

На правах рукописи

СЕМЕНИСТАЯ ЕКАТЕРИНА НИКОЛАЕВНА

ВЫСОКОЭФФЕКТИВНАЯ ЖИДКОСТНАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ В
ИССЛЕДОВАНИИ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ КУМАРИНОВ,
ФУРОКУМАРИНОВ И ИХ КОМПЛЕКСОВ С ПЕРЕХОДНЫМИ
МЕТАЛЛАМИ

Специальность 05.11.11 – Хроматография и хроматографические приборы

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени кандидата химических наук

МОСКВА 2007

Работа выполнена в Институте физической химии и электрохимии
имени А.Н.Фрумкина Российской Академии Наук

Научный руководитель:	доктор химических наук, профессор Ларионов Олег Георгиевич
Официальные оппоненты:	доктор химических наук Сердан Анхель Анхелевич, МГУ им. М.В.Ломоносова доктор химических наук, профессор Яцин Яков Иванович, НПО «Химавтоматика»
Ведущая организация:	Институт нефтехимического синтеза имени А.В. Топчиева Российской академии наук

Защита состоится 18 декабря 2007 г. в 15 час. 00 мин. на заседании Совета по защите докторских диссертаций Д 002.259.04 при ИФХЭ РАН по адресу: 119991, г. Москва, Ленинский пр-т, д. 31, корп. 4.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института физической химии и электрохимии имени А.Н. Фрумкина Российской академии наук

Автореферат размещен на сайте Института: <http://phycbe.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 Совета по защите докторских диссертаций Д 002.259.04

Автореферат разослан «___» ноября 2007 г.

Ученый секретарь Совета по защите
докторских диссертаций Д 002.259.04
кандидат химических наук



Коломиец Л.Н.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность работы

В последние годы широкое применение в различных областях биотехнологии, медицины, пищевой и косметической промышленности находят биологически активные соединения. Среди них – природные кумарины, обладающие широким спектром лекарственной активности: антиоксидантной, противовирусной, антиканцерогенной, антикоагулянтной. Перспективность медицинского применения кумаринов стимулирует синтез их разнообразных производных. Особый интерес представляют комплексные соединения природных кумаринов с биометаллами. Включение природных кумаринов в состав комплексных соединений изменяет их редокс-потенциал и влияет на направление окислительно-восстановительных реакций, которые ответственны за протекторные свойства кумаринов в живых организмах. Интенсивно изучаются фотоактивные комплексы кумаринов, способные доставлять активное вещество (лиганд) к биологической цели и высвободить его при облучении.

Для изучения антиоксидантной активности кумаринов и их комплексов моделируют окислительно-восстановительные реакции с их участием методами фотолиза и радиолита. Классические методы анализа, применяющиеся для изучения процессов в модельных системах (вольтамперометрия, адсорбционная спектроскопия, спектрофотометрия в видимой и УФ-области), не дают полной информации о свойствах образовавшихся продуктов, природе метаболитов. Количественно и качественно характеризовать процессы в растворах комплексных соединений позволяют методы высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) и масс-спектропии. **Актуальность темы диссертации** связана с необходимостью разработки методов ВЭЖХ для изучения физико-химических свойств природных и синтетических кумаринов и их комплексов с биометаллами, анализа продуктов их фото- и радиационно-химических превращений и идентификации в сложных смесях. Ранее метод ВЭЖХ не применялся для изучения радиационно-химических превращений комплексных соединений кумаринов.

Цель работы: разработка метода ВЭЖХ анализа кумаринов в сложных природных объектах, а также исследование физико-химических свойств кумаринов и их комплексных соединений с ионами переходных биометаллов.

В соответствии с поставленной целью определены **задачи диссертации:**

1. Изучить влияние температуры, состава неподвижной фазы и природы элюента на удерживание кумаринов в условиях обращенно-фазовой ВЭЖХ;
2. Выбрать оптимальные с точки зрения поставленных целей условия разделения и детектирования кумаринов в сложных смесях, получить хроматографические и спектральные характеристики кумаринов;
3. Использовать разработанный ВЭЖХ метод для определения продуктов фото- и радиационно-химических превращений кумаринов и фурукумаринов;
4. Методом ВЭЖХ изучить поведение комплексов кумаринов с переходными металлами при различных рН и режимах элюирования;

5. Используя ОФ ВЭЖХ, изучить реакции металлокомплексов кумаринов в водных и спиртовых растворах при воздействии УФ- и γ -облучения;
6. Используя метод ОФ ВЭЖХ с диодно-матричным и электрохимическим детектированием и хроматографическую базу данных фенольных соединений, сравнить состав антиоксидантов экстрактов лекарственных растений.

Научная новизна определяется совокупностью полученных в работе новых результатов:

1. Выбраны оптимальные для решения поставленных задач условия хроматографического разделения и детектирования природных и синтетических кумаринов в сложных смесях. Определены индексы удерживания (ИУ) и характеристики оптического поглощения 25 природных и синтетических кумаринов.
2. С использованием хроматографической базы данных проведена групповая идентификация продуктов фото- и радиационно-химических превращений кумарина, 4-гидрокси-3-нитрозокумарина, 4-гидроксикумарина, 4-метил-5,7-дигидроксикумарина, 4-метилэскулетина, 8-нитрозоэскулетина, эскулетина, псоралена, 8-метоксипсоралена.
3. Исследовано влияние условий ВЭЖХ анализа (рН среды, присутствия воды в элюенте, природы кислоты, используемой для регулирования рН) на стабильность и состав металлокомплексов кумаринов.
4. Методом ОФ ВЭЖХ впервые изучены фото- и радиационно-химические превращения комплексов кумаринов с ванадием (IV) и хромом (III). Установлено, что УФ-облучение вызывает образование метастабильных продуктов деградации комплексов; γ -излучение инициирует превращения во внешней сфере комплекса (сольватация, образование комплексов с молекулярным кислородом). Исследовано влияние условий хранения облученных растворов и природы иона металла на скорость деградации металлокомплексов в пострадиационный период.
5. Проведена групповая идентификация природных фенольных соединений в водно-спиртовых экстрактах ромашки, шалфея, мяты, душицы, клевера, тархуна, подорожника, сельдерея, цикория, базилика, алоэ и пропиленгликолевых экстрактах ромашки, шалфея, мяты, душицы.

Практическая значимость:

- Полученные хроматографические и спектральные характеристики природных и синтетических кумаринов дополнили существующую базу данных фенольных соединений, которая может быть использована при разработке методов разделения и идентификации фенольных соединений в сложных смесях.
- Разработан метод исследования фото- и радиационно-химической стабильности металлокомплексов кумаринов с использованием ОФ ВЭЖХ. Метод может использоваться для прогнозирования поведения кумаринов и их металлокомплексов (как и других фенольных соединений и их комплексов) в биологических средах, а также при выборе оптимальных фенольных антиоксидантов в медицине, биотехнологии и промышленности.

- С использованием диодно-матричного и амперометрического детектора проведен качественный и количественный анализ состава фенольных фракций экстрактов лекарственных растений. Показано, что антиоксидантная активность экстрактов сложным образом зависит от природы, количества и механизма действия природных биологически активных соединений.

На защиту выносятся следующие положения:

- выбор условий хроматографического разделения и детектирования 25 синтетических и природных кумаринов и фурукумаринов;
- изучение методом ОФ ВЭЖХ влияния структуры молекул на фото- и радиационно-химическую стабильность кумаринов, фурукумаринов и их комплексов с переходными металлами;
- изучение методом ОФ ВЭЖХ физико-химические свойств металлокомплексов кумаринов (устойчивость, комплексообразование, поведение в различных условиях элюирования);
- сравнение качественного и количественного состава антиоксидантов в растительных экстрактах методом ОФ - ВЭЖХ с диодно-матричным и электрохимическим детектированием.

Публикации: По теме диссертации опубликовано 13 печатных работ, в том числе 4 статьи и 9 тезисов докладов.

Результаты диссертации доложены на II Всероссийской конференции по аналитической химии (Краснодар, 7–12 октября, 2007), 31th International symposium “HPLC 2007” (Ghent, June 17–22, 2007), Всероссийском симпозиуме «Хроматография в химическом анализе и физико-химических исследованиях» (Москва– Клязьма, 23–27 апреля 2007), International Congress on analytical Sciences «ICAS-2006» (Moscow, Russia, June 25–30, 2006), X Международной конференции «Теоретические проблемы химии поверхности, адсорбции и хроматографии» (Москва – Клязьма, 24–28 апреля, 2006), International Conference “Physical-chemical foundations of new technologies of XXI century” (Moscow, Russia, May 30–June 4, 2005), Первом международном конгрессе молодых учёных по химии и химической технологии "МКХТ-2005" (Москва, 26–28 октября, 2005), Всероссийской конференции «Теория и практика хроматографии. Применение в нефтехимии» (Самара, 3–8 июля, 2005), IV Баховской конференции по радиационной химии (Москва, 1–3 июня, 2005).

Структура и объем работы. Диссертация состоит из введения, литературного обзора, четырех глав экспериментальной части, выводов, списка литературы (163 наименований) и 3-х приложений. Диссертация изложена на 122 страницах машинописного текста, содержит 32 рисунка и 7 таблиц.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении обоснована актуальность исследования, сформулированы цели и задачи, отражены научная новизна и практическая значимость работы.

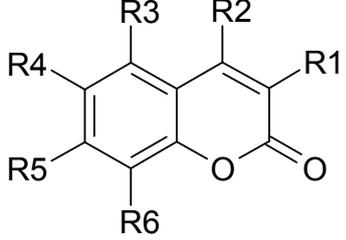
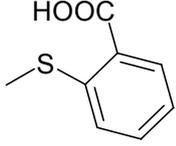
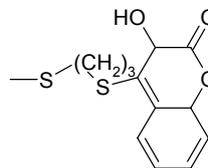
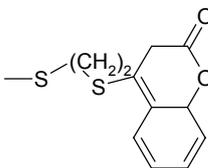
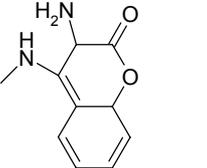
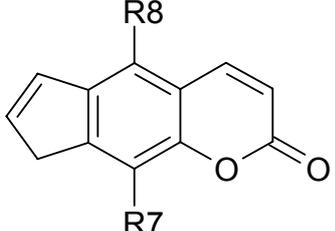
Обзор литературы обобщает информацию по классификации, применению кумаринов, определения их в различных объектах хроматографическими методами; анализируются данные по применению ВЭЖХ в исследованиях продуктов фотолитиза и радиолитиза органических и металлоорганических соединений.

