АКАДЕМИЯ НАУК ЛАТВИЙСКОЙ ССР
ОРДЕНА ТРУДОВОГО КРАСНОГО ЗНАМЕНИ
ИНСТИТУТ ОРГАНИЧЕСКОГО СИНТЕЗА

В. Д. ШАТЦ,
О. В. САХАРТОВА

ВЫСОКО-ЭФФЕКТИВНАЯ ЖИДКОСТНАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ

Основы теории.
Методология.
Применение
в лекарственной химии

РИГА «ЗИНАТНЕ» 1988

24.5
Ш 286
УДК 543.544

Шатц В. Д., Сахартова О. В. Высокоэффективная жидкостная хроматография: Основы теорни. Методология. Примененне в лекарственной хнмин. — Рига: Зинатне. — 1988. — 390 с. — ISBN 5-7966-0035-4.

Рассматриваются варианты высокоэффективиой жндкостной хроматографии, имеющие наибольшее зиачеиие при анализе лекарствеиных веществ. Главиые положеиия теории, закоиомерности, а также методические и аппаратуриые аспекты излагаются как осиова для целеиаправлениого выбора условий разделеиия и анализа. Обобщены литературиые даиные и результаты собствеиных исследований авторов по разработке полуэмпирических моделей, связывающих величиины удерживаиия органических соединений с их строением и составом фаз хроматографической системы. Оптимальиые области использоваиия осиовных методических прнемов рассматриваются во взаимосвязи с характером типичиых аналитических задач. Приводятся справочные даиные по анализу лекарствеиных веществ с помощью высокоэффективной жидкостиой хроматографии.

Табл. 61, ил. 95, библиогр. 454 назв.

Ответственный редактор д-р хим. наук Я. П. Страдынь

Рецензенты:
д-р хим. наук О. Г. Ларионов,
канд. хим. наук А. А. Андерсои

Печатается по решению Редакционно-издательского созета АН Латвийской ССР от 5 марта 1987 года

Ш $\frac{1805000000-089}{M811(11)-1988}$ 47—88

ISBN 5—7966—0035—4

© Издательство «Зинатне», 1988

Центральна Наукова
БІБЛІОТЕКА ХДУ
Інв. №

ПРЕДИСЛОВИЕ

Современное развитие химических и биологических наук потребовало более глубокого проникновения в существо изучаемых процессов, детального анализа химического состава разнообразных смесей и биологических объектов. Кроме того, для химического и биотехнологического производства, в том числе для промышленности лекарственных средств, характерны постоянное возрастание требований к чистоте выпускаемых продуктов, ужесточение методов контроля, тенденция к использованию количественных критериев при оценке качества. Поэтому помимо оценки интегральных характеристик, присущих объекту исследования в целом, часто требуется детальное изучение содержания отдельных компонентов, определяющих состояние биологических систем либо качество химических продуктов. Решение этих задач, как правило, невозможно без применения достаточно эффективных методов разделения сложных смесей. Среди таких методов доминирует хроматография. Бурно развиваясь в последние десятилетия, этот метод открыл возможности разделения смесей, содержащих десятки и сотни компонентов, их качественного и количественного анализа, препаративного выделения индивидуальных веществ. Принципы хроматографии весьма универсальны, благодаря чему она оказалась пригодной для изучения объектов самой различной природы — от нефти и газов атмосферы до белков, нуклеиновых кислот и даже вирусов. Этим объясняется огромный интерес представителей различных научных и технических дисциплин к хроматографическим методам. Только в пяти специализированных международных журналах по хроматографии ежегодно выходит в свет свыше 2000 публикаций по различным вопросам теории и применения метода, общее же их число в несколько раз больше.

В колоночной жидкостной хроматографии достигнуты невиданные ранее скорость и эффективность разделения,

поэтому данная разновидность стала одной из наиболее популярных в исследовательской практике и все шире внедряется для контроля производственных процессов.

Во всем мире растет выпуск приборов для жидкостной хроматографии, стремительно увеличивается численность работников науки и производства, использующих этот метод для решения своих конкретных задач. В такой ситуации крайне необходима литература, позволяющая ознакомиться с основами теории и закономерностями хроматографии, наиболее значимыми в практической работе. Указанным вопросам посвящены главы 1—4 настоящего издания. В главе 5 освещены вопросы аппаратурного оформления метода, даются рекомендации по приемам практической работы и рациональному проведению эксперимента. В главе 6 показаны пути решения некоторых типичных аналитических проблем, характерных для химии лекарственных веществ, других продуктов органического синтеза. Наконец, в справочной главе 7 в компактной форме обобщены литературные сведения о методах жидкостного хроматографического анализа лекарственных веществ.

Авторы глубоко признательны В. Ф. Шатц, В. А. Беликову и сотрудникам отдела научно-технической информации Института органического синтеза АН ЛатвССР за помощь в оформлении рукописи, а также всем коллегам по хроматографическому центру этого института, чей опыт был использован при подготовке данного издания.

Все пожелания читателей по улучшению содержания книги будут полезны нам в дальнейшей работе.

Авторы

ВВЕДЕНИЕ

Период, наступивший в аналитической химии органических соединений с начала 60-х годов, без преувеличения может быть назван эпохой хроматографии. Один из вариантов этого метода — колоночная жидкостная хроматография — был создан русским ботаником М. С. Цветом в начале века [31]. На протяжении последующих 40 лет хроматография не находила широкого практического применения. Однако в этот период были выполнены работы, имевшие принципиальное значение и заложившие основы тонкослойной [9] и распределительной хроматографии [288]. Лишь после 1950 г. приходит время признания хроматографии, созревания ее как эффективного метода разделения сложных смесей соединений и их анализа. В 1952 г. были выполнены первые работы по газожидкостной хроматографии [216], а вскоре освоен выпуск газовых хроматографов, и в течение последующих 20 лет газохроматографический анализ стал основным методом исследования смесей летучих термически устойчивых соединений. Но большинство органических веществ не обладает необходимой для газовой хроматографии летучестью и термостойкостью, и хроматографировать их можно только в более мягких условиях, характерных для жидкостной колоночной хроматографии. Скорость же и эффективность разделения, а также чувствительность анализа по этому методу долго оставались неудовлетворительными. И лишь в 1965—1975 гг. были в принципе решены основные научные и технологические проблемы, сдерживавшие развитие метода. Последовавший затем прогресс был столь поразителен, что современная инструментальная разновидность метода получила самостоятельное наименование — высокоэффективная жидкостная хроматография*.

* Термин «высокоэффективная жидкостная хроматография» в настоящее время прочно внедрился в отечественной литературе. На наш взгляд, однако, он не вполне удачен, так как принципиальной отличительной чертой метода является не столько эффективность как таковая, сколько сочетание ее с высокой скоростью процесса.

Важнейшим катализатором развития хроматографической науки и практики были потребности разных естественных и технических наук, начиная от медицины и кончая криминалистикой, не говоря уже о науках химических и биологических. Внедрение хроматографических методов в эти области радикальным образом изменило тактику и методику исследований, обеспечило новые возможности контроля ряда производств. Хроматографическое оборудование сейчас можно увидеть и в химической лаборатории, и в цехе, и в больнице, и в кабине космического корабля. Что же представляет собой современная хроматография? С одной стороны, это практически полезный метод сорбционного разделения смесей в динамических условиях, а с другой — это наука, изучающая закономерности поведения молекул химических соединений, перемещающихся в системах, состоящих из слоя зернистой неподвижной фазы и протекающей через слой жидкой либо газообразной подвижной фазы. Поскольку здание хроматографической науки еще далеко от завершения, хроматография в некоторых, наиболее трудных областях и по сей день остается искусством, хотя бы и основанным на фундаментальных научных принципах.

Можно утверждать, что внедрение хроматографии прививает современному химику новый взгляд на вещества и смеси, которые он исследует. Оказывается, ни одно вещество не такое чистое, каким кажется, и ни одна смесь не такая простая, какой кажется, пока они досконально не изучены хроматографическими методами. В справедливости этого пессимистического тезиса убедился, наверное, каждый, в чью работу хроматография вошла прочно. Но пессимизм здесь только в форме, а не в содержании, так как обнаружение в смеси с помощью хроматографии новых компонентов или примесей может обернуться ценным научным результатом или по меньшей мере предотвратить ошибочные решения и выводы. Резюмируя сказанное, попытаемся дать определение хроматографии, хотя и сознаем, что ни одно определение здесь не может быть исчерпывающим. Итак, хроматография — это комплексная научно-техническая дисциплина, включающая в себя:

— теоретические разделы, посвященные законам сорбции и массопередачи в динамических условиях, межмолекулярным взаимодействиям сорбат—сорбент;

— методологические и прикладные исследования, направленные на создание общих подходов и конкретных режимов разделения и анализа;

— исследования по созданию материального фундамента хроматографии — приборов, сорбентов.

Эти три направления, которые можно условно объединить термином «профессиональная хроматография», развиваются в

гармонической взаимосвязи. Благодаря совместным усилиям хроматографистов-профессионалов во всем мире жидкостная хроматография постепенно становится все более доступной широкому кругу ученых и практиков, для которых она является инструментом решения конкретных задач в своей области. Современное состояние этого метода отражено в довольно обширной литературе, вышедшей за рубежом за последние годы [56, 92, 226, 316, 367, 375].

Авторы настоящей монографии в течение ряда лет занимаются разработкой жидкостных хроматографических методов разделения различных смесей органических соединений — от продуктов основного органического синтеза до лекарственных веществ и их метаболитов, выделенных из биологических объектов. В центре внимания постоянно находилась взаимосвязь, существующая между строением веществ, составом хроматографической системы, условиями ее работы и величинами удерживания разделяемых соединений. К сожалению, уровень теории жидкостной хроматографии, которая тесно связана с теорией растворов, пока не позволяет с достаточной для практических целей точностью описывать и предсказывать поведение сложных органических соединений. Именно по этой причине мы вслед за нашими предшественниками широко используем феноменологическое моделирование. Этот путь, не претендуя на глубину физико-химического описания процесса, в то же время дает возможность выявить многие существенные его стороны и, по нашему мнению, в обозримом будущем останется в жидкостной хроматографии как единственный подход, приносящий реальные плоды хроматографисту-практику. Общую цель наших исследований можно сформулировать как создание системы представлений и моделей, пригодных в качестве инструмента при интерпретации и прогнозировании хроматографических данных.

Определяя круг вопросов, подлежащих рассмотрению в рамках данной книги, мы, естественно, исходили из того, что объекты наших исследований и научные интересы в значительной степени связаны с потребностями химии лекарственных веществ. Это наряду с определенным объемом справочного материала, приводимого в книге, и послужило поводом к выбору названия. Вместе с тем ясно, что с точки зрения методологии хроматографии лекарственные соединения ничем не отличаются от других органических веществ. Поэтому мы широко привлекали данные, касающиеся других органических соединений, и выражаем надежду, что представленный материал будет полезен не только специалистам по хроматографии лекарств. Учитывая то, что литература по современной высокоэффективной жидкостной хроматографии на русском языке весьма

ограничена [1, 8, 12, 13, 16, 19, 26, 27, 30, 37], а метод продолжает стремительно развиваться, мы включили также ряд общеметодических разделов. Сознательно оставлены за пределами книги вопросы, относящиеся к анализу лекарственных препаратов в биологических объектах. По нашему мнению, центральной проблемой в этом случае является не столько хроматография, сколько поиск адекватных методов подготовки пробы к исследованию. Учитывая, что громадное большинство лекарственных веществ — низкомолекулярные соединения, мы сочли нецелесообразным рассматривать здесь эксклюзионную хроматографию. Анализ литературных данных показывает, что роль ионообменной хроматографии при изучении лекарственных веществ невелика и имеет тенденцию к снижению; поэтому указанная разновидность хроматографии нами здесь не обсуждается.

Таким образом, цель данной книги заключается в том, чтобы, не заостряя внимание на аспектах, которые по тем или иным причинам менее существенны при практическом использовании высокоэффективной жидкостной хроматографии, представить основную теоретическую и методическую информацию, необходимую для сознательного освоения данного метода, рекомендации по эффективному и целенаправленному выбору условий хроматографирования.

1. ПРИНЦИПЫ И ОСНОВЫ ТЕОРИИ ХРОМАТОГРАФИИ

1.1. ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЙ ПРОЦЕСС: УДЕРЖИВАНИЕ, РАЗМЫВАНИЕ, РАЗДЕЛЕНИЕ

Основные элементы хроматографического процесса рассмотрим на примере разделения бинарной смеси в условиях колоночной жидкостной адсорбционной хроматографии. Представим себе трубку, заполненную пористым адсорбентом (колонку), через которую непрерывно течет растворитель (рис. 1.1). Адсорбент (сорбент, наполнитель колонки) удерживается в колонке фильтрами, он неподвижен и потому часто называется неподвижной фазой. Растворитель, перемещающийся относительно сорбента, называют также подвижной фазой (и в некоторых случаях — элюентом). Введем в верхнюю часть колонки по одной молекуле соединений — сорбатов, обозначаемых далее *X* и *У*. При движении вдоль колонки эти молекулы будут диффундировать внутрь пор сорбента и в результате межмолекулярных взаимодействий того или иного типа адсорбироваться на поверхности неподвижной фазы. Доля времени, в течение которой молекулы находятся в адсорбированном состоянии, определяется силой межмолекулярного взаимодействия сорбатов *X*, *У* с сорбентом. При очень слабой адсорбции молекулы почти все время проводят в растворе подвижной фазы и поэтому перемещаются вниз по колонке со скоростью, лишь незначительно уступающей скорости движения подвижной фазы. Наоборот, при очень сильной адсорбции молекулы *X* и *У* почти не отрываются от поверхности и скорость их перемещения вниз по колонке крайне незначительна.

С точки зрения хроматографии нас больше всего интересуют такие условия, в которых сила адсорбции промежуточная и скорость перемещения *X* и *У* по колонке в 2—10 раз меньше скорости движения подвижной фазы. Явление замедленного движения молекул *X* и *У* относительно движения молекул подвижной фазы в хроматографии называется удерживанием. Если константы сорбции веществ *X* и *У* различны, то различаться будет и их средняя скорость смещения по колонке. Молекула *X*, в нашем примере сорбирующаяся слабее, при движении по

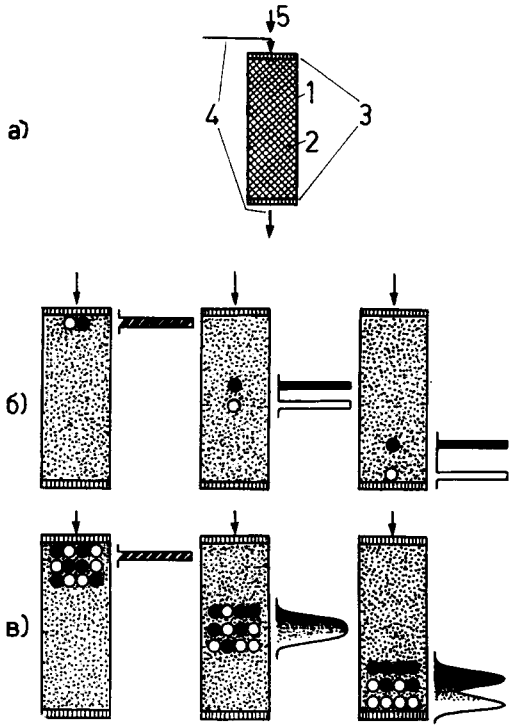


Рис. 1.1. Прииципиальная схема хроматографического эксперимеита. *а* — Колонка: *1* — корпус; *2* — сорбент; *3* — фильтры; *4* — вход и выход подвижной фазы; *5* — ввод разделяемой смеси. *б* — Гипотетическое разделеиие двух разных молекул *X* (○) и *Y*(●); линия правее колонки изображает распределение молекул двух видов по высоте слоя. *в* — Размывание зои при разделении реальиой пробы вследствие отклонения скоростей перемещения отдельных молекул от средией для даниого вида молекул велнчины.

колонке обгонит молекулу *У*, и из колонки они выйдут в разные моменты времени. Таким образом будет достигнута основная цель хроматографии — разделение.

Естественно, на практике в колонку не вводят единичные молекулы, и поэтому данная картина предельно упрощает реальную ситуацию. Если в колонку введем хотя бы несколько молекул каждого вида, то обнаружим, что средние скорости перемещения молекул *X* и *У* по-прежнему различны. Помимо этого, скорости перемещения отдельных молекул каждого вида отклоняются в ту или иную сторону от среднего для данного вида значения. Молекулы сорбатов, первоначально введенные в колонку в виде мгновенного импульса, выходят из нее более широкой зоной. Такая неидентичность скоростей перемещения одинаковых молекул в хроматографии называется размыванием; оно связано с рядом явлений в колонке, которые более подробно рассмотрены ниже. Это нежелательное явление приводит к тому, что среди молекул *X* могут находиться и такие «медленные», скорость которых близка к скорости наиболее «быстрых» молекул *У*. В результате зоны *X* и *У* могут частично

наложиться одна на другую и разделение окажется неполным (рис. 1.1,*в*).

Описанные процессы — удерживание и размывание — послужили главным предметом исследования хроматографической науки, основная задача которой — поиск физических и химических условий, при которых разница в средней скорости перемещения по колонке молекул *X* и *У* была бы оптимальной, а процессы размывания свелись бы к минимуму.

1.2. КЛАССИФИКАЦИЯ ВИДОВ ХРОМАТОГРАФИИ

К настоящему времени разработана довольно всесторонняя классификация видов хроматографии. Она детально обсуждена в литературе [27, 30, 92, 130, 131, 316, 375], однако целесообразно повторить ее основные принципы.

С точки зрения формы сорбционного слоя хроматографию подразделяют на колоночную и плоскостную (планарную). В первом случае сорбенту придается форма цилиндра и движение подвижной фазы направлено вдоль оси этого цилиндра. Во втором случае сорбент размещается параллельно некоторой плоскости и движение подвижной фазы параллельно ей.

С точки зрения способа ввода в колонку разделяемой смеси, наличия и роли подвижной фазы помимо описанной выше проявительной (элютивной) хроматографии различают фронтальную и вытеснительную. При фронтальном методе разделяемая смесь сама выступает в роли подвижной фазы: на выходе из колонки сначала появляется наименее сорбирующийся компонент, а затем последовательно выходят его смеси с другими, сильнее сорбирующимися компонентами. При вытеснительной хроматографии сорбент насыщается по всей длине колонки разделяемой смесью, после чего в колонку подается вещество-вытеснитель, сорбирующееся сильнее всех компонентов смеси. В настоящее время в аналитической практике используется исключительно проявительная хромография, фронтальный и вытеснительный методы более перспективны при препаративном выделении соединений.

С точки зрения агрегатного состояния подвижной фазы хроматографию подразделяют на газовую и жидкостную; в первом случае подвижная фаза газообразна, во втором — представляет собой жидкость.

Разнообразны механизмы взаимодействия молекул сорбатов с неподвижной фазой, и это также может служить основой классификации. Так, если молекулы сорбата связываются с поверхностью твердого адсорбента за счет дисперсионных, ори-

ентационных, индукционных и донорно-акцепторных взаимодействий, процесс называют адсорбционной хроматографией. Такие же взаимодействия могут иметь место и в том случае, когда неподвижная фаза жидкая и происходит растворение молекул сорбата в ее объеме. Этот вид хроматографии называют распределительным. При сорбции на твердой поверхности или в жидкости может происходить обмен ионами или лигандами, в этих случаях имеет место ионо- или лигандообменная хроматография. Наконец, сорбция как таковая может отсутствовать, а причиной разделения служит различная эффективная скорость диффузии молекул разных размеров внутрь пор неподвижной фазы. Такие режимы разделения называют ситовыми. Классификация видов хроматографии по механизму взаимодействия сорбат—сорбент достаточно условна, так как очень часто в реальной колонке параллельно могут протекать различные процессы, причем вклад каждого из них сильно зависит от природы разделяемых веществ.

Рассмотрение этой традиционной классификации показывает отсутствие в ней места для высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). С формальной точки зрения это совершенно правильно, так как ВЭЖХ, согласно приведенным признакам, всего лишь жидкостная колоночная хроматография, а механизмы сорбции в ВЭЖХ могут использоваться самые различные. По существу, ВЭЖХ — это современная форма реализации классической жидкостной колоночной хроматографии. Ниже перечислены некоторые наиболее существенные ее черты, которые, по нашему мнению, свидетельствуют не о простом улучшении классического варианта, а о его качественно новом уровне:

— высокая скорость процесса, позволившая сократить продолжительность разделения от нескольких часов и суток до минут;

— минимальная степень размывания хроматографических зон, что дало возможность разделять соединения, лишь незначительно различающиеся по константам сорбции;

— высокая степень механизации и автоматизации разделения и обработки информации, благодаря чему колоночная жидкостная хроматография достигла нового уровня воспроизводимости и точности. Именно это обстоятельство превратило ВЭЖХ в мощнейший из современных методов анализа сложных смесей.

Ранее довольно часто по отношению к ВЭЖХ применялся термин «жидкостная хроматография высокого давления», однако на современном этапе развития метода рабочие давления несколько снизились, к тому же совершенно ясно, что давление само по себе не является характеристикой процесса и его единственная роль чисто механическая — обеспечить необходимую скорость потока подвижной фазы.

Интенсивные исследования последних десятилетий, громадный объем накопленных экспериментальных данных позволяют сегодня уже говорить о классификации вариантов в рамках метода высокоэффективной жидкостной хроматографии. Конечно, при этом остается в силе классификация по механизму сорбции, приведенная выше. Однако часто в литературе по ВЭЖХ используются и другие классификация и терминология, не всегда до конца логичные. Так, в соответствии с типом сорбента можно различать хроматографию в системах жидкость—твердое тело, распределительную, на химически связанных неподвижных фазах. Часто, в особенности в зарубежной литературе, хроматографию на твердых адсорбентах относят к адсорбционной. Как показали исследования, ставить знак равенства между этими двумя терминами нельзя, так как не всегда именно поверхность твердого адсорбента ответственна за удерживание — зачастую главную роль играет адсорбированный на ней слой компонентов подвижной фазы (хроматография на динамически модифицированных сорбентах). С другой стороны, сорбция на химически связанных неподвижных фазах часто имеет обычный адсорбционный механизм.

Весьма распространена классификация, основанная на сравнительной полярности подвижной и неподвижной фаз. При этом различают нормально- и обращенно-фазовую хроматографию. В первом случае неподвижная фаза более полярна, чем подвижная, во втором — наоборот. Последние два термина лишены физического смысла и лишь связаны с тем обстоятельством, что исторически первым вариантом была именно хроматография на полярных сорбентах в относительно малополярных подвижных фазах.

Из сказанного ясно, что создание полной и непротиворечивой классификации вариантов ВЭЖХ — довольно трудная задача не только по существу, но и потому, что многие неудачные термины укоренились в практике и литературе, по-видимому, на долгое время. Необходимость упорядочения, однако, назрела, в силу чего в рамках данной книги в качестве рабочего варианта предлагается следующая классификация. Вряд ли и она свободна от недостатков, но, на наш взгляд, может служить разумным компромиссом между физико-химической обоснованностью и исторически сложившейся практикой:

— нормально-фазовая хроматография — такой вариант ВЭЖХ, когда подвижная фаза менее полярна, чем неподвижная, и есть основания считать, что основной фактор, определяющий удерживание, — это взаимодействие сорбатов непосредственно с поверхностью либо объемом сорбента;

— обращенно-фазовая хроматография — такой вариант ВЭЖХ, когда подвижная фаза более полярна, чем неподвижная, и удерживание определяется непосредственным контактом молекул сорбата с поверхностью или объемом сорбента; при этом ионизированные сорбаты не обмениваются на ионы подвижной фазы, сорбированные на поверхности;

— ионообменная хроматография — вариант, при котором сорбция осуществляется путем обмена сорбированных ионов подвижной фазы на ионы хроматографируемых веществ; полностью аналогично можно определить лигандообменную хроматографию;

— хроматография на динамически модифицированных сорбентах — вариант ВЭЖХ, при котором сорбат не взаимодействует непосредственно с поверхностью сорбента, а вступает в ассоциацию с молекулами приповерхностных слоев элюента. Состав этих слоев, находящихся в динамическом равновесии с подвижной фазой, отличается от среднего для данного эксперимента состава подвижной фазы;

— ион-парная хроматография — такой вариант обращенно-фазовой хроматографии ионизированных соединений, при котором в подвижную фазу добавляется гидрофобный противоион, качественно изменяющий сорбционные характеристики системы;

— эксклюзионная хроматография — способ разделения соединений по их молекулярным массам, основанный на различии в скорости диффузии в порах неподвижной фазы молекул различных размеров.

1.3. НЕКОТОРЫЕ ОСНОВНЫЕ ТЕРМИНЫ И ОПРЕДЕЛЕНИЯ

Хроматограмма — кривая, изображающая зависимость концентрации соединений, выходящих с потоком подвижной фазы из колонки, от времени с момента начала разделения (рис. 1.2). Хроматограмма обычно состоит из базовой линии *1* и пиков *2*. В хроматографических приборах, как правило, не происходит непосредственного измерения концентрации вещества в подвижной фазе, а с помощью специального узла — детектора измеряется какая-либо физическая величина, функционально связанная с концентрацией. *Базовая линия* соответствует тому промежутку времени, в течение которого детектор регистрирует сигнал только от подвижной фазы. *Пик* — кривая, в идеале приближающаяся к кривой гауссова распределения, описывает постепенное нарастание концентрации вещества на выходе из

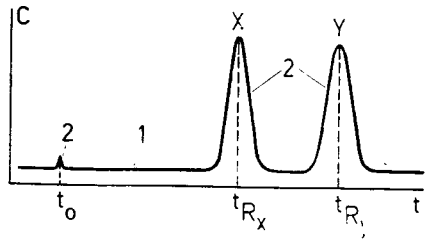


Рис. 1.2. Хроматограмма: *1* — базовая линия; *2* — пики; *t* — время; *C* — сигнал детектора.

