90	2.56	51.64	157	177	158	1.51	143	8.46	1.06
У9	9.67	3.86	3.51	75.58	435	454	170	1.45	129	8.47	1.10
У10	9.42	5.66	2.31	70.83	377	397	152	1.49	156	8.23	1.15
У11	22.75	5.23	3.71	76.01	438	455	170	1.45	150	2.68	1.02
У12	2.42	3.73	4.99	79.15	477	504	172	1.36	164	2.70	0.97

Представленные результаты показывают, что исследуемые гетероциклические соединения являются довольно полярными веществами, однако в таблице приведены значения дипольных моментов для наиболее устойчивых конформеров. В реальной системе вследствие вращения циклических заместителей вокруг σ -связей происходят конформационные переходы, которые влияют на ориентацию молекулы относительно поверхности сорбента. Полученные значения поляризуемости показывают, что адсорбция молекул гетероциклов на поверхности ПГУ будет осуществляться не только за счёт дисперсионных, но и под действием индукционных сил. При этом с увеличением поляризуемости в целом наблюдается рост фактора удерживания, однако отклонения от данной зависимости определяются влиянием объёмной структуры заместителей. Так, например, для 5-(3,5-диметилфеноксид)-1,3-бис(4-гидроксициклопент-2-ен-1-ил)пиримидин-2,4(1H,3H)-диона (соединение **У8**) рассчитанное значение поляризуемости минимально и составляет 51.64 Å³, а фактор удерживания (10.25) выше, чем у большинства соединений в исследуемом ряду. Также для данного производного урацила наблюдаются минимальные значения объёма и площади поверхности (157 Å³ и 177 Å², соответственно), из чего можно сделать вывод, что стерические препятствия, вносимые заместителями, оказывают незначительное влияние на удерживание.

С помощью регрессионного анализа получены три уравнения линейной зависимости, отличающиеся числом молекулярных параметров (таблица 4). Высокие значения коэффициентов детерминации доказывают линейность связи экспериментально определённого фактора удерживания и выбранных физико-химических и топологических параметров.

Таблица 4 – Уравнения множественной линейной регрессии зависимости физико-химических параметров от фактора удерживания производных урацила на поверхности

ПГУ (элюент: ацетонитрил-вода в соотношении 50:50 % (об.), скорость потока – 250 мкл/мин)

№	Регрессионное уравнение	R^2
(3)	$lg\ k = -0.091 \times PBF + 0.001 \times TPSA + 0.018 \times VSA_EState1 + 0.792 \times J + 0.001 \times \mu + 0.034 \times logP + 0.026 \times \alpha - 0.002 \times V + 0.002 \times Zag1 - 0.382$	0.998
(4)	$lg\ k = -0.082 \times PBF + 0.001 \times TPSA + 0.795 \times J + 0.018 \times VSA_EStat1 + 0.035 \times logP + 0.027 \times \alpha - 0.002 \times V + 0.002 \times Zag1 - 0.410$	0.998
(5)	$lg\ k = 0.001 \times TPSA + 0.017 \times VSA_EState1 + 0.869 \times J + 0.038 \times logP + 0.035 \times \alpha - 0.003 \times V + 0.001 \times Zag1 - 0.922$	0.991

Примечание: *PBF* – дескриптор плоской формы молекулы; *TPSA* – топологическая полярная площадь молекулы, $\text{\AA}^2$; *VSA_EState1* – гибридный индекс топологического состояния атомов; *J* – индекс Балабана; μ – дипольный момент, Д; *logP* – липофильность; α – поляризуемость, $\text{\AA}^2$; *V* – объём молекулы, $\text{\AA}^3$; *Zag1* – индекс Загреба.