Экспериментальная часть

Кумарины (табл. 1), комплексы хрома (III) с эскулетином и ванадия (IV) с эскулетином и 6-гидрокси-7-нитрозо-4-метилкумарином синтезированы и охарактеризованы д.х.н. Э.А. Парфеновым (НИИ Экспериментальной диагностики и терапии опухолей ГУ РОНЦ им. Н.Н.Блохина РАМН). Индивидуальность соединений подтверждена данными ТСХ, ИК-спектроскопии и результатами измерения $T_{пл}$. Фурукумарины были предоставлены к.м.н. Э.С. Мамедовым (кафедра клинической лабораторной диагностики при РГМУ).

Таблица 1

Общая формула исследованных производных кумарина

	<p>Кумарины: $R_1 = -H, -OH, -NH_2, -NO, -NO_2, -S-C_6H_5,$  ; $R_2 = -H, -CH_3, -OH, -NH_2, -NHC_{18}H_{37}, -N(C_3H_8)_2, -N(iBu)_2, -O^-N^+(Bu)_4, -O^-Na^+, -SN(Bu)_4, -S-C_6H_5,$  ,  ,  ; $R_3 = -H, -OH; R_4 = -H, -OH; R_5 = -H, -CH_3, -OH, -NO; R_6 = -H, -NO$</p>
	<p>Фурукумарины: $R_7 = R_8 = -H$ (псорален) $R_7 = -OCH_3, R_8 = -H$ (8-метоксипсорален) $R_7 = R_8 = -OCH_3$ (5,7-диметоксипсорален)</p>

Вещества вводили в хроматограф в виде растворов в этаноле или ацетонитриле, объем пробы 5 мкл.

Методы исследования. Оборудование ВЭЖХ включало: жидкостный хроматограф Agilent 1100 Series с градиентным насосом и диодно-матричным детектором, амперометрический детектор со стеклоуглеродным электродом (НПО «Химвавтоматика», постоянно-токовый режим, рабочее напряжение 1200 мВ). Скорость потока элюента 0,3 мл/мин. Условия проведения эксперимента представлены в табл. 2.

Экспериментальные условия

Цель этапа исследования	Неподвижная фаза	Режим элюирования *)	Температура, T_c , °С
1) Изучение хроматографического поведения кумаринов при оптимальных условиях разделения	Hypersil ODS C18 (100x2 мм, 13 мкм)	I. 0–1,25 мин. – 10% В; 6,25–6,75 мин. – 100% В; 8,00–10,00 мин. – 10% В	10, 20, 35, 45, 60
	Zorbax SB-Phenyl (150x2, 15 мкм)		
2) Дополнение базы данных, изучение фото- и радиационно-химических превращений кумаринов, анализ экстрактов растений	Hypersil ODS C18 (100x2 мм, 13 мкм)	II. 0–3 мин. 5% В; 18,00–23,00 мин. 100% В; 25 мин. 5% В	20
3) Изучение фото- и радиационно-химических превращений металлокомплексов кумаринов	Zorbax SB-CN (150x2 мм, 15 мкм)	градиент I; изократика 15% В	20

*) В – ацетонитрил.

Удерживание соединений характеризовали индексами удерживания (ИУ), рассчитанными относительно реперных *n*-алкиларилкетонов, $C_6H_5COC_nH_{2n+1}$ ($n = 1-3,5,6$)¹⁾. Ошибка измерения в трех последовательных опытах 0,12%. Квантовомеханические расчеты проводили в программах HyperChem 8.0 и ChemOffice.

Условия γ -облучения: установка РХМ- γ -20 (РХТУ им. Д.И.Менделеева), источник γ -излучения Co^{60} ; поглощенная доза 0,5 кГр (мощность дозы $0,26 \pm 0,01$ Гр/с по ферросульфатному дозиметру); стеклянные бюксы (1 мл). Спектры поглощения исходных и облученных растворов записывали на спектрофотометре СФ-2000 в кварцевых кюветах с длиной оптического пути 1 см²⁾. Условия УФ-облучения: лампа ДКШФ-500, световой фильтром ЖС-11 (λ (пропускания) = 300-400 нм); мощность лампы 380 Вт; освещенность кюветы 575 клк (люксметр «ТКА-ПК»); кварцевая кювета³⁾. Дозы облучения: 2,85; 5,70, 45,6; 114,0; 228,0; 342,0 кДж/м². Облучение фурукумаринов УФ-светом области 320-400 нм проводилось в ЦНИЛ РГМУ, в кварцевой кювете (1 мл) при непрерывном перемешивании лампой мощностью 17 Вт. Дозы облучения: 1,0; 2,0 кДж/м². Все эксперименты по облучению проводились в присутствии кислорода воздуха и при комнатной температуре.

¹⁾ Зенкевич И.Г., Кочетова М.В., Ларионов О.Г., Ревина А.А. Индексы удерживания как наиболее воспроизводимые хроматографические параметры для характеристики фенольных соединений в обращенно-фазовой высокоэффективной хроматографии // Журнал аналитической химии. 2005. Т. 60. С. 734-746

²⁾ γ -облучение и спектрофотометрические измерения выполнены аспиранткой РХТУ Антроповой И.Г.

³⁾ Фотолиз проводили в секторе методов исследования наноразмерных систем ИФХЭ РАН

ИЗУЧЕНИЕ ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОГО ПОВЕДЕНИЯ КУМАРИНОВ. СОЗДАНИЕ БАЗЫ ДАННЫХ ПРИРОДНЫХ И СИНТЕТИЧЕСКИХ КУМАРИНОВ И ФУРОКУМАРИНОВ

Исследованные кумарины принадлежат к различным классам и имеют различную полярность, поэтому для разделения их смеси был выбран градиентный режим ВЭЖХ (Рис.1)

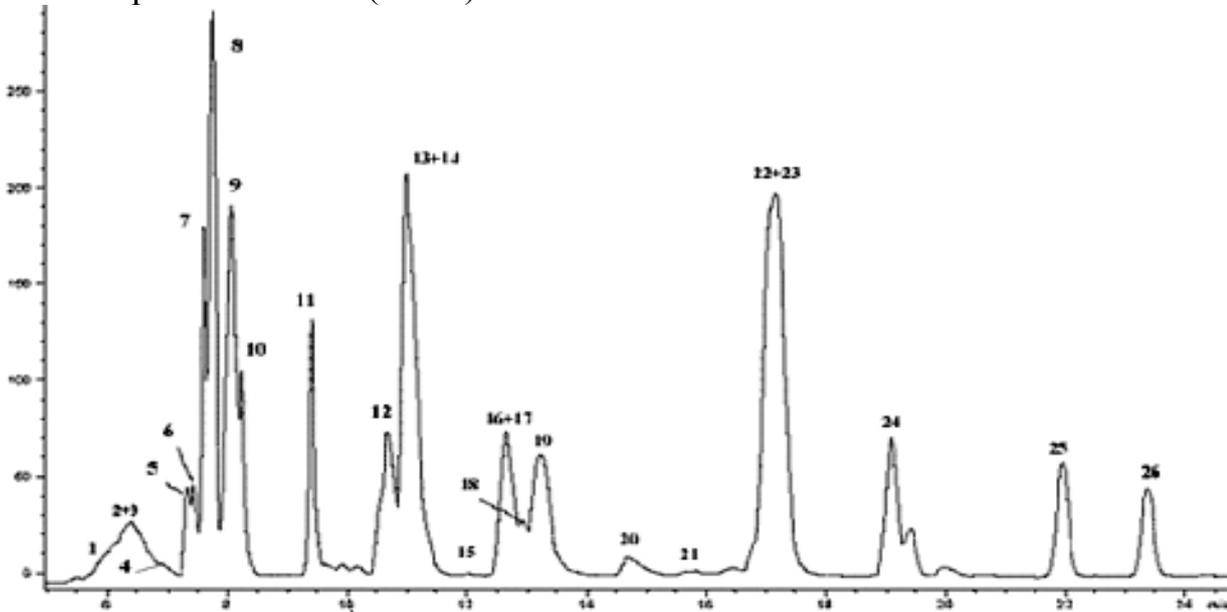


Рис. 1. Хроматограмма смеси кумаринов, колонка Hypersil ODS (3 мкм, 100×2,1 мм), $\lambda = 308$ нм. Градиент I. Номера пиков соответствуют веществам в табл. 5.

В каждом из классов соединений было достигнуто полное разделение производных. Критические пары были дополнительно исследованы на колонке Zorbax SB – Phenyl. Сравнение факторов удерживания (k), эффективности (N_{ef}) и разрешения проводили на примере разделения модельной смеси кумаринов (табл. 3).

Таблица 3.

Сравнение эффективности колонок Hypersil ODS и Zorbax SB–Phenyl.

№	Название веществ (в порядке элюирования)	Hypersil ODS C18		Zorbax SB–Phenyl	
		k	R	k	R
1	4-гидрокси-3-нитрокумарин	4,69		2,77	
2	3-нитро-4-аминокумарин	6,47		4,15	
3	7-гидрокси-4-метилкумарин	7,03	0,41	4,40	0,50
4	6-гидрокси-7-нитрозо-4-метилкумарин	7,41		4,49	
5	5,7-дигидрокси-4-метилкумарин	7,80		4,66	
6	4-метилкумарин	9,37		5,58	
7	1,3-бис(3-гидрокси-4-кумаринилтио)пропан	10,77	0,79	6,18	1,17
8	Неизвестная примесь (спектр соединения №7)	11,07		6,41	
9	3-бензилтио-4-гидроксикумарин	12,94	0,35	7,50	0,77
10	4,7-диметилкумарин	13,14		7,66	
11	1,2-бис(4-кумаринилтио)этан	14,68		8,70	

12	4-бензилтиокумарин	16,85		9,45	
13	4-дипропиламино-3-аминокумарин	18,75		9,78	
14	4-диизобутиламино-3-аминокумарин	21,55		10,39	
15	3,4-дибензилтиокумарин	22,95		12,44	

Примечание табл. 2:

k – фактор удерживания, $k = (t_R - t_0)/t_R$,

где t_R – время удерживания исследуемого вещества, мин; t_0 – время удерживания несорбирующегося вещества (KNO_3) мин; t_0 (Hypersil ODS C18) = 0,90 мин.; t_0 (SB-Phenyl) = 1,58 мин;

R – разрешение пиков, $R = 1/4 \cdot [(t'_{R2} - t'_{R1}) / t'_{R2}] \cdot \sqrt{N_{ef2}}$;