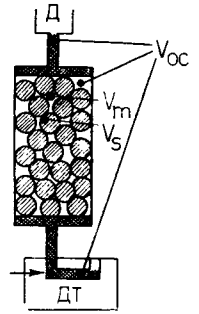


Рис. 1.3. Схематическое изображение объемов в хроматографической колонке. Пропорции изменены для наглядности. Д — дозатор; ДТ — детектор. Объем подвижной фазы не заштрихован, внеколоночные объемы заштрихованы дважды.

колонки и последующее ее уменьшение. Время появления максимума пика на хроматограмме называется *временем удерживания* t_{R_i}, где i — индекс, соответствующий i-му компоненту разделяемой смеси. При постоянных условиях работы и составе фаз хроматографической системы время удерживания является величиной, постоянной для данного вещества. Иногда в начальной части хроматограммы регистрируется небольшой пик, природа которого связана с кратковременным нарушением равновесия в колонке при вводе пробы. Этому пику соответствует *время удерживания несорбирующегося вещества* t_0 и свободный объем системы. *Свободный объем системы* V_{oc} — это объем, занимаемый подвижной фазой от устройства для ввода пробы до детектора. Часть свободного объема системы, находящаяся в пределах колонки, называется *свободным объемом колонки* V_m (рис. 1.3). В идеале свободный объем системы не должен превышать свободный объем колонки. В современных жидкостных хроматографах внеколоночные объемы сведены к минимуму, и измеряемую экспериментально величину t_0 в первом приближении можно считать отвечающей свободному объему колонки. Свободный объем колонки — ее важная характеристика, для его определения в изучаемую смесь иногда специально вводят несорбирующееся соединение для измерения t_0. Однако, как показано многими исследованиями последних лет, корректное определение свободного объема — весьма нелегкая, если вообще разрешимая задача. В противоположность свободному объему различают *объем неподвижной фазы в колонке* V_s. Отношение этих величин называют *фазовым отношением* колонки φ:

$$\varphi = V_s/V_m. \qquad (1.1)$$

Фазовое отношение — также важная характеристика системы, позволяющая связать хроматографический процесс с аналогичным ему по составу фаз статическим процессом распределения и далее — с термодинамическими характеристиками.

Итак, процесс удерживания данного вещества в принятой нами терминологии описывается временем удерживания — первой величиной, измеряемой в ходе хроматографического эксперимента. Однако помимо физико-химических факторов время удерживания определяется также скоростью подачи через колонку подвижной фазы F. Скорость подачи, или расход подвижной фазы, в первом приближении можно считать параметром, не влияющим на распределение. *Удерживаемый объем* данного вещества рассчитывается по формуле

$$V_R = t_R \cdot F \tag{1.2}$$

и, естественно, для данной колонки уже не зависит от расхода подвижной фазы. Удерживаемый объем является константой данного вещества на данной колонке в подвижной фазе данного состава, но на колонке других размеров он изменяется, несмотря на то что используются те же сорбент и подвижная фаза. При внимательном рассмотрении хроматограммы, полученной в новых условиях, можно обнаружить, что пропорционально изменяется и значение t_0. *Коэффициент емкости* данного соединения в данной хроматографической системе рассчитывается по формуле

$$k' = \frac{t_R - t_0}{t_0}. \tag{1.3}$$

Этот параметр не зависит от размеров колонки и широко используется в хроматографической литературе и расчетах. Коэффициент емкости не является чисто формальной величиной, он непосредственно связан с коэффициентом распределения в данной системе K и свободной энергией сорбции ΔG:

$$k' = K \cdot \varphi = \varphi \cdot e^{-\frac{\Delta G}{RT}}. \tag{1.4}$$

Коэффициент емкости не зависит от большинства экспериментальных факторов, однако, как видно из (1.4), фазовое отношение (и, следовательно, плотность упаковки колонкн) влияет на данный параметр сильно. Для устранения этого влияния в газожидкостной хроматографии в 1959 г. Ковачем [266] был предложен *индекс удерживания*

$$I_i = 100n + 100\frac{\lg(t_{R_i} - t_0) - \lg(t_{R_n} - t_0)}{\lg(t_{R_{n+1}} - t_0) - \lg(t_{R_n} - t_0)}, \tag{1.5}$$

где t_{R_n} и $t_{R_{n+1}}$ — время удерживания $н$-алканов с n и $n+1$ атомами углерода, выходящих из колонки до и после рассматриваемого соединения с временем удерживания t_{Ri}. Эта интерполяционная характеристика не зависит от фазового отношения и завоевала большую популярность, став основным средством описания поведения в газожидкостной хроматографии [82]. В ВЭЖХ также предложена аналогичная величина. В качестве ряда стандартов использованы метил-$н$-алкилкетоны C_3—C_{23} [53, 362] либо конденсированные полиядерные ароматические соединения [448]. Однако пока индексы удерживания широкого применения в ВЭЖХ не нашли.

Сравнительную термодинамическую характеристику двух разделяемых соединений дает *относительное удерживание,* или *селективность:*

$$\alpha_{i,j} = \frac{t_{R_i} - t_0}{t_{R_j} - t_0}. \tag{1.6}$$

Необходимо отметить, что уже с давних времен в дискуссиях хроматографистов и литературе привилось довольно свободное обращение с термином «селективность», так что не всегда можно понять, что именно имеется в виду. Согласно (1.6), селективность — это способность данной хроматографической системы разделять данную пару веществ i, j. Поэтому все рассуждения на тему о селективности тех или иных систем бессмысленны без указания, по отношению к каким объектам селективность проявляется.

Времена удерживания и все производные от них величины являются по существу термодинамическими характеристиками процесса. Однако, как в любом другом химическом процессе, в хроматографии результат определяется совместным влиянием факторов термодинамического и кинетического типа. Если в хроматографической системе данного состава при данной температуре у двух веществ значения t_R одинаковы (или $\alpha = 1{,}0$), то никакое изменение геометрии колонки, расхода элюента и других параметров не приведет к успешному разделению этой пары. Но, с другой стороны, различие значений t_R вовсе не означает автоматически, что разделение, а тем более хорошее, будет достигнуто. Для этого используемая колонка должна обладать достаточно высокими кинетическими характеристиками. Акты сорбции—десорбции должны совершаться с большой скоростью, чтобы реализовать потенциальную возможность разделения, на которую указывает различие в значениях t_R. Основная кинетическая характеристика процесса — *высота H,*

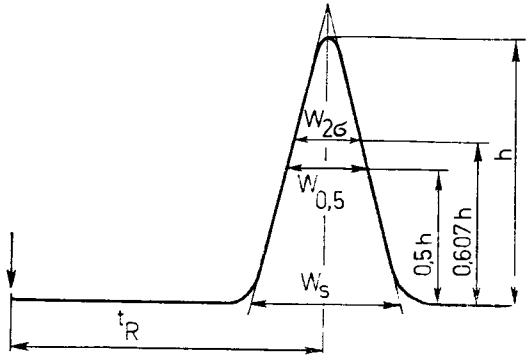


Рис. 1.4. К определению эффективности колоики.

эквивалентная теоретической тарелке (ВЭТТ). Эта величина соответствует высоте слоя сорбента, при прохождении которой акт сорбции—десорбции успевает совершиться в среднем один раз. Она отражает по существу качество использованного сорбента, качество заполнения колонки и правильность выбора режима хроматографирования. Для оценки качества колонки применяется обратная величина — *число теоретических тарелок N:*

$$N = L/H, \tag{1.7}$$

где L — длина колонки, мм.

Число теоретических тарелок служит мерой эффективности колонки. Его рассчитывают как функцию времени удерживания и ширины пика (рис. 1.4) по формуле

$$N = 5{,}54\left(\frac{t_R}{w_{0,5}}\right)^2 = 16\left(\frac{t_R}{w_s}\right)^2 = 4\left(\frac{t_R}{w_{2\sigma}}\right)^2, \tag{1.8}$$

где w_s — ширина пика у основания; $w_{0,5}$ — ширина пика на уровне 0,5 высоты; $w_{2\sigma}$ — ширина пика на уровне 0,607 высоты.

Совместное влияние селективности, удерживания и эффективности на результат разделения демонстрирует рис. 1.5. Наглядно видно, что бóльшие значения α и N способствуют более полному разделению. В то же время даже при достаточной разнице в удерживании разделение неудовлетворительно, если недостаточна эффективность. В качестве численной меры степени разделения двух компонентов используется критерий разделения R_s. Он может быть рассчитан на основании измерений хроматограммы веществ X и Y:

$$R_s = \frac{2(t_{RY} - t_{RX})}{w_{sY} + w_{sX}} \tag{1.9}$$

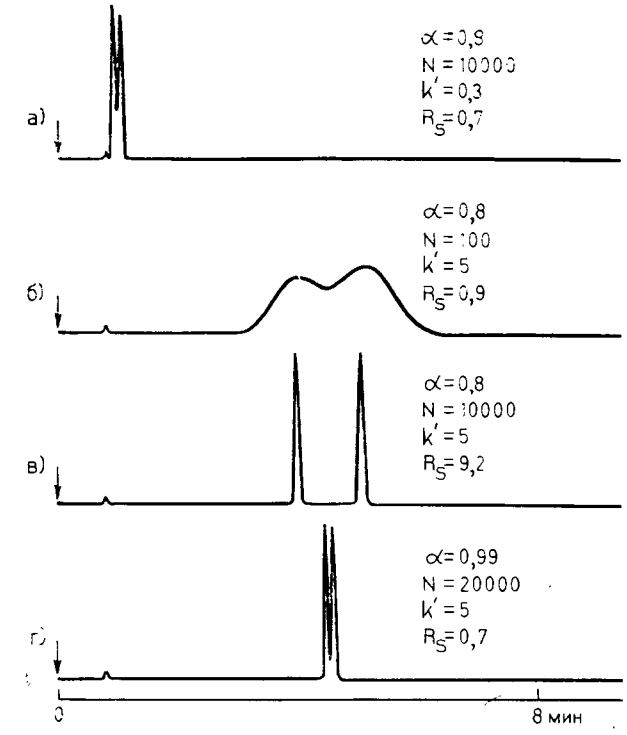


Рис. 1.5. Влияние удерживания (k'), селективности (α) и эффективности (N) на разделение. *а* — α и N оптимальны, k' мало́; *б* — α и k' оптимальны, N мало; *в* — α, N и k' оптимальны; *г* — удовлетворительное разделение соединений с малым значением α на колонке повышенной эффективности.

Критерий разделения связан с основными характеристиками системы следующим соотношением:

$$R_s = \frac{1}{4}\left(\frac{\alpha - 1}{\alpha}\right)\left(\frac{\bar{k}'}{1 + \bar{k}'}\right)\sqrt{N}, \tag{1.10}$$

где $\bar{k}'$ — среднее значение коэффициентов емкости разделяемой пары веществ.

1.4. РАЗМЫВАНИЕ ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИХ ЗОН

Рассмотрим факторы, определяющие форму хроматографических зон в проявительной хроматографии. Разделяемая смесь вводится в колонку в виде узкого импульса, и его объемом по сравнению с объемом колонки можно пренебречь. По мере

перемещения молекул разделяемых веществ с потоком подвижной фазы импульс непрерывно расширяется, при этом концентрация разделяемых молекул в нем уменьшается. Главная причина данного процесса в том, что скорость перемещения по колонке отдельных молекул отличается от средней скорости, характерной для данного соединения. С точки зрения конечного полезного результата хроматографического процесса — достижения разделения молекул различных видов — размывание зон крайне нежелательно, по крайней мере по следующим причинам. Во-первых, интенсивное размывание ведет к частичному перекрыванию зон различных соединений, и потому приходится предъявлять более жесткие требования к селективности системы. Причем, даже если в том или ином случае удается обеспечить повышенную селективность, общая разделяющая способность невелика. Другое отрицательное следствие размывания — уменьшение концентрации сорбата в центре зоны, ведущее к снижению чувствительности при анализе и дополнительным трудностям при препаративном выделении чистых веществ.

Мерой интенсивности процессов размывания является высота, эквивалентная теоретической тарелке. Величина H определяется рядом частных процессов, детально рассмотренных еще в работах [143, 144], основные выводы которых полностью применимы и к высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Неоднородность потока подвижной фазы. Сорбент, находящийся в хроматографической колонке, можно считать системой взаимопересекающихся каналов, в которых в результате вихревой диффузии скорость переноса подвижной фазы отдельных молекул может различаться. Этому процессу отвечает составляющая

$$H_H = 2\lambda d_p, \tag{1.11}$$

где d_p — размер частиц сорбента; λ — коэффициент вихревой диффузии — мера неоднородности потока подвижной фазы.

Продольная молекулярная диффузия в подвижной фазе. Молекулы хроматографируемых соединений распределены между подвижной и неподвижной фазами, и в каждой из этих фаз протекают процессы молекулярной диффузии. Все молекулы данного вида проводят в подвижной фазе в среднем одно и то же время, $t = L/u$, где L — длина колонки, u — линейная скорость подвижной фазы. В течение этого периода молекулы сорбата диффундируют относительно центра зоны. На основании уравнения Эйнштейна может быть получено выражение, описывающее этот тип размывания зоны:

$$H_{D,M} = 2\gamma D_{MM}/u, \tag{1.12}$$

где D_{MM} — коэффициент диффузии; γ — коэффициент, учитывающий затрудненность диффузии в подвижной фазе, расположенной между зернами сорбента. Значение γ приближенно равно 0,6 для обычных насадочных колонок (для идеального капилляра $\gamma = 1{,}00$).

Продольная диффузия в неподвижной фазе. В неподвижной фазе молекулы разделяемых соединений проводят время

$$t_s = \frac{Lk'}{u}, \tag{1.13}$$

где k' — коэффициент емкости. Величина t_s, в отличие от t_0, для разных веществ различна. Для неподвижной фазы, как и для подвижной, может быть получено

$$H_{D,S} = \frac{2D_{MS}k'}{u}, \tag{1.14}$$

где D_{MS} — коэффициент диффузии в неподвижной фазе. Обычно в ВЭЖХ значения $H_{D,S}$ не слишком отличаются от $H_{D,M}$.

Кинетика массопередачи в неподвижной фазе. Слагаемые размывания, определяемые конечной скоростью процессов сорбции, несколько отличаются в зависимости от того, имеет ли сорбирующий слой бесконечно малую толщину, как при адсорбционной хроматографии, или толщина его существенна, как это имеет место при хроматографии распределительной.

Рассмотрим процесс адсорбции из центра зоны. Считая его протекающим по уравнению первого порядка, можно определить время, необходимое для адсорбции:

$$t_A = \frac{1}{K_A}, \tag{1.15}$$

где K_A — константа скорости адсорбции. За время t_A центр зоны переместится на расстояние $(t_0/t_R)ut_A$, в то время как рассматриваемая нами молекула сместится на $t_A \cdot u$. В результате этой стадии процесса молекула «обгонит» центр зоны на величину

$$\Delta l = t_A u \left(1 - \frac{t_0}{t_R}\right). \tag{1.16}$$

При десорбции это расстояние удвоится. Полное число переходов равно $2L/(ut_A)$, и отсюда можно получить составляющую ВЭТТ для адсорбционной хроматографии $H_{K,A}$

$$H_{K,A} = 2\left(\frac{t_R - t_0}{t_R}\right)^2 \frac{u}{K_A}. \tag{1.17}$$

В случае распределительной хроматографии продолжительность десорбции зависит от скорости диффузии в неподвижной фазе и эффективной толщины пленки d_f. Аналогично (1.17) может быть получено выражение для составляющей ВЭТТ в данном режиме $H_{K,P}$:

$$H_{K,P}=2\left(\frac{t_R-t_0}{t_R}\right)\left(\frac{t_0}{t_R}\right)d_f^2u\cdot\frac{1}{D_{HS}}. \qquad (1.18)$$

Кинетика массопередачи в подвижной фазе. Этот процесс также определяется диффузией молекул в подвижной фазе, т. е. между частицами сорбента. Длина диффузионного пробега пропорциональна диаметру частиц сорбента, и весь процесс можно рассматривать как протекающий параллельно с размыванием из-за неоднородности потока. Соответствующий вклад в ВЭТТ

$$H_{K,M}=\omega d_p^2u\cdot\frac{1}{2D_{MM}}. \qquad (1.19)$$

Наконец, **неравновесность процесса внутри застойных зон** в частицах насадки определяется выражением

$$H_{S,S}=Cd_p^2u\cdot\frac{1}{D_{MM}}, \qquad (1.20)$$

где C — коэффициент, учитывающий константу сорбционного равновесия и геометрию насадки.

Каждый из рассмотренных процессов вносит свой вклад в суммарную величину ВЭТТ, которая может быть найдена по простому уравнению

$$H=H_H+H_{D,M}+H_{D,S}+H_{K,A}+H_{K,M}+H_{S,S}. \qquad (1.21)$$

Как видно из уравнений (1.12)—(1.21), многие составляющие ВЭТТ представляют собой функцию линейной скорости потока подвижной фазы. Изучение зависимости ВЭТТ от скорости потока — важный инструмент анализа кинетико-динамических свойств конкретных хроматографических систем. Зависимость H от u может быть выражена различными уравнениями, связанными с приведенными выше факторами размывания. Первым уравнением такого типа явилось уравнение Ван-Деемтера [413], которое в упрощенной форме выглядит так:

$$H=A+\frac{B}{u}+Cu. \qquad (1.22)$$

Здесь член A соответствует вкладу неоднородности потока подвижной фазы; член B/u — сумме слагаемых, связанных с продольной диффузией ($H_{D,M}$ и $H_{D,S}$); член Cu — сумме слагаемых, отражающих кинетику массопередачи ($H_{K,A}$, $H_{K,P}$, $H_{K,M}$). На рис. 1.6 изображена кривая Ван-Деемтера, имеющая в общем случае вид гиперболы. В левой ее части, при малых линейных скоростях потока, основной вклад в размывание зон вносят процессы продольной диффузии. В средней части графика располагается область, соответствующая минимальному для данной колонки значению ВЭТТ и оптимальной величине линейной скорости. При дальнейшем увеличении скорости потока возрастает роль сопротивления массопередаче и ВЭТТ снова увеличивается.

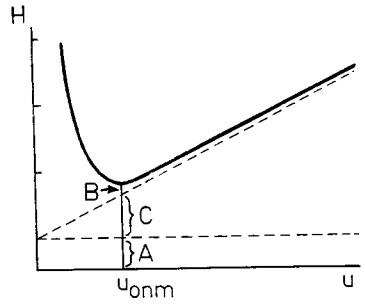


Рис. 1.6. Кривая Ван-Деемтера.

Анализ уравнений (1.11)—(1.22) позволяет выявить влияние некоторых факторов на эффективность колонок. Так, из (1.11) ясно, что для снижения H необходимо использовать частицы сорбента меньшего размера. Кроме того, в члены, описывающие сопротивление массопередаче, размер частиц входит во второй степени, так что целесообразность уменьшения d_r для снижения величины H не вызывает сомнений. К сожалению, использовать этот путь повышения эффективности можно лишь до определенного предела, который диктуется техническими соображениями. Перепад давления в колонке связан с другими параметрами процесса следующим соотношением:

$$\Delta p=\frac{ru}{d_p^2\cdot L}, \qquad (1.23)$$

где r — параметр сопротивления потоку; p — перепад давления. Двукратное увеличение размера зерен сорбента неизбежно должно привести к четырехкратному увеличению давления для получения прежней скорости элюирования. При повышенных давлениях резко возрастает стоимость и сложность оборудования, и, видимо, в ближайшем будущем средний размер частиц применяемых сорбентов останется на прежнем уровне — между 3 и 10 мкм.

С целью сокращения продолжительности разделения на практике чаще всего используются линейные скорости потока, превышающие значения $u_{опт}$. В этой области кривой Ван-Деемтера положительное влияние на эффективность оказывает увеличение коэффициента диффузии в подвижной фазе. Поэтому, если позволяют чисто химические соображения, следует предпочитать подвижные фазы, обладающие меньшей вязкостью.

1.5. УДЕРЖИВАНИЕ

Теория хроматографического удерживания решает две основные задачи:

— установление связи между временами удерживания сорбатов и условиями эксперимента;

— установление связи между строением сорбатов и их величинами удерживания.

Первая из этих задач в настоящее время решена на достаточно строгой физико-химической основе, решение второй затруднено недостаточным развитием теории растворов, невозможностью сколько-нибудь полного учета богатой гаммы межмолекулярных взаимодействий в хроматографических системах. Поэтому закономерно, что в данной области основным подходом является полуэмпирическое моделирование, базирующееся на общих представлениях о механизмах сорбции в системах того или иного типа. С учетом этого настоящий раздел посвящен исключительно первой задаче; вопросы связи между строением сорбатов и удерживанием рассматриваются в последующих разделах, посвященных конкретным разновидностям ВЭЖХ.

Представим себе колонку, заполненную сорбентом, через которую с постоянной скоростью течет поток подвижной фазы. Мысленно введем в такую колонку соединение, не способное сорбироваться неподвижной фазой. Естественно, скорость перемещения молекул этого соединения будет равна линейной скорости перемещения подвижной фазы. Через время t_0 с момента начала эксперимента на выходе из колонки появится максимальная концентрация введенного вещества. Время его выхода из колонки определяется соотношением

$$t_0 = \frac{V_M}{F} \qquad (1.24)$$

и позволяет непосредственно определить линейную скорость подвижной фазы

$$u = L/t_0. \qquad (1.25)$$

Здесь F — расход подвижной фазы в колонке.

Предположим, что в колонку введено m г соединения X, способного сорбироваться согласно уравнению

$$X_m \overset{K_1}{\rightleftarrows} X_s, \qquad (1.26)$$

где K_1 — константа равновесия, а индексы m и s относятся к

подвижной и неподвижной фазам соответственно. Константа равновесия выражается соотношением

$$K_1 = \frac{[X_s]}{[X_m]}. \qquad (1.27)$$

Далее может быть найдено распределение массы компонента X между подвижной и неподвижной фазами:

$$m_s = [X_s]V_s = K_1[X_m]V_s; \qquad (1.28)$$

$$m_m = [X_m]V_m, \qquad (1.29)$$

где V_s — объем неподвижной фазы; m_s и m_m — масса сорбата, находящаяся в неподвижной и подвижной фазах соответственно, $m = m_s + m_m$.

Очевидно, что поток подвижной фазы способен выносить из зоны с установившимся сорбционным равновесием лишь те молекулы X, которые в данный момент находятся в десорбированном состоянии. Следовательно, скорость перемещения зоны вещества X по колонке u_X будет меньше u во столько раз, во сколько раз m_m меньше m. Наблюдаемое экспериментально время удерживания t_{RX} связано с обсуждаемыми величинами соотношением

$$\frac{u_x}{u} = \frac{t_0}{t_{RX}} = \frac{m_m}{m} = \frac{[X_m]V_m}{K_1[X_m]V_s + [X_m]V_m}. \qquad (1.30)$$

Отсюда следует

$$\frac{t_R}{t_0} - 1 = K_1\frac{V_s}{V_m}; \quad (1.31) \qquad k' = K_1\varphi. \quad (1.32)$$

Коэффициент емкости, определенный выше, равен отношению количества вещества в неподвижной фазе к его количеству в подвижной:

$$k' = \frac{m_s}{m_m}. \qquad (1.33)$$

Другим важным параметром сорбента (колонки) является фазовое отношение φ (с. 17). Из приведенных соотношений ясно, что, зная константу равновесия в идентичной в химическом отношении системе, можно в принципе рассчитать время удерживания соединения в хроматографической системе, установив тем самым прямую связь между параметрами, измеряемыми в статических и динамических условиях. К сожалению, однако, не так уж часто значения φ достоверно известны. Пожалуй, единственный тип систем, для которых подобное

прямое сопоставление осуществимо, — распределительные системы «жидкость—жидкость» с механически нанесенной неподвижной фазой. Но и они из-за ряда недостатков практического плана ушли в прошлое. Кроме того, при современном состоянии техники хроматографического эксперимента, когда выполнение однократного разделения значительно менее трудоемко, чем определение коэффициентов распределения в статической системе, использование зависимости (1.32) для прогнозирования хроматографического поведения практически лишено смысла. Наоборот, чаще делаются попытки оценить значения коэффициентов распределения исходя из хроматографических данных.

Таким образом, хотя физический смысл коэффициента емкости вполне ясен, соотношения (1.24)—(1.33) все же носят иллюстративный характер и не так уж много дают хроматографисту-практику в плане выбора условий разделения и интерпретации наблюдаемых величин удерживания.

2. СОРБЕНТЫ

Становление ВЭЖХ в значительной мере связано с созданием новых поколений сорбентов с хорошими кинетическими характеристиками и разнообразными термодинамическими свойствами.

В классической колоночной хроматографии, как правило, используются сорбенты с частицами диаметром 30—200 мкм. На основе таких материалов можно получать колонки эффективностью до нескольких тысяч теоретических тарелок на 1 м длины. Уже такой эффективности достаточно было бы для решения множества аналитических и препаративных задач. Однако главный недостаток крупнозернистых сорбентов — большая длина пути диффузии внутри зерен. Поэтому потенциальная эффективность таких колонок если и реализуется, то лишь при малых линейных скоростях подвижной фазы. В классической колоночной хроматографии используются разнообразные по химической природе типы сорбентов, но лишь некоторые из них оказались пригодными в качестве основы для разработки материалов ВЭЖХ. Наиболее популярен из них силикагель. Другие типы материалов (окись алюминия, углеродные сорбенты) в течение последних десятилетий используются все реже. Современные материалы для ВЭЖХ имеют параметры, оптимизированные с точки зрения кинетики процесса. Их свойства и методы получения детально рассмотрены в специальной литературе, поэтому здесь мы ограничиваемся лишь той информацией, которая нужна хроматографисту-практику в первую очередь.