Достоверность установленных линейных корреляций оценивали с помощью параметра значимости критерия Фишера (*F-val*). В тех случаях, когда параметр *F-val* < 0.05, можно считать используемый набор молекулярных дескрипторов, входящих в регрессионное уравнение, статистически значимым, а высокие значения коэффициента детерминации, отражающего линейность модели, образующимися не в результате её переобучения. Вклад каждого дескриптора в линейность модели определяли по параметру значимости стоящего перед ним коэффициента (*p-val*): *p-val* также должно быть менее 0.05. При превышении численного значения данного параметра для коэффициента, соответствующий дескриптор следует удалить из уравнения, а затем провести повторный анализ коэффициентов в новом уравнении.

Результаты хроматографического исследования адсорбции азотсодержащих гетероциклических соединений показали, что использование ОДС и ЦПС не обеспечивают высокую селективность разделения производных 1,2,4-триазола, пиридина и пиримидина. Наиболее подходящим для этой цели сорбентом является ПГУ, а элюирование соединений должно производиться при равном объёмном соотношении ацетонитрила и воды. Построение корреляционных уравнений с применением метода множественной линейной регрессии, позволяющих спрогнозировать удерживание гетероциклических соединений в условиях жидкостной хроматографии на основании информации о физико-химических и топологических параметрах молекул, является довольно трудоёмкой задачей. Проведённое исследование показало, что получаемые уравнения оказываются крайне чувствительны к числу и типу гетероциклических фрагментов, поскольку в зависимости от гетероциклического основания меняется тип и число параметров, требующих включения в корреляционное уравнение.

3.3 Масс-спектрометрия исследуемых гетероциклических соединений.

В третьей части работы описываются результаты масс-спектрометрического исследования производных урацила, флексимерных производных пиридина и пиримидина, полученные методом ВЭЖХ-МС и ВЭЖХ-МС/МС. Поскольку на стадии хроматографического анализа образцов гетероциклов обнаружены пики примесных соединений, достоверное определение времен удерживания целевых компонентов осуществляли по полному спектру и по методу поиска выделенных ионов. Установлено, что при ионизации азотсодержащих гетероциклов в процессе электрораспыления в режиме регистрации положительных ионов зафиксировано наличие протонированных

молекул, а также их натриевые и калиевые аддукты состава $[M+H]^+$, $[M+Na]^+$ и $[M+K]^+$ соответственно. Отмечено, что аддукты щелочных металлов образуются при ионизации производных урацила, содержащих в своём составе два гидроксикислотных заместителя, тогда как для остальных соединений на спектрах зарегистрированы только протонированные молекулы состава $[M+H]^+$.

Экспериментально установлено, что для получения наиболее информативных tandemных масс-спектров флексимерных производных пиридина и пиримидина энергия соударений должна составлять не менее 40 эВ. Такое значение энергии способствует не только отщеплению заместителей и функциональных групп, но также способствует распаду гетероциклического ядра.

В ходе анализа полученных спектров установлено, что в процессе ионизации флексимерные гетероциклические производные пиридина и пиримидина образуют протонированные молекулы состава $[M+H]^+$, однако для 5-(1-((2-гидроксиэтокси)метил)-1Н-пирразол-4-ил)пиримидин-4(3Н)-он (**П5**) характерно образование катион-радикала состава $[C_{10}H_{12}N_4O_3]^+$. Образование катион-радикала, вероятно, обусловлено смещением электронной плотности в молекуле, вызванным индуктивным эффектом вследствие введения в структуру линейного заместителя с гидроксильной группой.

Исследование влияния природы функциональной группы показало, что при условии их одинакового расположения в цикле, в процессе фрагментации будут образовываться ионы с одинаковыми значениями m/z , за исключением тех, что формируются в процессе элиминирования молекул из функциональных групп. Так, например, при сравнении масс-спектров 5-(1Н-пиррол-3-ил)пиримидин-4-амин (**П1**) и 5-(1Н-пиррол-3-ил)пиримидин-4(3Н)-он (**П2**) видно, что в процессе фрагментации соединения **П1** происходит отщепление молекулы аммиака (m/z 17.0260 Да), в результате которой на спектре появляется ион состава $[C_8H_6N_3]^+$ с m/z 144.0667 Да (рисунок 4). В качестве альтернативного пути фрагментации элиминирование аминокислотной группы может происходить в виде молекулы HCN (m/z 27.0110 Да) с образованием иона состава $[C_7H_8N_3]^+$ с m/z 134.0724 Да. На спектре соединения **П2** ион, образующийся при элиминировании кето-группы в виде молекулы CO (m/z 27.9950 Да), имеет значение m/z 134 Да. Остальные ионы с m/z равным 53, 63, 80, 107, 117 Да, вероятно, формируются по общему для данных соединений принципу.

