

На правах рукописи

Колотилов Павел Николаевич

**ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ СТИЛЬБЕНОИДОВ С ПОВЕРХНОСТЬЮ КРЕМНЕЗЕМА
В УСЛОВИЯХ ЖИДКОСТНОЙ НОРМАЛЬНО-ФАЗОВОЙ
ХРОМАТОГРАФИИ**

05.11.11 – Хроматография и хроматографические приборы

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Москва – 2009

Работа выполнена в Учреждении Российской академии наук Институте физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина РАН (ИФХЭ РАН)

Научные руководители:

кандидат химических наук
Полунин Константин Евгеньевич

доктор химических наук
Ларин Александр Васильевич

Официальные оппоненты:

доктор химических наук
Волощук Альберт Михайлович
ИФХЭ РАН

доктор химических наук
Сердан Анхель Анхелевич
ГУП Химический факультет МГУ
им. М.В. Ломоносова

Ведущая организация:

ГОУ ВПО Химический факультет
Воронежский государственный университет

Защита состоится « **17** » **марта 2009** года в **15 час 00 мин.** на заседании Совета по защите докторских и кандидатских диссертаций Д 002.259.04 при Учреждении Российской академии наук Институте физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина РАН по адресу: 119991, г. Москва, Ленинский пр-т, д. 31, корп. 4.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ИФХЭ РАН.

Автореферат размещен на сайте Института: <http://physche.ac.ru>

Отзывы на автореферат (заверенные печатью) просим высылать по адресу: 119991, г. Москва, Ленинский пр-т, д. 31, корп. 4, ИФХЭ РАН, ученому секретарю Диссертационного совета по защите докторских и кандидатских диссертаций Д 002.259.04

Автореферат разослан « 16 » февраля 2009 г.

Ученый секретарь

диссертационного совета Д 002.259.04,
кандидат химических наук

Л.Н. Коломиец

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Важное место в ряду растительных полифенолов, к которым привлечено повышенное внимание исследователей, занимают стильбеноиды. В последние годы на основе растительных экстрактов, содержащих резвератрол, пичеатаннол и пиностильбен, разработаны новые фармацевтические и косметические препараты, наполнителем и загустителем в которых является кремнезем. Кроме того, синтетические стильбеноиды различной функциональности и стильбенсодержащие полимеры используются в производстве лазерных красителей, сенсоров, фоточувствительных маркеров и композиционных материалов. Однако межфазные адсорбционные взаимодействия в таких системах изучены недостаточно.

Хроматографические методы широко применяются для анализа природных объектов, контроля качества фармацевтической и косметической продукции, а также препаративного разделения растительных экстрактов и синтетических смесей, очистки и выделения целевых соединений. Использование адсорбционной хроматографии для исследования физико-химических параметров сорбционных процессов и выявления связи характеристик хроматографического удерживания со структурой молекул – один из наиболее перспективных подходов для изучения межмолекулярных и межфазных взаимодействий в композиционных системах. Моделирование процесса удерживания стильбеноидов на силикагеле в условиях жидкостной нормально-фазовой хроматографии с выявлением корреляционных зависимостей позволяет устанавливать связь между физико-химическими параметрами веществ, прогнозировать свойства хроматографической системы, оптимизировать ее состав и условия разделения стильбеноидов.

Тема диссертационной работы входит в план научных исследований ИФХЭ РАН (№ 01.2.00704516). Работа поддержана грантами РФФИ (№ 06-03-33185, 08-08-00845), Программами фундаментальных исследований Президиума РАН и Отделения химии и наук о материалах РАН.

Цель работы – выявление связи характеристик хроматографического удерживания синтетических и растительных стильбеноидов со структурой их молекул и равновесными адсорбционными характеристиками системы кремнезем – стильбеноиды – органический растворитель.

В соответствии с поставленной целью задачами работы являлись:

1. Выявление общих закономерностей удерживания на кремнеземе стильбеноидов с различной геометрической конфигурацией, длиной олефинового фрагмента, количеством и положением функциональных групп в широком интервале изменения доли полярного модификатора в бинарном органическом растворителе.
2. Формирование массива экспериментальных данных по хроматографическому удерживанию стильбеноидов на силикагеле для контроля качества фармацевтической продукции и оптимизации условий разделения синтетических смесей и растительных экстрактов стильбеноидов методами препаративной хроматографии.

3. Поиск корреляционных зависимостей, связывающих параметры удерживания стильбеноидов и модельных ароматических соединений, полученные различными методами адсорбционной жидкостной хроматографии.
4. Изучение изотерм и механизма адсорбции стильбеноидов на кремнеземе в широком интервале концентраций адсорбируемых веществ, применительно к условиям жидкостной нормально-фазовой хроматографии.

Научная новизна основных результатов работы заключается в следующем:

- Впервые получены экспериментальные данные о хроматографических и адсорбционных свойствах растительных стильбеноидов – пицеатаннола, рапонтигенина, пиностильбена и птеростильбена в широком интервале изменения доли полярного модификатора в бинарном органическом растворителе.
- Установлены корреляционные зависимости, связывающие параметры хроматографического удерживания стильбеноидов на кремнеземе с их функциональностью, структурными и физико-химическими свойствами в условиях жидкостной нормально-фазовой хроматографии.
- Впервые обнаружена корреляция между параметрами хроматографического удерживания метоксипроизводных стильбена, бензола и дифенила.
- Впервые получены изотермы равновесной адсорбции стильбеноидов на кремнеземе и изучено взаимодействие стильбеноидов с поверхностью SiO_2 в расширенной области концентраций для условий препаративной хроматографии с нормальными фазами.
- Впервые изучено влияние химии поверхности сорбента на величину адсорбции стильбеноидов, обнаружено, что на Al_2O_3 образуются более плотные монослои, чем на кремнеземе.

Практическая значимость работы. Установленные закономерности и экспериментальные результаты диссертационной работы были использованы при формировании массива данных в виде зависимостей параметров удерживания функциональных производных стильбена, дифенила и бензола от состава бинарного элюента в нормально-фазовой жидкостной хроматографии. Полученные результаты были использованы в работе ФГУ «Центр контроля лекарственных средств и медицинских измерений» Управления делами Президента РФ для анализа фармацевтических препаратов и растительных экстрактов, что привело к существенному сокращению времени анализа. Получен акт о внедрении созданного массива данных.

Результаты исследования параметров хроматографического удерживания полифенольных соединений на кремнеземе и установленные корреляционные зависимости позволяют прогнозировать поведение стильбеноидов при изменении условий сорбции, а также оптимизировать условия препаративного разделения синтетических смесей и выделения целевых продуктов. Данные диссертационной работы были использованы в материалах патентной заявки РФ № 2006123365.

Кроме того, результаты исследования адсорбционных свойств стильбеноидов могут быть использованы при разработке рецептуры новых композиционных материалов, наполненных кремнеземом.

На защиту выносятся:

1. Экспериментальные данные о хроматографических и адсорбционных свойствах синтетических и растительных стильбеноидов в условиях НФ ВЭЖХ.
2. Установленные закономерности хроматографического удерживания на кремнеземе стильбеноидов с различной геометрической конфигурацией, длиной олефинового фрагмента, количеством и положением функциональных групп в широком интервале изменения доли полярного модификатора в бинарном органическом растворителе.
3. Сравнительное удерживание стильбеноидов в условиях жидкостной нормально-фазовой хроматографии, а также корреляционные зависимости, связывающие параметры хроматографического удерживания стильбеноидов и модельных ароматических соединений, полученные различными методами жидкостной хроматографии.
4. Результаты исследования изотерм и механизма адсорбции стильбеноидов на кремнеземе из органических растворителей.

Апробация работы и публикации. Материалы диссертации докладывались на конференциях молодых ученых ИФХЭ РАН 2005-2008 гг. (премия им. А.В.Киселева в 2008 г.), Всероссийском симпозиуме «Хроматография и хроматографические приборы» (Москва, 2004 г.), Международной конференции «ИОНИТЫ» 2004 и 2007 гг., Международной конференции «Физико-химические основы новейших технологий XXI века» (Москва, 2005 г.), X Международной конференции «Теоретические проблемы химии поверхности, адсорбции и хроматографии» (Москва, 2006 г.), IV Всероссийской конференции «Химия и технология растительных веществ» (Сыктывкар, 2006 г.), III Всероссийской конференции «Химия поверхности и нанотехнология» (Санкт-Петербург, 2006 г.), Всероссийских конференциях «Физико-химические процессы в конденсированном состоянии и на межфазных границах» (Воронеж, 2006-2007 гг.), Всероссийском симпозиуме «Хроматография в химическом анализе и физико-химических исследованиях» (Москва, 2007 г.), XVIII Менделеевском съезде по общей и прикладной химии (Москва, 2007 г.), XI - XII Всероссийских симпозиумах «Актуальные проблемы теории адсорбции, пористости и адсорбционной селективности» (Москва, 2007-2008 гг.).