Основной путь улучшения кинетических характеристик сорбентов — уменьшение толщины активного слоя. Достичь этого в принципе можно двумя путями. Первый из них основан на применении так называемых пелликулярных, или поверхностно-пористых, сорбентов. Их частицы состоят из непористого ядра и активного поверхностного слоя (рис. 2.1,*а*). Сорбенты этого типа получили наибольшее распространение в 60—70-е годы.

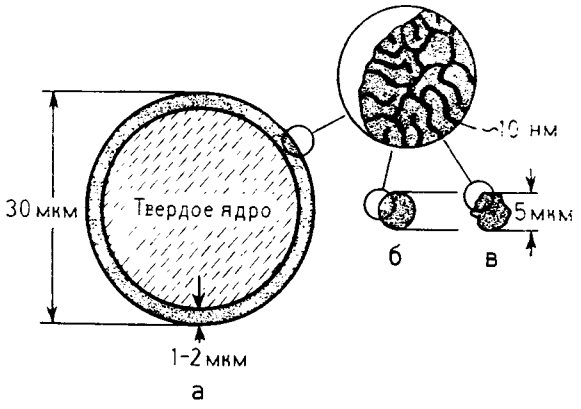


Рис. 2.1. Схематическое изображение частиц пелликулярных (*а*) и объемно-пористых (*б, в*) сорбентов.

Они удобны в работе, и их упаковка не требует специальной техники или навыков. Колонкам, заполненным поверхностно-пористыми сорбентами, присуще небольшое сопротивление потоку, что было особенно важно в начальный период развития ВЭЖХ, когда насосы еще не достигли своего совершенства. Недостаток этих сорбентов — в низкой сорбционной емкости колонок, так как лишь часть объема, занятого сорбентом, участвует в хроматографическом процессе.

Уменьшить толщину активного слоя можно и другим способом — уменьшением диаметра частиц обычного сорбента, пронизанного порами на всю его толщину. Сорбенты такого типа называются объемно-пористыми, обычно размер их частиц 3—10 мкм (рис. 2.1,*б*). Естественно, такие материалы создают значительно большее сопротивление потоку подвижной фазы в колонке, и рабочее давление последней значительно выше, чем при использовании пелликулярных сорбентов. Этот недостаток был особенно ощутим в первые годы развития ВЭЖХ, что заставило конструкторов создавать насосы для работы при давлениях 400—800 атм. Однако с течением времени значительно улучшилась однородность сорбентов по размеру частиц и оказалось, что такие давления вовсе не нужны. Современные колонки ВЭЖХ, заполненные сорбентами этого типа, работают, как правило, при давлениях 50—150 атм.

При использовании объемно-пористых сорбентов объем активной неподвижной фазы максимален, благодаря чему ВЭЖХ приобрела не только аналитическое, но и препаративное значение.

Технология упаковки колонок объемно-пористыми сорбентами постепенно совершенствовалась, и к настоящему времени эффективность колонок, выпускаемых лучшими фирмами, почти достигла теоретического предела. Современные колонки, заполненные объемно-пористыми сорбентами, превосходят таковые со старыми пелликулярными материалами как по скорости разделения и эффективности, так и большинству других показателей. В результате пелликулярные сорбенты почти вытеснены из аналитической практики и применяются сейчас только для заполнения вспомогательных колонок (форколонок), позволяющих продлить срок службы основных.

Полезные свойства силикагеля определяются возможностью получения материалов с заданным размером частиц, различными размерами пор сорбентов, разной удельной поверхностью и высокой механической прочностью. Ведущие фирмы-производители выпускают десятки сортов силикагеля, пригодного для решения разнообразных задач разделения. Именно силикагель чаще всего служит сорбентом в режиме нормально-фазовой хроматографии. В этом случае сорбция разделяемых соединений определяется их способностью взаимодействовать с поверхностными силанольными (≡Si—OH) и силоксановыми (≡Si—O—Si≡) группами.

Большую популярность с 1971 г. приобрели химически модифицированные силикагели. Принцип их получения чаще всего заключается в обработке поверхности силикагеля органилгалогенсиланами (рис. 2.2).

В зависимости от природы органического радикала R могут быть получены разные сорбенты. Условно химически модифицированные силикагели можно отнести к одной из двух групп —

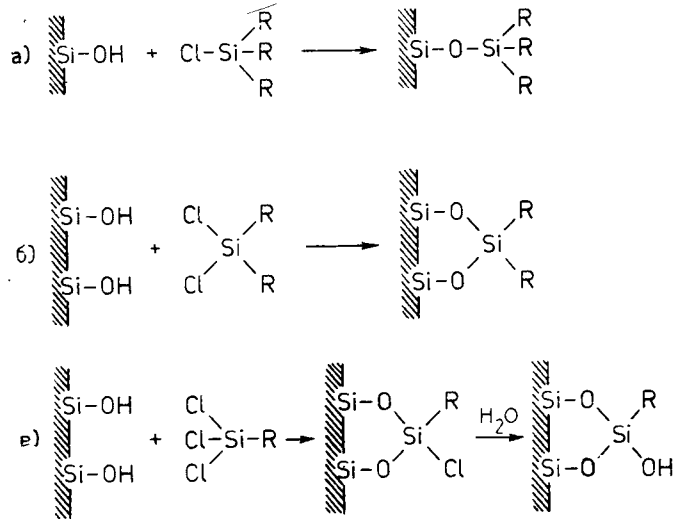


Рис. 2.2. Схема получения химически модифицированных силикагелей с помощью *а*) моно-, *б*) ди-, *в*) трихлорсиланов.

сорбентам общего назначения либо сверхселективным. Выпуск сорбентов первой группы в настоящее время широко освоен в промышленном масштабе. В качестве органических радикалов чаще всего используют следующие:

$-CH_3$ — (C_1) — метилсиликагель, применяется в обращенно-фазовом режиме обычно для разделения высокомолекулярных веществ;

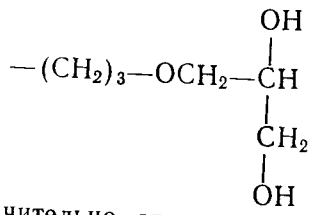
$-(CH_2)_7CH_3$ — (C_8) — занимает среднее положение в ряду неполярных сорбентов C_1—C_{18}. Может быть использован для ориентировочного разделения смесей неизвестного состава;

$-(CH_2)_{17}CH_3$ — (C_{18}, ODS) — предназначен для разделения широкого круга веществ от умеренно- до высокополярных. Сорбент пригоден для работы в режиме ион-парной хроматографии. Обладает высокой селективностью по отношению к гомологам;

$-CH_2C_6H_5$ и $-CH(C_6H_5)_2$ — (фенил, дифенил) — по сравнению с другими неполярными сорбентами менее селективен по отношению к гомологам. Может быть рекомендован преимущественно для разделения веществ различных классов, в особенности оснований;

$-(CH_2)_3NH_2$ — (NH_2, аминосиликагель) — используется для обращенно- и нормально-фазовой хроматографии. В водных подвижных фазах сорбент может найти применение как слабый анионообменник для разделения кислот. Часто используется для хроматографии сахаров в водно-органических системах. Следует избегать использования сорбатов, содержащих альдегидные или кетогруппы, которые могут образовывать с аминогруппами сорбата шиффовы основания;

$-(CH_2)_3CN$ — (CN, нитрил) — может быть использован в системах с водными и органическими подвижными фазами; в последнем случае напоминает по свойствам силикагель, однако присутствие нитрильной группы изменяет селективность этого материала по сравнению с исходным силикагелем;



— (OH, диол) — по селективности значительно отличается от немодифицированного силикагеля;

$-(CH_2)_3N^+R_3$ — (SAX) сильный анионообменник, используется для разделения кислот;

$-(CH_2)_3SO_3H$ — (SCX) — сильный катионообменник, используется для разделения оснований.

Успехи в области химической модификации силикагеля дают возможность многим исследователям проводить целенаправленный синтез материалов, обладающих определенными свойствами. К настоящему времени в литературе описаны многие десятки разнообразных органических лигандов. Однако лишь незначительная их доля (кроме перечисленных выше) включается в программу фирм-производителей сорбентов. Это, несомненно, объясняется тем, что на уже освоенных в массовом производстве нескольких типах сорбентов можно успешно решать 99% всех возникающих задач. Все же иногда выбор оригинального лиганда может придать сорбенту качественно новые свойства. Например, модификация оптически активными радикалами позволяет разделять на полученном хиральном сорбенте рацематы некоторых родственных лиганду веществ.

При выборе неподвижной фазы для разделения той или иной смеси необходимо исходить в первую очередь из свойств разделяемых соединений. Полярность разделяемых веществ непосредственно сказывается на их растворимости в растворителях различных классов, поэтому она служит первым критерием выбора. Одновременно следует иметь в виду, что часто возможно решение одной и той же задачи на сорбентах различных типов и что сорбционные свойства материала иногда могут радикально изменяться в зависимости от характера подвижной фазы. Одна из возможных схем выбора представлена на рис. 2.3.

Наименее полярные органические соединения — углеводороды, их галогензамещенные производные, а также кислородсодержащие соединения с большими алифатическими радикалами, как правило, хорошо растворимы в гексане. Вещества этой группы довольно слабо удерживаются силикагелем, и для их хроматографии потребовались бы очень малополярные подвижные фазы. Однако силикагель медленно уравновешивается такими растворителями, и получить достаточно стабильные величины удерживания непросто. Потому для сорбатов этого типа можно рекомендовать обращенно-фазовую хроматографию. В качестве подвижной фазы необходимо брать растворы, содержащие 0—30% воды в ацетонитриле или метаноле, а для наименее полярных сорбатов (например, триглицериды, высшие полиядерные ароматические углеводороды) — смеси ацетонитрила с хлороформом либо хлористым метиленом.

Органические соединения промежуточной полярности растворяются в сложных эфирах, спиртах, хлороформе. Эти вещества имеют в составе молекул функциональные группы, способные к довольно сильному взаимодействию с силанольными группами силикагеля, полярными функциональными группами химически модифицированных силикагелей. Подвижные фазы для

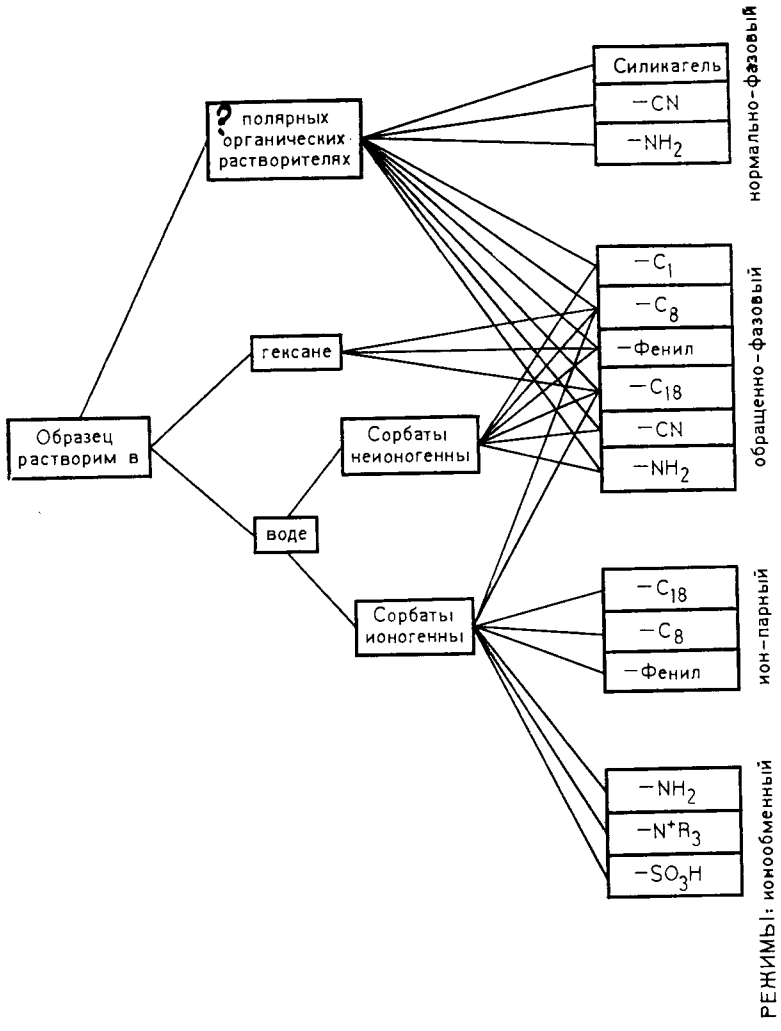


Рис. 2.3. Схема выбора неподвижной фазы для разделения низкомолекулярных органических соединений.

хроматографии на этих сорбентах содержат 2—50% полярного органического растворителя в смеси с менее полярными (углеводороды, галогенуглеводороды). Равновесие между силикагелем и такими растворами устанавливается быстро, и оно довольно устойчиво. Поэтому результаты хроматографии обычно с легкостью воспроизводимы. Разделение на силикагеле более селективно по отношению к пространственной структуре сорбатов, в силу чего нормально-фазовая хроматография наиболее предпочтительна, если предстоит разделение изомеров.

Многие полярные органические соединения растворимы в воде, и потому для них обычно используют обращенно-фазовую хроматографию. Подвижная фаза содержит 0—50% органического растворителя (метанол, ацетонитрил) в воде. Соединения выходят из колонки в порядке убывания полярности. Если сорбаты ионизированы в водных растворах, с целью улучшения формы пика и воспроизводимости результатов в подвижную фазу добавляют соли, кислоты, буферные растворы для поддержания необходимой ионной силы и pH.

Для ионогенных соединений существуют и другие варианты выбора хроматографической системы. Во-первых, это ионообменная хроматография на материалах, которые по химизму взаимодействия повторяют классические иониты. Недостатком такого режима является сравнительно невысокая эффективность разделения. Подвижная фаза, как правило, представляет собой буферный раствор. Его pH и ионная сила подбираются таким образом, чтобы обеспечить желаемые значения констант сорбции. Другой режим разделения ионогенных соединений — так называемая ион-парная хроматография. Методически суть ее сводится к тому, что в обычную обращенно-фазовую систему добавляют гидрофобные ионы, имеющие заряд, противоположный по знаку заряду разделяемых ионов. Этот прием позволяет получить пики ионогенных соединений почти идеальной формы, что редко достигается при обычной обращенно-фазовой или ионообменной хроматографии соединений данной группы.

3. РАСТВОРИТЕЛИ

3.1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА

Подвижная фаза в жидкостных хроматографических системах выполняет двоякую функцию. С одной стороны, она (подобно подвижной фазе в газовой хроматографии) служит для транспорта десорбированных молекул по колонке. С этой точки зрения химические свойства подвижной фазы не играют существенной роли, более важны их физические параметры: вязкость, летучесть и др. С другой стороны, в отличие от газохроматографических систем, подвижная фаза в жидкостной хроматографии играет активную, химическую по существу роль. Молекулы подвижной фазы взаимодействуют с другими компонентами системы: молекулами разделяемых веществ и молекулами неподвижной фазы. Фактически константы сорбционного равновесия в системе определяются характером подвижной фазы ничуть не менее, чем характером сорбента. Более того, во многих случаях компоненты подвижной фазы способны к прочной сорбции, что приводит к образованию на поверхности слоя, существенно изменяющего свойства неподвижной фазы. Поэтому вторая, и более важная, функция подвижной фазы сводится к регулированию констант равновесия, величин удерживания. Возможности регулирования удерживания с помощью подвижной фазы необычайно широки. Нередко заменой одного растворителя другим можно изменить коэффициент емкости в 1000—10 000 раз! Однако для практической хроматографии пригоден лишь довольно узкий диапазон величин k' — примерно между 1 и 20. Слишком малые значения k' непригодны, так как в этой области резко возрастает вероятность взаимного перекрывания пиков. Наоборот, при слишком больших константах сорбции и k' разделение требует значительного времени, к тому же увеличивается риск не обнаружить более прочно сорбирующиеся компоненты смеси.

Таким образом, для решения каждой конкретной задачи состав неподвижной фазы должен быть тщательно подобран с точки зрения физических и химических свойств ее компонентов.

3.2. ФИЗИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА

Современный хроматограф представляет собой весьма чувствительный комплекс механических, оптических, электрических и химических узлов, и его надежная работа во многом зависит от свойств и качества используемых растворителей.

Наличие в подвижной фазе механических примесей в первую очередь отрицательно сказывается на работе насоса, вызывая нечеткую работу клапанов, способствуя износу плунжеров и уплотнений. Кроме того, твердые частицы, накапливаясь на фильтре у входа в колонку, приводят к постепенному увеличению ее сопротивления, невоспроизводимости рабочего давления либо времени удерживания при использовании насосов постоянного расхода и постоянного давления соответственно. Поэтому перед использованием подвижная фаза должна быть профильтрована через материал с размером пор около 0,5 мкм. Как правило, повторная фильтрация осуществляется уже в хроматографе, при отборе растворителя из резервуара.

Надежная работа насоса также сильно зависит от летучести используемых растворителей. При резком всасывании в камере насоса даже предварительно дегазированные растворители иногда образуют паровые пузыри, препятствующие работе клапанов. Этот эффект наиболее выражен у таких легколетучих растворителей, как пентан, ацетон, метиленхлорид и диэтиловый эфир. Кроме того, подвижные фазы, содержащие эти вещества, могут изменить свой состав в ходе использования, из-за испарения, что приводит к невоспроизводимости величин удерживания. В связи с этим в практической работе следует избегать растворителей, кипящих при температуре ниже 60°С. С другой стороны, для менее летучих растворителей характерна более высокая вязкость, что отрицательно отражается на эффективности разделения и вынуждает использовать большие давления для достижения желаемой скорости разделения. Предельно допустимая вязкость подвижной фазы зависит от размера частиц сорбента и качества упаковки колонки. В качестве ориентира можно указать величину 1,5 сП. При такой вязкости и линейной скорости подвижной фазы около 0,4 см/с давление на входе качественной колонки не должно превышать 200 атм. Если все же обстоятельства вынуждают пользоваться более вязкими подвижными фазами, колонку следует термостатировать при повышенной температуре (например, 60°С).

Определенные требования к растворителям предъявляет используемый метод детектирования. При применении детекторов, основанных на поглощении света, подвижная фаза должна быть прозрачной в избранной спектральной области. Набор

Свойства растворителей для ВЭЖХ

Растворитель	Температура кипения, °С	Плотность d_{20}	Вязкость, сП, 25 °С	Коэффициент преломления n_D^{20}	Предел прозрачности для УФ-света, нм
Ацетон	56	0,79	0,30	1,356	330
Ацетонитрил	82	0,78	0,34	1,341	190
Бензол	80	0,88	0,60	1,498	280
Вода	100	1,00	0,89	1,333	
Гексан	69	0,66	0,30	1,372	190
Гептан	98	0,68	0,40	1,385	195
Дибутиловый эфир	142	0,77	0,64	1,397	220
Диметилформамид	153	0,94	0,80	1,428	268
Диоксан	101	1,03	1,2	1,420	215
Дихлорэтан	83	1,25	0,78	1,442	228
Диэтиловый эфир	35	0,71	0,24	1,350	218
Изооктан	99	0,69	0,47	1,389	197
Изопропиловый эфир	68	0.73	0,38	1,365	220
Метанол	65	0,79	0,54	1,326	205
Метиленхлорид	40	1,33	041	1,421	233
Метилэтилкетон	80	0,86	0,38	1,376	329
Метилцеллозольв	125	0,97	1.60	1,400	210
Пентан	36	0,63	0,22	1,355	205
Пропанол-1	97	0,80	1,9	1,385	205
Пропанол-2	82	0,79	1,9	1,384	205
Тетрагидрофуран	66	0,89	0,46	1,405	212
Толуол	110	0.87	0,55	1,494	285
Триэтиламин	89	0,73	0,36	1,398	
Уксусная кислота	118	1,05	1,1	1,370	230
Хлороформ	61	1,49	0.53	1,443	245
Циклогексан	81	0.78	0.90	1.423	200
Четыреххлористый углерод	77	1,60	0,90	1,457	265
Этанол	78	0,79	1,08	1,359	210
Этилацетат	77	0,90	0,43	1,370	256
Этиленгликоль	182	1,1	16,5	1,431	210

* Значения параметров взяты из работы [256].

растворителей, прозрачных для УФ-света вплоть до 190—220 нм, довольно велик. Однако в каждом конкретном случае этот показатель определяется не столько физическими свойствами основного вещества, сколько содержанием УФ-поглощающих примесей. Поскольку содержание таких примесей часто не нормируется даже для растворителей квалификации «химически чистый», рекомендуется применять растворители специальных квалификаций — «для жидкостной хроматографии» или «для спектроскопии». При отсутствии готовых растворителей необходимого качества их можно очистить в лаборатории с помощью методов, изложенных, например, в [3, с. 437; 20, с. 115]. Чувствительность рефрактометрического детектора зависит от разности коэффициентов преломления подвижной фазы и анализируемых соединений. На этом основании для большинства случаев применения можно рекомендовать подвижные фазы с минимальными величинами коэффициентов преломления. Характеристики растворителей, наиболее важные с хроматографической точки зрения, приведены в табл. 3.1.

Таблица 3.1

Элюирующая сила, ε^0		Параметр P'	Параметр растворимости [405]				Группа селективности
на окиси алюминия	на силикагеле		δ_T	δ_o	δ_a	δ_b	
0,56		5,1	10,51	6,41	0,90	16,6	VI
0,65	0,50	5,8	13,15	10,17	0,39	17,6	VI
0,32		2,7	9,71	0,16	0,18	10,4	VII
		10,2	25,52	15,35	16,55	10,9	VIII
0,01	0,01	0,1	7,74	0,02	0	0	—
0,01	0,01	0,2	7,91	0,03	0	0	—
			8.26	0,86	0.30	11,9	I
		6,4	11,8*	6,2*	0*	4,6*	III
0,56		4,8	10,65	0,43	1,47	17,1	VI
0,44		3,5	10,64	3,71	1,68	3,3	V
0,38		2,8	7.92	1,68	0,19	14,0	I
0,01	0,01	0,1	7,33	0,04	0	0	—
0,25	0,34	2,4	7,1*	1,0*	0*	3,0*	I
0,95	0,7	5,1	15,85	6,72	7,18	12.9	II
0,42	0,32	3,1	10,68	3,67	1,92	4,3	V
0,51		4,7	9,96	5,12	0,58	15,0	VI
		5,5					III
		0,0	7,65	0,03	0	0	—
0,82		4,0	12,27	3,54	4,12	10,0	II
0,82		3,9	12,37	3,12	4,21	10,2	II
0,57	0,44	4,0	9,88	2,97	0.78	16,3	III
0,29		2,4	9,53	0,32	0,29	10,2	VII
0,54		1,9	7,5*	0*	0*	4,5*	I
		6,0					IV
0,40	0,26	4,1	9.87	1.95	1,54	3,1	VIII
0.04		−0,2	8,2*	0*	0*	0*	—
0,18		1.6	8.6*	0*	0*	0,5*	—
0.88		4,3	13,65	4,29	5,17	11,3	II
0,58	0,38	4,4	9.57	2,32	0,26	13,5	VI
1.11		6,9	17,0*	6,8*	6,1*	6,1*	IV

3.3. ЭЛЮИРУЮЩАЯ СИЛА И СЕЛЕКТИВНОСТЬ

Как и сорбаты, растворители, применяемые в ВЭЖХ, различаются по прочности сорбции и силе взаимодействия с разделяемыми веществами. Одни из них способны смыть с колонки лишь слабосвязанные сорбаты, другие — вызывают десорбцию почти любых молекул. Ясно, что состояние равновесия в системе в конечном итоге определяется балансом межмолекулярных взаимодействий. В частности, молекулы подвижной фазы могут взаимодействовать с молекулами разделяемых веществ. Образующиеся ассоциаты, даже и очень нестойкие, почти неизбежно имеют сродство к сорбенту, отличающееся от сродства неассоциированных молекул. В результате ассоциации сорбция может стать менее или более прочной. С другой стороны, молекулы подвижной фазы могут конкурировать на поверхности сорбента с молекулами разделяемых соединений, вытесняя последние с активных центров и способствуя смещению равновесия в сторону десорбции.

В жидкостной хроматографии наиболее важны дисперсионное, диполь-дипольное межмолекулярные взаимодействия, образование водородной связи, электростатическое взаимодействие между разноименно заряженными ионами. Для определения общего характера влияния того или иного растворителя на удерживание используется понятие *элюирующей силы,* суть которого иллюстрируют нижеприведенные примеры.