Результаты масс-спектрометрического исследования флексимерных производных пиридина и пиримидина, брутто-формулы, значения m/z и интенсивности пиков фрагментных ионов, полученные методом ВЭЖХ-МС/МС и необходимые для анализа и идентификации с помощью метода мониторинга множественных реакций, представлены в таблице 5.

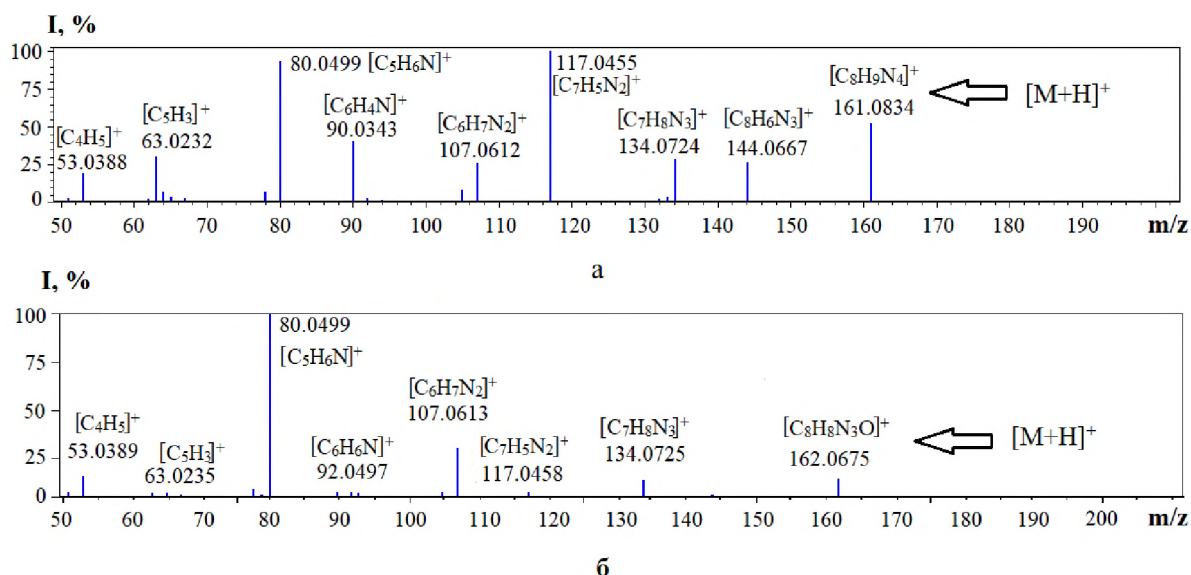


Рисунок 4 – Масс-спектры фрагментных ионов производных пиридина, полученных методом ВЭЖХ-МС/МС при ионизации электрораспылением в режиме регистрации положительных ионов: а) 5-(1H-пиррол-3-ил)пиримидин-4-амин (**П1**); б) 5-(1H-пиррол-3-ил)пиримидин-4(3H)-он (**П2**)

Таблица 5 – Набор характеристических фрагментных ионов флексимерных производных пиридина и пиримидина, полученных методом ВЭЖХ-МС/МС (содержание ацетонитрила и воды 50/50 % (об.), сорбент – ПГУ, $T_c = 313$ K)