Публикации. По материалам диссертации опубликовано **20** работ. Основные результаты исследований опубликованы в **6** статьях в научных журналах, рекомендованных ВАК, в **13** трудах конференций и симпозиумов. Получена **1** патентная заявка на изобретение.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, шести глав, включающих, обзор литературы и пять глав экспериментальной части с

подразделами, выводов, списка цитируемой литературы из наименований и 2-х приложений. Работа содержит страниц машинописного текста, включая рисунков и таблиц.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении дано обоснование темы диссертации, отражены актуальность исследований, их научная и практическая значимость.

В первой главе приводится обзор работ, посвященных изучению физико-химических и фармакологических свойств растительных и синтетических стильбеноидов, хроматографическому разделению природных смесей полифенолов, исследованию адсорбционных взаимодействий стильбеноидов на границе раздела фаз.

Во второй главе описаны объекты и методы физико-химических исследований.

В качестве объектов исследования использовались *цис*- и *транс*-изомеры 1,2-дифенилэтилена (стильбена) 99,5% чистоты (Lancaster), а также различные гидрокси- и метоксипроизводные *транс*-стильбена и бензола от фирмы Acrus Organics. Кроме того, исследовались синтетические аналоги растительных стильбеноидов с гидрокси- и метоксигруппами (пиносильвин, пиностильбен, рапонтигенин, резвератрол, пицеатаннол), растительные экстракты, содержащие стильбеноиды (экстракты древесины *Маакии амурской*, стеблей *Vitis amurensis* и корневищ *Rhei undulati*), а также лекарственные препараты с эстрогенной активностью, входящие в реестр Государственной Фармакопеи РФ (диэтилстильбэстрол, димэстрол, синэстрол, октэстрол). Химические структуры всех исследованных соединений приведены в табл. 1.

Хроматографическая подвижность веществ определялась методом аналитической ТСХ на готовых пластинах фирмы Merck с сорбентом Silica gel 60 F₂₅₄ (размер частиц 5 мкм, диаметр пор 6 нм) толщиной 0.25 мм, содержащих люминофор ($\lambda = 254$ нм). Детектирование компонентов разделяемой смеси осуществлялась с помощью УФ-лампы.

В качестве метода хроматографического исследования была выбрана нормально-фазовая высокоэффективная жидкостная хроматография (НФ ВЭЖХ). Эксперимент выполнялся на хроматографе «Милихром–А01» со спектрофотометрическим детектором ($\lambda = 284$ нм) при температуре колонки (21 ± 1) °С. Использовалась колонка из нержавеющей стали (80×2 мм), заполненная силикагелем Силасорб-600 фирмы Lachema (размер зерен 5 мкм, диаметр пор 6-8 нм, объем пор 0.7 см³/г, $S_{уд} = 600$ м²/г). Расчетная масса адсорбента в колонке равна 140 мг, «мертвый» объем (объем удерживания бензола) – 180 мкл. Расход подвижной фазы составлял 50 мкл/мин. Элюентом служил *n*-гексан с добавкой этилацетата. Исследования методом ОФ ВЭЖХ проводили при комнатной температуре с помощью высокоэффективного жидкостного хроматографа фирмы Hewlett Packard 1050 с колонкой, заполненной силикагелем Hypersil ODS (C₁₈) (125×4 мм), диаметр зерна 3 мкм), оснащенного многоканальным диодно-матричным спектрофотометрическим детектором. Детектирование проводилось при длинах волн 275, 295, 305 и 345 нм,

что позволяло охватить весь ряд исследованных соединений с шириной полосы 2 нм. Расход подвижной фазы смеси ацетонитрила и воды (1:1) составил 1 мл/мин.

Исследование адсорбции стильбеноидов из органических растворителей на кремнеземе (аэросил А-300 фирмы Degussa, $S_{уд} = 310 \text{ м}^2/\text{г}$) проводилось статическим методом путем измерения разности исходной C_0 и равновесной C концентраций вещества в растворе до и после установления адсорбционного равновесия.

Таблица 1

Структурные формулы исследованных соединений

Соединение	Структура	Соединение	Структура
<i>транс</i> -Стильбен		<i>транс</i> -4-Гидрокси-стильбен	
<i>цис</i> -Стильбен		<i>транс</i> -4,4'-Дигидроксистильбен (стильбэстрол)	
<i>транс</i> -1,4-Ди-фенил-1,3-бутадиен		<i>транс</i> -3,5-Дигидроксистильбен (пиносильвин)	
<i>транс</i> -1,6-Ди-фенил-1,3,5-гексатриен		<i>транс</i> -3,5,4'-Тригидроксистильбен (резвератрол)	
<i>транс</i> -4-Метокси-стильбен		<i>транс</i> -3,5,4'-Тригидрокси-4'-метоксистильбен (рапонтигенин)	
<i>транс</i> -4,4'-Ди-метоксистильбен		<i>транс</i> -3,5,3',4'-Тетрагидроксистильбен (пицеатаннол)	
<i>транс</i> -3,4-Ди-(4-метокси-фенил)-3-гексен (димэстрол)		<i>транс</i> -3,4-Ди-(4-гидроксифенил)-3-гексен (диэтил-стильбэстрол)	
<i>мезо</i> -2,4-Ди-(4-гидроксифенил)-3-этилгексан (октэстрол)		<i>мезо</i> -3,4-Ди-(4-гидроксифенил)-гексан (синэстрол)	

Механизм адсорбционного взаимодействия стильбеноидов на кремнеземе исследовался методом ИК-Фурье-спектроскопии (спектрометр Perkin-Elmer 2000 с приставкой диффузного отражения фирмы Harrick & K⁰). Для увеличения соотношения сигнал – шум производилось накопление и усреднение спектра по 300 сканированиям. Разрешение составляло 4 см⁻¹.

В главе 3 приведены результаты исследования зависимости хроматографических свойств стильбена и других представителей дифенилполиенов Ph-(HC=CH)_n-Ph от геометрической конфигурации и длины олефинового фрагмента молекул в условиях нормально-фазового варианта ТСХ и ВЭЖХ на кремнеземе.

Таблица 2

Значения константы R_f дифенилполиенов на пластинках *Silica gel 60F₂₅₄* с элюентом этилацетат – *n*-гексан (φ - объемная концентрация этилацетата).

Соединение	R_f	
	$\varphi = 5\%$	$\varphi = 10\%$
<i>цис</i> -Стильбен (1,2-дифенилэтилен)	0.64	0.81
<i>транс</i> -Стильбен(1,2-дифенилэтилен)	0.59	0.77
<i>транс</i> -1,4-Дифенил-1,3-бутадиен	0.51	0.76
<i>транс</i> -1,6-Дифенил-1,3,5-гексатриен	0.48	0.75

В табл. 2 приведены значения константы R_f изомеров стильбена и дифенилполиенов. *цис*-Изомер стильбена удерживается слабее *транс*-изомера, причем константа R_f последнего уменьшается примерно на 20% с увеличением длины олефинового фрагмента в 3 раза. При увеличении поляр-

ности элюента до значений $\varphi = 10\%$ разделение смеси дифенилполиенов становится практически невозможным.

Методом НФ ВЭЖХ были рассчитаны удельные удерживаемые объемы (V_{rm}) стильбенов по уравнению:

$$V_{rm} = (V_r - V_0) / m, \quad (1)$$

где V_r – объем удерживания (мкл); V_0 – «мертвый объем» (мкл); m – масса сорбента в колонке (г). Полученные результаты представлены на рис. 1 в координатах уравнения Снайтера:

$$\lg V_{rm} = a - n \cdot \lg X_m, \quad (2)$$

где a и n – эмпирические коэффициенты, зависящие от природы сорбируемого вещества, полярности жидкой фазы и химии поверхности адсорбента; X_m – мольная доля этилацетата в *n*-гексане.

Экспериментальные зависимости, полученные по уравнению (2), были аппроксимированы линейной функцией методом наименьших квадратов. Квадраты коэффициентов корреляции r^2 были не ниже 0.98.

Как видно из рис. 1, экспериментальные результаты удовлетворительно описываются уравнением Снайтера со значениями константы n , практически одинаковыми для всех *транс*-изомеров дифенилполиенов. При увеличении доли этилацетата в смеси с гексаном ($X_m \rightarrow 1$) происходит значительное снижение константы Генри (удельного удерживаемого объема), вплоть до значений, близких к нулю. Удерживание *цис*-стильбена в меньшей степени зависит от полярности растворителя.

На основании экспериментальных данных по удерживанию соединений на силикагеле были рассчитаны относительные изменения свободной энергии:

$$\Delta(\Delta G) = -RT \ln(V_{rmi} / V_{rmst}), \quad (3)$$

где V_{rmi} – удерживаемый объем сорбата, V_{rmst} – удерживаемый объем стандартного вещества, R – газовая постоянная, T – температура.