Пусть требуется разделить трехкомпонентную смесь веществ X_1, X_2, X_3. Исходя из априорных соображений (например, схемы на рис. 2.3) мы выбрали неподвижную фазу, но необходимо также выбрать состав подвижной фазы. Испытав растворитель A_1, получили хроматограмму без признаков элюирования компонентов (рис. 3.1,*а*). Можно применить какой-либо другой растворитель A_2 и получить хроматограмму, приведенную на рис. 3.1,*б*. При этом обнаруживаем, хотя и слишком медленное, элюирование компонентов X_1 и X_2, в то время как X_3 сорбируется по-прежнему необратимо. Относительно обоих испытанных растворителей можно заключить, что они обладают явно недостаточной элюирующей силой. При использовании третьего растворителя $Б_1$ обнаруживаем, что компоненты смеси почти не удерживаются (рис. 3.1,*в*) Аналогичный результат получаем с растворителем $Б_2$ (рис. 3.1,*г*). В обоих последних случаях разделение X_1, X_2, X_3 неудовлетворительно, растворителям присуща слишком большая элюирующая сила. Возможно, что при дальнейшем переборе растворителей найдем, наконец, растворитель $Б_i$, в котором удерживание и разделение приемлемы (рис. 3.1,*д*), т. е. сила растворителя $Б_i$

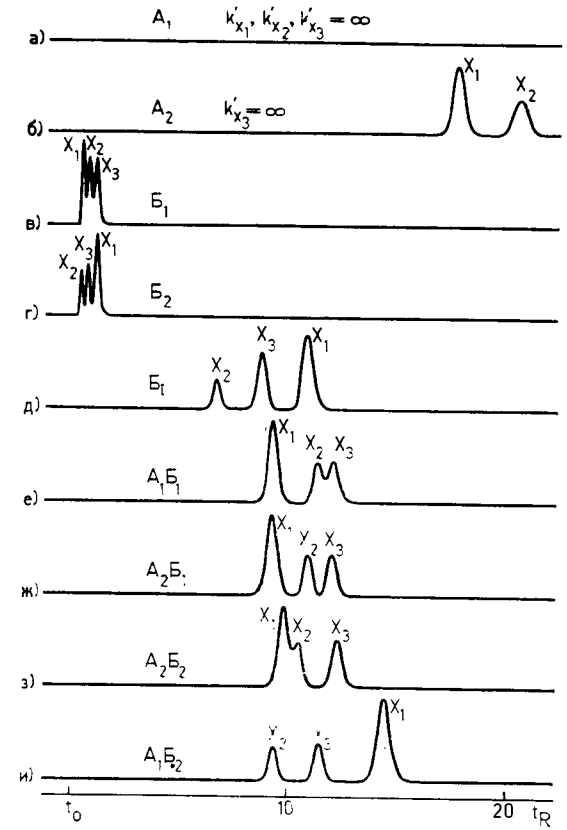


Рис. 3.1. К определению элюирующей силы и селективности растворителей.

близка к оптимальной. Естественно, причина разного действия растворителей A_1, A_2, $Б_1$, $Б_2$, $Б_i$ при разделении смеси кроется в сложном комплексе межмолекулярных взаимодействий в системах разного состава.

Таким образом, элюирующая сила подвижной фазы — это ее свойство вступать в такие межмолекулярные взаимодействия с компонентами системы, которые способствуют десорбции разделяемых соединений, более быстрому перемещению хроматографических зон. Конкретные физико-химические механизмы влияния растворителя на сорбционное равновесие различны в различных режимах ВЭЖХ и рассмотрены в следующих разделах.

Для выполнения транспортной функции в подвижной фазе пригодны любые жидкости, достаточно хорошо растворяющие компоненты пробы, и выбор таких жидкостей довольно широк.

Однако из приведенного примера ясно, что выбор растворителей подходящей элюирующей силы уже значительно меньше. К тому же поиск их может осуществляться только методом проб и ошибок, что весьма трудоемко. Многократного увеличения гибкости метода ВЭЖХ, обогащения его возможностей достигают за счет применения в качестве подвижных фаз смесей растворителей. Принцип составления таких смесей прост. Необходимо взять два индивидуальных растворителя: один с заведомо недостаточной элюирующей силой, другой — с заведомо избыточной. Из этих двух основных растворителей можно приготовить множество различных подвижных фаз; часть их обязательно будет обладать подходящей элюирующей силой*. Например, из растворителей $А_1$, $А_2$, $Б_1$, $Б_2$ можно приготовить четыре бинарные смеси с указанной силой: $А_1Б_2$; $А_2Б_1$; $А_2Б_2$; $А_1Б_2$. Соответствующие хроматограммы представлены на рис. 3.1,*е—и*. Из рисунка видно, что в среднем коэффициенты емкости компонентов X_1, X_2, X_3 вполне приемлемы.

Сила растворителя является экспериментально определяемым интегральным параметром. Она отражает некоторую усредненную способность данного вещества к межмолекулярным взаимодействиям различной природы. Выражение «подходящая сила растворителя» означает, что на данном сорбенте данному сорбату соответствует приемлемое значение k'. В то же время ясно, что для разделения двух соединений подойдет не любая из подвижных фаз, обладающих необходимой силой.

Вернемся к примерам на рис. 3.1. На хроматограммах *д—и* у всех веществ наблюдается хорошее удерживание, однако удовлетворительными можно считать только хроматограммы *д, ж, и*. На хроматограммах *е* и *з* отдельные пары пиков имеют недостаточное разделение. В таких случаях говорим, что селективность системы недостаточна. Селективность системы, в которой используется данная неподвижная фаза, в первую очередь определяется селективностью используемой подвижной фазы. Селективность последней связана с ее способностью к специфическим взаимодействиям с сорбатами, обладающими определенными признаками. Она проявляется в том, что точное значение элюирующей силы данного растворителя или смеси по отношению к сорбатам различного строения может быть различным. Селективность, как и элюирующая сила бинарной подвижной фазы, определяется прежде всего природой более сильного ее компонента.

---

* В соответствии со сложившейся практикой при описании состава подвижных фаз концентрация растворителя Б выражается в объемных долях и далее обозначается как $c(\%)$. Символом C в необходимых случаях обозначается молярная концентрация растворителя Б.

Описанный подход к подбору состава подвижных фаз для ВЭЖХ в настоящее время общепринят. В состав почти любой подвижной фазы входит компонент, сорбционно менее активный, выполняющий преимущественно транспортную функцию, и компонент, сорбционно активный, служащий для регулирования равновесия. В соответствии со сложившейся практикой далее в этой книге растворители первого рода обозначены буквой А, растворители второго рода — Б. Естественно, роль одного и того же компонента в различных подвижных фазах и в зависимости от характера неподвижной фазы различна. Например, в подвижной фазе гексан—хлороформ последнее соединение выступает в качестве растворителя Б, а в системе хлороформ—метанол — как растворитель А.

С целью повышения селективности разделения часто используют подвижные фазы более сложного состава, чем бинарные смеси А+Б: например, $А+Б_1+Б_2$ или даже $А+Б_1+Б_2+Б_3$. Во многих случаях это приводит к улучшению разделения, хотя, судя по опубликованным в литературе методикам разделения, применение трех- или четырехкомпонентных подвижных фаз не всегда оправдано, особенно если разделяемая смесь не слишком сложна. При оценке перспектив применения сложных элюентов полезно соблюдать следующее правило. Разделение смеси из n компонентов, сорбирующихся по сходному механизму (если оно вообще возможно), осуществляется наилучшим образом с помощью n-компонентного элюента, состоящего из растворителя А и n—1 различных растворителей типа Б. Увеличение числа растворителей Б свыше n—1 положительного влияния на разделение не оказывает. Необходимость использования, например, трехкомпонентного элюента может возникнуть лишь при анализе трехкомпонентных и более сложных смесей.

Приведенная общая тактика выбора состава подвижной фазы непосредственно применима лишь в простейших случаях, в отсутствие затруднений, связанных с особым химическим характером разделяемых веществ. При изучении высокополярных и ионогенных соединений зачастую не удается найти удовлетворительного решения этим простейшим способом, так как для них характерна тенденция образовывать асимметрические аномально уширенные хроматографические зоны. Иногда либо вообще не удается добиться элюирования, либо наоборот — времена удерживания слишком малы. Можно назвать некоторые типичные причины таких осложнений:

— в системе одновременно осуществляется сорбция по нескольким разным механизмам;

— изотерма сорбции нелинейна;

— молекулы сорбата или сорбента находятся в форме, препятствующей реализации требуемого механизма сорбции.

Кроме того, иногда даже при удовлетворительных симметрии пиков и удерживании возникает необходимость радикального изменения механизма разделения на данном сорбенте с тем, чтобы достичь требуемой селективности разделения определенных компонентов.

Устранить ряд нежелательных явлений, а также изменить в нужном направлении свойства сорбента редко удается с помощью обычных, химически нейтральных растворителей. Этой цели достигают с помощью специфических модификаторов — добавок, вводимых в подвижную фазу в небольших количествах (0,01—2%) с целью изменения термодинамических характеристик процесса. Действие модификаторов может быть связано с различными физико-химическими процессами. Например, они могут блокировать сорбционно наиболее активные центры неподвижной фазы, повышая тем самым ее химическую однородность. В других случаях модификатор может использоваться для подавления ионизации сорбата, что обычно приводит к улучшению формы пика.

Почти всегда введение специфического модификатора направляет сорбцию по наиболее выгодному в данном случае механизму. Наиболее распространенные модификаторы водных и водно-органических подвижных фаз — соли, кислоты, основания, придающие элюенту желаемую ионную силу и pH. Подвижные фазы на основе органических растворителей модифицируют чаще всего органическими кислотами и основаниями.

3.4. КЛАССИФИКАЦИЯ РАСТВОРИТЕЛЕЙ

Цель классификации растворителей с точки зрения их хроматографических свойств заключается в создании стройной системы, позволяющей производить оценку их силы и селективности, осуществлять целенаправленный выбор состава подвижных фаз.

Элюотропные ряды — простейшая форма оценки силы индивидуальных растворителей. Они дают количественную оценку адсорбционной способности растворителей в тех или иных режимах хроматографического разделения.

Параметр адсорбционной силы растворителя ε^0 [367] с физической точки зрения представляет собой относительную энергию взаимодействия молекул подвижной фазы с поверхностью адсорбента. Он предложен для адсорбционной хроматографии, и его численные значения для разных неподвижных фаз различны. В табл. 3.1 приведены значения ε^0 для различных растворителей, силикагеля и окиси алюминия в качестве неподвижных фаз. Обычно на всех полярных неподвижных фазах сила растворителя увеличивается по мере роста его полярности, а для неполярных неподвижных фаз характерна обратная последовательность. Это подтверждает табл. 3.2, в которой сопоставлены значения ε^0 ряда растворителей на силикагеле, окиси алюминия и модифицированной саже.

Таблица 3.2

Элюирующая сила растворителей

Растворитель	Сорбент		
	силикагель*	окись алюминия*	сажа [94]
Гексан	0,01	0,01	0,10
Бензол		0,32	0,20
Хлористый бутил	0,20	0,26	0,13
Хлороформ	0,26	0,40	0,18
Метилеихлорид	0,32	0,42	0,13
Изопропиловый эфир	0,34	0,28	
Этилацетат	0,38	0,58	0,13
Тетрагидрофуран	0,44	0,57	0,14
Ацетонитрил	0,50	0,65	0,04
Метанол	0,70	0,95	0,00

* [375, с. 366].

Некоторые растворители отличаются специфическим характером. Так, изопропиловый эфир проявляет сравнительно слабую элюирующую силу на окиси алюминия, а хлороформ на этом сорбенте относительно сильный элюент. Гексан, который менее полярен, чем хлороформ, вопреки простейшей логике является более слабым растворителем по отношению к модифицированной саже. Параметр ε^0 — первая отправная точка при выборе состава подвижной фазы для адсорбционной хроматографии. Однако фактическое поведение сложных полифункциональных сорбатов может отличаться от ожидаемого на основании величин ε^0. Параметр ε^0 зависит от выбора соединений, по которым он экспериментально определен, и поэтому всегда несет на себе печать селективности. В частности, по данным [94], сила растворителя зависит от класса сорбатов, по которым она найдена. Уже столь небольшой разницы в химической природе, как между метилбензолами и коиденсированными ароматическими соединениями, оказывается достаточно, чтобы нарушить элюотропную последовательность.

На основании данных Роршнайдера [331] о растворимости паров Снайдер [368, 369] предложил параметр P', который

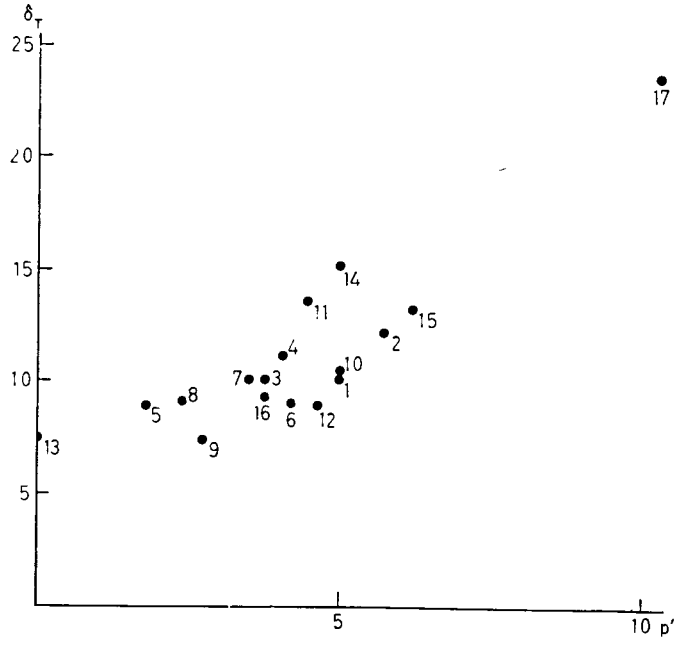


Рис. 3.2. Зависимость между параметром полярности P' и параметром растворимости δ_T: *1* — ацетон; *2* — ацетонитрил; *3* — бензол; *4* — бутанол-1; *5* — четыреххлористый углерод; *6* — хлороформ; *7* — дихлорэтан; *8* — метиленхлорид; *9* — диэтиловый эфир; *10* — диоксан; *11* — этанол; *12* — этилацетат; *13* — пентан; *14* — метанол; *15* — нитрометан; *16* — тетрагидрофуран; *17* — вода.

может служить мерой элюирующей силы в распределительной хроматографии. Указанный параметр рассчитывается как сумма логарифмов коэффициентов распределения ряда стандартных веществ (этанол, диоксан, нитрометан) между паровой фазой и испытуемым растворителем.

Параметр растворимости Хильдебранда δ_T [199, 200] также может быть использован для оценки полярности и элюирующей силы растворителя. Его числовые значения отчетливо коррелированы с величинами P' (рис. 3.2). В то же время видим, что разброс точек велик, следовательно, между двумя шкалами есть существенные различия. Видимо, в каждой из систем имеются растворители, с положением которых не позволяет согласиться весь опыт жидкостной хроматографии. Так, например, с точки зрения параметра δ_T одинаковой силой должны обладать гептан и эфир, а с точки зрения параметра P' — ацетон, диоксан и метанол.

Несколько иная шкала элюирующей силы для обращенно-фазовой хроматографии предложена в работе [371]. Основываясь на том, что для этого режима характерна зависимость

$$\lg k' = \lg k'_w - S\Phi_B, \qquad (3.1)$$

где k'_w — коэффициент емкости при использовании воды в качестве подвижной фазы;

Φ_B — объемная доля органического растворителя в подвижной фазе,

в качестве критерия элюирующей силы выдвинули значение коэффициента S.

Лучший, по мнению авторов [371], набор значений S для растворителей, применяемых в обращенно-фазовой хроматографии, приведен в табл. 3.3.

Эти данные в целом отражают сравнительное влияние растворителей на скорость перемещения зон в обращенно-фазовой хроматографии. Следует, однако, с осторожностью относиться к абсолютным величинам S, так как, вопреки первоначальному мнению, они неодинаковы для различных сорбатов и, кроме того, могут зависеть от концентрации органического растворителя.

Другой мерой элюирующей силы для обращенно-фазового режима может служить параметр P'. В этом случае самому слабому растворителю — воде соответствует максимальное значение параметра. Сравнение величин S и P', приведенное в табл. 3.3, показывает, что они аналогично демонстрируют лишь общую картину, в отношении же конкретных растворителей нетрудно заметить противоречия. В частности, в шкале P' ацетонитрил оказывается более слабым растворителем, чем метанол, что совершенно не согласуется со всем опытом обращенно-фазовой хроматографии. Завершая обсуждение различных элю-

Таблица 3.3

Элюирующая сила (параметры S и P') растворителей, используемых в обращенно-фазовой хроматографии

Растворитель	S	P'
Вода	0,0	10,2
Метанол	3,0	5,1
Ацетонитрил	3,1	5,8
Этанол	3,6	4,3
Ацетон	3,4	5,1
Диоксан	3,5	4,8
Пропанол-2	4,2	3,9
Тетрагидрофуран	4,4	4,0

отропных рядов, можем констатировать, что все они приближенные последовательности, отражающие реальную силу растворителей лишь в самых общих чертах.

Как показано в разделе 3.3, правильный выбор элюирующей силы подвижной фазы — необходимое, но не всегда достаточное условие успешного разделения. Для целенаправленного выбора или изменения состава подвижной фазы следует ввести рациональную классификацию растворителей по их селективности, как это сделано в отношении элюирующей силы. Основой такой классификации является различная способность растворителей вступать в межмолекулярные взаимодействия различных типов. Например, хлороформ, эфир и октиловый спирт имеют значения ε^0 0,40; 0,38 и 0,50 соответственно. Следовательно, использовав эти растворители в качестве компонентов $Б_1$, $Б_2$, $Б_3$ в бинарных смесях $АБ_1$, $АБ_2$, $АБ_3$, можно получить в среднем удовлетворительные величины удерживания для некоторой группы сорбатов сходной химической природы. Однако при рассмотрении протонодонорных и протоноакцепторных свойств взятых трех растворителей ясно, что хлороформ, октанол и эфир должны по-разному взаимодействовать с различными сорбатами. Так, хлороформ, будучи донором протонов, особенно сильно должен способствовать элюированию акцепторов, например аминов. Наоборот, эфир, являющийся акцептором, будет сильнее ассоциироваться с донорами и ускорять именно их элюирование.

Параметр P' [368, 369], характеризующий общую полярность растворителя, может быть представлен как сумма составляющих, соответствующих способности данного растворителя выступать в качестве акцептора протонов, донора протонов, вступать в диполь-дипольные взаимодействия. В соответствии с относительной величиной этих парциальных характеристик полярные растворители подразделяются по селективности на восемь групп (табл. 3.4, см. также с. 115 и следующие).

Пользуясь приведенной классификацией подвижных фаз, можно выбрать кратчайший путь к достижению желаемого разделения. Так, если при использовании в качестве растворителя $Б_1$ метанола необходимое разделение не достигнуто, нет смысла испытывать другие растворители этой же группы. Значительно более вероятно, что к успеху приведет переход к растворителю, взятому из другой группы селективности (например, к эфиру).

Другая система классификации растворителей для жидкостной хроматографии предложена в работах Хары [180, 181]. Разбавители, т. е. слабые компоненты подвижных фаз, по этой системе относятся к следующим группам:

— класс *O* — растворители, не способные образовывать во-

Таблица 3.4

Характеристика различных групп селективности по [369]

Группа	Класс веществ
I	Алифатические простые эфиры, амины
II	Алифатические спирты
III	Пиридин, тетрагидрофуран, амиды (кроме формамида), эфиры гликолей, сульфоксиды
IV	Гликоли, уксусная кислота, формамид
V	Метиленхлорид, этиленхлорид
VIa	Алифатические кетоны и сложные эфиры, диоксан
VI	Сульфоны, нитрилы
VII	Ароматические углеводороды, нитросоединения
VIII	Фторированные спирты, вода, хлороформ

дородные связи ни с сорбатом, ни с сорбентом. В этот класс включены алканы;

— класс *P* — растворители, в молекулах которых имеются π-электроны (ароматические углеводороды);

— класс *N* — растворители, молекулы которых содержат неподеленные электронные пары (галоидалканы).

Полярные растворители подразделяются на:

— класс *B* — электронодонорные (простые и сложные эфиры, кетоны);

— класс *AB* — обладающие одновременно электронодонорными и электроноакцепторными свойствами.

Концепция параметра растворимости с целью оценки селективности подвижных фаз развита далее в вышедших почти одновременно работах Тийссена с соавт. [405] и Каргера с соавт. [256]. Согласно [405], параметр растворимости δ_T слагается из парциальных индексов полярности:

$$\delta_T^2 = \delta_d^2 + \delta_o^2 + 2\delta_a\delta_b. \qquad (4.2)$$

Здесь δ_d — парциальная полярность, соответствующая способности растворителя к дисперсионным взаимодействиям;

δ_o — ориентационная составляющая;

δ_a — составляющая, описывающая кислотные свойства;

δ_b — составляющая, описывающая основные свойства.

Согласно [256], следует учитывать также способность к индукционным взаимодействиям δ_{in}:

$$\delta_T^2 = \delta_d^2 + 2\delta_{in}\delta_d + \delta_o^2 + 2\delta_a\delta_b. \qquad (4.3)$$

Анализ величин парциальной полярности (см. табл. 3.1), взятых из работы [405], вскрывает причины противоречий,

отмеченных выше. Значения δ_T ряда растворителей близки, что совершенно не согласуется с их экспериментально наблюдаемой элюирующей силой. Так, в диапазоне 9,7—10,0 находятся δ_T тетрагидрофурана, метилэтилкетона, хлороформа, бензола. Столь близкие значения δ_T объясняются фактически лишь тем, что основной вклад в этот параметр вносит дисперсионная составляющая δ_d, которая вообще лишь незначительно меняется при переходе от одного соединения к другому. Однако при сопоставлении значений параметра δ_o данные четыре растворителя можно выстроить в «ориентационный» элюотропный ряд: бензол $\ll$ хлороформ $<$ тетрагидрофуран $<$ метилэтилкетон, что уже вполне согласуется с обычно наблюдаемым на практике поведением этих веществ в отношении полярных сорбатов.

4. ОСНОВНЫЕ ВАРИАНТЫ ВЭЖХ

4.1. ОБРАЩЕННО-ФАЗОВАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ

Из всех вариантов ВЭЖХ обращенно-фазовый применяется в настоящее время наиболее широко. Его привлекательность определяется методической простотой и универсальностью, во многих случаях — простотой механизма сорбции и предсказуемостью поведения веществ на основании их строения. Мода на обращенно-фазовую хроматографию стала всеобщей. По разным оценкам, этим методом выполняется сейчас 70—90% всех опубликованных в литературе разделений. В других разделах книги мы попытаемся показать, что следование моде вовсе не обязательно. Отчасти это ясно из приведенной на рис. 2.3 схемы выбора неподвижных фаз. Часто разделение одной и той же смеси можно выполнить на сорбентах различных типов, и нельзя не считаться с тем, что каждый из них может иметь определенные преимущества в смысле селективности или экономичности. Последнее обстоятельство особенно важно при разработке методов препаративного разделения, а также серийных анализов, выполняемых при контроле производства и качества продукции. Поэтому мы считаем, что роль обращенно-фазового метода в ВЭЖХ необоснованно преувеличена. Вероятно, целесообразно было бы применять его всего в 40—60% случаев. Тем не менее ясно, что независимо от колебаний хроматографической моды и точек зрения отдельных специалистов обращенно-фазовая хроматография и ее разновидности сохранят свое важнейшее значение в арсенале методов разделения.

4.1.1. МЕХАНИЗМ УДЕРЖИВАНИЯ

Термин «обращенно-фазовая хроматография» ввели Говард и Мартин в 1950 г. [205], когда ими было описано разделение жирных кислот с использованием жидкого парафина и *н*-октана в качестве неподвижных фаз. В отличие от других, ранее применявшихся систем распределительной хроматографии здесь

неподвижная фаза менее полярна, чем подвижная, что, собственно, и послужило поводом к такому наименованию.

Важнейшую роль в понимании механизма удерживания в обращенно-фазовой хроматографии сыграли работы Хорвата и его школы [201—203]. Суть теории Хорвата заключается в следующем. Существует принципиальное различие между процессами сорбции на полярных поверхностях из относительно неполярных растворителей («нормально-фазовый режим») и сорбции из воды либо сильнополярных растворителей на поверхностях неполярных (обращенно-фазовый режим). В первом случае между молекулами сорбатов и неподвижных фаз образуются ассоциаты за счет кулоновских взаимодействий или водородных связей. Во втором случае причиной ассоциации на поверхности являются так называемые сольвофобные взаимодействия в подвижной фазе. Для полярных подвижных фаз, в особенности содержащих воду, характерно сильное кулоновское взаимодействие и образование водородных связей между молекулами растворителей. Все молекулы в таких растворителях связаны довольно прочно межмолекулярными силами. Для того чтобы поместить в эту среду молекулу сорбата, необходимо образование «полости» между молекулами растворителя. Энергетические затраты на образование такой «полости» лишь частично покрываются за счет взаимодействия полярных групп в молекуле сорбата с полярными молекулами растворителя. В аналогичном положении по отношению к растворителю находятся и неполярные молекулы неподвижной фазы. С энергетической точки зрения более выгодно такое положение, когда поверхность раздела между полярной средой (растворителем) и неполярными фрагментами неподвижной фазы и молекул сорбата минимальна. Уменьшение этой поверхности и достигается при сорбции (рис. 4.1).

Таким образом, причиной сорбции в обращенно-фазовой хроматографии служит сильное притяжение полярных молекул растворителя одна к другой, как бы «прижимающее» растворенные менее полярные молекулы к неполярной поверхности. Из сказанного следует, что по сравнению с нормально-фазовой хроматографией в обращенно-фазовой роль химической природы неподвижной фазы относительно мала, так как взаимодействие сорбат—сорбент ограничивается слабыми дисперсионными силами.

Детальная интерпретация механизма сорбции на неполярных неподвижных фазах выполнена Хорватом [201—203] на основе сольвофобной теории [357, 358]. Не останавливаясь на подробностях физико-химических выкладок, приводим лишь основные выводы сольвофобной теории обращенно-фазовой хроматографии.