Соединение	Ион-прекурсор		Ион-продукт (m/z, Да)		
	Брутто-формула	m/z, Да	m/z, Да	m/z, Да	m/z, Да
П1	$[M+H]^+$	161.08	117.04^a	90.05	80.04
П2	$[M+H]^+$	162.07	134.07	107.06	80.04^a
П3	$[M+H]^+$	235.12	161.08^a	144.06	117.05
П4	$[M+H]^+$	236.12	162.08^a	133.06	118.04
П5	$[M+H]^+$	236.12	162.08^a	133.05	118.04
П6	$[M+H]^+$	244.12	162.08^a	133.05	118.04
П7	$[M+H]^+$	234.13	161.08^a	132.07	118.04
П8	$[M+H]^+$	196.09	167.07^a	139.05	115.05
П9	$[M+H]^+$	197.08	169.08	115.05^a	89.04

Примечание: ^a – ион для количественного определения.

В таблице 5 жирным шрифтом выделены фрагментные ионы, имеющие максимальную относительную интенсивность. Из полученных результатов следует, что в случае присоединения заместителей к гетероциклическому фрагменту (соединения **П3** – **П7**), в условиях тандемной масс-спектрометрии их элиминирование будет наиболее вероятным. Так, на рисунке 5 показаны тандемные масс-спектры, содержащие фрагментные ионы пяти производных пиридина и пиримидина, имеющие в составе линейные и циклические заместители при пиразольном фрагменте. Данное заключение основывается на том, что максимальная интенсивность соответствует фрагментным ионам со значениями m/z 161 и 162 Да, соответствующими m/z для протонированных молекул 5-(1H-пиразол-1-ил)пиримидин-4-амин, 3-(1H-пиразол-4-ил)пиридин-4 амина и 5-(1H-пиразол-4-ил)пиримидин-4-5(Н)-она.