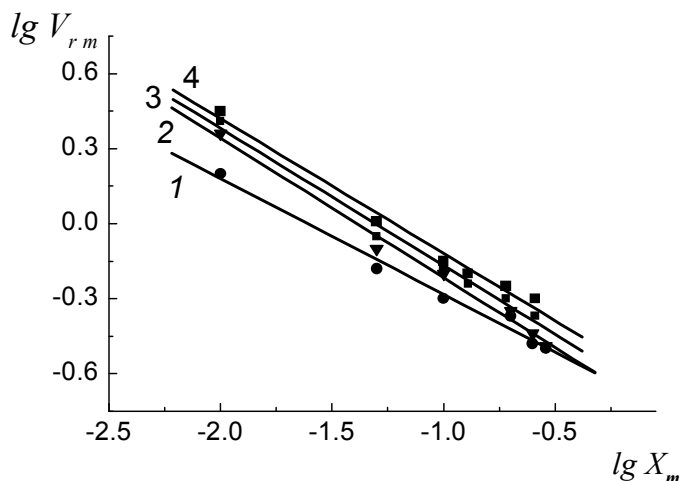


Рис. 1. Зависимость удельного удерживаемого объема V_{rm} (мкл/мг) *цис*-стильбена (1) и *транс*-стильбена (2), *транс*-1,4-дифенил-1,3-бутадиена (3) и *транс*-1,6-дифенил-1,3,5-гексатриена (4) от мольной доли X_m этилацетата в *н*-гексане.

Результаты расчетов $\Delta(\Delta G)$ представлены в табл. 3. Увеличение длины олефинового фрагмента в молекуле *транс*-стильбена на одну или две двойные связи приводит к увеличению $\Delta(\Delta G)$ на величину -290 и -610 Дж/моль, соответственно, для *транс*-1,4-дифенил-1,3-бутадиена и *транс*-1,6-дифенил-1,3,5-гексатриена. Т.е. вклад в значение $\Delta(\Delta G)$ одной двойной связи можно оценить примерно в -300 Дж/моль.

Таблица 3

Экспериментальные значения констант уравнения Снайдера и относительные изменения свободной энергии $\Delta(\Delta G)$ соединений в системе *Силасорб 600* – *этилацетат* – *н-гексан* (X_m – мольная доля этилацетата).

Соединение	X_m	a	n	r^2	$\Delta(\Delta G)$, Дж/моль, $X_m = 0.25$
<i>транс</i> -Стильбен*	0.01÷0.25	-0.72	0.39	0.98	0
<i>цис</i> -Стильбен	0.01÷0.25	-0.75	0.34	0.99	150
<i>транс</i> -1,4-Дифенил-1,3-бутадиен	0.055÷0.35	-0.71	0.41	0.99	-290
<i>транс</i> -1,6-Дифенил-1,3,5-гексатриен	0.055÷0.35	-0.69	0.45	0.99	-610

*стандартное вещество – *транс*-стильбен

Поскольку в нормально-фазовом варианте ТСХ и ВЭЖХ основным фактором, определяющим удерживание, является взаимодействие элюатов с поверхностью неподвижной фазы (сорбента), для проведения в дальнейшем препаративного разделения смесей стильбеноидов и дифенилполиенов были выполнены дополнительные исследования адсорбционных взаимодействий в модельных

системах SiO₂ (аэросил) – растворы стильбенов в органических растворителях в широкой области изменения концентраций ароматических соединений.

Изотермы равновесной адсорбции изомеров стильбена на кремнеземе из *n*-гексана характеризуются довольно широкой областью Генри, переходящей в плато при равновесной концентрации *транс*- и *цис*-стильбена 175 и 225 мкмоль/л, соответственно. Расчеты по уравнению Ленгмюра позволили оценить емкость монослоев (a_m). Показано, что в плотном монослое адсорбция *транс*-стильбена на 30% больше, чем адсорбция *цис*-стильбена, и составляет 0.053 мкмоль/м². Величина адсорбции *транс*-1,4-дифенил-1,3-бутадиена и *транс*-1,6-дифенил-1,3,5-гексатриена в области плато несколько выше и составляет 0.056 и 0.058 мкмоль/м², соответственно.

Адсорбция стильбена и дифенилполиенов на кремнеземе из этилацетата приводит к образованию значительно менее плотного монослоя, чем при его адсорбции из *n*-гексана, но зависимость адсорбции от длины олефинового фрагмента остается той же.

Глава 4 посвящена выявлению связи характеристик хроматографического удерживания метоксипроизводных стильбена с количеством и положением функциональных групп в структуре молекулы, ее геометрической конфигурацией и строением углеводородного радикала.

Введение метоксигрупп в молекулы стильбена изменяет их донорно-акцепторные свойства и усиливает взаимодействие с гидроксильной поверхностью силикагеля, однако качественно не меняет соотношения между хроматографическим удерживанием *цис*- и *транс*-изомеров (табл. 4).

Таблица 4

Значения константы R_f метоксипроизводных стильбена, бензола и дифенила на *Silica gel 60F₂₅₄* с элюентом этилацетат – *n*-гексан (ϕ – объемная концентрация этилацетата).

Соединение	R_f	
	$\phi = 50\%$	$\phi = 70\%$
<i>цис</i> -4-Метоксистильбен	0.62	0.85
<i>транс</i> -4-Метоксистильбен	0.59	0.81
<i>цис</i> -4,4'-Диметоксистильбен	0.56	0.79
<i>транс</i> -4,4'-Диметоксистильбен	0.54	0.77
Димэстрол	0.56	0.79
<i>транс</i> -3,5-Диметоксистильбен	0.52	0.75
<i>транс</i> -3,5,4'-Триметоксистильбен	0.47	0.71
<i>транс</i> -3,5,3',4'-Тетраметоксистильбен	0.42	0.65
Метоксибензол	0.64	0.78
1,3-Диметоксибензол	0.62	0.76
1,4-Диметоксибензол	0.57	0.76
2,2'-Диметоксидифенил	0.58	0.79
4,4'-Диметоксидифенил	0.55	0.76

Показано, что при увеличении числа метоксигрупп в стильбене от 1 до 4 значение константы R_f уменьшается на 25%.

Хроматографическое удерживание метоксистильбенов зависит от положения метоксигрупп: симметричные диметоксистильбены с заместителями в разных кольцах (С-4,4') удерживаются слабее, чем стильбены с двумя метоксигруппами в одном кольце (С-3,5). Наличие в димэстрол

этильных групп при двойной связи этиленового фрагмента (табл. 1) приводит к увеличению константы R_f по сравнению с *транс*-4,4'-диметоксистильтбеном.

Кроме того, в табл. 4 приведены значения константы R_f различных модельных ароматических соединений с той же функциональностью, но разной структурой углеводородного радикала – бензола и дифенила. Сравнение хроматографического поведения метоксипроизводных стильтбена, бензола и дифенила показывает, что хроматографические параметры удерживания *транс*-4,4'-диметоксистильтбена и 4,4'-диметоксидифенила достаточно хорошо совпадают; удерживание 1,4-диметоксибензола немного слабее. В случае присутствия двух метоксигрупп в одном кольце, как у 3,5-диметоксистильтбена и 1,3-диметоксибензола, разница в удерживании стильтбена и бензола значительно выше. При увеличении доли этилацетата в элюенте до 70% разница в значениях R_f стильтбенов, бензолов и дифенилов практически нивелируется.

На рис. 2 приведены экспериментальные зависимости удельных удерживаемых объемов V_{rm} метоксистильтбенов, полученные методом НФ ВЭЖХ, от мольной доли X_m этилацетата в *n*-гексане. Обработка экспериментальных результатов по уравнению Снайдера (2) позволила обнаружить, что значения константы n для *транс*-4-метоксистильтбена и метоксибензола практически совпадают, т.е. эти соединения имеют близкие хроматографические свойства в НФ ВЭЖХ (табл. 5).