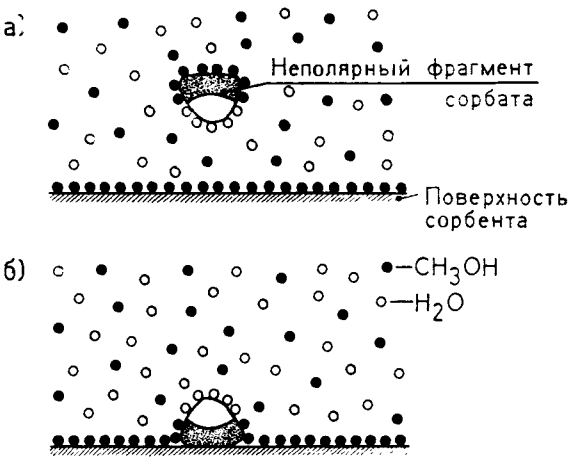


Рис. 4.1. К механизму обращенно-фазовой хроматографии: *а* — сорбат в растворе; *б* — сорбат на поверхности неподвижной фазы. Молекулы воды и органического растворителя обозначены светлыми и темными кружками соответственно.

Связь коэффициента емкости с условиями опыта, свойствами компонентов системы выражает следующее уравнение:

$$\ln k' = \Phi - \frac{\Delta F_{v,a}}{RT} + \frac{\Delta F_{v,s}}{RT} - \frac{N(\lambda-1)\mu_s^2}{2\lambda\nu_s RT}\mathbf{DP} + \frac{N\Delta A\gamma}{RT} + \frac{4{,}836N^{1/3}(k^e-1)V^{2/3}\gamma}{RT} + \ln\frac{RT}{P_0V}, \qquad (4.1)$$

где Φ — логарифм отношения объемов неподвижной и подвижной фаз; $\Delta F_{v,a}$ — изменение свободной энергии при ассоциации компонентов системы, помещенных в газовую фазу; $\Delta F_{v,s}$ — изменение свободной энергии при образовании полости в растворителе и заполнении ее молекулой хроматографируемого соединения; N — число Авогадро; R — газовая постоянная; T — температура; P_0 — давление в колонке; μ_s — дипольный момент сорбата; ΔA — изменение величины неполярной поверхности при сорбции; γ — поверхностное натяжение подвижной фазы; k^e — параметр, учитывающий отличие поверхности полости от плоской поверхности; ν_s — объем молекулы сорбата; V — мольный объем подвижной фазы.

Теория предполагает, что объем ассоциата сорбат—сорбент ν_{sL} пропорционален объему молекулы сорбата:

$$\nu_{sL} = \lambda\nu_s, \qquad (4.2)$$

где λ — коэффициент.

Параметры **P** и **D** уравнения (4.1) определяются следующими соотношениями:

$$\mathbf{P}=\frac{1}{4\pi\varepsilon_0\left(1-\mathbf{D}\dfrac{\alpha_s}{v_s}\right)}; \tag{4.3}$$

$$\mathbf{D}=\frac{2(\varepsilon-1)}{2\varepsilon+1}, \tag{4.4}$$

где ε_0 — диэлектрическая проницаемость; α_s — поляризуемость молекулы сорбата.

Уравнение (4.1) выведено авторами с учетом следующих допущений:

— $\Delta F_{v,a}$ определяется только ван-дер-ваальсовыми взаимодействиями;

— молекулы растворителя, сорбата, неподвижной фазы, а также ассоциаты сорбат—сорбент имеют сферическую форму;

— молекулы растворителя намного меньше молекул неподвижной фазы, а последние намного крупнее молекул сорбатов;

— давление равно 1 атм;

— подвижная фаза несжимаема.

Применительно к некоторым частным случаям уравнение (4.1) может быть представлено в упрощенном виде. Так, для данного сорбата при постоянной температуре зависимость удерживания от состава подвижной фазы выражается уравнением

$$\ln k'=A+B\mathbf{D}+C\gamma+D(k^e-1)V^{2/3}\gamma+E+\ln(RT/P_0V). \tag{4.5}$$

С другой стороны, если состав подвижной фазы и колонка неизменны, коэффициент емкости различных сорбатов может быть найден по уравнению

$$\ln k'=A'+B'\frac{1-\lambda}{2\lambda}\cdot\frac{\mu_s^2}{v_s}\cdot\frac{1}{(1-\alpha_s/v_s)}+C'\Delta A. \tag{4.6}$$

Из этого краткого изложения теории Хорвата ясно, что, несмотря на достаточно детальное физическое описание процессов, протекающих при обращенно-фазовой хроматографии, полностью априорный расчет удерживания — конечная цель хроматографической теории — остается трудноразрешимой задачей. Трудности такого расчета связаны как с неопределенностью некоторых параметров, так и с отклонениями реальных систем от допущений, сделанных при выводе уравнения (4.1). До сих пор неизвестны примеры априорного расчета параметров удерживания исходя из свойств сорбатов и других компонентов системы. В то же время анализ многочисленных экспериментальных закономерностей обращенно-фазовой хроматографии демонстрирует правильность основных выводов этой теории.

Уже в работе [202] Хорват показал, что для рядов родственных соединений соблюдается зависимость

$$\ln k'=A''+\frac{N}{RT}\gamma\Delta A. \tag{4.7}$$

Из уравнения (4.5) следует, что если мольный объем и параметр k_e постоянны, то удерживание данного вещества линейно связано с поверхностным натяжением подвижной фазы:

$$\ln k'=A'''+B''\gamma, \tag{4.8}$$

где A''' — сумма членов уравнения (4.5), не зависящих от поверхностного натяжения;

$$B''=\frac{N\Delta A+4{,}836N^{1/3}(k^e-1)V^{2/3}}{RT}. \tag{4.9}$$

Установлено [202], что в водных подвижных фазах, где поверхностное натяжение изменяется за счет добавок хлористого калия, уравнение (4.8) также соблюдается удовлетворительно.

Наконец, в наиболее важном с точки зрения практики случае, когда подвижная фаза состоит из воды и органического растворителя (а часто и солей), параметр B'' уже не может считаться постоянным. Почленным анализом зависимости компонентов уравнения (4.5) от состава подвижной фазы получена зависимость удерживания от состава бинарной подвижной фазы, близкая к экспериментально наблюдаемой.

Обращенно-фазовая хроматография широко применяется не только для разделения нейтральных соединений, но и ионогенных веществ. В принципе, согласно [203], и для таких соединений процесс описывается сольвофобной теорией. Однако сорбаты такого рода существуют в растворе и адсорбированном состоянии как в виде нейтральных молекул, так и в виде ионов. Каждой из этих форм соответствует свое значение коэффициента емкости. В зависимости от pH среды изменяются соотношение различных форм в растворе и коэффициенты емкости — от величин, отвечающих нейтральной молекуле k'_0, до значений, характерных для иона k'_{-1}. Для одноосновных кислот этот процесс отражает формула

$$k'=\frac{k'_0+k'_{-1}\dfrac{K_{aM}}{[H^+]_M}}{1+\dfrac{K_{aM}}{[H^+]_M}}, \tag{4.10}$$

где K_{aM} — константа ионизации кислоты в подвижной фазе; $[H^+]_M$ — концентрация ионов водорода в подвижной фазе.

Аналогично для слабых оснований

$$k' = \frac{k'_0 + k'_{+1}\dfrac{[H^+]_M}{K_{aM}}}{1 + \dfrac{[H^+]_M}{K_{aM}}}, \qquad (4.11)$$

где k'_{+1} — коэффициент емкости протонированной формы.

Соответствующие выражения получены также для двухосновных кислот и амфолитов [203]. Зависимость коэффициентов емкости от pH подвижной фазы для одноосновных кислот и оснований имеет сигмоидную форму (рис. 4.2,*а*), в то время как для двухосновных кислот и амфолитов она более сложна (рис. 4.2,*б*). Зависимости, подобные приведенным на рис. 4.2, получены и экспериментально. Кривые рис. 4.2,*а* напоминают кривые титрования, при этом точка перегиба соответствует равенству концентраций нейтральной и заряженной форм. Следовательно, изучение зависимости удерживания от pH подвижной фазы может быть использовано для измерения pK органических кислот и оснований.

На рис. 4.3 представлены данные Хорвата с сотр. [203], демонстрирующие близость величин pK, найденных хроматографически и титриметрически. Видно, что наклон прямой близок

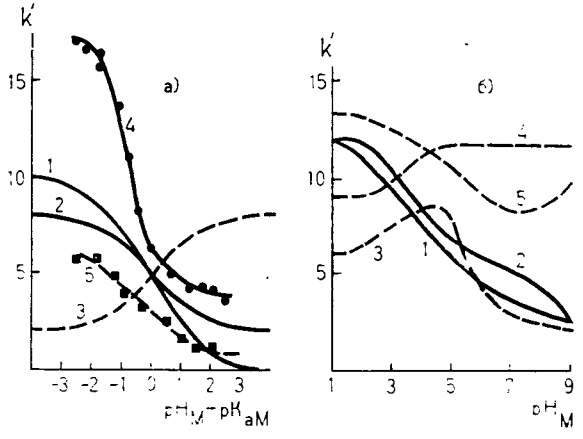


Рис. 4.2. Зависимость k' от pH подвижной фазы: *а* — одноосновные кислоты и основания; *1—3* расчетные кривые для кислот (*1, 2*) и основания (*3*); *4, 5* — экспериментальные данные для бензойной (*4*) и диоксифенилуксусной кислот (*5*); *б* — расчетные кривые для двухосновных кислот (*1, 2*) и амфолитов (*3—5*).

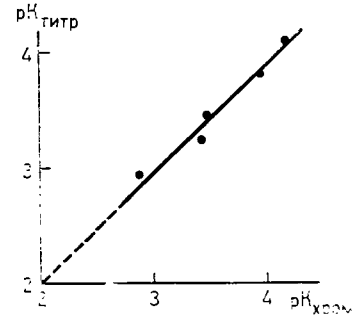


Рис. 4.3. Сопоставление значений pK ароматических одноосновных кислот и оксикислот, определенных хроматографически и титриметрически.

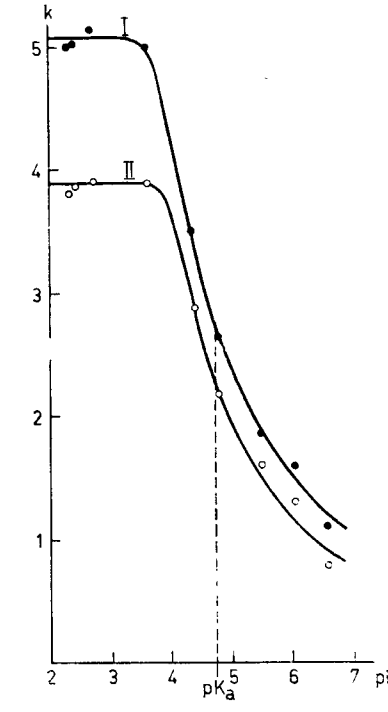


Рис. 4.4. Зависимость удерживания α- (I) и β- (II) изомеров 11-дезоксипростагландина E_1 от pH подвижной фазы; колоика — Зорбакс ODS, подвижная фаза — ацетоинтрил—фосфатный буфер (1:1).

к 45° и она стремится к началу координат. Значит, систематическая ошибка хроматографического метода незначительна. Разница между значениями pK одноосновных кислот и оксикислот, измеренными двумя методами, не превышает 0,2 ед. Как и хроматографические методы измерения других физико-химических величин, измерение pK может оказаться наиболее удобным в случае, когда недоступны вещества достаточной чистоты или растворимость изучаемых соединений мала. Примером такого применения ВЭЖХ является измерение pK_a α- и β-изомеров 11-дезоксипростагландина E_1 (рис. 4.4). Адекватность использованной модели проверена на примере каприловой кислоты, для которой величина pK_a, найденная в хроматографических опытах и литературе, составляет 4,90 и 4,89 соответственно [29].

Помимо pH при обращенно-фазовой хроматографии ионогенных соединений следует учитывать также ионную силу подвижной фазы. Этот параметр влияет даже на удерживание нейтральных сорбатов, так как определяет поверхностное натяжение растворителя:

$$\gamma = \gamma_0 + \sigma' I, \qquad (4.12)$$

где I — ионная сила; γ_0 — поверхностное натяжение воды; σ' — константа, связанная с природой соли.

Подставив (4.12) в (4.1), нетрудно убедиться, что между $\lg k'$ и I тоже существует линейная зависимость.

Если сорбат ионизирован, необходимо учитывать, что присутствие солей в подвижной фазе влияет также на электростатические взаимодействия. Зависимость удерживания иона от ионной силы подвижной фазы в этом случае описывается уравнением

$$\lg k' = \lg k'^0 + \alpha(BI^{1/3} + CI) + \beta I, \qquad (4.13)$$

где k'^0 — коэффициент емкости в подвижной фазе с $I=0$; α, β, B, C — коэффициенты.

Экспериментально установлено [203], что поведение нейтральных веществ в целом следует уравнению (4.12), а для ионов наблюдается зависимость, близкая к (4.13). В то же время нельзя не заметить, что разброс точек отдельных соединений на кривой, соответствующей зависимости $k'=f(I)$, относительно средних кривых весьма велик. Следовательно, уравнения (4.12) и (4.13), так же как основная модель (4.1), отражают лишь общие тенденции, и их использование в практических расчетах затруднительно.

4.1.2. ЗАКОНОМЕРНОСТИ СОРБЦИИ

4.1.2.1. УДЕРЖИВАНИЕ И СТРУКТУРА СОРБЕНТА

Согласно теории Хорвата, углеводородная неподвижная фаза представляет собой пассивный акцептор молекул сорбатов, «прижимаемых» к ней гидрофобными взаимодействиями. Специфические взаимодействия сорбат—сорбент крайне незначительны, и поэтому можно ожидать, что все обращенно-фазовые сорбенты должны проявлять близкие свойства. Действительно, при рассмотрении общих аспектов поведения сорбатов убеждаемся в значительном сходстве всех неполярных неподвижных фаз. Например, при замене одного обращенно-фазового сорбента другим редко удается изменить селективность разделения тех или иных веществ, что так легко достигается заменой компонентов подвижной фазы. В то же время более детальный анализ показывает, что свойства различных обращенно-фазовых сорбентов не идентичны и зависят от ряда причин. Различия между сорбентами можно отнести к одной из двух категорий:

1) различия, связанные с разным значением фазового отношения φ;

2) различия, связанные со свободной энергией ассоциации сорбат—сорбент.

Различия первой категории обычно выражаются в том, что на разных сорбентах одни и те же сорбаты имеют разные значения k', но примерно одинаковые — α.

Различия второй категории связаны главным образом с тем, что реальные сорбенты не вполне соответствуют модели идеальной неполярной поверхности по нескольким причинам. Во-первых, степень модификации силанольных групп может быть различной, и не всегда допустимо пренебрегать возможностью прямой сорбции на силикагелевой матрице. Так, в [97] указано, что концентрация силанольных групп на поверхности силикагеля составляет 8—9 мкмоль/м^2, в то время как из-за пространственных затруднений плотность модификации алкильными группами не превышает 4 мкмоль/м^2. Во-вторых, влияние может оказывать структура частично упорядоченного слоя органических лигандов. Этот слой не плоская неполярная поверхность, а скорее разрыхленная приповерхностная зона, заполненная, наряду с модифицирующими лигандами, молекулами растворителя. Способность молекул разделяемых веществ сорбироваться на ее поверхности либо внедряться между отдельными радикалами лигандов, очевидно, будет зависеть от структуры последних. К сожалению, явления такого рода плохо предсказуемы, так что целенаправленно создать обращенно-фазовый сорбент, отличающийся по селективности в желаемом направлении, нелегко. Исследования в этом направлении тем не менее проводятся. Остановимся на некоторых достигнутых результатах.

Ряд авторов исследовали влияние длины цепи алкильных лигандов и процентного содержания углерода в сорбенте на удерживание. В работе [254] отмечено увеличение k' фенолов с ростом длины цепи. Это увеличение наиболее выражено при длине цепи 1—4 атома углерода, при дальнейшем росте цепи наблюдается тенденция к стабилизации k'. К аналогичным выводам пришли также и другие авторы [63, 127, 196, 283, 349]. В противоположность этим данным в работе [195] показано, что прогрессирующий рост удерживания наблюдается и для сорбентов, модифицированных длинными алкильными цепями.

В работе Танаки с соавт. [399] сопоставлены силикагели, модифицированные органическими радикалами общей формулы —$Si(CH_3)_2$—$(CH_2)_2$–R, где R — алкил, циклогексил, циклогексенил, фенил, нафтил, пиренил. Наряду с сольвофобным эффектом и сольватацией в подвижной фазе установлена определенная роль таких процессов в неподвижной фазе, как стерическое распознавание, π—π-взаимодействие. Плоские молекулы сорбатов сильнее удерживаются неподвижными фазами, содержащими

плоские фрагменты. Ароматические лиганды придают сорбенту несколько большую полярность, чем у алкилсиликагелей. Аналогичное наблюдение сделано в работе [282]: циклогексилсиликагель предпочтительнее сорбирует циклические соединения, чем алифатические. В работе [298] проведено сравнение величин удерживания веществ различной полярности на фенил-, бензил-, фенэтил- и октилсиликагелях. Показано сходство всех арилсиликагелей и их отличие от октилсиликагеля. Незначительные различия между арилсиликагелями связаны с различиями в фазовых отношениях соответствующих колонок.

Наблюдаемые различия в селективности могут определяться не только самим сорбентом, но и типом органического модификатора подвижной фазы [397]. Так, плоские ароматические молекулы сильнее удерживались октадецилсиликагелем, по сравнению с октилсиликагелем, лишь в том случае, когда подвижная фаза содержала метанол. Если же в качестве органического растворителя использовали ацетонитрил, селективность этих неподвижных фаз была близкой.

Для оценки селективности сорбента может быть использована система стандартных веществ, подобная системе Роршнайдера. Предложенные Смитом [363] константы удерживания рассчитываются путем сравнения поведения ряда веществ — стандартов в хроматографии и при распределении в системе гексан—вода. Однако уже при простом сопоставлении индексов удерживания, приведенных в этой работе, видно, что четыре испытанные колонки обладают несколько различающейся селективностью (рис. 4.5). Силикагель, модифицированный фенильными радикалами, сильно отличается от алкилсиликагелей. Однако и последние различаются между собой по селективности. Так, крезол, ацетофенон и нитробензол удовлетворительно разделяются на сорбенте Гиперсил SAS. На Гиперсиле ODS не делятся крезол и ацетофенон, а на Магнусиле C_{22} — нитробензол и ацетофенон.

Меландер с соавт. [301] исследовали обширные экспериментальные данные по удерживанию на силикагелях, модифицированных углеводородными радикалами. Целью работы было пролить свет на энергетику удерживания. Поведение сорбатов на двух колонках сравнивали с помощью уравнения

$$\lg k'_A = a + b \lg k'_B, \qquad (4.14)$$

где k'_A и k'_B — коэффициенты емкости на сорбентах A и B соответственно. Значения коэффициента b указывают на степень термодинамической близости процессов в двух системах. Если $b=1$, то, согласно сольвофобной теории, процессы идентичны. Значение $b \neq 1$ указывает на сходство физико-химических процессов. Наконец, отсутствие корреляции между $\lg k'_A$ и $\lg k'_B$

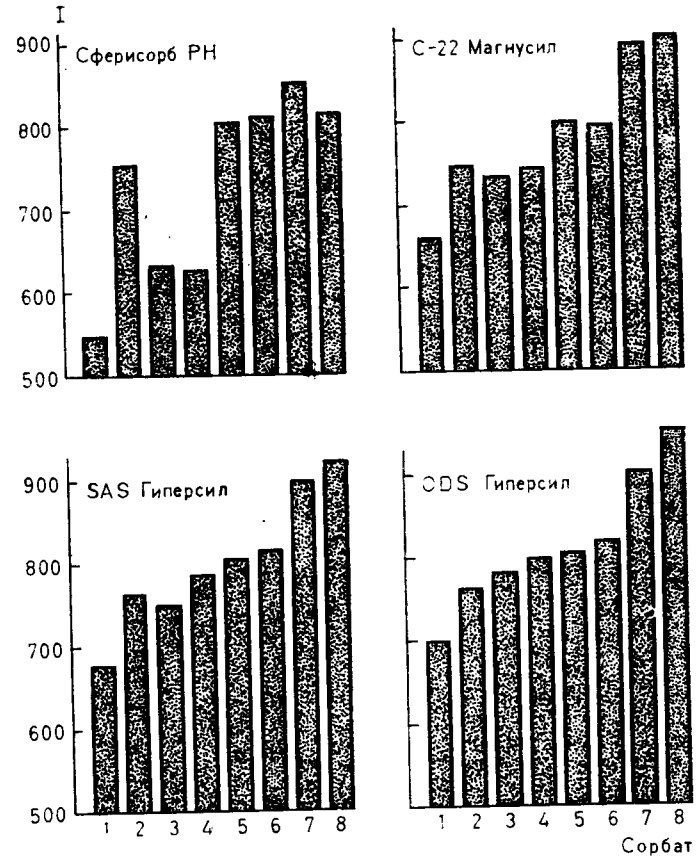


Рис. 4.5. Индексы удерживания стандартных соединений на четырех сорбентах: *1* — бензиловый спирт; *2* — бензальдегид; *3* — фенилэтанол; *4* — *п*-крезол; *5* — ацетофенон; *6* — нитробензол; *7* — метилбензоат; *8* — фенилэтиловый эфир.

означает, что помимо сольвофобных взаимодействий имеют место взаимодействия с остаточными силанольными группами. Как правило, корреляция между $\lg k'_A$ и $\lg k'_B$ хорошая; следовательно, основной вклад в различия удерживания вносят различия в фазовом отношении. Отсутствие корреляции характерно для подвижных фаз, содержащих мало воды, и особенно в случае сорбатов основной природы. Видимо, в этих случаях сольвофобный механизм уже не является доминирующим, и в результате вероятность существенных различий между сорбентами резко возрастает.

Данный подход был использован в работе [246] для оценки степени близости механизмов сорбции на силикагелях, модифицированных фенильными, этильными, октильными и октадецильными радикалами. Механизмы сорбции монозамещенных производных бензола различны, и это различие возрастает по мере роста различий в строении лиганда.

Таким образом, не вызывает сомнений, что роль неподвижной фазы в обращенно-фазовой хроматографии не всегда столь пассивна, как предполагает сольвофобная теория. Тем не менее варьирование неподвижных фаз с целью оптимизации селективности разделения в обращенно-фазовом режиме применяется редко. Обычно этой цели добиваются варьированием состава подвижной фазы.

Обсуждавшиеся выше исследования выполнены в основном на рядах сорбентов, заведомо отличающихся по характеру неполярного лиганда. С точки зрения практики не менее важно рассмотреть вопрос, насколько могут отличаться по сорбционным свойствам материалы, формально идентичные по типу лигандов. Такой вопрос встает перед хроматографистом, когда необходимо воспроизвести опубликованную в литературе методику. Следует также иметь в виду, что даже разные серии материалов одной и той же марки могут быть не вполне идентичными. Оценка идентичности, детальная характеристика колонок и сорбентов являются поэтому необходимым этапом при освоении опубликованных методик или разработке новых. Без этого невозможно, в частности, внедрение стандартизованных методик в контроль производства, технический контроль продукции. Хроматографическая литература изобилует примерами, показывающими неидентичность номинально близких сорбентов (см., например, [296, 354, 416]). Однако общепринятой комплексной методики стандартизации обращенно-фазовых сорбентов по их свойствам пока нет. Во многих случаях изготовители характеризуют только кинетико-динамические свойства колонки — эффективность, проницаемость, асимметрию пиков на примерах сорбатов с почти идеальными хроматографическими свойствами. С такой точкой зрения нельзя согласиться, так как при этом без внимания остаются все вопросы, связанные с селективностью, термодинамическими свойствами сорбента. Воспроизводимость хроматографических разделений разнообразных веществ может быть предсказана на основании оценки воспроизводимости наиболее важных свойств:

— абсолютной удерживающей способности;

— способности к разделению гомологов («метиленовая селективность»);

— селективности при разделении неполярных и полярных веществ;

Таблица 4.1

Смеси для испытания обращенно-фазовых сорбентов и составы подвижных фаз

Номер смеси	Состав	Подвижная фаза
I	Нитрат натрия Бензол Толуол Фенилэтиловый спирт Фенилуксусная кислота	Ацетонитрил — 0,1 М фосфатный буфер, pH 2,5 (50:50)
II	Нитрат натрия Пиридин Фенилаланин Резорции	Ацетонитрил — 0,1 М фосфатный буфер, pH 2,5 (10:90)
III	Нитрат натрия Нафталин Нафтол	Ацетонитрил—вода (75:25)

— удерживания и симметрии пиков кислот и оснований;

— способности к «силанофильному удерживанию», отражающей вклад немодифицированных силанольных групп.