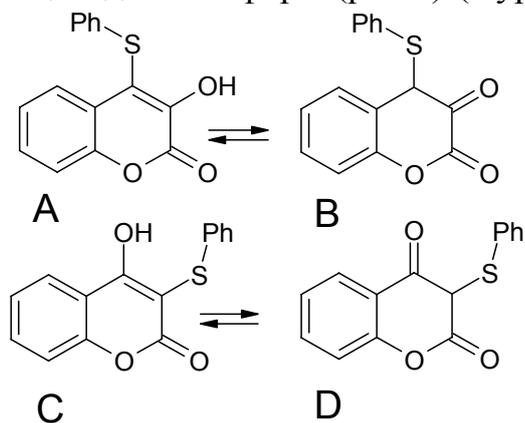
где t' – исправленное время удерживания, $t'_R = t_R - t_0$

N_{ef} - число эффективных теоретических тарелок ($N_{ef} = [k/(1+k)]^2 N$, где N – число теоретических тарелок, $N = 5,54(t_R / \mu_{0,5})^2$. $\mu_{0,5}$, мин – ширина пика на полувысоте;

Эффективность и разрешение пиков в интервале 6-14 минут у колонки Zorbax SB-Phenyl выше, вероятно, вследствие неспецифического взаимодействия фенильных групп неподвижной фазы с π -системой кумаринов. Это позволило разделить 4-бензилтиокумарин и 4-бензилтио-3-нитрокумарин ($R=0,95$), 4-бензилтио-3-гидроксикумарин и 4-октадециламино-3-аминокумарин ($R=0,89$). Не удалось полностью разделить 4,7-диметилкумарин и 3-нитро-4-кумаринилтиолят тетрабутиламмония ($R=0,50$). Соли 4-гидрокси-3-нитрокумарина в условиях эксперимента гидролизуются и элюируются размытым пиком.

Взаимосвязь между структурой и временами удерживания кумаринов отвечает общепринятым положениям о взаимодействии элюатов с неподвижной и подвижной фазами. Первыми элюируются более полярные соединения, содержащие *гидроксо- и нитрогруппы*. С введением метильных заместителей растет вклад дисперсионных взаимодействий с неподвижной фазой, времена удерживания увеличиваются. Протонирование аминогрупп (при pH=3) дополнительно уменьшает удерживание *аминокумаринов*. Большие времена удерживания тиокумаринов обусловлены большей молекулярной массой и высокой поляризуемостью молекул (вследствие подвижности электронной пары атома серы).

Соединения с *тиофенильной- и гидроксогруппами* при двойной связи в положении 3,4 элюировались в виде двойных несимметричных пиков с идентичными спектрами. Предполагая существование 3- и 4-гидроксизамещенных кумаринов в виде кето-енольных изомеров, мы смоделировали условия сольватации данных форм (рис.2) (HyperChem 8.0, поле сил MM+, алгоритм оптимизации геометрии Polak-Ribiere, метод Molecular Dynamic, периодическая ячейка с молекулами воды, 25⁰С, диполь-дипольные электростатические взаимодействия, радиус взаимодействия $\geq 4 \text{ \AA}$) (табл. 4).



дизации геометрии Polak-Ribiere, метод Molecular Dynamic, периодическая ячейка с молекулами воды, 25⁰С, диполь-дипольные электростатические взаимодействия, радиус взаимодействия $\geq 4 \text{ \AA}$) (табл. 4).

Рис. 2. Схема кето-енольной изомерии 4-бензилтио-3-гидроксикумарина (А, В) и 3-бензилтио-4-гидроксикумарина (С, D).

Таблица 4.

Сравнение энергетических характеристик и ИУ кетонных и енольных форм тио- и нитро- и нитрозокумаринов.

Соединение		Общая энергия, E, ккал/моль	ΔE, ккал/моль	Дипольный момент, μ, D	Δμ, D	ΔИУ
4-бензилтио-3-гидроксикумарин	енольная форма (A)	-1688,60	437,24	97,19	41,53	37
	кетон-форма (B)	-1251,36		55,66		
3-бензилтио-4-гидроксикумарин	енольная форма (C)	-1594,76	617,36	103,60	52,66	8
	кетон-форма (D)	-977,43		50,94		
4-гидроксикумарин	енольная форма	-1319,79	41,06	94,71	29,71	-
	кетон-форма	-1360,85		65,00		
4-гидрокси-3-нитрокумарин	енольная форма	-1173,84	173,27	41,81	5,75	-
	кетон-форма	-1000,57		47,56		
4-гидрокси-3-нитрозокумарин	енольная форма	-1108,04	39,50	75,80	55,17	-
	кетон-форма	-1068,54		130,97		

Данные квантово-механических расчетов не противоречат нашей гипотезе: если время взаимопревращения изомеров меньше времени удерживания, есть вероятность, что вещество будет элюироваться двойным пиком, причем енольный изомер будет преобладать как энергетически более выгодный. Малое различие в энергиях изомеров нитро- и нитрозокумаринов может быть следствием дестабилизирующего действия электроноакцепторных нитрозо- и нитрозаместителей. Электронодонорный тиофенил, напротив, стабилизирует изомеры.

В ходе работы база фенольных соединений была дополнена новыми данными по кумаринам (табл. 5). Значения ИУ и спектральные характеристики были получены в условиях градиента, использовавшегося ранее при создании базы (Градиент II). Разрешение пиков при этом несколько ухудшилось, однако сохранилось разделение между кумаринами, принадлежащими к одним классам.

Таблица 5.

Хроматографические и спектральные характеристики кумаринов

Название	Время удерживания, t _R , мин	λ _{макс} , нм	ИУ, мин
Метил- и гидроксипроизводные			
6,7-дигидроксикумарин (эскулетин)	8,50 ± 0,03	226;298;345	662,1±4,5
4-метилэскулетин	9,63 ± 0,02	226;292;343	706,7±3,3
6-гидрокси-4-метилкумарин (6)	10,28 ± 0,02	224;276;339	743,3±3,0
5,7-дигидрокси-4-метилкумарин (9)	10,51 ± 0,02	212;256;321	756,5±2,9
7-гидрокси-4-метилкумарин (5)	10,82 ± 0,02	217;294;320	774,0±3,0
4-гидроксикумарин	11,00 ± 0,01	217;280;303	782,5±2,3
кумарин	11,13 ± 0,01	210;276;310	791,4±2,4
4-метилкумарин (11)	12,01 ± 0,06	212;273;310	837,2±3,2

4,7-диметилкумарин (16)	12,50 ± 0,01	214;282;314	867,0±2,0
Аминопроизводные			
N,N'-бис(3-амино-4-кумаринил)-1,3-диаминопропан (10)	10,97 ± 0,02	222;279;303	782,3±2,9
4-октадециламино-3-аминокумарин (12)	13,00 ± 0,02	210;282;317	896,5±2,2
4-дипропиламино-3-аминокумарин (24)	16,71 ± 0,03	204;268;326	1221,2±5,2
4-диизобутиламино-3-аминокумарин (25)	18,03 ± 0,04	204;270;336	1362,7±8,1
Нитрозо- и нитропроизводные			
4-гидрокси-3-нитрокумарин (1)	8,61 ± 0,02	216;242;330	650,8±4,0
3-нитро-4-кумаринолят тетрабутиламмония (2)	8,61 ± 0,01	214;240;330	649,8±2,1
3-нитро-4-кумаринолят натрия (3)	8,63 ± 0,03	212;240;330	652,3±4,0
3-нитро-4-аминокумарин (4)	8,67 ± 0,02	212; 240; 330	656,9±2,6
6-гидрокси-7-нитрозо-4-метилкумарин (7)	10,35 ± 0,02	206;224;276; 346	746,9±2,5
8-нитрозоэскулетин	10,50 ± 0,02	214;320;346	755,5±3,0
5,7-дигидрокси-8-нитрозо-4-метилкумарин (8)	10,57 ± 0,04	210;256;322	759,6±2,5
4-гидрокси-3-нитрозокумарин	12,50 ± 0,01	215;262;355	866,5±1,7
S-содержащие кумарины			
4-бензилтио-3-гидроксикумарин (14)	11,75 ± 0,04	209;245;326	823,2±3,1
	12,40 ± 0,03	210;245;326	861,1±3,9
1,3-бис(3-гидрокси-4-кумаринилтио)пропан (15)	13,04 ± 0,02	206;222;310	901,6±2,7
	14,31 ± 0,05	207;240;313	999,5±5,5
3-нитро-4-кумаринилтиолят тетрабутиламмония (17)	14,17 ± 0,04	212;290;330	987,2±3,9
	14,39 ± 0,06	212;290;330	1004,6±5,3
3-(2-карбоксифенилтио)-4-гидроксикумарин (18)	14,06 ± 0,02	216;290;330	978,3±3,1
3-бензилтио-4-гидроксикумарин (19)	14,30 ± 0,02	208;272;317	997,5±2,4
	14,41 ± 0,04		1005,1±3,5
1,2-бис(4-кумаринилтио)этан (20)	15,07 ± 0,01	210;284;324	1060,7±3,5
4-бензилтио-3-аминокумарин (21)	15,78 ± 0,09	209; 295; 330	1096,1±2,9
4-бензилтиокумарин (22)	15,89 ± 0,05	209;240; 327	1138,7±4,3
4-бензилтио-3-нитрокумарин (23)	16,00 ± 0,08	209;239;295; 337	1146,8±8,3
3,4-добензилтиокумарин (26)	18,49 ± 0,02	206;251;340	1412,1±15,7
Фурукумарины (псоралены)			
Псорален	12,83 ± 0,08	204;245;293; 330	871,5±3,4
8-метоксипсорален (13)	13,04 ± 0,12	218;248;301	883,2±3,9

5,8-диметоксипсорален	13,34 ± 0,10	223;269;313	901,0±6,4
-----------------------	--------------	-------------	-----------

Значения ИУ большинства кумаринов в зависимости от структуры и гидрофильности лежат в диапазоне от 650 до 900 единиц ИУ. Вклад функциональных групп в значения ИУ зависит от положения группы в бензольном или пириновом кольце. Замещение атома водорода:

- на ОН-группу в 4-м и 5-м положении понижает ИУ на 9–18 ед.;
- на ОН-группу в 6-м и 7-м положении понижает ИУ на 60–130 ед.;
- на СН₃-группу в 4-е положение повышает ИУ на 48–53 ед.;
- на СН₃-группу в 7-е положение повышает ИУ на 80 ед.;
- на NO- или NO₂-группу в пириновом кольце понижает ИУ на 85–132 ед.;
- на NO- группу в бензольном кольце понижает ИУ на 3–100 ед.

ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОДУКТОВ ФОТОЛИЗА КУМАРИНОВ МЕТОДОМ ОФ ВЭЖХ

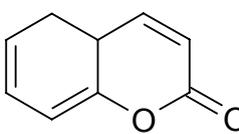
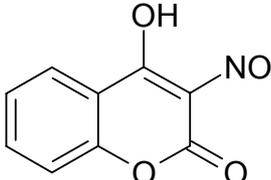
Для УФ-облучения были выбраны кумарины, проявившие терапевтическую и антиоксидантную активность в предварительных биологических экспериментах. Фотолиз проводили под действием света в области 300-400 нм, известной в медицине как “УФ-А” (в комбинации с приемом фурукумаринов используется при лечении кожных заболеваний). Чтобы исключить влияние рН на продукты облучения использовали нейтральные элюенты. Об образовании новых продуктов судили по появлению пиков веществ с неизвестными спектрами и новыми временами удерживания по сравнению с хроматограммами необлученных растворов.

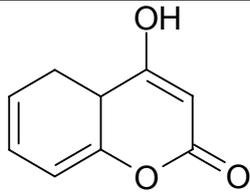
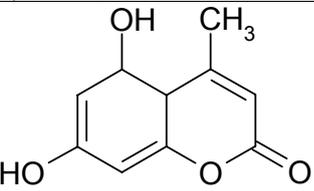
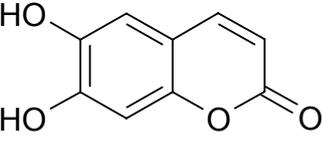
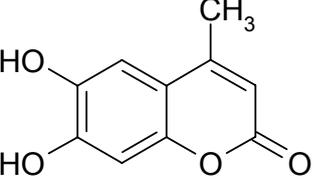
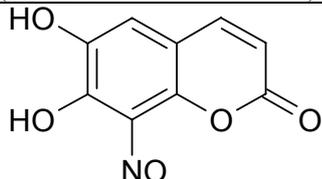
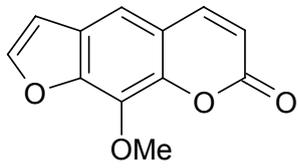
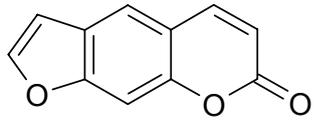
Облучение кумаринов и фурукумаринов дозами 2,85 и 5,70 кДж/м²

На первых стадиях облучения при малых дозах было зафиксировано образование новых продуктов (табл. 6).

Таблица 6.

Характеристики фотопродуктов кумаринов и фурукумаринов.

Соединение (ИУ; λ _{max} , нм)	Фотопродукты (мощность облучения 380 Вт/м ²)			
	Доза 2,85 кДж/м ²		Доза 5,70 кДж/м ²	
	ИУ	λ _{max} , нм	ИУ	λ _{max} , нм
 Кумарин (799,2; 210, 276, 310). Фотостабилен				
 4-гидрокси-3-нитрокумарин (873,4; 215, 261, 335)	887,6	198;219; 246; 301	892,3	218; 247; 300
			752,7	207; 270; 345

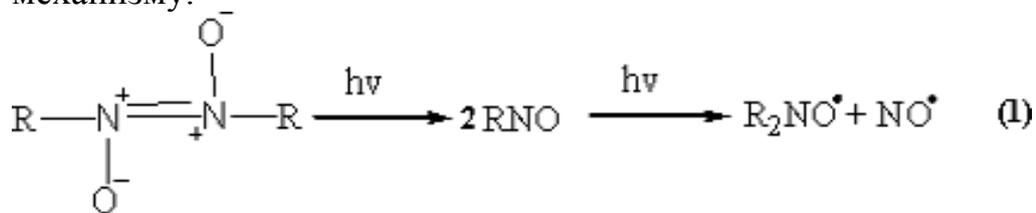
 4-гидроксикумарин (781,3; 217, 270, 303)	650,5	206; 284	667,5	206; 286
 4 – метил – 5,7 – дигидроксикумарин (762,5; 212, 256, 321)	674,3	190; 276		
	790,2	190; 269		
	805,7	204; 249; 319	880,1	204; 249; 319
	864,4	190; 267		
	884,2	208; 256; 319	885,4	208; 256; 319
	907,3	205; 247; 324	908,6	205; 247; 324
	1006,1	190; 266		
 эскулетин (674,8; 212, 226, 255, 298, 345)	–**	208; 260; 327	–	208; 260; 327
	654,9	204; 262; 345	657,2	204; 262; 345
 4-метилэскулетин (701,1; 226, 292, 343)	675,3	190; 276	Новые пики не образуются; пик 4-метилэскулетин размывается (появляется "горб")	
	773,9	190; 278		
	815,3	190; 267		
	835,3	190; 268		
 8-нитроэскулетин (760,5; 214, 321, 346) . Фотостабилен				
 8-метоксипсорален (892,5; 218, 248, 301)	862,1	218; 248; 301 (пик 8-МОП раздваивается)	859,5	218; 248; 301 (пик 8-МОП раздваивается)
			993,5	195; 242
	1150,8	238	1154,2	195
	1192,8	195; 239	1196,3	195; 238
 псорален (872,6; 204, 245, 299, 334)	Фотопродукты (мощность облучения 17 Вт/м²)			
	Доза 1 кДж/м ²		Доза 2 кДж/м ²	
	901,5	200; 242	849,0	203; 246; 298; 336
			857,2	208; 246; 252; 294
			904,2	212; 246; 294
		917,1	204; 246; 300; 334	

		937,6	204; 246; 335
		961,9	211; 253; 295

**Расчет ИУ невозможен, так как время удерживания фотопродукта меньше допустимых в алгоритме пределов (800 ед).

При фотолизе могут протекать несколько реакций, продукты которых мы наблюдали в эксперименте: 1) образование димеров по двойной связи гетероцикла; 2) присоединение молекул растворителя с раскрытием пиринового цикла; 3) фотодеструкция гетероцикла с участием активных промежуточных частиц, образующихся при облучении; 4) фотоокисление функциональных (в основном метильных) групп; 5) образование цис- и транс-изомерных димеров фурукумаринов.

Кумарин и 8-нитрозоэскулетин устойчивы к малым дозам облучения. 4-гидрокси-3-нитрозокумарин деградировал с образованием нового продукта (рис.3). Нитрозокумарины существуют в растворе в виде азодиоксидимеров. При облучении димеры разрушаются с образованием нитроксильных радикалов (NO^\bullet) (1), инициирующих дальнейшие реакции превращения по радикальному механизму.



По-видимому, данная реакция имела место в случае 4-гидрокси-3-нитрозокумарина. Нитроксильный радикал 4-гидрокси-3-нитрозокумарина стабилизируется за счет образования резонансных структур с участием нитрозогруппы, Нитрозогруппа 8-нитрозоэскулетина не вступает в сопряжение с пириновым кольцом, нитроксильный радикал 8-нитрозоэскулетина нестабилен.

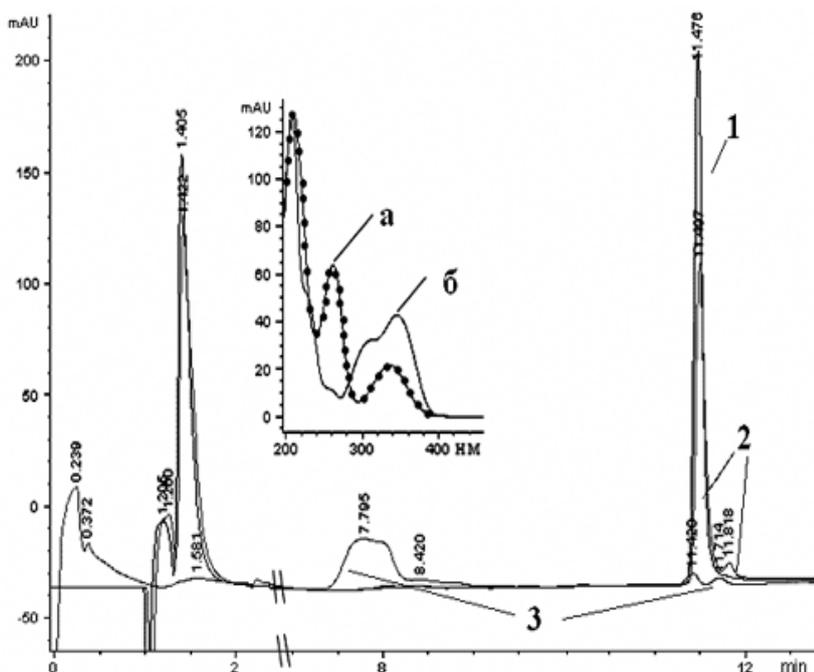


Рис. 3. Хроматограммы 4-гидрокси-3-нитрозокумарина, $\lambda=280$ нм: 1 – необлученный, 2 – доза 5,70 кДж/м², 3 – через 40 минут после облучения. На вставке: спектры пиков 4-гидрокси-3-нитрозокумарина (а) и фотопродукта с $t_R=7,78$ мин. (б)

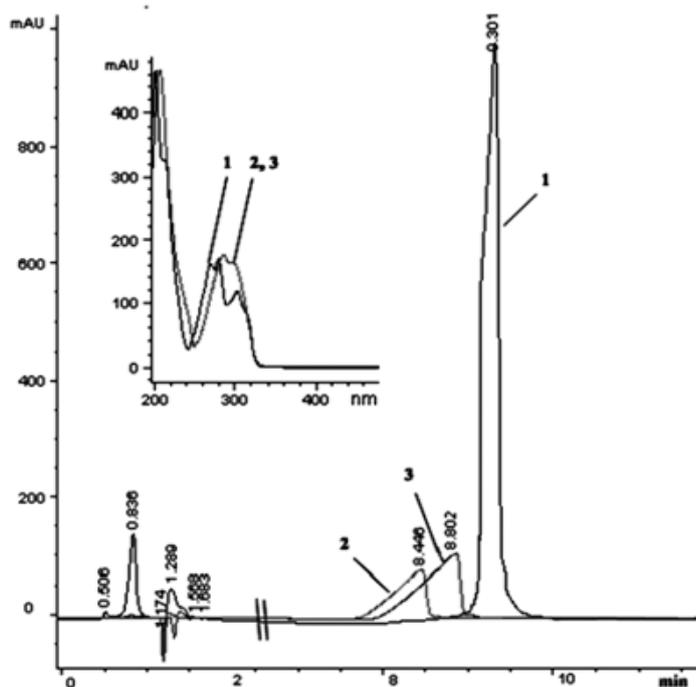


Рис. 4. Хроматограммы 4-гидроксикумарина, $\lambda=280$ нм: 1 – необлученный; 2, 3 – облученный дозами 2,85 и 5,70 кДж/м². На вставке: спектры необлученного 4-гидроксикумарина (1) и продукта облучения дозами 2,85 (2) и 5,70 (3) кДж/м²

Фотопродукт *4-гидроксикумарин* имеет меньшее время удерживания (рис. 4) и $\lambda_{\max}=206, 284$ нм, характерные для карбонильной группы. Его ИУ близок ИУ гидрокси- и метокси- производных фенольных кислот (кофейная кислота – 655,7; сиреневая кислота – 658,0; фенол – 659,3). Это позволяет считать продуктом фотолиза ароматическую структуру, содержащую фенольную и карбонильную группы.