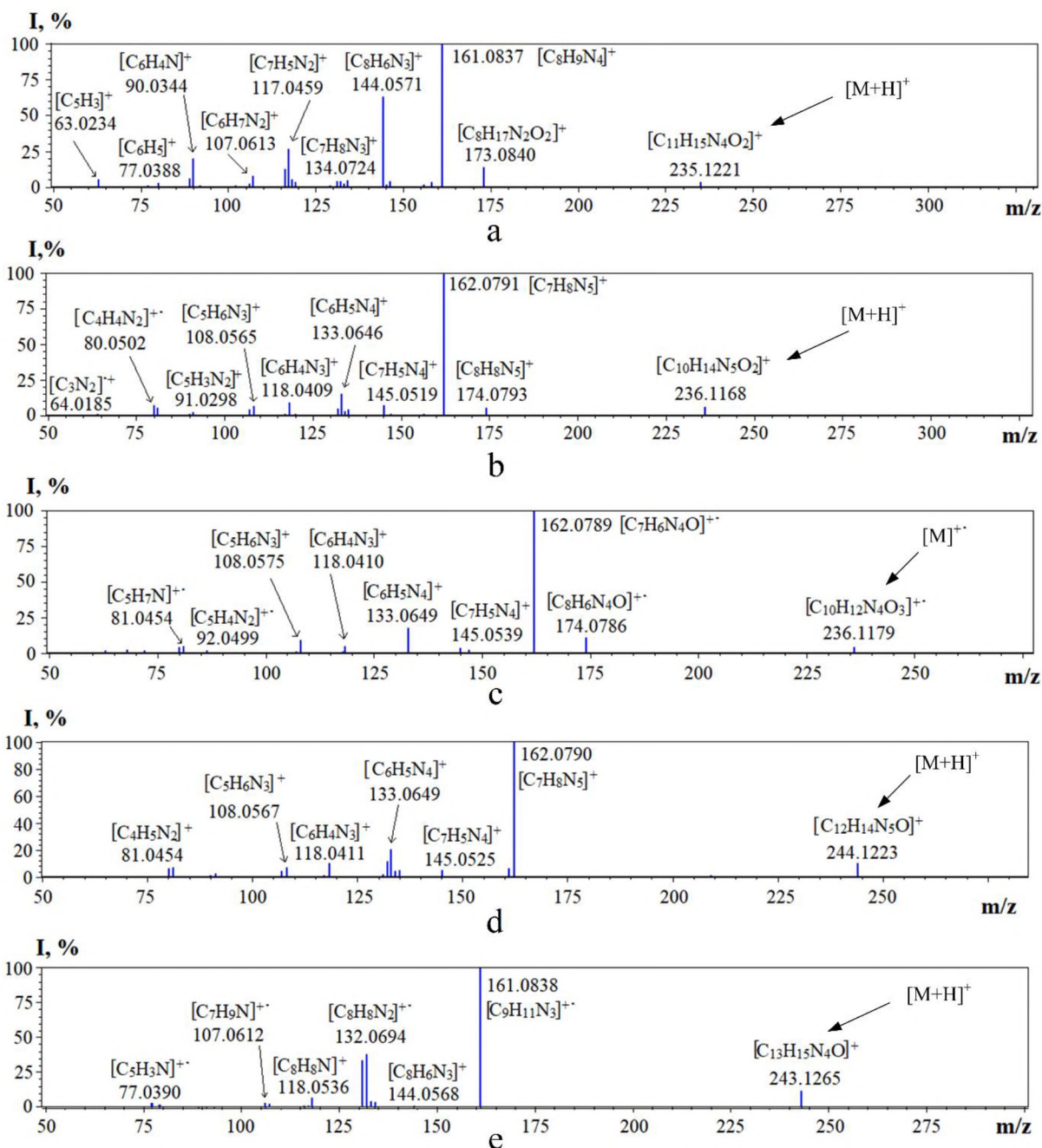


Рисунок 5 – Масс-спектры ионизации в условиях ВЭЖХ-МС/МС-ИЭР и брутто-формулы полученных фрагментных ионов производных пиразола с различным числом гетероатомов в шестичленном цикле:

- 2-((4-(2-аминопиридин-3-ил)-1Н-пиразол-1-ил)метокси)этан-1-ол (**П3**);
- 2-((4-(4-аминопиримидин-5-ил)-1Н-пиразол-1-ил)метокси)этан-1-ол (**П4**);
- 5-(1-((2-гидроксиэтокси)метил)-1Н-пиразол-4-ил)пиримидин-4(3Н)-он (**П5**);
- 4-(4-(4-аминопиримидин-5-ил)-1Н-пиразол-1-ил) циклопент-2-ен-1-ол (**П6**);
- 4-(4-(4-аминопиридин-3-ил)-1Н-пиразол-1-ил) циклопент-2-ен-1-ол (**П7**)

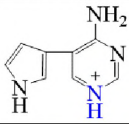
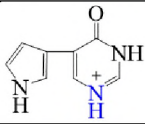
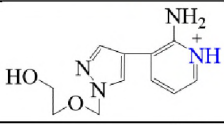
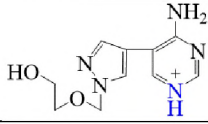
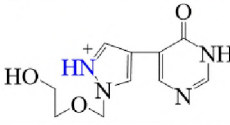
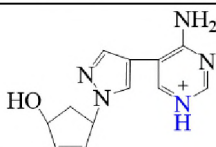
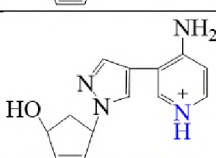
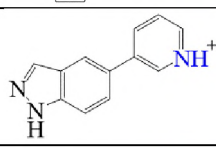
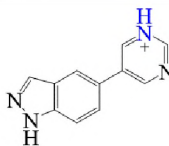
Определение структурных формул фрагментных ионов затруднено вследствие возможных внутримолекулярных перегруппировок, протекающих в газовой фазе. Исследуемые соединения содержат в своём составе несколько атомов, способных выступать в роли акцепторов протонов при ионизации электрораспылением. Это могут быть как атомы азота, содержащиеся в гетероциклах, так и атомы кислорода или азота в составе функциональных групп. Протонирование молекул приводит к

перераспределению электронной плотности внутри них, а место присоединения атома водорода определяет направление фрагментации.