Охарактеризовать перечисленные показатели, разумеется, можно только хроматографическими методами, выполнив серию экспериментов с соответствующим образом подобранными смесями стандартных соединений. Для характеристики абсолютной удерживающей способности можно использовать коэффициент емкости бензола, для оценки «метиленовой селективности» — удерживание толуола по отношению к бензолу. Селективность при разделении полярных относительно гидрофобных

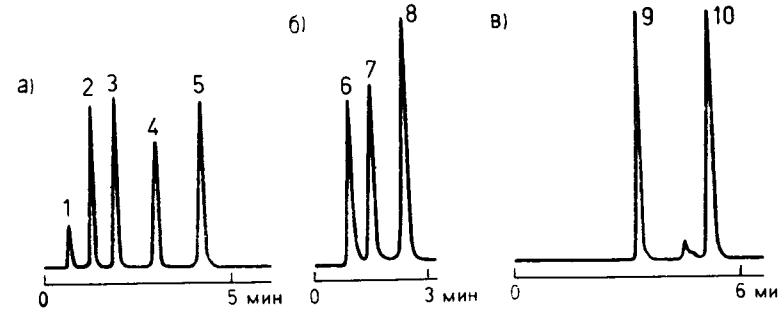


Рис. 4.6. Хроматограммы испытательных смесей: I(*а*), II(*б*), III(*в*). Сорбаты: *1* — нитрат натрия; *2* — фенилуксусная кислота; *3* — фенилэтиловый спирт; *4* — бензол; *5* — толуол; *6* — пиридин; *7* — фенилаланин; *8* — резорцин; *9* — нафтол; *10* — нафталин.

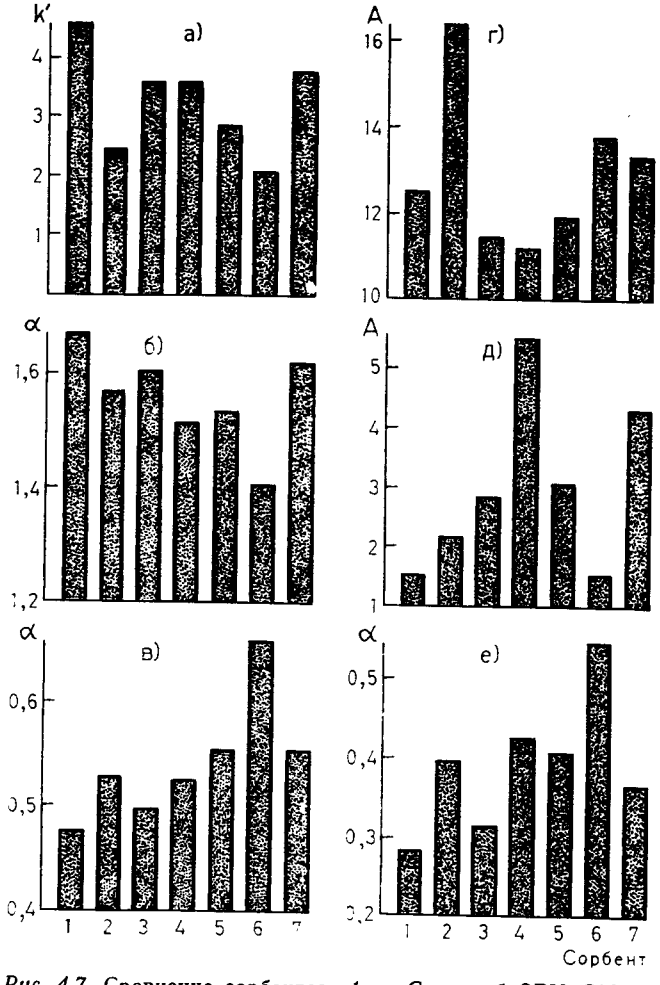


Рис. 4.7. Сравнение сорбентов: *1* — Силасорб SPH C18; *2* — Снласорб C18, *3* — Зорбакс ODS; *4* — Зорбакс C8; *5* — Ультропак RP18; *6* — Ультропак RP8; *7* — Ультросфер ODS-PTH. Испытания: *а* — коэффициент емкости бензола; *б* — селективность разделения толуола и беизола; *в* — селективность разделения фенилэтаиола и беизола; *г* — асимметрия пика толуола; *д* — асимметрия пика пиридина; *е* — селективность разделения нафтола и нафталина.

веществ можно охарактеризовать удерживанием фенилуксусной кислоты и фенилэтанола.

Для характеристики поведения гидрофильных соединений можно использовать смесь пиридина, фенилаланина, резорцина. Силанофильное удерживание проявляется чаще всего в подвижных фазах, содержащих небольшое количество воды; следовательно, для оценки этого эффекта необходимо взять гидрофобные соединения, например нафталин и нафтол. Из перечисленных соединений можно составить три стандартные смеси и каждую из них хроматографировать в своей подвижной фазе (табл. 4.1). Конечно, выполнение этих экспериментов требует определенного времени, однако результат — ценная информация, объективно характеризующая данную партию сорбента, — оправдывает затраченные усилия. На рис. 4.6 приведены хроматограммы испытательных смесей, а на рис. 4.7 в виде диаграммы представлены результаты испытаний семи сорбентов. Среди испытанных сорбентов нет ни одной пары идентичных.

4.1.2.2. УДЕРЖИВАНИЕ И СТРОЕНИЕ МОЛЕКУЛ СОРБАТОВ

Согласно уравнению (4.6), при постоянных условиях хроматографирования удерживание различных сорбатов определяется следующими факторами:

— дипольным моментом сорбатов;
— объемом их молекул;
— поляризуемостью;
— уменьшением площади неполярной поверхности при сорбции.

Числовые значения этих параметров, а также коэффициентов уравнения (4.6) известны далеко не в полном объеме. Поэтому прямое использование данного уравнения для расчета удерживания пока неосуществимо, во всяком случае для сложных молекул сорбатов, представляющих наибольший практический интерес. В то же время теоретическое выявление роли упомянутых факторов послужило основой для многочисленных моделей удерживания, связывающих коэффициенты емкости с доступными структурными параметрами или физико-химическими свойствами сорбатов. Эти модели имеют большое практическое значение при интерпретации хроматограмм, выборе условий разделения. Полученные с их помощью результаты в совокупности убедительно подтверждают сольвофобную теорию обращенно-фазовой хроматографии.

Систематические исследования удерживания обычно проводятся в таких условиях, когда максимальное число параметров уравнения (4.6) сохраняет постоянные значения. Фактически при этом решается задача интерпретации и прогнозирования не абсолютных, а относительных величин удерживания в рамках определенных (иногда довольно узких в смысле разнообразия структур) классов веществ. Этот подход, являющийся, разумеется, вынужденным компромиссом, в то же время служит единственной тактикой исследований, приводящей уже

в настоящее время к важным результатам. Используемый принцип моделирования в общем виде может быть выражен уравнением

$$R_i = R_0 + aS_i, \qquad (4.14)$$

где R_i — параметр удерживания или какая-либо его функция, чаще всего $\lg k'$; R_0 — постоянная составляющая параметра R, общая для рассматриваемого множества соединений; S_i — параметр, описывающий существенные для хроматографического поведения особенности структуры сорбата i; a — коэффициент.

В зависимости от вида параметра S_i модели удерживания могут быть отнесены к одной из трех групп.

В *простых аддитивных моделях* S_i есть сумма инкрементов удерживания, выраженная непосредственно в единицах R_i:

$$S_i = \sum n_j s_j, \qquad (4.15)$$

где s_j — инкремент R_i, отвечающий структурному фрагменту j; n_j — число структурных фрагментов j в молекуле сорбата i. Разумеется, в этом случае $a=1$.

В *моделях типа «удерживание—свойство»* S_i представляет собой какое-либо, чаще всего нехроматографическое свойство сорбата. Этот тип моделей основан на том, что особенности строения в рамках ограниченных множеств сорбатов влияют на ряд других химических параметров аналогично их влиянию на удерживание.

Наконец, в *моделях типа «удерживание—строение»* S_i является какой-либо формальной, математической функцией строения сорбата. В этом случае указанный параметр может не иметь непосредственного физического смысла, но должен отражать такие важные для обращенно-фазовой хроматографии свойства, как площадь гидрофобной поверхности молекулы, сорбата и (или) полярность.

4.1.2.2.1. АДДИТИВНЫЕ МОДЕЛИ УДЕРЖИВАНИЯ

Представления о $\lg k'$ как об аддитивной величине широко распространены и используются хроматографистами на практике, как только накапливается достаточное количество экспериментальных данных, пригодных для оценки s_i. Многие хроматографисты пользуются своими системами инкрементов. И даже если они не отличаются полнотой, их привлечение делает интерпретацию хроматограмм и поиск условий разделения более осознанными. В то же время в литературе имеется немало данных, позволяющих получить более или менее полные наборы s_i.

Из величин удерживания монозамещенных производных бензола, опубликованных в [52, 169, 336, 396], мы вычислили десять наборов инкрементов s_i. Условия экспериментов [52, 169, 336, 396] приведены в табл. 4.2, а полученные нами значения s_i — в табл. 4.3. Разумеется, указанные величины можно считать грубо ориентировочными хотя бы потому, что они могут зависеть не только от типа неподвижной фазы и органического растворителя, но и от концентрации последнего. Для практического использования этих инкрементов необходимо иметь представление о масштабах межлабораторной воспроизводимости подобных величин. Для этого можно сопоставить найденные инкременты между собой с помощью линейных уравнений

$$s_{i,j} = a + bs_{i,k}, \qquad (4.16)$$

где индексы j и k отвечают определенному набору условий хроматографического эксперимента; a и b — коэффициенты. Естественно, в идеальном случае, при полной идентичности систем,

Таблица 4.2

Характеристика условий исследования удерживания монозамещенных производных бензола

Условный номер набора данных	Сорбент	Подвижная фаза	Литература
1	Хромегабонд	Метанол—вода (6:4)	[336]
2	Лнхросорб С8	Метанол—вода (1:1)	[52]
3	То же	Ацетонитрил—вода (4:6)	[52]
4	"	Тетрагидрофуран—вода (37:63)	[52]
5	Октилсиликагель, модифицированный дополнительно триметилхлорсиланом (3,4 мкмоль/м²)	Метанол—вода (1:1)	[396]
6	Октилсиликагель (3,3 мкмоль/м²)	То же	[396]
7	Октилсиликагель (2,4 мкмоль/м²)	"	[396]
8	Октилсиликагель, модифицированный дополнительно триметилхлорсиланом (3.4 мкмоль/м²)	Ацетонитрил—вода (3:7)	[396]
9	То же	Тетрагидрофуран—вода (25:75)	[396]
10	Октилсиликагель*	Метанол—вода*	[169]

* Данные по удерживанию экстраполированы к соотношению метанол—вода 35:65.

Групповые инкременты удерживания производных бензола

Структурный фрагмент	Условный номер набора данных				
	1	2	3	4	5
$-C_4H_9$	1,03				
трет-C_4H_9	0,87				
$-C_3H_7$	0,77				
$-C_2H_5$	0,50				0,59
$-COOCH(CH_3)_2$					0,57
$-I$	0,45				
$-C_6H_5$	0,41				
$-Br$	0,33				
$-COC_6H_5$	0,31				
$-CH_3$	0,27				0,30
$-COOC_2H_5$					0,31
$-Cl$	0,26	0,29	0,21	0,14	0,31
$-F$	0,02				
$-N(CH_3)_2$					
$-OCH_3$	−0,02	−0,02	−0,04	−0,08	−0,03
$-COOCH_3$		0,03	−0,08	−0,21	0,01
$-NO_2$	−0,16	−0,14	−0,12	−0,14	−0,19
$-CH_2Br$	−0,13				
$-COCH_3$	−0,34	−0,24	−0,37	−0,39	−0,30
$-CHO$	−0,41	−0,33	−0,33	−0,39	−0,40
$-CN$	−0,41	−0,31	−0,24	−0,31	−0,34
$-CH_2CH_2OH$					−0,34
$-CH_2CN$	−0,44				
$-OH$	−0,61	−0,47	−0,52	−0,31	−0,52
$-NHCOCH_3$					
$-CH_2OH$	−0,62				−0,52
$-CONH_2$		−0,72	−0,82	−0,83	−0,96
$-NH_2$	−0,72				
$-COOH$	−0,93	−0,97	−1,19	−1,07	

$a=0$, $b=1$. Параметры уравнения (4.16) приведены в табл. 4.4. Значение a действительно довольно близко к нулю, в то время как b может отличаться от единицы довольно сильно. Коэффициенты корреляции обычно превышают 0,98, среднеквадратичное отклонение данных от прямой (4.16) — между 0,03 и 0,13. Отсюда следует, что при использовании табличных значений можно столкнуться с ошибками двух видов. В одних случаях погрешность будет определяться разницей в удерживающей способности систем (отличие b от 1), в других — спецификой поведения структурных фрагментов (величина σ).

Согласно данным табл. 4.3, среднеквадратичное расхождение между величинами s_i, измеренными разными авторами и в различных условиях, имеет порядок 0,1, на основании чего можно сделать общий вывод о пределах надежности априорной оценки удерживания с помощью уравнения (4.15). Если игно-

Таблица 4.3

по табл. 4.2					Среднее значение
6	7	8	9	10	
				0,80	
0,56	0,51	0,60	0,56	0,48	0,54±0,05
0,60	0,59	0,56	0,34		0,53±0,11
				0,86	
				0,31	
0,29	0,26	0,30	0,29	0,30	0,29±0,02
0,35	0,36	0,26	0,09		0,27±0,10
0,31	0,29	0,33	0,35	0,30	0,27±0,06
				0,05	
				0,16	
0,00	0,02	−0,01	−0,06	0,02	−0,03±0,02
0,08	0,12	−0,04	−0,19	0,10	−0,10±0,07
−0,11	−0,06	−0,1	−0,1	−0,13	−0,12±0,04
−0,21	−0,14	−0,34	−0,51	−0,08	0,29±0,13
−0,30	−0,24	−0,39	−0,51	−0,19	−0,35±0,09
−0,27	−0,19	−0,27	−0,38	−0,16	−0,29±0,08
−0,30	−0,24	−0,64	−0,60		−0,45±0,2
−0,51	−0,44	−0,64	−0,35	−0,35	−0,47±0,11
				−0,33	
−0,51	−0,42	−0,79	−0,77	−0,33	−0,57±0,16
−0,82	−0,68	−1,45	−1,22	−0,50	−0,86±0,23
				−0,47	
					−1,04±0,11

Таблица 4.4

Корреляция между величинами s_i, найденными из различных наборов экспериментальных данных

j	k	a	b	r	σ
Набор 1	Набор 2	0,05	0,99	0,986	0,065
1	5	0,03	0,94	0,993	0,039
1	10	0,13	0,83	0,936	0,134
2	5	0,01	1,17	0,982	0,072
2	10	0,06	0,80	0,982	0,048
5	10	0,07	0,67	0,985	0,053
3	8	0,07	1,40	0,993	0,052
4	9	0,12	1,60	0,998	0,025

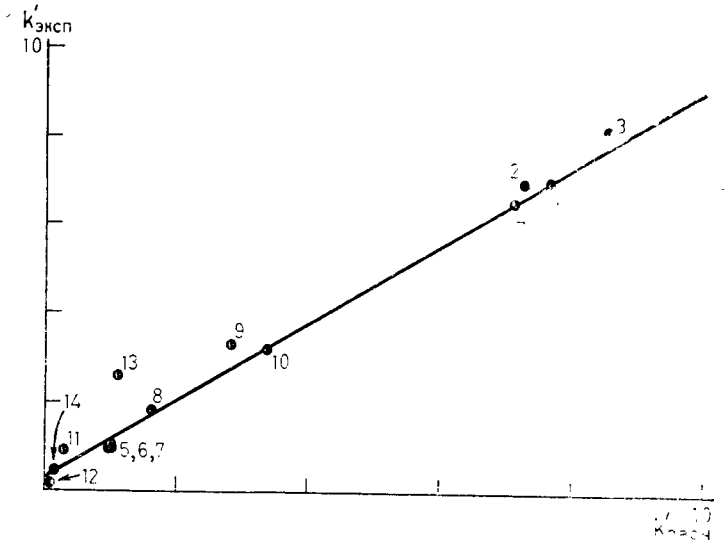


Рис. 4.8. Сопоставленне удерживания бифункцнональных производных бензола, рассчитанного нз инкрементов набора 1, с экспериментальными данными из [336]: *1* — *о*-ксилол, *2* — *п*-хлортолуол; *3* — *п*-бромтолуол; *4* — *п*-дихлорбензол; *5* — *п*-крезол; *6* — *о*-крезол; *7* — *м*-крезол; *8* — *п*-этилфенол; *9* — *п*-нитротолуол; *10* — *о*-нитротолуол; *11* — *м*-нитротолуол; *12* — *п*-нитробензилбромид; *13* — *п*-аминофенол; *14* — *п*-гидроксибензальдегнд.

рировать фактические различия между применяемой обращенно-фазовой системой и той, для которой найдены значения s_i, ошибка в расчете $\lg k'$ может составить 0,1 n, где n — число структурных фрагментов. Этот довольно пессимистический вывод не означает, что зависимость (4.15) бесполезна для практики, в частности, потому, что игнорировать различия в свойствах систем вовсе не обязательно, их можно учитывать, например, с помощью уравнений типа (4.16). Кроме того, каждый экспериментатор для своей системы может получить свой, уточненный набор инкрементов. Примером такого подхода является расчет k' бифункциональных производных бензола по набору инкрементов, рассчитанному для монофункциональных производных из работы [336]. Полученные данные мы сравнили с экспериментально найденными значениями k' из той же работы (рис. 4.8). Последние вполне удовлетворительно согласуются с расчетом.

Кроме того, даже ориентировочный расчет с погрешностью $\lg k'$ около 0,1 на каждый инкремент позволяет чисто расчетным путем ответить на следующие вопросы:

— далеко ли будут расположены на хроматограмме пики соединений с заданной структурой;

— каков ожидаемый порядок их элюирования;

— какова должна быть концентрация органического компонента подвижной фазы, чтобы обеспечить приемлемое удерживание данного вещества.

Приведенный выше пример относился к соединениям, довольно сильно различающимся по полярности, а использованный простейший метод расчета величин удерживания игнорировал изомерию дизамещенных бензолов. В подобных случаях уже небольшого числа инкрементов достаточно для расчета величин удерживания разнообразнейших соединений. Естественно, столь универсальная модель не может быть одновременно и самой точной. Системы инкрементов, аналогичные приведенной, могут быть разработаны и для более узких классов веществ. Разумеется, и надежность априорных расчетов в этих случаях выше. Так, например, в работе [355] изучено поведение желчных кислот, выявлены вклады в удерживание, отражающие не только наличие тех или иных структурных фрагментов, но и их пространственное расположение и степень ненасыщенности.

В работе [90] методом ВЭЖХ изучено поведение ряда биологически важных производных фенилэтиламина и аминокислот и найдены инкременты удерживания, отвечающие окси-, метокси- и метильной группам в различных положениях. Показано, что данные, полученные на одном сорбенте, могут быть перенесены на другой, если состав подвижной фазы в обоих случаях одинаков.

В работе [47] детально изучено поведение большого числа замещенных пуринов. Найдены величины s_i для ряда характерных заместителей в различных положениях. Прогнозирующая способность полученной модели проверена на 62 соединениях, не входивших в первоначальный массив для определения s_i. Достигнутый в этой работе результат следует отнести к числу лучших опубликованных прогнозов удерживания: среднее отклонение расчетных значений $\lg k'$ от экспериментальных составило около 0,1.

Разработана [84] аддитивная схема для представления структуры полиядерных ароматических соединений и их алкильных производных. Схема применена для расчета удерживания в режиме обращенно-фазовой хроматографии на октадецилсиликагелях, а также для хроматографии на обычном силикагеле и силикагеле, модифицированном пирролидинопропильными группами. Расчетные величины k' отличались от экспериментальных в среднем на 20%.

Таким образом, аддитивные схемы расчета в принципе позволяют добиться практически приемлемой надежности прогнозирования удерживания. В каждом конкретном случае,

однако, хроматографист сам должен решить, с какой целью предполагается проводить расчеты, не требует ли эта цель недостижимой точности прогноза, оправдаются ли затраты труда (иногда немалые) на получение нужного набора инкрементов.

4.1.2.2.2. МОДЕЛИ «УДЕРЖИВАНИЕ—СВОЙСТВО»

Из моделей этого типа наиболее популярны уравнения, связывающие коэффициенты емкости, измеряемые в хроматографической системе, с коэффициентами распределения (чаще всего в системе октанол—вода). Применение системы октанол—вода вызвано тем, что она широко используется для оценки биологической активности и для нее существует детально разработанная методика аддитивного расчета коэффициентов распределения исходя из строения веществ [327]. Работы этого направления преследуют обычно одну из двух противоположных целей:

1) на основании логарифмов коэффициентов распределения, найденных опытным или расчетным путем, рассчитать величины удерживания;

2) из величин удерживания, измеренных хроматографически, рассчитать коэффициенты распределения.

При решении первой задачи особенно привлекательна возможность использования аддитивного расчета логарифмов коэффициентов распределения, который в настоящее время разработан лучше, чем непосредственные аддитивные расчеты коэффициентов емкости. С другой стороны, применение хроматографии открывает новые возможности для измерения коэффициентов распределения, в особенности гидрофобных соединений либо веществ, недоступных в чистом виде. Решение обеих задач базируется на линейной зависимости между логарифмами коэффициентов распределения и коэффициентов емкости:

$$\lg k' = a + b \lg P_{ij}, \qquad (4.17)$$

где P_{ij} — коэффициент распределения вещества между фазами i и j.

Приведем некоторые примеры исследований такого рода. Купманс и Реккер [264] на примере алкилбензолов и полиядерных ароматических соединений рассмотрели связь между величинами удерживания и коэффициентами распределения. Последние они определяли: 1) экспериментально; 2) по аддитивной схеме Реккера [327]; 3) по способу Лео—Ганча [176]. Наилучшие результаты обеспечил расчетный метод Реккера, в то время как способы Лео—Ганча и экспериментальный привели к значениям $\lg P$, хуже коррелированным с хроматографическими параметрами.

Корреляция между $\lg k'$ и $\lg P$ продемонстрирована также для йодаминокислот [193], изомерных спиртов и простых эфиров [137], производных пиридазинона [80], барбитуратов [434]. В работах [172, 174] расчетные значения $\lg P$ использованы для прогнозирования удерживания ароматических и желчных кислот. Отклонения расчетных значений k' от экспериментально измеренных составили в среднем около 10%.

Интерпретация удерживания дизамещенных хальконов как функции парциальных констант гидрофобности по Ганчу и Реккеру представлена в работе [427]. Коэффициенты корреляции для предложенных моделей составили 0,94—0,98.

Естественно, уравнение (4.17) является весьма приближенным уже хотя бы потому, что в нем не учитываются различная селективность хроматографических систем и отличия селективности этих систем от классических систем распределения жидкость—жидкость. Отклонения от (4.17) нередки, в особенности если рассматривать группы соединений, сильно отличающихся не только гидрофобными фрагментами, но и характером функциональных групп. Поэтому продолжаются поиски моделей, связывающих $\lg P$ и $\lg k'$ более корректно. Так, в работе [169] показано, что корреляция существенно улучшается, если вместо $\lg k'$, применяемого в смесях метанол—вода, использовать параметр $\lg k'_w$ — величину, экстраполированную к нулевой концентрации органического компонента подвижной фазы. Высказывается также сомнение в применимости метода Реккера для характеристики полизамещенных ароматических соединений.

В работах [411, 412] для оценки $\lg P$ предложено использовать не только $\lg k'_w$, но и параметр, характеризующий чувствительность величин удерживания к изменению концентрации органического растворителя в подвижной фазе.

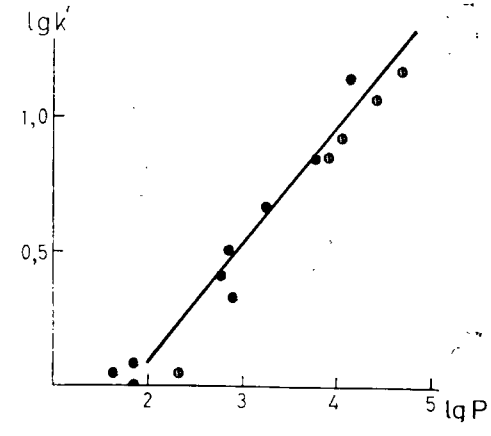


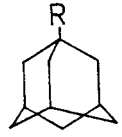
Рис. 4.9 Зависимость удерживания моноФункциональных производных адамантана от строения, опосредованного через расчетный параметр $\lg P$. Сорбент — Силасорб С18, подвижная фаза — ацетонитрил—вода (7:3).

Дополнительные трудности возникают при использовании уравнения (4.17) для оценки гидрофобности ионогенных соединений. В этом случае кроме экстраполяции к $\lg k'_w$ необходимо ввести поправку и получить значение $\lg k^0_w$ — гипотетический параметр неионизированной формы. В работе [124] при исследовании 25 оснований — лекарственных веществ получено следующее соотношение:

$$\lg P_{ow} = 1{,}142(\pm 0{,}212)\lg k^0_w - 0{,}998(\pm 0{,}876), \qquad (4.18)$$

где $\lg P_{ow}$ — логарифм коэффициента распределения в системе октанол—вода. Это уравнение описывает экспериментальные данные с коэффициентом корреляции 0,94.

На рис. 4.9 представлена корреляция между $\lg k'$ и $\lg P$, рассчитанными по [327] для 14 монозамещенных производных адамантана [33] общей формулы



R = —H, —Cl, —Br, —CH_2Cl, —CH_2Br, —OH, —CH_2OH, —CN, —$COCH_3$, —$COOCH_3$, —$COOC_2H_5$, —NHCHO, —$NHCOCH_3$, —$CONH_2$.

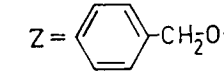
Из рисунка видно, что данная модель удовлетворительно описывает поведение соединений рассматриваемого ряда.