Число фотопродуктов (табл.5) кумаринов увеличивается при наличии заместителей в положении 7. Спектры продуктов облучения имеют полосы при λ_{\max} в области 250-300 нм и 267-278 нм, что позволяет отнести их к фенольным спиртам, альдегидам или кислотам. Наибольшее количество фотопродуктов имеет *5,7-дигидрокси-4-метилэскулетин*. Образование аналогичных продуктов фотолиза у 4-метилэскулетина и 5,7-дигидрокси-4-метилэскулетина (ИУ 675,3 и 674,3, $\lambda_{\max} = 190$ и 267 нм) свидетельствует о сходных механизмах их фотохимических реакций. Продукты фотолиза *8-метоксипсоралена* с $\lambda_{\max} = 195$ и 238 нм (1154,2 и 1150,8 ед. ИУ) можно отнести к неароматическим либо циклическим непредельным углеводородам с алкильными заместителями. Наибольшее число фотопродуктов имеют метилкумарины. Максимальную устойчивость проявляют нитрозопроизводные.

При облучении *псоралена* светом мощностью 380 Вт новые соединения не были обнаружены. Уменьшив мощность лампы и дозы (17 Вт, дозы 1,0 кДж/м² и 2,0 кДж/м²), получили фотопродукты различной полярности. Отсутствие данных по спектрам и ИУ возможных фотопродуктов затрудняет идентификацию.

Облучение кумаринов и фурукумаринов дозами 46,5 – 342,0 кДж/м²

При облучении большими дозами (45,6–342 кДж/м²) новые продукты не обнаружены. С ростом дозы облучения площадь и форма соответствующих пиков нелинейно изменялись, времена удерживания уменьшались, однако форма спектра оставалась постоянной (рис. 5).

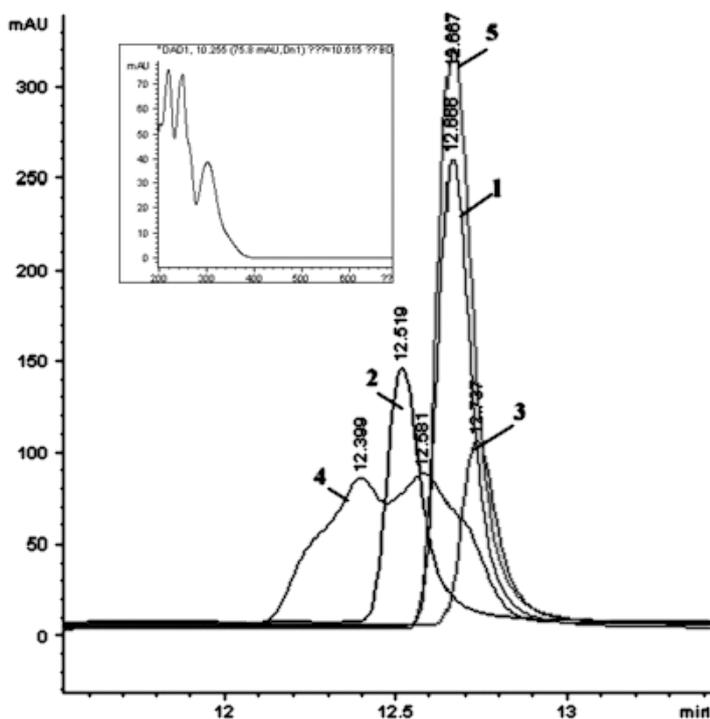


Рис. 5. Хроматограммы 8-метоксипсоралена, $\lambda = 280$ нм: необлученный (1), облученный различными дозами УФ-света, кДж/м^2 : 45,6 (2); 114 (3); 228 (4); 342 (5). На вставке: спектр псоралена

Совпадение спектров оптического поглощения продуктов с исходными кумаринами указывает на минимальные структурные отличия в их молекулах. Рост хроматографических пиков с увеличением дозы облучения свидетельствует о больших коэффициентах молярной экстинкции фотопродуктов. Вероятно, при больших дозах облучения в структуре фотопродуктов происходят изменения, приводящие к росту оптического поглощения и не затрагивающие основную хромофорную группу: образование двойной связи, сопряженных связей, фодимеризация.

СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОЕ И ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ КОМПЛЕКСОВ КУМАРИНОВ С ПЕРЕХОДНЫМИ МЕТАЛЛАМИ И ПРОДУКТОВ ИХ РАДИОЛИЗА И ФОТОЛИЗА

Для изучения физико-химических свойств комплексов кумаринов с металлами, определения продуктов их УФ- и γ -облучения были выбраны комплексы кумаринов с Cr (III) и V (IV). В связи со сложностью процессов в растворах комплексов, задача изучения количественных закономерностей не ставилась.

Чтобы уменьшить удерживание и избежать уширения хроматографических пиков комплексов использовалась колонка с более полярной цианофазой. Химическая стабильность комплексов при контакте с сорбентом подтверждена элюированием на разных скоростях потока элюента (50, 100, 200, 300 мкл/мин). Соотношение площадей пиков комплекса и лигандов оставалось постоянным.

В изократическом режиме элюирования нейтральными элюентами при 5%-м содержании воды в ацетонитриле начинается диссоциация комплексов (при pH элюента = 3 порог повышался до 15%): увеличивались асимметрия и расщепление пиков комплексов, площади пиков лигандов. Время удерживания комплексов с ростом содержания воды в элюенте от 0 до 60% увеличивалось

незначительно (~ на 1 минуту). В градиентном режиме анализа при pH=3 большое значение имела природа кислоты. При использовании H₃PO₄ пик комплекса V(IV) элюировался с мертвым объемом колонки (рис.6). При замене H₃PO₄ на ТФУ t_R комплекса V(IV) увеличивается в 5 раз. На хроматограмме видны пики двух различных форм комплекса и обоих лигандов. Очевидно, ТФУ замещает кумарины в комплексе V(IV), стабилизируя комплекс.

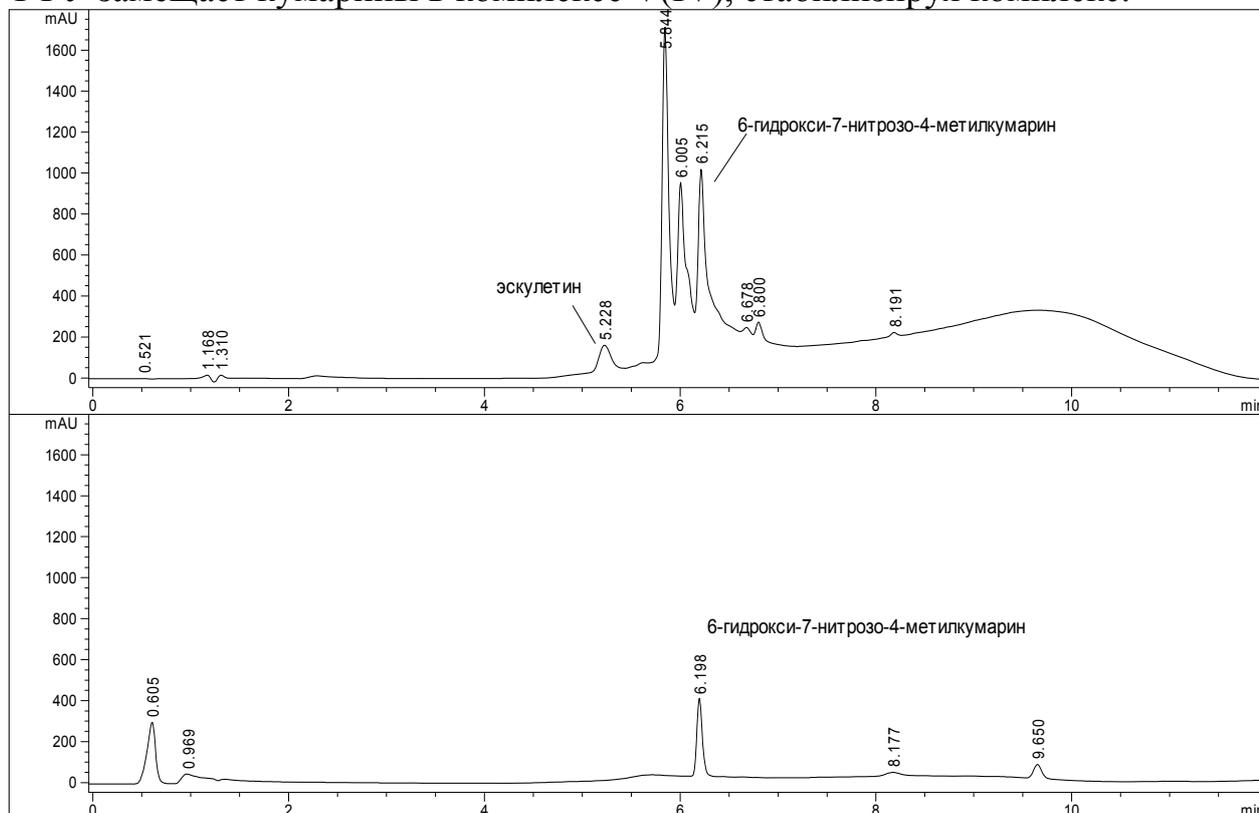


Рис. 6. Хроматограммы водного раствора Na[V(esc)₂6-гидрокси-7-нитрозо-4-метилкумарин]·2H₂O, λ=230 нм: градиентное элюирование при подкислении ТФУ (вверху) и нейтральных элюентах (внизу).

Изменение режима элюирования не влияло на поведение комплекса Cr(III). При pH 3 он элюировался симметричным пиком с мертвым объемом колонки. В нейтральных растворителях, вследствие диссоциации, появлялся дополнительный размытый пик со спектром, отвечающим комплексу (t_R=1,22±0,35 мин.). В обоих случаях наблюдался пик лиганда (эскулетина).