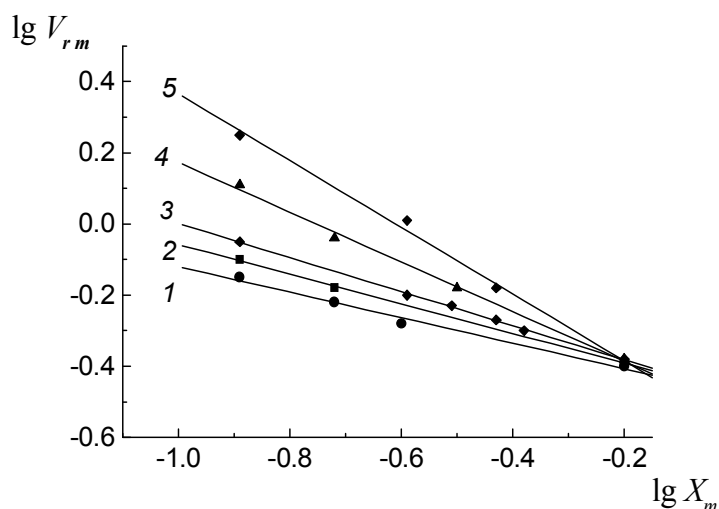


Рис. 2. Зависимость удельного удерживаемого объема V_{rm} (мкл/мг) метоксибензола (1), *транс*-4-метоксистильтбена (2), 1,4-диметоксибензола (3), 4,4'-диметоксидифенила (4) и *транс*-4,4'-диметоксистильтбена (5) от мольной доли X_m этилацетата в *n*-гексане.

Удерживание ароматических соединений на силикагеле увеличивается в последовательности: 1,4-диметоксибензол < 4,4'-диметоксидифенил < *транс*-4,4'-диметоксистильтбен ($X_m = 0.1 \div 0.5$).

В табл. 5 представлены результаты расчетов относительной свободной энергии $\Delta(\Delta G)$ для метоксистильтбенов и бензолов. Вклады величины $\Delta(\Delta G)$ в адсорбционное взаимодействие с силикагелем одной метоксигруппы в структурах стильтбена и бензола имеют близкие значения и оцениваются примерно в -400 Дж/моль.

Таблица 5.

Экспериментальные значения констант уравнения Снайдера и относительные изменения свободной энергии $\Delta(\Delta G)$ соединений в системе *Силасорб 600 – этилацетат – н-гексан* (X_m – мольная доля этилацетата).

Соединение	X_m	a	n	r^2	$\Delta(\Delta G)$, Дж/моль, $X_m=0.25$
<i>транс</i> -4-Метоксисти́льбен*	0.15÷0.5	-0.54	0.66	0.98	0
<i>транс</i> -4,4'-Диметоксисти́льбен	0.1÷0.55	-0.57	0.94	0.99	-390
Метоксибензол**	0.15÷0.5	-0.54	0.62	0.99	0
1,4-Диметоксибензол	0.15÷0.55	-0.56	0.78	0.99	-370
4,4'-Диметоксидифенил	0.1÷0.55	-0.57	0.91	0,99	-400

* стандартное вещество для *транс*-4,4'-диметоксисти́льбена

** стандартное вещество для 1,4-диметоксибензола и 4,4'-диметоксидифенила

Полученные результаты позволяют воспользоваться при моделировании хроматографического поведения метоксисти́льбенов их более доступными аналогами – метоксипроизводными бензола и дифенила.

В главе 5 изучены параметры хроматографического удерживания сти́льбеноидов, содержащих гидрокси- и метоксигруппы, в нормально-фазовой ТСХ и ВЭЖХ на силикагеле в зависимости от строения их молекул и состава бинарного элюента. Как показывает сравнение факторов удерживания сти́льбеноидов (табл. 6), *транс*-4-гидроксисти́льбен удерживается сильнее, чем его *цис*-изомер.

Таблица 6

Значения константы R_f гидрокси- и метоксипроизводных сти́льбена на *Silica gel 60F₂₅₄* с элюентом этилацетат – н-гексан (φ – объемная концентрация этилацетата).

Соединение	R_f	
	$\varphi = 50\%$	$\varphi = 70\%$
<i>цис</i> -4-Гидроксисти́льбен	0.52	0.63
<i>транс</i> -4-Гидроксисти́льбен	0.46	0.57
<i>транс</i> -4,4'-Дигидроксисти́льбен	0.39	0.48
Диэтилсти́льбэстрол	0.42	0.52
<i>мезо</i> -3,4-Ди-(4-гидроксифенил)-гексан (синэстрол)	0.46	0.55
<i>транс</i> -3,5-Дигидроксисти́льбен (пиносильвин)	0.37	0.45
<i>транс</i> -3,4'-Дигидрокси-5-метоксисти́льбен (пиности́льбен)	0.35	0.42
<i>транс</i> -3,5-Дигидрокси-4'-метоксисти́льбен	0.30	0.37
Резвератрол	0.20	0.31
Рапонтигенин	0.18	0.28
Пицеатаннол	0.12	0.23

Метоксистильбены удерживаются значительно слабее гидроксистильбенов, поэтому замена одной ОН-группы в гидроксистильбенах на метоксигруппу, т.е. переход от пицеатаннола к рапонтигенину или от резвератрола к пиносильбену приводит к уменьшению их удерживания на силикагеле. Величина R_f пиносильбена немного меньше, чем у пиносильвина, т.е. вклад метоксигруппы в адсорбцию гидроксиметоксистильбенов на кремнеземе незначителен.

На рис. 3 приведены данные о хроматографическом удерживании на силикагеле стильбеноидов, полученные методом НФ ВЭЖХ. Величины констант Генри значительным образом изменяются в зависимости от мольной доли X_m полярного растворителя в жидкой фазе, количества и положения гидроксильных групп в молекулах элюатов (рис. 3). Согласно результатам, приведенным в табл. 7, удерживание гидроксистильбенов на силикагеле растет в последовательности *цис*-4-гидроксистильбен < *транс*-4-гидроксистильбен < диэтилстильбэстрол < *транс*-4,4'-дигидроксистильбен < резвератрол < пицеатаннол.

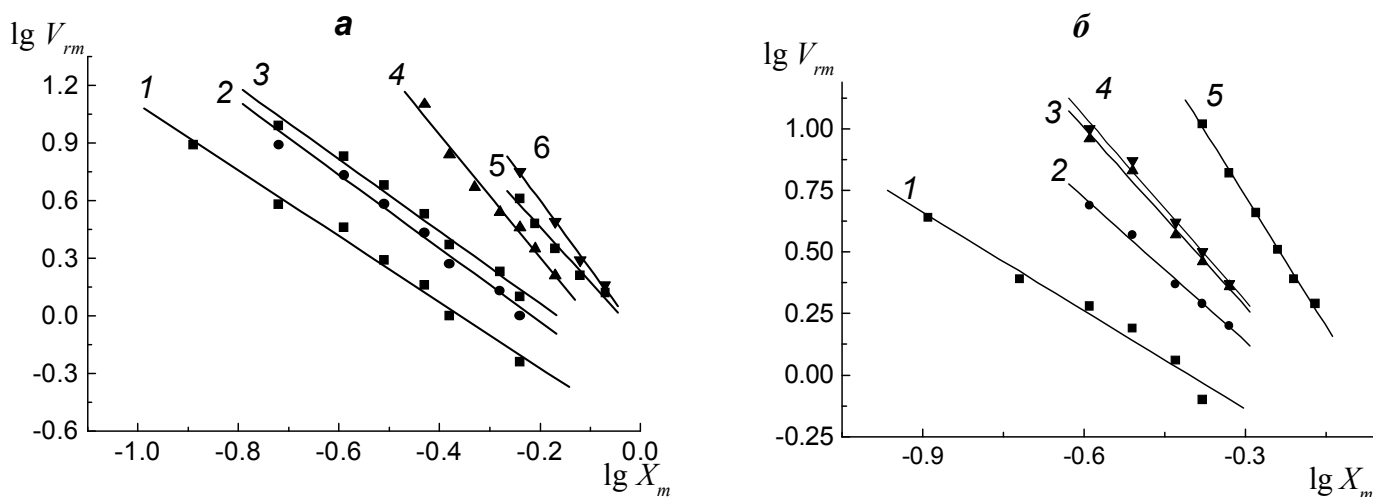


Рис. 3. Зависимости удельных удерживаемых объемов V_{rm} (мкл/мг) от мольной доли X_m этилацетата в *n*-гексане для: (а) *транс*-4-гидроксистильбена (1), 4,4'-*транс*-дигидроксистильбена (2), диэтилстильбэстрола (3), резвератрола (4) рапонтигенина (5) и пицеатаннола (6) и (б) фенола (1), пирокатехина (2), резорцина (3), гидрохинона (4), флороглюцина (5).

Наличие в диэтилстильбэстролу этильных групп при двойной связи приводит к увеличению константы R_f по сравнению с *транс*-4,4'-дигидроксистильбеном, тогда как переход от диэтилстильбэстрола к синэстрола, т.е. насыщение двойной связи молекулы стильбена, приводит к снижению удерживания на силикагеле.