В работе [5] сделана попытка с помощью уравнения (4.17) описать величины удерживания пептидов — фрагментов кортикотропина, имеющих не более одной свободной концевой группы. Структура изученных соединений и их расчетные значения $\lg P$ приведены в табл. 4.5. Полученные значения коэффициентов a и b уравнения (4.17), а также параметры, характеризующие корреляцию, представлены в табл. 4.6,А. Корреляция между $\lg k'$ и $\lg P$ не может быть признана удовлетворительной. Наибольшие погрешности аппроксимации соответствуют пептидам с незащищенными концевыми группами. Это можно объяснить тем, что вклады этих полярных функциональных групп в баланс гидрофильных и гидрофобных свойств в системе, состоящей из водного раствора ацетонитрила и химически связанных групп $C_{18}H_{37}$, отличаются от аналогичного вклада для системы октанол—вода. Следовательно, возникает необходимость коррекции инкремеитов $\lg P$. Для этого можно попытаться по экспериментальным данным рассчитать значения инкрементов f^*_i для характерных полярных функциональных групп пептидных соединений. Такие инкременты составляют: для —CHCONH— —0,40; — $COOH_{пепт}$ — 2,33; —$NH_{2пепт}$—2,05. Эти значения, специфические для веществ пептидной природы, позволили с помощью параметра $\lg P^*$ значительно лучше описать поведение этой группы веществ в обращенно-фазовых системах (табл. 4.6,Б). Необходимость модификации инкрементов f_i, приведенных в работе Реккера [327] применительно к условиям обращенно-фазовой хроматографии, может возникать и в других случаях, так как вклад заместителя все же зависит от типа основной структуры, куда этот заместитель вводится. Например, при исследовании тетрагидрофурилзамещенных производных 5-фторурацила — аналогов известных противоопухолевых препаратов — установлено, что их хроматографическое поведение отличается от ожидаемого исходя из инкрементов Реккера. Найденные значения модифицированных инкрементов гидрофобности приведены в табл. 4.7. Относительная гидрофобность

Таблица 4.5

Параметры гидрофобности некоторых синтетических фрагментов кортикотропина

Соединение	lg P	lg P*
Z-Ser-Tyr-OMe	0,784	1,414
Z-Ser-Tyr-N_2H_3	−1,860	−1,230
Z-Ser-Tyr-OEt	1,314	1,944
Z-Val-Gly-OEt	1,634	2,264
Z-Pro-Val-Gly-OEt	1,614	2,874
Z-Ser-Tyr-Ser-Met-ONb	0,880	2,770
Z-Ser-Tyr-Ser-Met-Glu(OBzl)-His-Phe-ONb	1,808	5,588
Boc-Glu(OBzl)-His-Phe-ONb	4,108	5,368
Z-Ser-Tyr-Ser-Met-Glu(OBzl)-His-Phe-Arg(NO_2)-Trp-Gly-ONb	−0,972	4,698
Boc-Arg(NO_2)-Trp-Gly-ONb	0,400	1,660
Boc-Arg(NO_2)-Pro-ONb	0,131	0,761
Boc-Ser-Met-ONb	1,642	2,271
Boc-Lys(Z)-Lys(Z)-OBzl	5,414	6,044
2HCl·H-Glu(OBzl)-His-Phe-ONb	2,680	3,94
2HCl·H-His-Phe-ONb	1,702	2,332
H-Lys(Z)-Lys(Z)-OBzl	3,986	4,616
Z-Ser-Tyr-Ser-Met-OH	−2,499	−0,719
Boc-Lys(Z)-Pro-Val-Gly-OH	0,259	2,149
Boc-Lys(Z)-Pro-Val-Gly-Lys(Z)-Lys(Z)-OH	2,415	5,565
Z-Ser-Tyr-Ser-Met-Glu(OBzl)-His-Phe-OH	−1,571	2,209
Z-Ser-Tyr-Ser-Met-Glu(OBzl)-His-Phe-Arg(NO_2)-Trp-Gly-OH	−4,351	1,319

Примечание: Z =  Boc = $C(CH_3)_3$-O-CO-

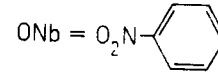
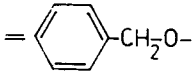
ONb =  OBzl = 

Таблица 4.6

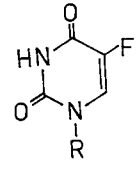
Параметры уравнений (4.17) для пептидов

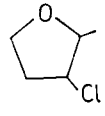
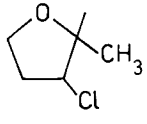
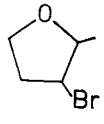
Концентрация ацетонитрила, об.%	*a*	*b*	*r*	*n*	σ
		А			
55	−0,273	0,107	0,627	20	0,307
50	−0,047	0,124	0,622	21	0,357
45	0,132	0,137	0,585	21	0,433
40	0,620	0,121	0,599	15	0,429
35	0,616	0,06	0,280	16	0,43
		Б			
50	−0,595	0,230	0,962	12	0,131
45	−0,534	0,277	0,970	12	0,141
35	0,091	0,219	0,843	8	0,170

Примечание: А — в качестве $\lg P_{ij}$ взят расчетный параметр для системы октанол—вода по Реккеру; Б — в качестве $\lg P_{ij}$ взят параметр, рассчитанный по модифицированным инкрементам.

Таблица 4.7

Влияние заместителей в тетрагидрофурановом кольце на гидрофобность производных 5-фторурацила



R	Фрагмент *i*	f_i заместителей	
		по [327]	в хроматографическом эксперименте
1	2	3	4
	—Cl	−0,12	0,87
	—Cl; —CH_3	0,41	1,55
	—Br	0,10	0,80

Окончание таблицы 4.7

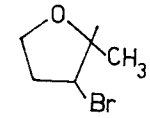
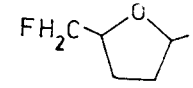
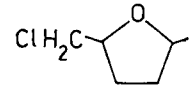
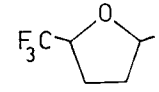
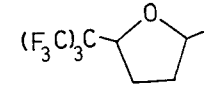
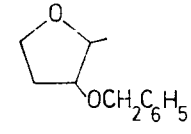
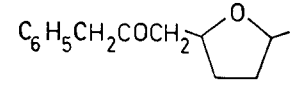
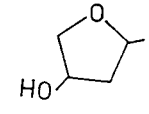
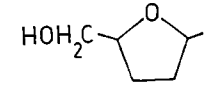
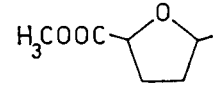
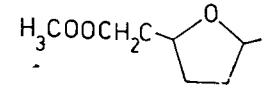
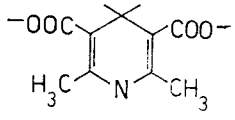
1	2	3	4
	—Br; —CH_3	0,62	1,71
	—CH_2F	0,11	0,46
	—CH_2Cl	0,59	1,0
	—CF_3	0,58	1,11
	—$C(CF_3)_3$	2,25	2,27
	—$OCH_2C_6H_5$	0,66	1,78
	—$CH_2OCH_2C_6H_5$	1,37	2,16
	—OH	−1,67	−0,30
	—CH_2OH	−1,14	−0,07
	—$COOCH_3$	−0,78	−0,57
	—CH_2COOOH_3	−0,24	0,69

Таблица 4.8

Инкременты величин гидрофобности для производных 1,4-дигидропиридина [34]

Структурный фрагмент	f_i по [327]	f_i* в эксперименте
$-CH_3$	0,70	0,99
$-C_6H_5$	1,69	0,87
	—	0,19
$-NO_2$ (в положении 5-фуранового кольца)	−0,08	0,36
	—	1,04

почти всех заместителей в тетрагидрофурановом кольце значительно выше таковой для заместителей в алифатическом ряду.

Аналогичным образом найдены структурные инкременты гидрофобности в ряду производных 1,4-дигидропиридинов (табл. 4.8). Использование инкрементов, приведенных в табл. 4.8, для расчетов $\lg P$ существенно улучшает корреляцию удерживание—структура сорбата [34].

Экспериментальное определение $\lg P$ чревато ошибками, связанными с недостижением равновесия, а также наличием примесей в исследуемом образце. Хроматографический метод определения $\lg P$ свободен от этих потенциальных источников погрешности.

Для применения хроматографии с целью определения $\lg P$ в системе октанол—вода необходимо:

— на основании величин $\lg k'$ и достоверных значений $\lg P$ для веществ-стандартов найти коэффициенты уравнения (4.17);

— измерить для изучаемых веществ $\lg k'$ в идентичных условиях и рассчитать искомый параметр по уравнению

$$\lg P = \frac{\lg k' - a}{b}. \qquad (4.19)$$

В качестве системы ij в уравнении (4.17) может выступать не только система двух несмешивающихся жидкостей, но и другая хроматографическая система. В этом случае можно связать непосредственно коэффициенты емкости в системах 1 и 2:

$$\lg k'_1 = a + b \lg k'_2. \qquad (4.20)$$

В работе [398] показано существование такой зависимости между удерживанием на разных сорбентах при неизмеином составе подвижной фазы либо на одном и том же сорбенте при разных составах подвижных фаз.

Некоторые другие физико-химические свойства сорбатов, связанные с их гидрофобностью или определяющие ее, также могут использоваться для интерпретации хроматографических данных. Так, в работе [95] установлено существование корреляции между растворимостью алифатических спиртов в воде и их величинами $\lg k'$.

В работе [244] предложено уравнение

$$\lg k' = a\pi + b(HA - HD) + c, \qquad (4.21)$$

где π — константа гидрофобности заместителя; HA — число электроноакцепторных групп в молекуле сорбата; HD — число электронодонорных групп. Константы a, b, c определенным образом зависят от состава подвижной фазы. Среднеквадратичное отклонение расчетных значений $\lg k'$ от экспериментальных для двузамещенных производных бензола составляет 0,1.

В работе [245] выявлена корреляция между величинами молекулярной поляризуемости α_s и коэффициентами емкости полиядерных ароматических углеводородов:

$$\lg k' = l\alpha_s + m, \qquad (4.22)$$

где l, m — константы. Сделана также попытка обнаружить связь между удерживанием и ионизационными потенциалами. Отсутствие такой связи привело авторов к выводу, что в данном случае взаимодействие сорбат—сорбент определяется преимущественно индукциоными, а не дисперсионными взаимодействиями. Однако в этом исследовании игнорировалась роль взаимодействий в подвижной фазе, что применительно к обращенно-фазовому режиму вряд ли допустимо.

4.1.2.2.3. МОДЕЛИ «УДЕРЖИВАНИЕ—СТРУКТУРА»

Модели этой группы устанавливают связь между удерживанием и строением сорбатов, выраженным с помощью тех или иных структурных дескрипторов. Во многих случаях логарифм коэффициента емкости линейно связан с числом повторяющихся структурных фрагментов:

$$\lg k' = a + bn. \qquad (4.23)$$

Таблица 4.9

Параметры уравнений (4.24) для некоторых гомологических рядов. Условия хроматографирования: колонка Зорбакс ODS, подвижная фаза — ацетонитрил—вода (6:4) [35]

Класс соединенй	a	b	r	n	σ
Алканы	−0,352	0,197	0,9999	5	0,004
Алкилбензолы	−0,594	0,144	0,9873	11	0,033
Сложные эфиры	−1,041	0,192	0,9968	5	0,0229
Кетоны	−1,116	0,189	0,9996	5	0,0134
Спирты	−1,157	0,194	0,9993	8	0,0150

Самым распространенным дескриптором является число атомов углерода в молекуле n_c:

$$\lg k' = a + bn_c, \qquad (4.24)$$

где b — вклад в $\lg k'$, соответствующий одному атому углерода; a — константа.

Уравнение (4.24), как правило, прекрасно описывает экспериментальные данные соединений одного гомологического ряда, для которых a — постоянная величина. Сравнивая уравнения (4.24) для разных гомологических рядов, обычно обнаруживают, что величина b мало зависит от класса веществ, в то время как a закономерно уменьшается при переходе от менее полярных классов сорбатов к более полярным (табл. 4.9).

Аналогичные результаты получены на самых разнообразных неподвижных и подвижных фазах при изучении алканов [95, 96, 398], алкилбензолов [39, 264, 307, 337, 361], гидроароматических соединений [337], полиметилбензолов [39, 361], полиядерных ароматических углеводородов [264, 307], метиловых эфиров жирных кислот [95, 96], карбоновых кислот [398], N-замещенных фталимидов [121, 122], N-алкилбензамидов [433], алкилкетонов и алкиларилкетонов [53, 362], алканоламидов жирных кислот [310].

В качестве параметра n в уравнении (4.23) может также использоваться число атомов селена [306], серы [305, 306], число моносахаридных остатков в молекулах сердечных гликозидов [108].

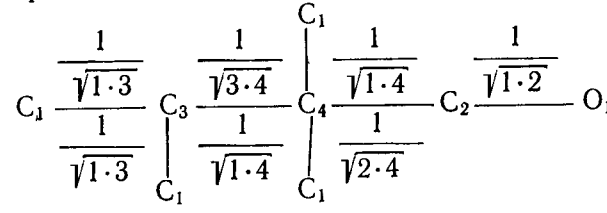
В работах [165, 258, 308] для описания геометрических свойств молекул предложен индекс связуемости χ и показано, что этот параметр хорошо коррелирует с такими свойствами, как растворимость в воде, температура кипения, размер полости между молекулами растворителя, которая необходима для размещения молекулы растворяемого вещества. В рамках одного класса веществ индексы связуемости коррелируют с коэффициентами распределения. Индексы связуемости лучше описывают гидрофобные свойства разветвленных углеводородных радикалов, чем это удается сделать с помощью параметра n_c. Поэтому появляется возможность объединить в уравнении, аналогичном (4.23),

$$\lg k' = a + b\chi \qquad (4.25)$$

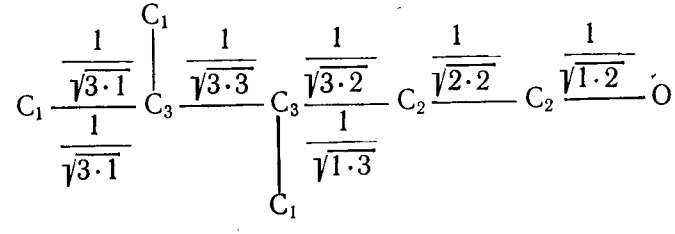
не только гомологи, но и другие родственные соединения, обладающие одинаковым набором функциональных групп. Индекс связуемости первого порядка (т. е. учитывающий связи между ближайшими атомами) рассчитывается из структурной формулы соединения по следующим правилам [258]:

1) учитываются все атомы скелета молекулы, за исключением атомов водорода;

2) скелет изображается подобно тому, как это сделано для двух изомеров гептанола:



$$\chi = \frac{1}{\sqrt{2}} + \frac{2}{\sqrt{3}} + \frac{2}{\sqrt{4}} + \frac{1}{\sqrt{8}} + \frac{1}{\sqrt{12}} = 3{,}504;$$



$$\chi = \frac{1}{\sqrt{2}} + \frac{3}{\sqrt{3}} + \frac{1}{\sqrt{4}} + \frac{1}{\sqrt{6}} + \frac{1}{\sqrt{9}} = 3{,}681;$$

3) каждому атому присваивается число δ_i, соответствующее числу связей этого атома с другими атомами (кроме атомов водорода);

4) для каждой связи скелета рассчитывается ее связуемость

$$\chi_b = \frac{1}{\sqrt{\delta_i \delta_j}}; \qquad (4.26)$$

Таблица 4.10

Связь между индексами связуемости и параметрами lg*P* *для системы октанол—вода*

Класс соединений	*a*	*b*	*r*	σ
Карбоновые кислоты	−1,41±0,11	0,927±0,03	0,996	0,122
Сложные эфиры	−1,71±0,04	0,996±0,03	0,999	0,060
Простые эфиры	−1,30±0,19	0,964±0,07	0,976	0,080
Спирты	−1,53±0,09	0,966±0,03	0,997	0,151
Амины	−1,51±0,12	0,977±0,04	0,979	0,179
Кетоны	−1,16±0,09	0,982±0,03	0,993	0,094
Углеводороды	0,406±0,09	0,884±0,03	0,975	0,160
Все соединения, кроме углеводородов	−1,48±0,04	0,950±0,01	0,986	0,152

5) рассчитывается индекс связуемости всей молекулы

$$\chi = \sum_{n} \chi_b, \qquad (4.27)$$

где n — суммарное число связей между атомами скелета.

При расчете индексов связуемости циклических соединений вводится поправка −0,5 единицы на каждое замыкание цикла. Наличие в молекуле двойных или тройных связей увеличивает связуемость соответствующих атомов на 1 или 2 соответственно. Так, связуемость атома углерода фрагмента $=CH_2$ равна двум, кислорода карбонильной группы — двум, ацетиленового углерода $HC\equiv$ — трем.

В табл. 4.10 приведены параметры уравнений, связывающих индекс связуемости с величиной lg*P* для системы октанол—вода [308]:

$$\lg P = a + b\chi. \qquad (4.28)$$

Почти во всех случаях корреляция хорошая. Более того, одним уравнением могут быть объединены не только соединения одного класса, но и вообще все рассматривающиеся в данной работе полярные соединения, так как погрешность аппроксимации при их объединении в одну группу возрастает незначительно.

Параметр b во всех случаях близок к единице. Это согласуется с тем, что вклады одного метиленового звена в системах lg*P* и χ близки между собой (0,53 и 0,50 соответственно). Средняя величина свободного члена a для полярных веществ примерно на 2 меньше, чем для углеводородов. Отсюда следует, что уменьшение углеводородного скелета на четыре метиленовых звена приблизительно так же влияет на гидрофобность, как введение одной полярной функциональной группы. Этот вывод также согласуется со средними значениями инкрементов параметра lg*P* и, как показано далее (см. главу 7), может

быть положен в основу простейшей системы оценки гидрофобности и удерживания в условиях обращенно-фазовой хроматографии.

Из уравнений (4.28) и (4.17) вытекает, что между удерживанием и индексами связуемости можно ожидать существования линейной зависимости (4.25). Эта зависимость продемонстрирована для различных условий обращенно-фазовой хроматографии и различных классов соединений: N-алкилбензамидов [436], барбитуратов [74, 434], спиртов [95, 255], третичных алкилбензамидов [433], дансиламидов [277], алкилбензолов [244, 361], полиядерных ароматических углеводородов [212, 243].

Согласно основным выводам [308] относительно связи индекса связуемости с коэффициентами распределения, эта система может быть использована не только для оценки влияния углеводородного скелета, но и описания вклада полярных функциональных групп. При этом, если речь идет о полифункциональных сорбатах, должен быть также рассмотрен вопрос о взаимном влиянии полярных фрагментов молекул. В работе [36] показано, что величины lgk', экстраполированные к содержанию ацетонитрила в подвижной фазе (lgk'_1) 1 моль/л (см. 4.1.2.4 и [35]), коррелированы с индексами связуемости соединений одного класса (табл. 4.11)

$$\lg k'_1 = a + b\chi. \qquad (4.29)$$

Поскольку параметр χ отражает главным образом размер молекул сорбатов, его увеличение ведет к увеличению удерживания. В то же время вклад полярных групп в гидрофильность молекул сорбатов также может быть выражен в единицах индекса связуемости. Для этой цели предложен топологический индекс гидрофобности χ_H [36]:

$$\chi_H = \chi + \sum_{i} (\delta\chi_i), \qquad (4.30)$$

Таблица 4.11

Параметры уравнения (4.29)

Класс соединений	*a*	*b*	*r*	*n*	σ
Алканы	1,461	1,668	0.9976	5	0,08
Алкилбензолы	1,129	1,122	0.9802	11	0,13
Сложные эфиры	−2,088	1,441	0.9981	5	0,05
Кетоны	−1,588	1,367	0,9998	5	0,02
Спирты	−1,763	1,176	0,9965	8	0,10

где $\delta\chi_i$ — поправки к индексу связуемости, соответствующие структурным фрагментам, повышающим гидрофильность соединений. Значения $\delta\chi_i$ для некоторых структурных фрагментов следующие:

$-C_6H_5$	$-1{,}6$
$=C=O$	$-3{,}1$
$-COO-$	$-3{,}3$
$-OH$	$-3{,}5$

Эти инкременты, а также уравнения (4.29) и (4.30) позволяют прогнозировать коэффициенты емкости хроматографически не изученных монофункциональных соединений с относительной погрешностью не более 25% [36]. В то же время расчет по (4.30) величин χ_H полифункциональных соединений приводил впоследствии к заниженной в десятки и сотни раз величине k'. Установлено, что взаимное влияние полярных функциональных групп в молекуле проявляется даже при их значительной удаленности.

Отклонение χ_H от аддитивности $\Delta\chi_H$ прямо пропорционально числу функциональных групп n_f и среднему расстоянию между ними $v_{ср}$:

$$\Delta\chi_H = a_0 + a_1 n_f + a_2 r_{ср}. \qquad (4.31)$$

Данное уточнение позволило существенно повысить надежность прогнозирования коэффициентов емкости полифункциональных полупродуктов синтеза простагландинов [23].

Связь между площадью поверхности молекул сорбатов и их удерживанием продемонстрирована в [95] на примере спиртов, в [435] — на примере N-алкилбензамидов. В работах [95, 173, 361] обсуждается связь $\lg k'$ с объемом молекул.

Шаброн с соавт. [337] предложили корреляционный фактор F для описания поведения ароматических и гидроароматических соединений, содержащих также алкильные заместители. Численное значение фактора F равно числу двойных связей в молекуле плюс число первичных и вторичных атомов углерода минус 0,5 на каждое неароматическое кольцо. Результаты работы [212] показывают, что для данного класса веществ параметр F дает вполне приемлемую точность прогноза k'.

В некоторых работах для описания связи между строением и удерживанием используются функции нескольких переменных. Так, в [191] для описания поведения полиядерных ароматических углеводородов предложено уравнение

$$\lg I = a_0 + a_1 n_a + a_2\chi_3 + a_3 V + a_4 M_1 + a_5 M_2, \qquad (4.32)$$

где n_a — число ароматических колец; χ — индекс связуемости

кластера; V — мольный объем сорбата; M_1 — наименьший главный момент инерции; M_2 — отношение главных моментов инерции.

Уравнение (4.32) использовано для прогнозирования величины $\lg I$. Отклонение предсказанных значений от экспериментально измеренных в среднем составило около 0,2.

В работе [448] для аналогичных целей использовано уравнение

$$\lg I = a_0 + a_1\chi + a_2 L, \qquad (4.33)$$

где L — фактор, характеризующий отношение максимальной длины молекулы к ширине.

Факторы F и L использованы совместно в модели удерживания полиядерных ароматических углеводородов [248].

Линейная функция ван-дер-ваальсовых объемов, энергий ассоциации за счет образования π-комплексов и водородных связей предложена для описания удерживания ароматических кислот [171]. Показано, что параметры распределения электронной плотности монозамещенных ароматических соединений также линейно связаны с коэффициентами емкости [253].

4.1.2.3. УДЕРЖИВАНИЕ И ТЕМПЕРАТУРА КОЛОНКИ

Как любое другое химическое равновесие, равновесие сорбции в хроматографической системе определяется известным соотношением химической термодинамики

$$\Delta G^\circ = \Delta H^\circ - T\Delta S^\circ, \qquad (4.34)$$

где ΔG°, ΔH°, ΔS° — стандартное изменение парциальной мольной величины свободной энергии, энтальпии и энтропии соответственно.

Объединив уравнения (4.34) и (1.2), получим зависимость коэффициента емкости от температуры:

$$\ln k' = -\frac{\Delta H^\circ}{RT} + \frac{\Delta S^\circ}{R} + \ln\varphi. \qquad (4.35)$$

Влияние температуры на величины удерживания представляет интерес с нескольких точек зрения. Во-первых, уравнение (4.35) является ключевым соотношением, позволяет от величин удерживания перейти к термодинамическим параметрам и выяснить некоторые аспекты механизма сорбции. Во-вторых, применение жидкостной хроматографии для аналитических целей требует достижения максимально возможной воспроизводимости величин удерживания, и поэтому важно знать, в какой мере изменения температуры колонки способны повлиять на

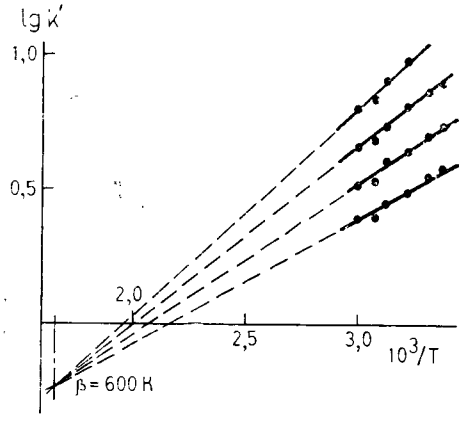


Рис. 4.10. Характерная зависимость удерживания ряда соединений, сорбируемых по одинаковому механизму, от температуры колонки. Данные из [292].

результаты процесса. Эта же информация необходима и в связи с тем, что работа при повышенной температуре колонок — удобное средство уменьшения вязкости подвижной фазы, снижения давления в колонке и повышения эффективности разделения. В-третьих, необходимо ответить на вопрос, может ли изменение температуры колонки служить средством изменения селективности разделения.

Рассмотрим некоторые аспекты термодинамики сорбции в обращенно-фазовой хроматографии. В работе [292] установлено, что для этого режима характерно проявление компенсационного эффекта, который выражается линейной зависимостью между параметрами ΔH° и ΔS° и свидетельствует о сходстве физико-химических процессов в рассматриваемом ряду соединений. Компенсационный эффект выражается уравнением

$$\Delta H^\circ = \beta \Delta S^\circ + \Delta G_\beta^\circ, \qquad (4.36)$$

где ΔG_β° — изменение свободной энергии взаимодействия при температуре β. В случае, когда такое компенсационное поведение наблюдается, значения β и ΔG_β° являются константами, β называется температурой компенсации. Семейства графиков Аррениуса для рассматриваемого класса веществ пересекаются при экстраполяции в точке с координатами $1/\beta$ и $\Delta G_\beta^0/RT$ (рис. 4.10).