Комплексы кумаринов с металлами чувствительны к воздействию света и температуры. Диссоциация наблюдалась в водных растворах даже при 5⁰C, в отсутствие света. На хроматограммах водных растворов, хранившихся 2 недели при комнатной температуре, были обнаружены пики новых соединений (рис.7). Новые пики в области элюирования комплекса могут принадлежать диссоциированным и сольватированным формам, а также лабильным комплексам с молекулярным кислородом nL...mMeⁿ⁺...kO₂ (L – лиганд, Meⁿ⁺ – ион металла). Спиртовые растворы устойчивы при хранении в темноте при 5⁰C.

Высокое содержание ацетонитрила затрудняет разделение возможных фотопродуктов фотолиза и радиолиза комплексов. Поэтому в качестве элюента для дальнейших экспериментов был выбран 85% водный ацетонитрил.

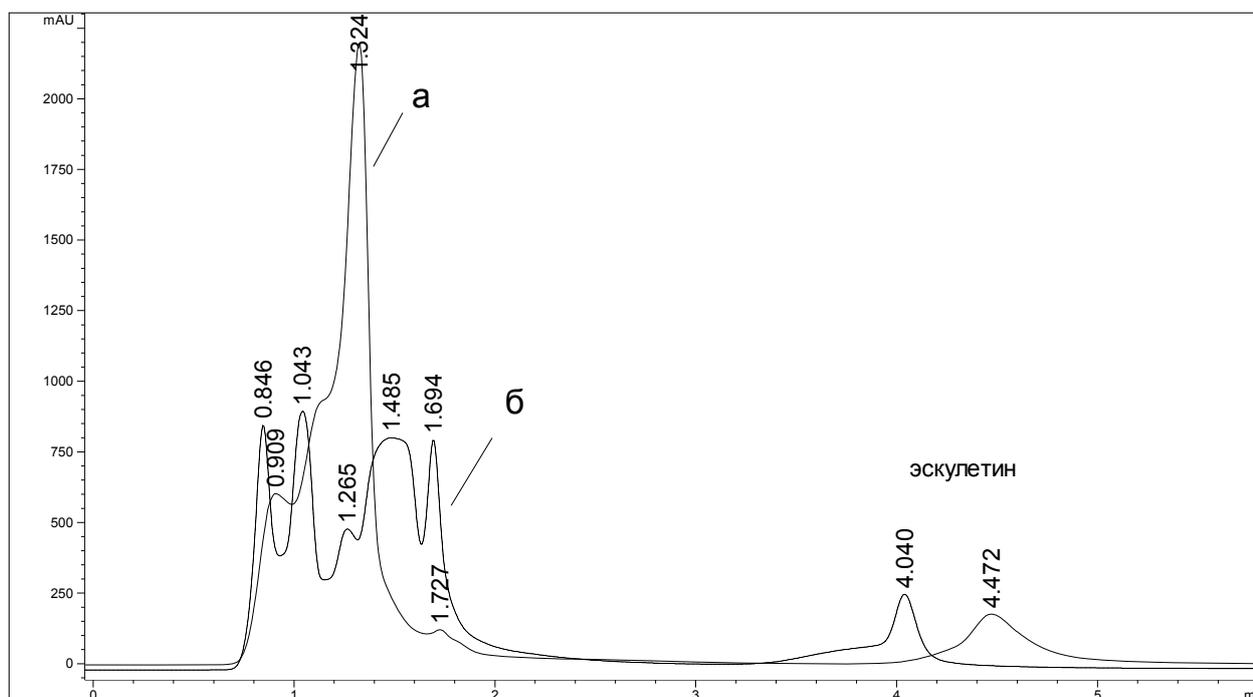


Рис. 7. Хроматограммы водного раствора $\text{Na}[\text{Cr}(\text{esc})_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\lambda=210$ нм: до (а) и после 2-х недель хранения (б) при комнатной температуре. Изократическое элюирование, 15% ацетонитрил в воде.

В условиях эксперимента возможны дополнительные приемы, улучшающие разделение и форму пиков ионных комплексов: применение модификаторов (алифатических аминов) и концентрированных солевых буферов. Влияние данных факторов является предметом специального исследования. При изучении фото- и радиационно-химических реакций комплексов рН элюента не изменяли с целью исключить дополнительные превращения продуктов облучения.

Радиолиз комплексов кумаринов с V(IV) и Cr(III)

Спиртовые растворы комплексов согласно результатам спектрофотометрического анализа были более устойчивы, чем водные: их спектры были неизменны. Объяснить это можно акцептированием активных радикалов $\text{OH}\cdot$ и $\text{H}\cdot$ молекулами спирта с образованием менее реакционноспособных радикалов $\text{C}_2\text{H}_4\text{OH}\cdot$, $\text{C}_2\text{H}_5\text{O}\cdot$, $\text{C}_2\text{H}_5\cdot$.

Изменения в спектрах при радиолизе водных растворов комплексов (доза 0,5 кГр) свидетельствовали о большей устойчивости комплекса Cr (III): в его растворе наблюдается небольшой рост коэффициентов экстинкции, тогда как в спектре комплекса V(IV) полоса поглощения на 400 нм смещается в УФ-область (до 350 нм).

Результаты ВЭЖХ анализа облученных водных растворов коррелировали с данными спектрофотометрии. Разрушение пика комплекса V (IV) сопровождалось увеличением площади пиков лигандов и образованием новых соединений (рис.8). О стабильности комплекса Cr (III) свидетельствовала неизменность площадей пиков комплекса и лиганда (эскулетина), время удерживания комплекса изменялось в пределах $1,30 \pm 0,37$ мин.

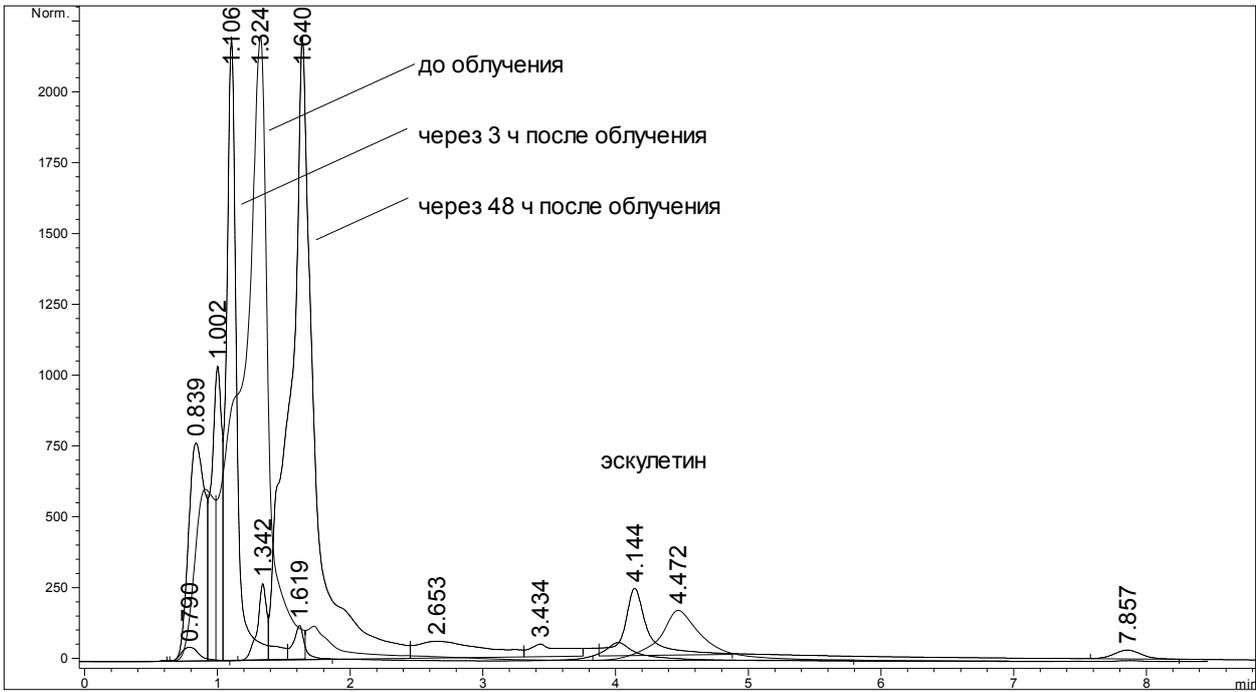


Рис. 8. Хроматограммы водного раствора $\text{Na}[\text{Cr}(\text{esc})_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, полученные через 48 ч после γ -облучения (0,5 кГр). Детектирование при $\lambda=230$ нм. Изократическое элюирование, 15% ацетонитрила в воде.

ВЭЖХ анализ спиртовых растворов металлокомплексов кумаринов в течение 48 часов после облучения подтвердил стабильность раствора комплекса Cr (III). Комплекс V(IV) деградировал с образованием пика эскулетина и одновременным ростом площади пика второго лиганда (рис. 9).

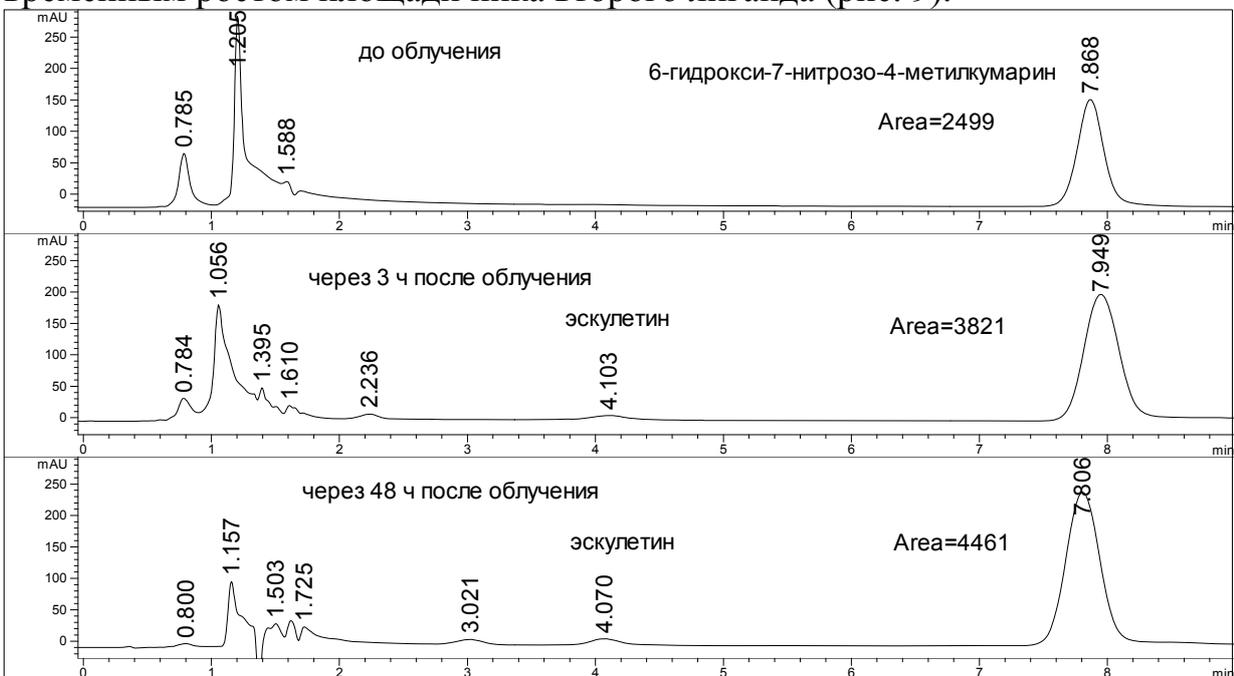


Рис.9. Хроматограммы спиртового раствора $\text{Na}[\text{V}(\text{esc})_2]$ 6-гидрокси-7-нитрозо-4-метилкумарин $\cdot 2\text{H}_2\text{O}$, полученные через 48 ч после γ -облучения (0,5 кГр). Детектирование при $\lambda=230$ нм. Изократическое элюирование, 15% ацетонитрил в воде. На хроматограммах приведена площадь пика 6-гидрокси-7-нитрозо-4-метилкумарина.