Поиск наиболее предпочтительных мест протонирования проводился с использованием квантово-химического метода Фостера-Бойса, реализованного в программном пакете *CREST*, – вычислительного алгоритма, который позволяет трансформировать делокализованные молекулярные орбитали в локализованные, а затем вычислить их координаты. Последующая оптимизация геометрий протонированных изомеров проводилась с использованием полуэмпирического метода в приближении сильной связи (хТВ) с целью отсеивания стерически невозможных вариантов структур. Далее к полученным изомерам применялся метод теории функционала плотности для расчёта энергетических параметров. Полученные указанным методом результаты согласуются с вычислениями, проведёнными с использованием программы *Spartan 14*, в которой также проводились расчёты по методу теории функционала плотности. Однако процедура поиска наиболее вероятных мест протонирования в данной программе занимает более продолжительное время и требует ручного выбора конкретной структуры. При этом получаемые данные имеют важное значение как в масс-спектрометрическом, так и в хроматографическом анализе подобных структур. По этой причине применение программы *CREST* перед расчётами физико-химических и энергетических параметров молекул азотсодержащих гетероциклов в программном обеспечении *Spartan 14* является существенным дополнением к исследованиям, позволяющим заметно сократить время вычислительного эксперимента.

С применением квантово-химических методов теории функционала плотности рассчитаны энергетические характеристики нейтральных и протонированных форм молекул флексимерных производных пиридина и пиримидина для определения наиболее вероятных мест протонирования молекул состава $[M+H]^+$, существующих в газовой фазе. В таблице 6 приведены структурные формулы с указанием мест протонирования флексимерных производных пиридина и пиримидина, а также представлены численные значения некоторых энергетических параметров (энергии протонирования ΔE , стандартная молярная энтальпия ΔH_{298}° , энергия нулевых колебаний ZPE , сродство к протону PA). Присоединение протона к другим атомам-акцепторам приводит к бóльшим численным значениям сродства к протону, поэтому подобные структуры оказываются менее стабильны и фрагментируются.

Таблица 6 – Энергетические параметры нейтральных и протонированных форм молекул флексимерных производных пиридина и пиримидина, а также места присоединения атома водорода при ионизации в газовой фазе, рассчитанные методами теории функционала плотности

№	Структурная формула протонированной молекулы	ΔE	ΔH_{298}°	ΔZPE	PA
П1		319	0.36	37.65	921
П2		256	0.22	36.78	568
П3		329	0.19	36.58	453
П4		309	0.19	37.39	444
П5		305	0.35	30.70	870
П6		318	0.19	38.84	513
П7		352	0.21	40.23	520
П8		282	0.36	36.44	901
П9		244	0.33	33.79	844

Примечание: ΔE – кДж/моль, ΔH° – Хартри, ZPE – кДж/моль, PA – кДж/моль.

Таким образом, с применением метода tandemной масс-спектрометрии исследованы флексимерные производные пиридина и пиримидина и определены наборы характеристических фрагментных ионов. Полученные результаты имеют большое значение для анализа структурно близких азотсодержащих соединений с помощью масс-спектрометрического метода мониторинга множественных реакций, позволяющего ускорить процедуру идентификации подобных веществ. Применение расчётных квантово-химических методов позволило определить наиболее устойчивые структуры протонированных форм производных пиридина и пиримидина, образующихся в газовой фазе при электрораспылении. Отмечено, что протонирование иных атомов-акцепторов