Результаты расчетов $\Delta(\Delta G)$ стильбеноидов при двух значениях мольной доли X_m этилацетата в жидкой фазе представлены в табл. 7. Значения $\Delta(\Delta G)$ в ряду *транс*-4,4'-дигидроксистильбен – резвератрол – пицеатаннол составляют, соответственно, -3220, -5200 и -7100 Дж/моль при $X_m = 0.25$. Это позволяет примерно рассчитать

численное значение $\Delta(\Delta G)$ для одной гидроксильной группы, которое оказалось равным -2000 Дж/моль при $X_m = 0.25$. Отметим, что абсолютные значения относительных свободных энергий $\Delta(\Delta G)$ для гидроксистильтбенон при варьировании X_m изменяются существенно, но соотношение и оцененные значения $\Delta(\Delta G)$ для одной гидроксильной группы при каждом X_m остаются постоянными. Это позволяет прогнозировать энергетику водородной связи с кремнеземом при адсорбции веществ, содержащих гидроксильные группы, при произвольном содержании полярной составляющей в жидкой фазе.

Таблица 7

Экспериментальные значения констант уравнения Снайтера и относительные изменения свободной энергии $\Delta(\Delta G)$ соединений в системе *Силасорб 600 – этилацетат – n-гексан* (X_m – мольная доля этилацетата).

Соединение	X_m	a	n	r^2	$\Delta(\Delta G)$, Дж/моль, $X_m=0.25$	$\Delta(\Delta G)$, Дж/моль, $X_m=0.4$
4- <i>транс</i> - Гидроксистильтбен*	0.15÷0.6	-0.61	1.43	0.98	0	0
<i>транс</i> -4,4`- Дигидроксистильтбен	0.2÷0.6	-0.51	2.38	0.99	-3220	-2700
Диэтилстильбэстрол	0.2÷0.6	-0.41	1.87	0.98	-1520	-1250
Резвератрол	0.4÷0.75	-0.33	3.20	0.99	- 5200	-4300
Рапонтигенин	0.4÷0.8	-0.30	3,33	0.99	-6200	-5200
Пицеатаннол	0.4÷0.8	-0.11	3.55	0.99	- 7100	-6020
Фенол**	0.15÷0.5	-0.54	1.33	0.99	0	0
Гидрохинон	0.25÷0.5	-0.46	2.50	0.98	-4070	-3410
Резорцин	0.25÷0.5	-0.45	2.42	0.99	-3790	-3100
Пирокатехин	0.5÷0.8	-0.45	1.94	0.99	-2260	-1820
Флороглюцин	0.4÷0.8	-0.33	3.56	0.99	- 5920	-4950

* стандартное вещество для гидроксистильтбенон

** стандартное вещество для гидроксистильтбенон

Поскольку коэффициенты n уравнения Снайтера для флороглюцина и пицеатаннола достаточно близки между собой, то флороглюцин можно использовать как аналог пицеатаннола при моделировании его хроматографического удерживания на поверхности силикагеля из неводного растворителя.

Для проведения в дальнейшем препаративного разделения смесей стильтбенонидов были выполнены дополнительные исследования их адсорбционных взаимодействий с аэросилом в широкой области концентраций. Проведено сравнение адсорбционных констант стильтбенонидов, измеренных методом НФ ВЭЖХ в области малых концентраций, с результатами, полученными статическим методом при измерении изотерм адсорбции в области больших концентраций. Обнаружено, что в некоторых случаях величины предельной адсорбции исследованных соединений, рассчитанные по уравнению Ленгмюра для мономолекулярной адсорбции на

поверхности с энергетически однородными центрами, совпадают (например, для *транс*-4-гидроксистильбена), а в некоторых случаях (например, для фенола) значительно отличаются от величин равновесной адсорбции, оцененных по области выхода изотерм адсорбции на плато.

Лучшие результаты дает использование уравнения Фрейндлиха для локализованной адсорбции на поверхности с энергетически неоднородными центрами.

На рис. 4 приведены результаты измерений изотерм адсорбции, обработанные в координатах уравнения Фрейндлиха:

$$\lg(a) = n + m \cdot \lg(C_p), \quad (4)$$

где a – величина адсорбции, C_p – равновесная концентрация соединения в растворе, n и m – эмпирические коэффициенты, зависящие от природы сорбируемого вещества.

Значения констант n и m уравнения (4), рассчитанные из экспериментальных изотерм адсорбции на кремнеземе из смеси *n*-гексана и этилацетата, приведены в табл. 8.

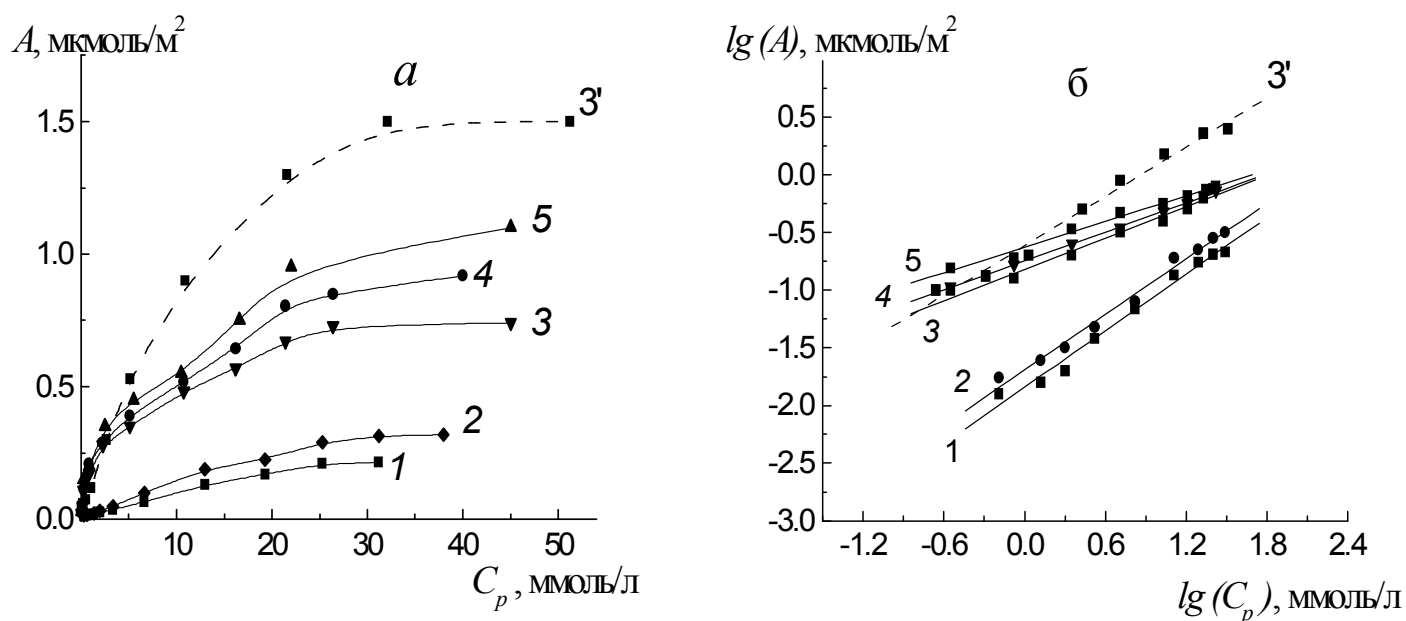


Рис. 4. Изотермы адсорбции: **а** - фенола (1), *транс*-4-гидроксистильбена (2), резвератрола (3), флороглюцина (4) и пицеатаннола (5) из смеси *n*-гексана и этилацетата (1:1) на поверхности SiO_2 и резвератрола (3') на поверхности Al_2O_3 ; **б** – изотермы тех же соединений в координатах уравнения Фрейндлиха.

Как было показано методом ИК-Фурье-спектроскопии (рис. 5), адсорбция стильбеноидов осуществляется на силанольных группах поверхности кремнезема с образованием водородных связей и полностью обратима.

Таблица 8

Значения констант n и m в уравнении Фрейндлиха, рассчитанные из экспериментальных изотерм адсорбции на кремнеземе из смеси n -гексана и этилацетата (1:1).

Соединение	n	m
<i>транс</i> -4-Гидроксистильбен	-1.69	0.81
Резвератрол	-0.82	0.45
Пицеатаннол	-0.63	0.37
Фенол	-1.84	0.82
Флороглюцин	-0.75	0.41

силикагель, широко используется в колоночной хроматографии низкого давления при анализе фармацевтических препаратов.