Фотолиз комплексов кумаринов с V(IV) и Cr(III)

В предыдущих главах было показано, что только дозы облучения <10 кДж/м² инициируют фотохимическое образование новых продуктов. УФ-облучение комплексов проводили в диапазоне длин волн 300-400 нм (область поглощения комплексов кумаринов) в водных растворах при дозе 2,85 кДж/м².

Условия хранения облученных растворов имели решающее влияние на протекание фотохимических реакций в облученных растворах. В условиях изоляции от света отмечались небольшие изменения формы и площади пиков комплексов. При хранении облученных растворов на свету эскулетин, входящий в состав обоих комплексов, обратимо трансформировался в метастабильные продукты с большими временами удерживания (время жизни продуктов 24 – 48 ч). Площадь пика 6-гидрокси-7-нитрозо-4-метилкумарина изменялась незначительно. Его стабильность подтвердили данные о фотостабильности нитрозопроизводных (глава 4.1.1).

Спектры оптического поглощения и времена удерживания продуктов фотолиза комплекса Cr (III) совпали с эскулетинном. Спектры фотопродуктов комплекса V(IV) идентифицировать не удалось (Рис. 10). Большие значения времен удерживания позволяют предположить малую полярность соединений и/или высокую молекулярную массу. Возможно, имеет место образование димеров эскулетина.

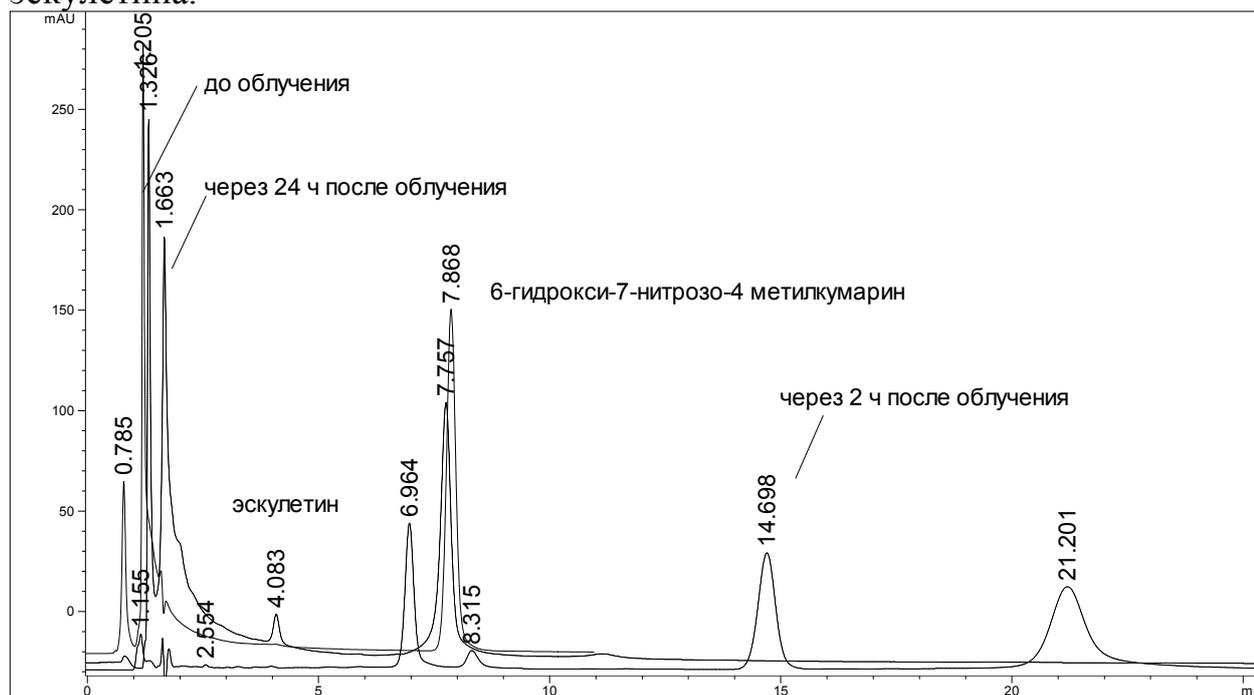


Рис.10. Хроматограммы водного раствора $\text{Na}[\text{V}(\text{esc})_2]_6$ -гидрокси-7-нитрозо-4-метилкумарина]·2Н₂О, полученные через 24 ч после УФ-облучения дозой, равной 2,85 кДж/м². Детектирование при $\lambda=230$ нм. Изократическое элюирование, 15% ацетонитрил в воде.

Полная фотодеградация и образование метастабильных продуктов свидетельствует о большей чувствительности комплексов к УФ-облучению, чем к γ -излучению. В обоих случаях водные растворы были менее стабильны, чем спиртовые. По результатам только стационарных методов облучения и определения конечных продуктов нельзя сделать вывод о механизме первичных актов

взаимодействия излучения (УФ- или ионизирующей радиации) с кумаринами и их комплексов с металлами, поскольку в пострadiaционный период могут протекать процессы регенерации продуктов превращений, дополнительной деградации не только продуктов, но и исходных молекул. Однако полученные результаты позволяют прогнозировать условия изменения защитных свойств комплексных соединений ванадия (IV) и хрома (III) в биологических средах по отношению к ионизирующему облучению, что ранее уже было доказано для соединений меди, железа, марганца и цинка.

ИЗУЧЕНИЕ СОСТАВА И АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ (АОА) РАСТИТЕЛЬНЫХ ЭКСТРАКТОВ МЕТОДОМ ВЭЖХ С ДИОДНО-МАТРИЧНЫМ И АМПЕРОМЕТРИЧЕСКИМ ДЕТЕКТИРОВАНИЕМ

Для сравнения состава и АОА экстрактов, полученных при экстракции различными растворителями, были отобраны растения, используемые в медицине, пищевой промышленности и косметологии. Идентификацию проводили по хроматографической базе данных 74 фенольных соединений (ароматические спирты, альдегиды, кислоты, метокси- и ацилированные производные, флавоноиды и их гликозиды, кумарины, фурукумарины). Полностью установить состав экстрактов не удалось из-за отсутствия всех необходимых стандартов. На основании ИУ и спектральных данных был проведен анализ методом fingerprint («метод отпечатков пальцев») и установлен групповой состав фенольных фракций (рис. 11).

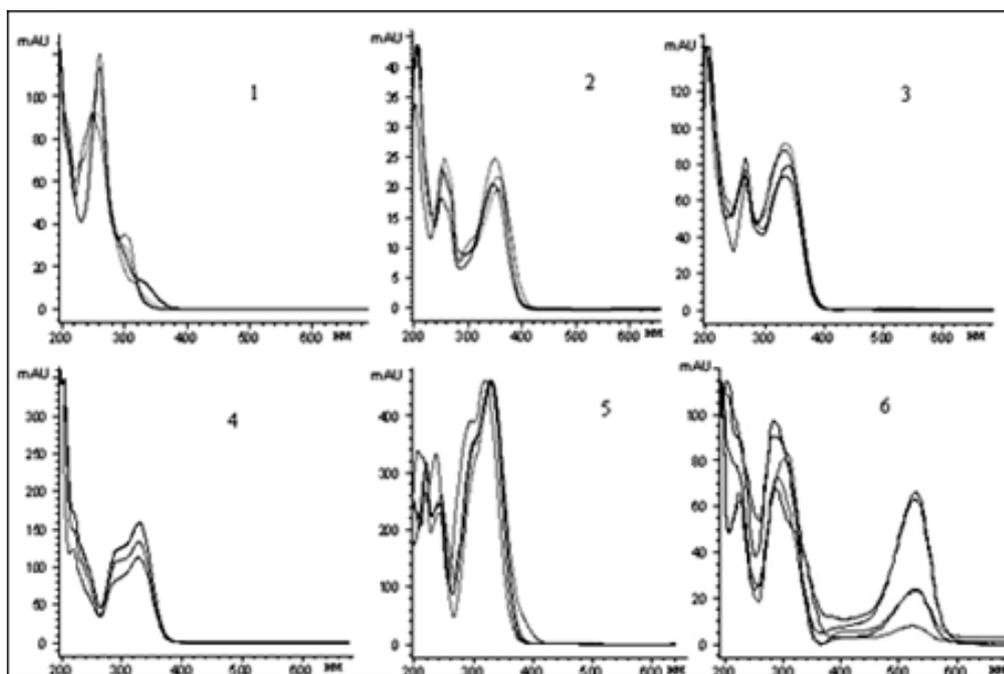


Рис.11. Спектры оптического поглощения фенольных соединений, наиболее часто встречающихся на хроматограммах экстрактов (λ_{max} , нм): 1 – изофлавоны (196, 260, 300); 2 – гликозиды флавонов и флавонолов (204, 250 (266), 352-370); 3 - гликозиды флаванолов (200, 266, 330-338); 4, 5 – ароматические гидроксид- и метоксилированные спирты и кислоты (218,236 – 240, 297,320 (327)); 6 – антоцианидины базилика (200, 222, 280-290, 528).

Некоторые фенольные соединения в исследованных экстрактах были обнаружены впервые. Так, в литературе не встречается сообщений о наличии фу-

рокумаринов в крапиве и алоэ. В базилике по наличию максимумов поглощения на 320-350 и 528 нм (ИУ = 719-780) впервые обнаружены антоцианидины.