(кислорода в гидроксильных или кето-группах, азота в гетероциклах и в амино-группах) энергетически менее выгодно, вследствие чего молекула фрагментируется. Также методом ВЭЖХ-МС-ИЭР были получены масс-спектры новых пиридинсодержащих стильбенов, синтезированных фотоорганокаталитическим методом $E \rightarrow Z$ -изомеризации стильбенов в проточном режиме.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведено комплексное исследование сорбционного поведения азотсодержащих гетероциклических соединений (производных 1,2,4-триазола, урацила, пиридина и пиримидина) в условиях ВЭЖХ-МС и ВЭЖХ-МС/МС высокого разрешения на различных сорбентах. Исследовано влияние структуры заместителей на сорбционные характеристики гетероциклических производных на поверхности ПГУ с применением квантово-химических методов теории функционала плотности. С помощью регрессионного анализа получены корреляционные уравнения для прогнозирования фактора удерживания по физико-химическим и топологическим молекулярным параметрам, характеризующим строение производных пиримидина и урацила, а также показана высокая чувствительность выбираемых параметров к геометрии гетероциклических соединений. Определены наборы характеристических фрагментных ионов флексимерных производных пиридина и пиримидина, образующихся при столкновительной диссоциации после ионизации электрораспылением. Квантово-химическим методом теории функционала плотности определены наиболее вероятные места протонирования молекул флексимерных производных пиридина и пиримидина, образующихся при ионизации электрораспылением в газовой фазе. Показаны возможные направления распада молекул флексимерных производных пиридина и пиримидина.

Выводы

1. Методом теории функционала плотности вычислены значения физико-химических параметров молекул производных 1,2,4-триазола, урацила и флексимерных производных пиридина и пиримидина. Рассчитаны значения топологических индексов указанных соединений и проведён сравнительный анализ влияния структуры заместителей на физико-химические свойства молекул. Показано, что увеличение длины углеводородных заместителей, а также их замена на ароматические, приводит к росту не только геометрических параметров молекул (объём и площадь поверхности), но и значений поляризуемости, что способствует усилению дисперсионных взаимодействий с неполярными сорбентами.
2. Впервые экспериментально получены значения факторов удерживания производных 1,2,4-триазола, урацила, пиридина и пиримидина на различных сорбентах в условиях ОФ ВЭЖХ. Показано, что на поверхности ПГУ проявляется более высокая селективность разделения азотсодержащих гетероциклических соединений благодаря действию специфических и электростатических взаимодействий при элюировании водно-ацетонитрильным раствором с равным соотношением растворителей. Установлено, что введение в структуру исследуемых соединений ароматических заместителей способствует усилению адсорбции на поверхности ПГУ.
3. Методом множественной линейной регрессии получены корреляционные уравнения, позволяющие прогнозировать сорбционное поведение структурно близких флексимерных производных пиримидина и урацила. Продемонстрирована высокая чувствительность уравнений к молекулярным

дескрипторам, характеризующим строение гетероциклов и геометрию входящих в состав заместителей.

4. Методом масс-спектрометрии с ионизацией электрораспылением изучены флексимерные производные пиридина и пиримидина. Показаны возможные направления фрагментации и получены наборы характеристических ионов, позволяющие ускорить идентификацию структурно близких соединений с помощью метода мониторинга множественных реакций.
5. С помощью квантово-химического алгоритма Фостера-Бойса получены структуры с наиболее вероятными местами протонирования молекул флексимерных производных пиридина и пиримидина, существующих в газовой фазе при ионизации электрораспылением. Представлены рассчитанные методом теории функционала плотности значения сродства к протону для наиболее устойчивых форм протонированных молекул флексимерных производных пиридина и пиримидина.
6. Подобраны условия хроматографического разделения и масс-спектрометрической идентификации структурно близких азотсодержащих гетероциклических соединений, содержащих фрагменты пиридина, пиримидина, пиррола, пиразола, индазола.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ АВТОРОМ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК РФ