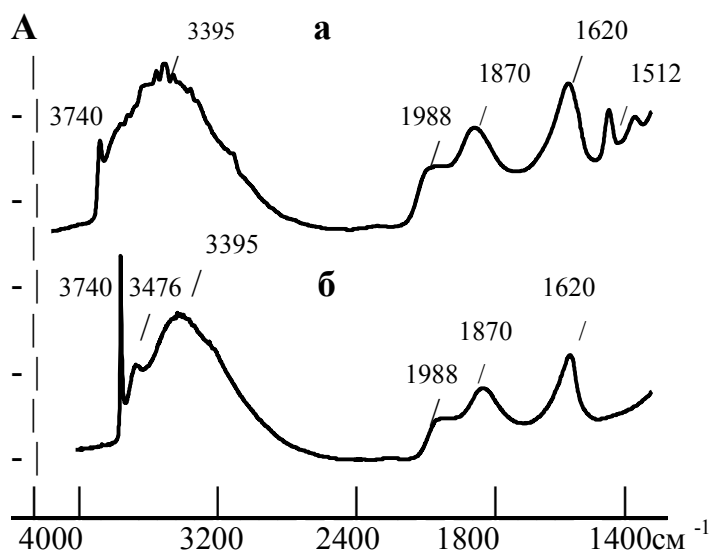


Рис. 5. ИК-спектры диффузного отражения кремнезема, модифицированного пицеатаннолом (**а**), и чистого кремнезема (**б**).

больше, чем на SiO_2 . Константы n и m уравнения Фрейндлиха для *транс*-4-гидроксистильбена и резвератрола на SiO_2 составили соответственно значение -1.69 и 0.81, а на Al_2O_3 соответственно, -0.61 и 0.72.

Сравнение значений констант n и m для стильбенов и фенолов, приведенных в табл. 8, позволяет обнаружить корреляцию между адсорбционным поведением фенола и *транс*-4-гидроксистильбена, а также флороглюцина, резвератрола и пицеатаннола. Полученный результат важен для препаративного разделения стильбеноидов, поскольку многие соединения этого ряда малодоступны и дороги.

Уменьшение числа ОН-групп в молекуле стильбеноида от четырех (пицеатаннол) до одной (4-гидроксистильбен) существенно не влияет на механизм взаимодействия стильбеноидов с аэросилом. Однако при этом уменьшается величина адсорбции стильбеноида на кремнеземе и часть силанольных групп поверхности остается свободной.

Оксид алюминия, также как и

Оксид алюминия проявляет повышенную селективность по сравнению с силикагелем в разделении полиенов и каротиноидов. Изучено влияние химии поверхности адсорбента на величину адсорбции гидроксистильбенов. Для сравнения использовался пирогенный аэрогель Al_2O_3 фирмы Degussa (AluC , $S_{\text{уд}} = 100 \text{ м}^2/\text{г}$).

Обнаружено, что величина адсорбции *транс*-4-гидроксистильбена и резвератрола на поверхности SiO_2 при выходе на плато составляет 0.21 и 0.74 $\text{мкмоль}/\text{м}^2$ (рис. 4, кривая 2 и 3), а на Al_2O_3 – 0.44 и 1.5 $\text{мкмоль}/\text{м}^2$ (кривая 3'), соответственно, т.е. на Al_2O_3 величина адсорбции гидроксистильбена и резвератрола на единицу поверхности примерно в 2 раза

Возможность прогнозирования хроматографического поведения стильбеноидов в конкретной системе, путем изучения хроматографического поведения легко доступных и дешевых гидроксид- и метокси производных бензола и дифенила, имеет большое значение для практических целей препаративного разделения растительных стильбеноидов.

Глава 6 посвящена применению установленных закономерностей хроматографического поведения стильбеноидов с различной функциональностью для решения практических задач по оптимизации условий анализа и препаративного разделения смесей стильбеноидов, а также контроля за качеством лекарственных препаратов.

Значительно ускорить проведение препаративного разделения растительных экстрактов и смесей синтезированных стильбеноидов позволяет использование корреляции между параметрами удерживания стильбеноидов, полученных методами ТСХ и НФ ВЭЖХ.

На рис. 6 приведена линейная зависимость между величиной обратной константе R_f и удельным удерживаемым объемом V_{rm} стильбеноидов в изократическом режиме элюирования, которая может быть описана уравнением:

$$1/R_f = 0.06 + 1.44 V_{rm} . \quad (5)$$

Ошибка переноса данных между двумя методами меньше 10%.

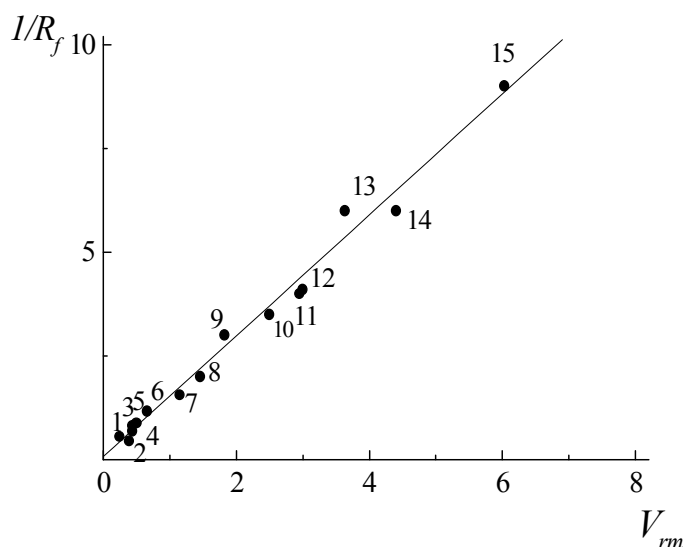


Рис. 6. Зависимость между величиной обратной константе R_f и приведенным объемом удерживания V_{rm} (мкл/мг) для *цис*-стильбена (1), *транс*-стильбена (2), метоксибензола (3), 4,4'-диметоксидифенила (4), 1,4-диметоксибензола (5), *транс*-4-метоксистильбена (6), *транс*-4,4'-диметоксистильбена (7), фенола (8), *транс*-4-гидроксистильбена (9), пирокатехина (10), резорцина (11), 1,4-дигидроксибензола (12), резвератрола (13), флороглюцина (14), пицеатаннола (15) при значении ϕ этилацетата в *n*-гексане: 50%.

Линейные зависимости наблюдаются для всех стильбеноидов в широком диапазоне изменения концентрации полярного модификатора в бинарном элюенте. В частности, на рис. 7 приведены данные для пицеатаннола и рапонтигенина.

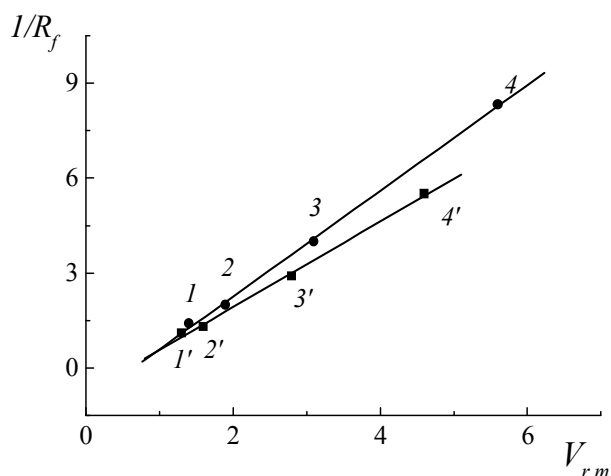


Рис.7. Зависимость между константой R_f и удельным удерживаемым объемом V_{rm} (мкл/мг) для пицеатаннола и рапонтигенина при значениях ϕ этилацетата в *n*-гексане: 80% (1, 1', соответственно), 70% (2, 2'), 60% (3, 3'), 50 % (4, 4').

Кроме того, были проведены исследования взаимосвязи между параметрами хроматографического удерживания, полученными методами НФ и ОФ ВЭЖХ, для использования сформированного нами массива данных при анализе биологических жидкостей. К тому же использование в качестве твердой фазы гидрофобного силикагеля C_{18} позволяет в первом приближении моделировать липидный матрикс биомембран и прогнозировать поведение стильбеносодержащих лекарственных препаратов в живых системах.

Были измерены зависимости между значениями факторов удерживания стильбеноидов, полученными методами НФ ВЭЖХ (Силасорб-600, элюент – смесь этилацетата и *n*-гексана (1:1) и ОФ ВЭЖХ (Hypersil ODS C_{18} , колонка 125×4 мм, диаметр зерна 3 мкм; элюент – смесь ацетонитрила и воды (1:1). Обнаружено, что существует линейная зависимость между этими хроматографическими параметрами. В табл. 9 проведено сравнение параметров разделения стильбеноидов в НФ ВЭЖХ и ОФ ВЭЖХ в изократическом режиме элюирования. Величины значений α и R между пиками для большинства стильбеноидов одинаковы в обоих методах кроме изомеров стильбена. Численные значения величин α и R при разделении смеси изомеров стильбена в 2 и 10 раз больше при использовании метода НФ ВЭЖХ, чем ОФ ВЭЖХ. По-видимому, это связано со специфическим взаимодействием изомеров стильбена с поверхностью гидроксилированного силикагеля.

Результаты исследования хроматографических параметров удерживания стильбеноидов и установленные корреляционные зависимости позволяют прогнозировать их поведение при изменении условий сорбции, а также оптимизировать условия хроматографического разделения смесей стильбеноидов.