Состав пропиленгликолевых (ПГ) и водно-спиртовых экстрактов сравнивали на качественном уровне. Максимальное извлечение фенольной фракции достигается при использовании ПГ. Однако ПГ извлекает большее количество органических веществ матрицы, что создает сильный фон. 50%-ые спиртовые экстракты содержат больше разнообразных фенольных соединений, чем ПГ экстракты

Большинство фенольных соединений в составе фракций детектируется на амперометрическом детекторе (АД). Мы попытались установить корреляцию между величиной сигнала АД и УФ-детектора (на 280, 308 и 346 нм – длины волн, наиболее часто используемые для определения природных фенольных соединений). Провести линейную зависимость между откликом АД и УФ, обобщив данные всех исследованных экстрактов, не удалось. Максимальное значение коэффициентов корреляции линейной зависимости наблюдалось для экстрактов свежих растений – 0,92 для $\lambda=346$ нм (рис. 12).

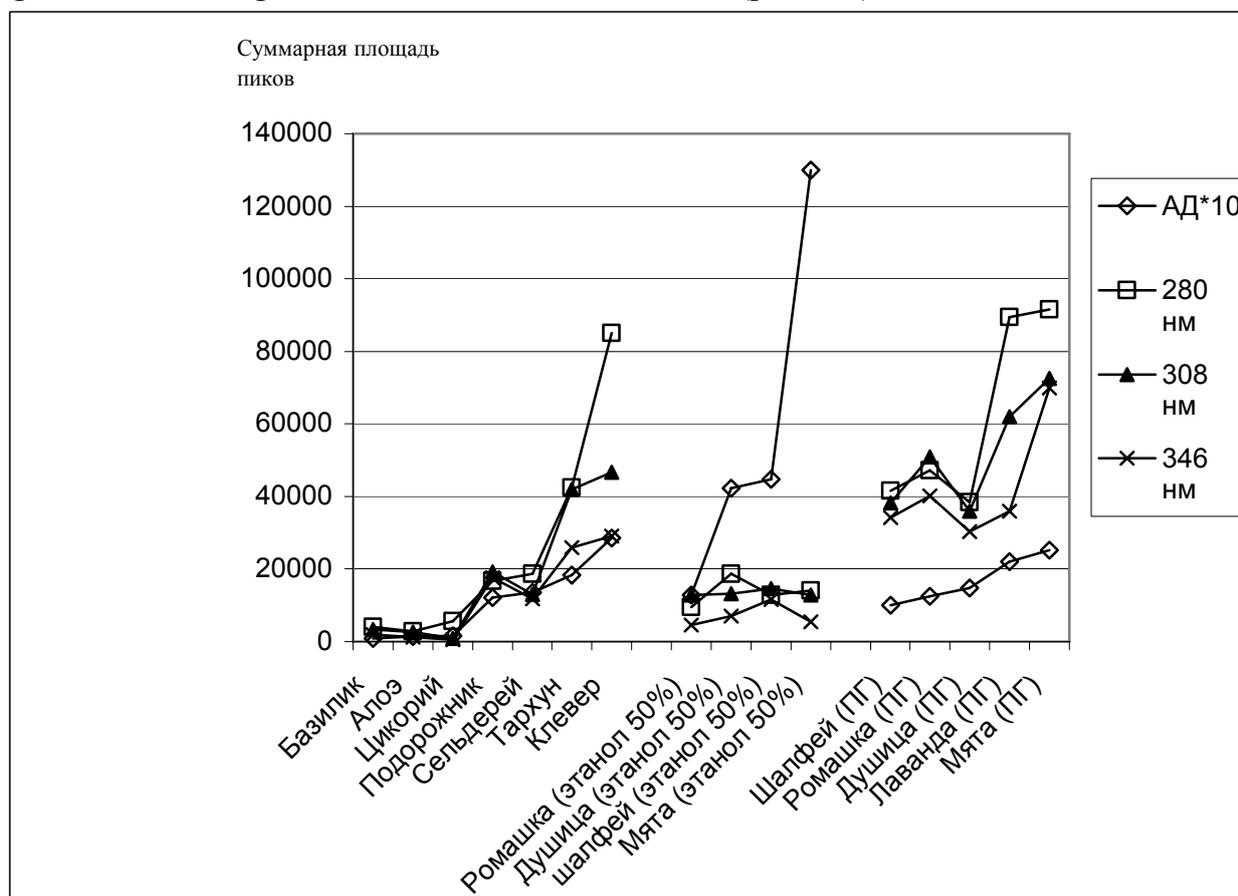


Рис.12. Сумма площадей пиков фенольных фракций экстрактов: базилик – клевер – свежие растения, «этанол 50%» - экстракты сухих лекарственных сборов. АД - Амперометрический детектор, нА/мин; УФ-детектор, мАЕ/мин.

Данные амперометрического детектирования подтверждают высокий антиоксидантный потенциал природных фенольных антиоксидантов и свидетельствуют о сложном характере зависимости антиоксидантной активности от состава экстрактов растений. Нахождение корреляций между содержанием и раз-

нообразиям фенольных фракций, многообразиям механизмов антиоксидантной защиты индивидуальных соединений и их комплексов с микроэлементами требует дополнительных параллельных медицинских исследований для рекомендаций растительных экстрактов в виде пищевых добавок и медицинских препаратов.

ВЫВОДЫ

1. Впервые проведено хроматографическое разделение и идентификация природных и синтетических кумаринов различных классов (метил-, гидроксид-, амино-, тио-, нитро- и нитрозопроизводные).
2. Спектры поглощения и ИУ исследованных кумаринов включены в созданную ранее базу соединений фенольной природы.
3. Хроматографически исследованы реакции фотолиза растворов кумаринов и фурукумаринов. С использованием хроматографической базы данных проведена групповая идентификация фотопродуктов.
4. Изучено влияние рН и режимов элюирования на хроматографическое поведение металлокомплексов кумаринов.
5. Методом ОФ ВЭЖХ изучены фото- и радиационно-химические реакции в растворах металлокомплексов кумаринов. Показано, что гамма-излучение инициирует процессы диссоциации, сольватации и образование новых комплексов. УФ-облучение вызывает разрушение комплексов, трансформации лигандов и образование метастабильных продуктов. Стабильность комплексов зависит от природы растворителя и фотостабильности лиганда.
6. С использованием разработанной хроматографической базы данных установлен групповой состав фенольных фракций экстрактов лекарственных и пищевых растений (пропиленгликолевых, водно-спиртовых, спиртовых). Антиоксидантная активность экстрактов в наибольшей степени определяется веществами с максимумом поглощения в области 340-350 нм (флавоноиды и их гликозиды).

Основные результаты диссертации изложены в следующих публикациях:

1. Семенистая Е.Н., Ларионов О.Г., Антропова И.Г., Ревина А.А. Изучение стабильности и фото- и радиационно-химических реакций комплексов кумаринов с переходными металлами методом ВЭЖХ // Сорбционные и хроматографические процессы. 2007. Т.7. С. 733-740.
2. Кочетова М.В., Семенистая Е.Н., Ларионов О.Г., Ревина А.А. Определение биологически активных соединений фенольной и полифенольной природы в различных объектах методами хроматографии // Успехи химии. 2007. Т.76. №1. С. 88-100.
3. Ларионов О.Г., Ревина А.А., Парфенов Э.А., Толкачев О.Н., Семенистая Е.Н. Исследование хроматографического поведения кумаринов методом ОФ ВЭЖХ // Сорбционные и хроматографические процессы. 2006. Т.6. С. 250-258.
4. Ларионов О.Г., Ревина А.А., Семенистая Е.Н., Парфенов Э.А. Хроматография синтетических кумаринов // Сорбционные и хроматографические процессы. 2006. Т.6. С. 44-54.
5. Семенистая Е.Н., Ларионов О.Г., Антропова И.Г., Ревина А.А. Изучение фото- и радиационно-химических превращений кумаринов и их комплексов с

переходными металлами методом ВЭЖХ // II Всероссийская конференция по аналитической химии, Краснодар, 7-12 октября, 2007 г.

6. Semenistaya E.N., Larionov O.G., Kolomiets L.N., Antropova I.G., Revina A.A.. Coumarins and coumarin-metall complexes: HPLC investigation of photo- and radio-chemical reactions // Proceedings of the 31th International symposium "HPLC 2007", Ghent, June 17-22, 2007. P. 612.

7. Семенистая Е.Н., Ларионов О.Г., Антропова И.Г., Ревина А.А. Изучение фото- и радиационно-химических комплексов кумаринов с переходными металлами методом высокоэффективной жидкостной хроматографии // Сборник тезисов Всероссийского симпозиума «Хроматография в химическом анализе и физико-химических исследованиях», Москва– Клязьма, 23 – 27 апреля 2007 г. № 49

8. Семенистая Е.Н., Абламонова Е.В., Ларионов О.Г., Мамедов И.С., Ревина А.А. Исследование фотолитических реакций кумаринов и фурукумаринов методом ОФ ВЭЖХ // International Congress on analytical Sciences, ICAS-2006. Moscow, Russia, June 25 – 30, 2006. V. I. P.203-204.

9. Semenistaya E.N., Larionov O.G., Parfenov E.A. Synthetic coumarins retention parameters in reversed-phase high-performance liquid chromatography // Сборник тезисов. X Международная конференция «Теоретические проблемы химии поверхности, адсорбции и хроматографии». Москва – Клязьма, 24-28 апреля, 2006. С. 340.

10. Semenistaya E.N., Antropova I.G., Parfenov E.A., Larionov O.G., Revina A.A. High-pressure liquid chromatography method for investigation of chemical-radiation stability of coumarins // Abstr. "Physical-chemical foundations of new technologies of XXI century" International Conference. Moscow, Russia, May 30 – June 4, 2005. V. II. P.174.

11. Антропова И.Г., Семенистая Е.Н., Фенин А.А., Ревина А.А. Влияние структуры на радиационно-химические превращения молекул кумаринов. Спектральные и хроматографические исследования // Первый международный конгресс молодых учёных по химии и химической технологии "МКХТ-2005", Москва, 26-28 октября 2005.

12. Семенистая Е.Н., Ларионов О.Г., Ревина А.А., Парфенов Э.А., Толкачев О.Н. Исследование хроматографического поведения кумаринов методом ОФ ВЭЖХ // Сборник тезисов. Всероссийская конференция «Теория и практика хроматографии. Применение в нефтехимии». Самара. 3 - 8 июля. 2005. С.180.

13. Антропова И.Г., Семенистая Е.Н., Ревина А.А. Спектральное и хроматографическое исследование продуктов радиолиза кумаринов // IV Баховская конференция по радиационной химии, Москва, 1-3 июня 2005 г.