1. Иванова, Ю. П. Экспериментальное и теоретическое определение сорбционных характеристик производных 1,2,4-триазола методом жидкостной хроматографии и молекулярно-статистическим моделированием / **Ю. П. Иванова**, А. К. Буряк // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2024. – Т. 24. – №5. – С. 620-630. Q4 (Scopus)
2. Иванова, Ю. П. Исследование сорбционного поведения флексимерных производных азотсодержащих гетероциклов различного строения на поверхности гиперкарба в условиях ВЭЖХ / **Ю. П. Иванова**, А. К. Буряк // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2026. – Т.26. – № 3. – С. 482-491. Q4 (Scopus)
3. Иванова, Ю. П. Моделирование адсорбции производных урацила на поверхности гиперкарба в условиях обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии / **Ю. П. Иванова**, С. А. Нуйкин, А. Н. Ставрианиди, А. К. Буряк, С. Н. Ланин, Н. П. Платонова // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2026. – Т.26. – № 3. – С. 555-568. Q4 (Scopus)

Тезисы докладов на конференциях:

1. Курнышева Ю.П. (Иванова Ю.П.) Высокоэффективная жидкостная хроматография производных 1,2,4-триазола / Ю.П. Курнышева (Ю.П. Иванова), С.А. Рыжкин, С.В. Курбатова // Научное издание: Химия биологически активных веществ, Межвузовский сборник научных трудов II Всероссийской конференции. – 2019. – С. 89-90.
2. Курнышева Ю.П. (Иванова Ю.П.) Сорбция производных 1,2,4-триазола на гиперкарбе в условиях ВЭЖХ / Ю.П. Курнышева (Ю.П. Иванова), Б.Р. Сайфутдинов, С.В. Курбатова // ФИЗИКОХИМИЯ – 2019: XIV Конференция молодых ученых, аспирантов и студентов ИФХЭ РАН. – 2019. – С. 102-103.
3. Иванова Ю.П. Изучение селективности жидкофазной сорбции азотсодержащих гетероциклических соединений на гиперкарбе / Ю.П. Иванова // Материалы IV Всероссийской конференции по аналитической спектроскопии с международным участием. – 2023. – С.196-196.
4. Иванова Ю.П. Пути распада молекул структурно близких азотсодержащих гетероциклических соединений при вторичной ионизации в условиях тандемной масс-

спектрометрии высокого разрешения / Ю.П. Иванова // Двенадцатый съезд ВМСО XI всероссийская конференция с международным участием «Масс-спектрометрия и ее прикладные проблемы». 2025. – С. 123-123.

5. Иванова Ю.П. Исследование сорбции флексимерных производных азотсодержащих гетероциклов в условиях высокоэффективной жидкостной хроматографии / Ю.П. Иванова // ФИЗИКОХИМИЯ – 2026: XX Конференция молодых ученых, аспирантов и студентов ИФХЭ РАН. – 2026. – С. 95-96.

6. Иванова Ю.П. Исследование механизмов сорбции производных урацила на гиперкарбе в условиях ВЭЖХ / С.А. Нуйкин., С.Н. Ланин, Ю.П. Иванова, А.К. Буряк // XII Международная конференция «Современные проблемы адсорбции» к 125-летию академика М.М. Дубинина. – 2026. – С. 78-79.

Благодарности. Автор выражает искреннюю признательность за предоставленные образцы производных 1,2,4-триазола профессору кафедры неорганической химии ФГАОУ ВО «Самарский национальный исследовательский университет имени академика С.П. Королева», д.х.н. Белоусовой З.П. Автор искренне благодарит сотрудников Института молекулярной биологии имени В.А. Энгельгардта РАН, ведущего научного сотрудника, д.х.н. Хандажинскую А.Л. и старшего научного сотрудника, к.х.н. Матюгину Е.С. за производные урацила и флексимерные азотсодержащие гетероциклические соединения. Автор выражает глубокую благодарность за ценные рекомендации и советы всем коллегам, принимавшим участие в исследовании, за доброжелательное отношение и поддержку, а также лаборатории «умных» методов химического анализа под руководством к.х.н. Шолоховой А.Ю.

Диссертационное исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования (соглашение о предоставлении гранта № 075-15-2024-534).