Полученные результаты могут оказаться очень полезными при выборе метода анализа стильбеноидов и перенесении параметров хроматографического разделения между методами НФ ВЭЖХ или ОФ ВЭЖХ.

Таблица 9

Хроматографические параметры удерживания и разделения смеси стильбеноидов в условиях НФ и ОФ ВЭЖХ

Соединение	Силасорб-600			Hypersil ODS C ₁₈		
	K	α	R	k	α	R
<i>цис</i> -Стильбен	0.08	2	3.75	16.11	1.03	0.36
<i>транс</i> -Стильбен	0.19			16.61		
<i>транс</i> -4-Метоксисти́льбен	2.11	1.15	3.33	15.71	1.11	2.85
<i>транс</i> -4,4`-Диметоксисти́льбен	2.42			14.12		
<i>транс</i> -4-Гидроксисти́льбен	3.36	1.36	3.67	4.92	1.32	2.21
Диэтилсти́льбэстрол	4.56			3.72		
Резвератро́л	6.78	1.34	7.61	2.12	1.15	6.72
Пицеатанно́л	9.09			1.84		

k - фактор удерживания, α - фактор разделения и R - разрешение между пиками соединений.

Хроматографический метод анализа широко используется для контроля качества фармацевтической и косметической продукции. Использование сформированного массива данных по хроматографическому удерживанию стильбеноидов позволяет быстро и надежно идентифицировать присутствие этих ценных биологически активных веществ, обладающих противораковой, антивирусной, гепато- и кардиопротекторной активностью в фармакологической и косметической продукции.

На основе экстрактов древесины *Маакии амурской*, стеблей *Vitis amurensis* и корневищ *Rhei undulati*, содержащих смесь стильбеноидов (пицеатаннола, рапантигенина, резвератрола и др.), изготавливается ряд лекарственных и косметических препаратов, а также биологически активных добавок. На рис. 8-9 приведены хроматограммы экстракта из древесины *Маакии амурской* и препарата «Максар», производимого на его основе, зарегистрированного как биологически активная добавка. Пики на хроматограмме препарата «Максар» идентифицировали с использованием двух параметров: времени удерживания и спектрального отношения при длинах волн 280 нм и 365 нм. В обоих образцах обнаружены резвератро́л, рапонтигенин и пицеатанно́л.

Экспериментально было установлено, что оптимальная объемная концентрация этилацетата в *n*-гексане для разделения стильбеноидов с гидроксигруппами составляет 50%. Эта система оказалась пригодной для анализа растительных экстрактов методом НФ ВЭЖХ.

Таким образом, использование метода НФ ВЭЖХ и сформированного массива данных по хроматографическому удерживанию стильбеноидов позволяет надежно определять наличие стильбеноидов в растительных экстрактах, контролировать качество лекарственных препаратов и значительно сократить время анализа.

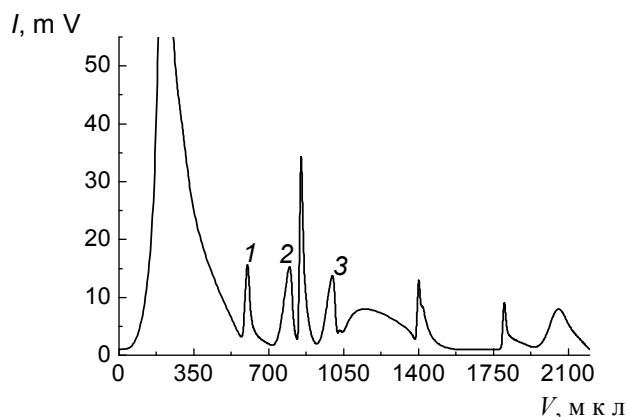


Рис. 8. Хроматограмма препарата «Максар»: резвератрол (1), рапонтигенин (2) и пицеатаннол (3) в системе Силасорб 600 – этилацетат – *n*-гексан при объемной концентрации этилацетата в *n*-гексане $\varphi = 50\%$.

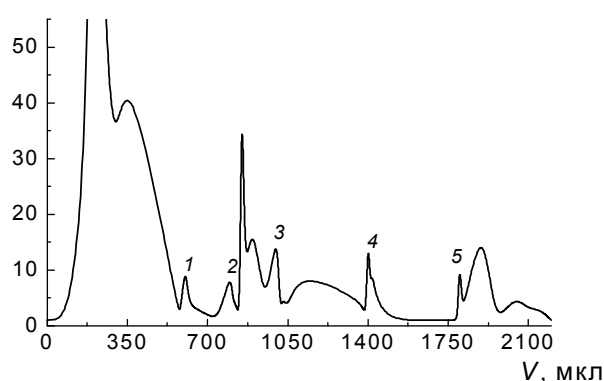


Рис. 9. Хроматограмма соединений из древесины *Маакии амурской*: резвератрол (1), рапонтигенин (2) и пицеатаннол (3), кверцетин (4) и морин (5) в системе Силасорб 600 – этилацетат – *n*-гексан при объемной концентрации этилацетата в *n*-гексане $\varphi = 50\%$.

В состав многих лекарственных препаратов, используемых в гормонозаместительной терапии, входят соединения со структурой стилибена. На рис. 10 приведена хроматограмма препарата «Фолликулин», зарегистрированного в реестре лекарственных препаратов РФ, в состав которого входят эстрогенные гормоны нестероидного строения – димэстрол, синэстрол и октаэстрол.

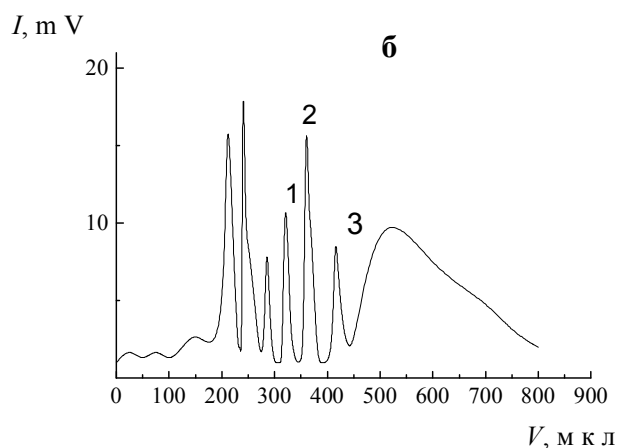
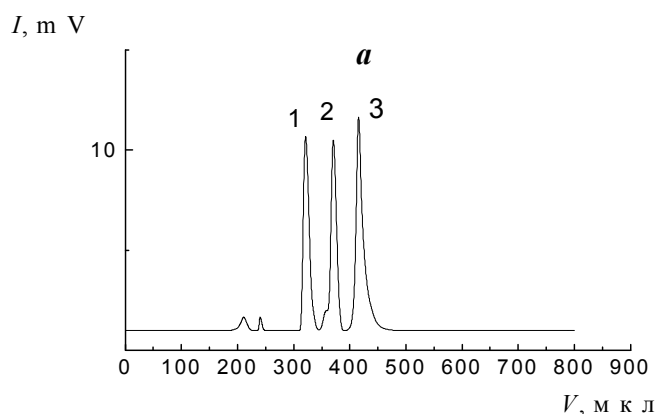


Рис. 10. Хроматограммы: (а) смеси стандартов – димэстрола (1), синэстрола (2) и октаэстрола (3); (б) препарата «Фолликулин» (Силасорб 600 – этилацетат – *n*-гексан при объемной концентрации этилацетата в *n*-гексане $\varphi = 50\%$).

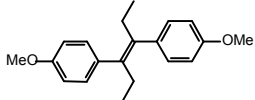
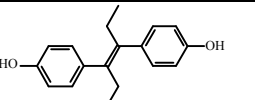
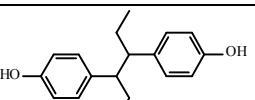
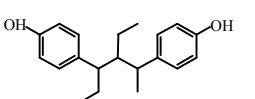
Как показывает сравнение хроматограмм, в препарате «Фолликулин» содержатся вышеупомянутые эстрогенные соединения, что подтверждает заявленный состав данного препарата.

Для экспресс-анализа биологических жидкостей, содержащих лекарственные препараты на основе эстрогенных гормонов нестероидного строения, могут быть использованы корреляционные зависимости между параметрами удерживания, полученными методами ТСХ и НФ ВЭЖХ для фенольных соединений.

В табл. 10 приведены значения R_f и V_{rm} эстрогенных гормонов нестероидного строения. Как видно из таблицы, значения удельных удерживаемых объемов V_{rm} , для эстрогенных гормонов нестероидного строения, полученные экспериментально и рассчитанные по уравнению (5), хорошо согласуются между собой.

Таблица 10

Значения констант R_f и удельных удерживаемых объемов V_{rm} , для эстрогенных гормонов нестероидного строения

Соединение	Структура	R_f	V_{rm} , (рассчитанное)	V_{rm} , (экспериментальное)
<i>транс</i> -3,4-Ди-(4-метоксифенил)-3-гексен (димэстрол)		0.56	1.19±0.06	1.14±0.06
<i>транс</i> -3,4-Ди-(4-гидроксифенил)-3-гексен (диэтилстильбэстрол)		0.42	1.61±0.08	1.59±0.08
<i>мезо</i> -3,4-Ди-(4-гидроксифенил)-гексан (синэстрол)		0.46	1.47±0.07	1.42±0.07
<i>мезо</i> -2,4-Ди-(4-гидроксифенил)-3-этилгексан (октэстрол)		0.41	1.66±0.08	1.65±0.08

Таким образом, обнаруженные зависимости, связывающие параметры удерживания стильбеноидов, полученные различными методами жидкостной хроматографии, значительно облегчают оптимизацию условий анализа и препаративного разделения смесей стильбеноидов, позволяют прогнозировать поведение стильбеноидов при изменении условий сорбции, а также контролировать качество лекарственной и косметической продукции.

ВЫВОДЫ

1. Получены новые экспериментальные данные о хроматографических свойствах синтетических и растительных стильбеноидов в условиях нормально фазовой жидкостной хроматографии на кремнеземе. Сформирован массив данных в виде зависимостей удерживания стильбеноидов от доли полярного

модификатора в элюенте для качественного и количественного анализа растительных экстрактов и фармацевтических препаратов, содержащих стильбеноиды.

2. Установлены зависимости хроматографического удерживания стильбеноидов от физико-химических свойств их молекул (функциональности, количества и положения функциональных групп, геометрической конфигурации и длины олефинового фрагмента). Определены количественные соотношения вкладов этих составляющих в хроматографическое удерживание. Изучены возможности моделирования стильбеноидов с использованием производных бензола и дифенила с аналогичной функциональностью и пространственным расположением групп.
3. Рассчитаны эмпирические коэффициенты уравнений, связывающих константы удерживания стильбеноидов на кремнеземе, полученные методами ТСХ и НФ ВЭЖХ; установлена корреляция между хроматографическими параметрами удерживания стильбеноидов в условиях НФ и ОФ ВЭЖХ, что значительно облегчает оптимизацию условий анализа и препаративного разделения смесей стильбеноидов, выделение чистых целевых соединений.
4. Впервые изучено адсорбционное взаимодействие стильбеноидов с поверхностью кремнезема в расширенной области концентраций для условий препаративной хроматографии с нормальными фазами. Получены изотермы адсорбции из индивидуальных и бинарных органических растворителей, для их описания предложена модель локализованной адсорбции на энергетически неоднородных центрах Фрейндлиха. Методом ИК-Фурье-спектроскопии изучен механизм взаимодействия растительных стильбеноидов с поверхностью кремнезема.

Основное содержание диссертации изложено в следующих публикациях:

1. Колотилев П.Н., Полунин К.Е., Шепелев Б.Н. и др. Закономерности удерживания дифенилполиенов на поверхности силикагеля // Сорбционные и хроматографические процессы. 2004. Т. 4. Спец. вып. «ИОНИТЫ-2004». С. 86-91.
2. Колотилев П.Н., Шепелев Б.Н., Полунин К.Е. и др. Хромато-оптический анализ дифенилов и полиенов // Сорбционные и хроматографические процессы. 2005. Т.5. Вып. 1. С. 82-91.
3. Полунин К.Е., Колотилев П.Н., Полунин И.А. и др. Взаимодействие стильбеноидов с поверхностью силикагеля в органических средах // Сорбционные и хроматографические процессы. 2007. Т. 7. Вып. 3. С. 389-396.
4. Колотилев П.Н., Полунин К.Е., Ларин А.В. и др. Сравнительная адсорбция гидроксипроизводных *транс*-стильбена и бензола на нанодисперсном аэрогеле Al_2O_3 // Сорбционные и хроматографические процессы. 2008. Т.8. Вып. 2. С. 210-217.

5. Полунин К.Е., Колотилов П.Н., Полунина И.А. и др. Адсорбционные свойства синтетического пицеатаннола // Физикохимия поверхности и защита материалов. 2008. Т.44. № 6. С. 600-607.
6. Колотилов П.Н., Полунин К.Е., Ларин А.В. и др. Равновесная адсорбция стильбеноидов на оксидах металлов // Физикохимия поверхности и защита материалов. 2009. Т.45. № 1. С. 22-27.
7. Комаров В.С., Морозов Ю.М., Колотилов П.Н. и др. Способ получения рентгеноаморфной модификации карведилола // Патентная заявка РФ 2006123365 от 22.08.2007. Бюл. № 3.2008.
8. Колотилов П.Н., Полунин К.Е., Ларин А.В. Удерживание пицеатаннола в условиях нормально-фазовой хроматографии / Сб. материалов конф. «Теоретические проблемы химии поверхности, адсорбции и хроматографии». М., 2006. С. 371-375.
9. Колотилов П.Н., Полунин К.Е., Адсорбционное взаимодействие биологически активных стильбеноидов с поверхностью силикагеля / Сб. материалов конф. «Теоретические проблемы химии поверхности, адсорбции и хроматографии». М., 2006. С. 366-370.
10. Колотилов П.Н., Полунин К.Е. Исследование гидрофобных свойств молекул дифенилполиенов в модельных системах / Материалы III Всероссийск. конф. «Физико-химические процессы в конденсированном состоянии и на межфазных границах». Воронеж: Науч. книга. 2006. Т. 2. С. 797-800.
11. Колотилов П.Н., Полунина И.А., Полунин К.Е., Соколова Н.П., Горбунов А.М. Взаимодействие стильбеноидов с аэросилом / Тез. докл. III Всероссийск. конф. «Химия поверхности и нанотехнология». С.-Пб. 24.09-01.10.2006. С. 129-130.
12. Колотилов П.Н., Ларин А.В., Полунин К.Е. Адсорбционное поведение гидроксистильбенов и фенолов в прямофазной ВЭЖХ / Тез. докл. Международ. конф. «Физико-химические основы новейших технологий XXI века». М., 30.06-04.07.2005. Т. 1. С. 186.
13. Колотилов П.Н., Полунина И.А., Полунин К.Е., Ларин А.В. Удерживание пицеатаннола в прямофазной хроматографии в зависимости от содержания полярных растворителей / Тез. докл. X Международ. конф. «Теоретические проблемы химии поверхности, адсорбции и хроматографии». М.24-28.04.2006. С.317.
14. Колотилов П.Н., Полунин К.Е. Адсорбционное взаимодействие биологически активных стильбеноидов с поверхностью силикагеля / Тез. докл. X Международ. конф. «Теоретические проблемы химии поверхности, адсорбции и хроматографии». М. 24-28.04.2006. С. 190.
15. Колотилов П.Н., Полунина И.А., Полунин К.Е. Адсорбционные свойства фитоалексина пицеатаннола / Тез. докл. IV Всероссийск. конф. «Химия и технология растительных веществ». Сыктывкар. 25-30.06.2006. С. 387.
16. Колотилов П.Н., Полунина И.А., Полунин К.Е., Ларин А.В. Сорбционные свойства биологически активных стильбеноидов в условиях хроматографии с нормальными фазами / Тез. докл. Всероссийск. конф. симпозиума

«Хроматография в химическом анализе и физико-химических исследованиях». М. 24-29.04.2007. С. 104.

17. Колотилов П.Н., Полунина И.А., Полунин К.Е., Дзарданов Д.В. Равновесная адсорбция стильбеноидов на оксидах металлов / Тез. докл. Всероссийск. симпозиума «Актуальные проблемы теории адсорбции, сорбции и адсорбционной селективности». М. 16-20.04.2007. С. 135.
18. Колотилов П.Н., Полунин К.Е. Гидрофобные свойства стильбеновых антиоксидантов / Тез. докл. XVIII Менделеевского съезда по общей и прикладной химии «Достижения и перспективы химической науки». М. 7-12.09.2007. С. 269.
19. Колотилов П.Н., Ларин А.В., Полунин К.Е. Сорбционные свойства стильбеновых фитоалексинов - пицетатаннола, резвератрола и рапонтигенина в условиях хроматографии с нормальными фазами / Тез. докл. XI Международ. конф. «Физико-химические основы ионообменных процессов. ИОНИТЫ 2007». Воронеж. 17-21.09.2007. С.122.
20. Колотилов П.Н., Полунина И.А., Полунин К.Е., Соколова Н.П. Адсорбционное разделение дифенилполиенов / Тез. докл. XII Всероссийск. симпозиума «Актуальные проблемы теории адсорбции, пористости и адсорбционной селективности». М. 21-25.04.2008. С. 152.