Уравнение (4.36) может быть преобразовано для такого типа процессов в

$$\Delta G_T^\circ = \Delta H^\circ \left(1 - \frac{T}{\beta}\right) + \frac{T \Delta G_\beta^\circ}{\beta}, \qquad (4.37)$$

где ΔG_T° — изменение свободной энергии сорбции при температуре хроматографического разделения. Согласно этому уравнению, в случае компенсационного поведения графики $\Delta G_T^\circ = f(\Delta H^\circ)$ либо $\lg k' = f(\Delta H^\circ)$ представляют собой прямые линии, из углового коэффициента которых может быть рассчитана температура компенсации.

Согласно работе [292], в координатах $\lg k'$ — $-\Delta H^\circ$ прямая линия наблюдается для соединений, значительно различающихся по структуре: например, ароматических кислот, замещенных гидантоинов, производных бензола и фенилуксусной кислоты. Значения β, найденные в этой работе для веществ различных классов, различаются не слишком сильно, что свидетельствует об идентичности механизмов сорбции. Из данных по удерживанию, приведенных в работах [173, 310], мы нашли значения β еще для нескольких классов соединений (табл. 4.12). Погрешность определения величины β, насколько можно судить по данным [292], около ± 100 К; значит, механизмы сорбции всех рассмотренных классов веществ в основном одинаковы.

Компенсационные закономерности вообще довольно характерны для обращенно-фазовой хроматографии, из чего следует вывод, что с повышением температуры колонки все параметры удерживания должны не только уменьшаться по абсолютной ве-

Таблица 4.12

Температуры компенсации

Класс соединений	Неподвижная фаза	Подвижная фаза	β, К	Литературный источник, из которого взяты β или данные для расчета β (*)
Ароматические кислоты	Сферисорб ODS	Фосфатный буфер (pH 2,0), 6% ацетонитрила	647	[292]
Замещенные гидантоины, аллантоин и фенилуксусная кислота	Партисил ODS-2	Фосфатный буфер (pH 7,0), 30% ацетонитрила	596	[292]
Замещенные пронзводные бензола	Пермафаза ODS	Метанол—вода (4:6)	639	[292]
Диэтаноламиды карбоновых кислот	Хитачи Гель 3011	Метанол—вода (97:3)	615	[310]*
Полиядерные ароматнческие углеводороды	Гиперсил ODS	Ацетонитрил—вода (80:20)	582	[173]*
Спирты	То же	То же	761	[173]*
Алканы	"	"	744	[173]*

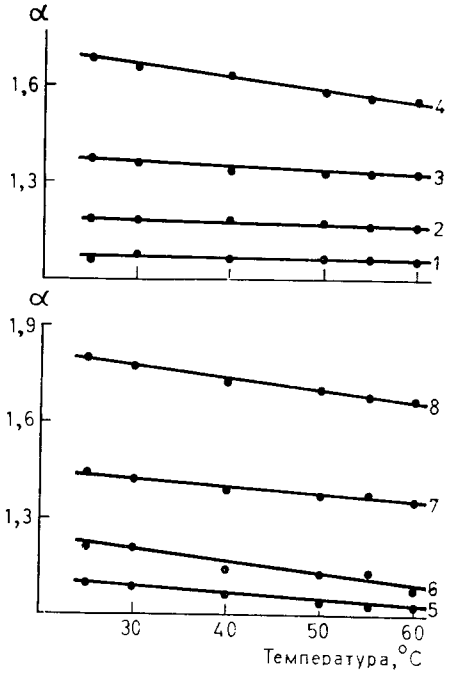


Рис. 4.11. Зависимость относительных удержнваемых объемов от температуры колонки. Пары веществ: *1* — бутилбензол—пентан; *2* — йодбензол—бромбензол; *3* — толуол—бензол; *4* — нафталин—бензол; *5* — декаиол—флуорен; *6* — додеканол—гексан; *7* — гексан—пентан; *8* — 1,2-дихлорбензол—бензол.

личине (так как $\Delta H°<0$), но и сближаться между собой. Во всяком случае, это должно быть справедливо для веществ близкого строения. Экспериментальное подтверждение сказанного приводится на рис. 4.11, где данные из [173] переработаны нами в виде зависимости относительных удерживаемых объемов от температуры колонки. Общая тенденция заключается в повышении селективности разделения при снижении температуры колонки. Для некоторых пар соединений этот эффект достаточно выражен (нафталин—бензол, додециловый спирт—пентан), для других минимален (бутилбензол—пентан, йодбензол—бромбензол). Следовательно, возможность изменения селективности необходимо иметь в виду, варьируя температуру колонки. В то же время ясно, что изменение температуры вряд ли способно привести к радикальным изменениям селективности, например обращению порядка элюирования. Этой цели несомненно проще можно добиться, заменив один органический модификатор подвижной фазы другим.

В то же время, если коэффициенты емкости используются для целей качественного анализа либо изучения физико-химических закономерностей, с их зависимостью от температуры нельзя не

считаться. Общее представление о величине этого эффекта можно получить с помощью параметра

$$V=\frac{(k'_1/k'_2)-1}{T_2-T_1}, \qquad (4.38)$$

где k'_2 и k'_1 — коэффициенты емкости при температурах T_2 и T_1 ($T_2>T_1$). Данный параметр характеризует изменение коэффициента емкости при изменении температуры колонки на 1°. Как явствует из табл. 4.13, изменение температуры на 1° влечет за собой изменение удерживания в среднем на 2%. Следовательно, без термостатирования колонки трудно добиться долговременной воспроизводимости величин удерживания, и использование термостатов для колонок в составе жидкостных хроматографов — не роскошь, а настоятельная необходимость.

Таблица 4.13

Величины V

Сорбат	Неподвнжная фаза	Подвнжная фаза	*V*	Литературный источнник, откуда позаимствованы k'_1, k'_2
Инозин	Зорбакс ODS	Метанол : 0,02 М фосфатный буфер, pH 5.5 (5:95)	0,028	[451]
Гуанозин	То же	То же	0,034	[451]
Моноэтаноламид стеариновой кислоты	Хитачи 3011	Метанол : вода (97:3)	0,036	[310]
Диэтаноламид пальмитнновой кислоты	То же	То же	0,025	[310]
Антрацен	Гиперсил ODS	Ацетоннтрил : вода (80:20)	0.014	[173]
Хлорбензол	То же	То же	0,009	[173]
Додециловый спирт	"	"	0,019	[173]
Ацетофенон	Октилсили-кагель	Метанол : вода (50:50)	0,019	[139]
Толуол	То же	То же	0,024	[139]
Толуол	"	Метанол : вода (60:40)	0,022	[139]
3,4-Дигидрофенил-уксусная кислота	Сферисорб ODS	Ацетонитрил : 0,05 М фосфатный буфер pH 2,0 (6:94)	0,028	[292]
4-Гидроксифенил-уксусная кислота	То же	0,05 М фосфатный буфер	0,015	[292]

4.1.2.4. УДЕРЖИВАНИЕ И СОСТАВ ПОДВИЖНОЙ ФАЗЫ

Приступая к обсуждению влияния концентрации органического компонента подвижной фазы на величины удерживания, целесообразно более подробно остановиться на состоянии алкилсиликагеля, находящегося в равновесии с бинарным водно-органическим растворителем. Уже из самых общих представлений ясно, что молекулы органического растворителя обладают бóльшим сродством к алкильным лигандам, чем вода. Поэтому следует ожидать их преимущественного концентрирования в приповерхностном слое, адсорбции на органических лигандах неподвижной фазы. При этом в зависимости от состава подвижной фазы и строения сорбента, вероятно, возможно образование как мономолекулярного слоя органического растворителя, так и более толстых слоев неподвижной фазы, состоящих из цепей органического лиганда, «пропитанных» молекулами органического компонента подвижной фазы. С другой стороны, если концентрация органического растворителя в подвижной фазе мала, сорбент ею не смачивается [350]. В этом легко может убедиться каждый, насыпав на поверхность воды щепотку сорбента. Ряд авторов высказали предположение, что в таком случае радикалы органических лигандов плотно прижимаются к поверхности силикагелевой матрицы или даже образуют своего рода переплетения, микроскопические капельки на поверхности силикагеля. При увеличении концентрации органического компонента цепи алкильных лигандов постепенно распрямляются, слой их становится более рыхлым, пока, наконец, не достигается полное смачивание подвижной фазой.

Процессы сорбции органических модификаторов из бинарных подвижных фаз были предметом специальных исследований. Вопрос этот представляет не только теоретический интерес, но и практический, так как сорбционная иммобилизация органических растворителей может влиять на фазовое отношение колонки и тем самым вносить неопределенность в величины t_0, V_0 и, следовательно, k' [294].

В работах [290, 291] показано, что обращенно-фазовые материалы сорбируют из бинарных растворителей значительные количества органического модификатора. Так, максимальное количество поглощаемого метанола составляет 2% от массы сорбента, ацетонитрила и тетрагидрофурана — до 10%. Эти цифры сопоставимы с типичными концентрациями органических лигандов в сорбенте, а значит, в определенных условиях неподвижная фаза фактически почти наполовину может состоять из органического модификатора.

Установлено [360], что сорбция метанола и ацетонитрила может быть причиной серьезных погрешностей при определе-

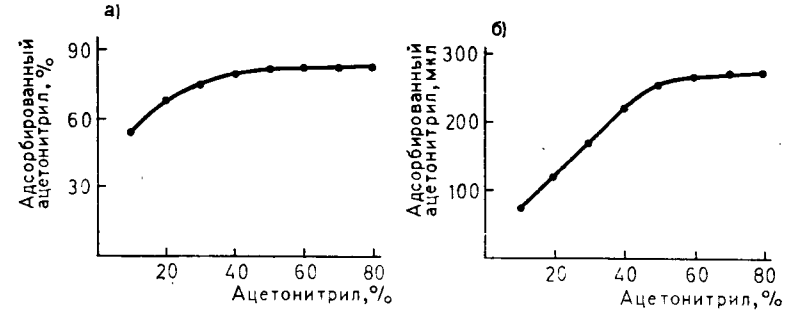


Рис. 4.12. Адсорбция ацетонитрила на поверхности Гиперсила С8 в зависимости от состава подвижной фазы. Колонка 4,6×150 мм. *а* — содержание ацетонитрила (%) в адсорбированной фазе; *б* — количество (мкл) адсорбированного ацетонитрила на поверхности сорбента.

нии объема подвижной фазы в колонке и, следовательно, величины t_0. Величина V_0 уменьшается с увеличением концентрации ацетонитрила от 0 до 50% приблизительно на 12%, а при дальнейшем увеличении концентрации ацетонитрила остается постоянной [453]. По мере увеличения концентрации ацетонитрила увеличивается его процентное содержание и объем в адсорбированной фазе (рис. 4.12). Содержание ацетонитрила в указанной фазе сильно зависит также от удельной поверхности сорбента [452].

Роль адсорбированного растворителя и наиболее правильный в методическом отношении способ измерения t_0 являются предметом продолжающейся дискуссии в литературе. Одна из последних рекомендаций на этот счет [129] предусматривает применение для определения t_0 дейтерированной воды, метанола, ацетонитрила при рефрактометрическом детектировании и нитрометана — при детектировании по УФ-поглощению.

Зависимость величин удерживания от количественного состава подвижной фазы следует уже из основополагающих работ по теории обращенно-фазовой хроматографии [202, 203]. Так, для оценки влияния концентрации органического растворителя в принципе могло бы быть использовано уравнение (4.5). Однако это математическое описание достаточно сложно и требует знания физико-химических параметров системы, которые нелегко найти в литературе либо определить экспериментально. Поэтому чаще всего пользуются упрощенными моделями, приводящими к вполне удовлетворительным результатам.

Яндера и Хурачек [219] предложили уравнение

$$\lg k' = a - mc + pc^2, \qquad (4.39)$$

где a, m, p — коэффициенты; c — объемная концентрация более сильного растворителя. Физический смысл коэффициентов раскрыт с помощью теории параметров растворимости Хильдебранда:

$$a=\left(\lg\frac{V_s}{V_m}+\frac{V_x}{2{,}3RT}\right)[(\delta_x-\delta_a)^2-(\delta_s-\delta_x)^2]; \quad (4.40)$$

$$m=\frac{2V_x}{2{,}3RT}(\delta_x-\delta_a)(\delta_b-\delta_a); \quad (4.41)$$

$$p=\frac{V_x}{2{,}3RT}(\delta_b-\delta_a)^2, \quad (4.42)$$

где δ_x, δ_s, δ_a, δ_b — параметры растворимости сорбата, сорбента, слабого и сильного компонента подвижной фазы соответственно, V_x — мольный объем сорбата; V_s и V_m — объемы неподвижной и подвижной фаз; R — газовая постоянная; T — абсолютная температура.

Впоследствии на основе теории индекса взаимодействия [230] также было получено выражение, формально идентичное (4.40), однако с другими значениями параметров a, m, p:

$$a=\lg\left(\frac{V_s}{V_m}\right)+\frac{V_x I_{H_2O} c_m}{2{,}3RT}(I_{H_2O}c_m-I_x c_x); \quad (4.43)$$

$$m=\frac{V_x c_m}{2{,}3RT}(2I_{H_2O}c_m-I_x c_x)(I_{H_2O}-I_{орг}); \quad (4.44)$$

$$p=\frac{V_x c_m^2}{2{,}3RT}(I_{H_2O}-I_{орг})^2, \quad (4.45)$$

где I_x, I_{H_2O}, $I_{орг}$ — индексы взаимодействия сорбата, воды и органического модификатора соответственно; c_m и c_x — константы, экспериментально определяемые из величин удерживания стандартных соединений.

Аналогичная модель предложена в работах [255, 341, 405].

Уравнение (4.39) довольно редко используется для описания и прогнозирования экспериментальных данных, поскольку влияние члена pc^2 сказывается лишь тогда, когда рассматривается очень широкий диапазон c. Практически при измерении коэффициентов емкости нецелесообразно выходить за пределы $1>k'>20$, а этим пределам отвечает довольно ограниченный диапазон c. Поэтому подавляющее большинство исследователей используют простейшее выражение

$$\lg k'=a-mc, \quad (4.46)$$

где $a=k'_w$ — коэффициент емкости, экстраполированный к нулевому содержанию органического растворителя в подвижной фазе. Как правило, уравнение (4.46) превосходно описывает экспериментальные данные, и обнаружить кривизну зависимости $\lg k'$—$\lg c$ не так легко.

Другой подход к описанию зависимости удерживания от концентрации органического модификатора основан на гипотезе о сольватации сорбата и сорбента [307]. Предположим, что:

1) молекула сорбата X в растворе сольватирована n молекулами органического растворителя (XB_n);

2) неподвижная фаза сольватирована m молекулами органического растворителя (SB_m);

3) при сорбции часть сольватирующих молекул растворителя B высвобождается в подвижную фазу.

Соответствующее уравнение может быть записано в виде

$$XB_n+SB_m \rightleftarrows XSB_{m+n-p}+pB, \quad (4.47)$$

где XSB_{m+n-p} — сорбированный комплекс; p — число молекул растворителя B, высвобождающееся при сорбции.

Константа равновесия может быть найдена как

$$K_p=\frac{[XSB_{m+n-p}][B]^p}{[XB_n][SB_m]}. \quad (4.48)$$

Коэффициент емкости определяется как произведение коэффициента распределения на фазовое отношение:

$$k'=\frac{[XSB_{m+n-p}]}{[XB_n]}\cdot\frac{V_s}{V_m}. \quad (4.49)$$

Подставив (4.48) в (4.49), получим

$$k'=\frac{K_p[SB_m]V_s}{[B]^p V_m}; \quad (4.50)$$

$$\lg k'=\lg K_p+\lg[SB_m]+\lg(V_s/V_m)-p\lg[B]. \quad (4.51)$$

Считая, что при достаточно большой концентрации органического растворителя величины $[SB_m]$ и V_s/V_m постоянны, получим простейшее линейное уравнение

$$\lg k'=b-p\lg C, \quad (4.52),$$

где p имеет ясный физический смысл — число молекул органического растворителя, вытесняемое с поверхности сорбента одной молекулой сорбата. Смысл свободного члена b в этом уравнении иной, чем в (4.46). Он соответствует логарифму коэффициента емкости при концентрации органического растворителя

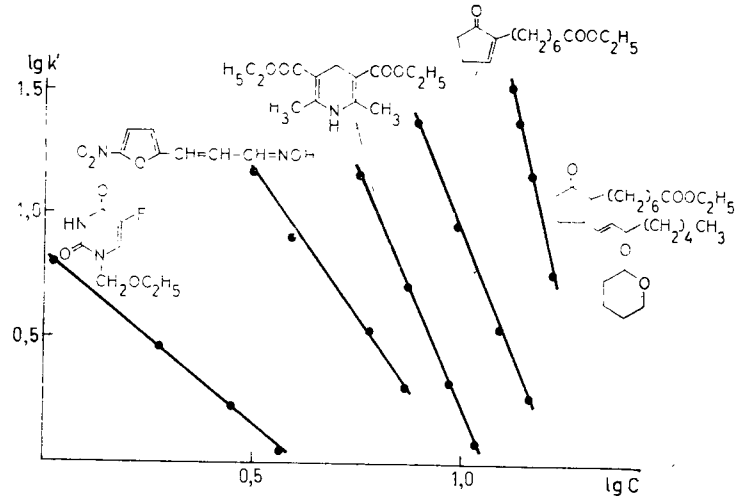


Рис. 4.13. Зависимость удерживания органнческих веществ — представнтелей различных классов от концентрации ацетонитрила в подвижной фазе.

1 моль/л. Подчеркнем, что по определению константы равновесия в уравнении (4.48) используется не объемная, а молярная концентрация растворителя *B*.

Уравнение (4.52) используется в литературе значительно реже, чем (4.46), однако, по нашему мнению, для пренебрежения им нет достаточных оснований. Мы использовали уравнение (4.52) для описания удерживания самых разнообразных классов соединений — алканов, алкилбензолов, алифатических кетонов, спиртов, производных адамантана, дигидропиридина, 5-фторурацила, циклопентанона, пептидов. Некоторые примеры зависимостей (4.52) представлены на рис. 4.13. Во всех случаях отклонение экспериментальных данных от прямых (4.52) было сопоставимо с погрешностью определения $\lg k'$. В пользу уравнения (4.52) свидетельствует также то обстоятельство, что числовые значения коэффициента p находятся в качественном соответствии со сравнительными размерами молекул сорбатов и органических модификаторов. Так, по данным [307], при элюировании бензола его молекула вытесняет около 6 молекул метанола, 4,5 молекулы этанола, 3 молекулы пропанола-2. В табл. 4.14 приведены параметры уравнения (4.52) для углеводородов, алкилбензолов и различных кислородсодержащих соединений. В качестве неподвижной фазы использован Зорбакс ODS, подвижная фаза состояла из ацетонитрила и воды в различных соотношениях. В гомологических рядах введение двух метиленовых групп приводило к увеличению параметра p примерно

Таблица 4.14

Параметры уравнения (4.52) для алканов, алкилбензолов и кислородсодержащих соединений

Вещество	b	p	r	n	σ	F
Пентан	5,593	−4,415	0,999	4	0,007	2525
Гексан	6,253	−4,842	0,999	5	0,011	3593
Гептан	7,041	−5,368	0,999	5	0,016	2001
Октан	8,027	−6,054	0,999	4	0,012	1637
Нонан	8,874	−6,623	0,999	4	0.015	1244
Бензол	3,268	−2,856	0,994	4	0,008	1616
Толуол	3,845	−3,238	0,999	4	0,007	2562
Этилбензол	4,440	−3,655	0,999	4	0,011	1344
н-Пропилбензол	4,918	−3,986	0,998	4	0,016	710
н-Бутилбензол	5,246	−4,211	0,999	4	0,012	1337
о-Ксилол	4,307	−3,543	0,999	4	0,012	1082
м-Ксилол	4,404	−3,598	0,998	4	0,015	709
п-Ксилол	4,404	−3,598	0,998	4	0,015	709
Кумол	4,937	−4.004	0,999	4	0,015	875
1,2,4-Триметилбензол	4,879	−3,907	0,999	4	0,015	828
1,2,4,5-Тетраметилбензол	5,341	−4,194	0,999	4	0,017	694
1-Метил-4-трет-бутилбензол	5,866	−4,611	0,999	4	0,013	1313
Этилбутират	2,875	−2,603	0,999	6	0,005	14670
Этилизовалерат	3,535	−3,079	0,999	6	0,007	12477
Этилкапроат	4,320	−3,624	0,999	6	0,005	30590
Метилкаприлат	5,090	−4,142	0,999	6	0,008	10033
Бутилацетат	2,821	−2,549	0,999	6	0,012	2571
Пентанон-2	1,723	−1,774	0,996	6	0,017	346
Гептанон-2	3,086	−2,730	0,998	6	0,020	1033
Октанон-2	3,732	−3,157	0,999	6	0,019	2414
Ундеканон-2	5,825	−4,579	0,999	6	0,009	4550
Гептанон-4	3,159	−2,789	0,999	6	0,011	3361
Пентанол-1	1,602	−1,674	0,998	6	0,015	944
Гексанол-1	2,205	−2,061	0,995	6	0,032	485
Гептанол-1	2,912	−2 547	0,997	6	0,031	831
Октанол-1	3,413	−2,846	0,998	6	0,023	867
Нонанол-1	4,090	−3,303	0,998	6	0,024	1104
Деканол-1	4,547	−3,552	0,999	6	0,013	1802
Пентанол-2	1,323	−1,444	0,998	6	0,013	992
3-Метилбутанол-1	1,446	−1,552	0,997	6	0,016	767

на единицу, что соответствует сравнительным размерам молекулы ацетонитрила и фрагмента —CH_2—CH_2—.

Независимо от того, какая из двух простейших зависимостей удерживания от состава подвижной фазы теоретически более строга, обе они имеют большое практическое значение, так как позволяют, при известных величинах удерживания для двух составов подвижных фаз, прогнозировать поведение при произвольном соотношении концентраций воды и органического растворителя. При этом зависимости (4.46) и (4.52) часто соблюдаются настолько хорошо, что возможна не только интерполяция

Параметры уравнений (4.46) и

Вещество	n	Уравнение (4.46)				
		a	$-m$	r	F	σ
Пентан	4	2,210	2,227	0,9976	421	0,018
Гексан	5	2,710	2,682	0,9984	976	0,021
Гептан	5	3,115	2,976	0,9990	1502	0,018
Октан	4	3,393	3,127	0,9990	1026	0,015
Нонан	4	3,806	3,423	0,9995	1877	0,012

удерживания между двумя крайними составами подвижной фазы, но и экстраполяция по уравнениям

$$\lg k'_1 = \lg k'_1 + \frac{c_i - c_1}{c_2 - c_1}(\lg k'_2 - \lg k'_1); \qquad (4.53)$$

$$\lg k'_i = \lg k'_1 + \frac{\lg C_i - \lg C_1}{\lg C_2 - \lg C_1}(\lg k'_2 - \lg k'_1). \qquad (4.54)$$

На основании анализа имеющихся экспериментальных данных можно полагать, что уравнения (4.46) и (4.52) одинаково хорошо описывают удерживание в тех случаях, когда сорбаты достаточно гидрофобны и, следовательно, хроматографирование происходит при высоких (например, выше 40%) концентрациях органического растворителя. Выяснить, какая из двух моделей лучше, мешает и то чисто математическое обстоятельство, что при больших c объемная концентрация и логарифм молярной концентрации с высокой точностью линейно коррелированы между собой. Так, для ацетонитрила в диапазоне 5—95% коэффициент корреляции составляет 0,933, в диапазоне 45—90% — 0,996, в диапазоне 5—45% —0,958.

В табл. 4.15 представлены параметры уравнений (4.46) и (4.52) для *н*-алканов и статистические критерии, характеризующие соответствие экспериментальных данных этим уравнениям. Видно, что качество описания величин удерживания обеими моделями практически одинаково.

В случае менее гидрофобных сорбатов, которые хроматографируют в подвижных фазах, содержащих органический растворитель в меньших концентрациях, уравнение (4.52) приводит к лучшим результатам. В табл. 4.16 и 4.17 представлены величины $\lg k'$ для производных 1,4-дигидропиридина и 5-фторурацила. Условно разделив эти данные на две группы — более и менее гидрофобные соединения, — можно сопоставить качество описания данных уравнениями (4.46) и (4.52). Согласно результатам табл. 4.18, при малых концентрациях ацетонитрила

Таблица 4.15

(4.52) для алканов

(4.46)	Уравнение (4.52)				
σ	b	$-p$	r	F	σ
0,018	5,593	4,415	0,9996	2525	0,007
0,021	6,253	4,842	0,9995	3593	0,011
0,018	7,041	5,368	0,9992	2001	0,016
0,015	8,027	6,054	0,9993	1637	0,012
0,012	8,874	6,623	0,9992	1244	0,015

(первые 11 строк) уравнение (4.52) обладает выраженными преимуществами.

Оценка возможности экстраполяции данных по уравнениям (4.53) и (4.54) выполнена нами следующим образом. В качестве концентраций c_i,c_1 и c_2 выбраны такие комбинации (%):

C_1	C_2	C_i
60	70	50
20	30	10

Сравнение расчетных значений с экспериментально найденными, приведенное на рис. 4.14, свидетельствует о том, что при

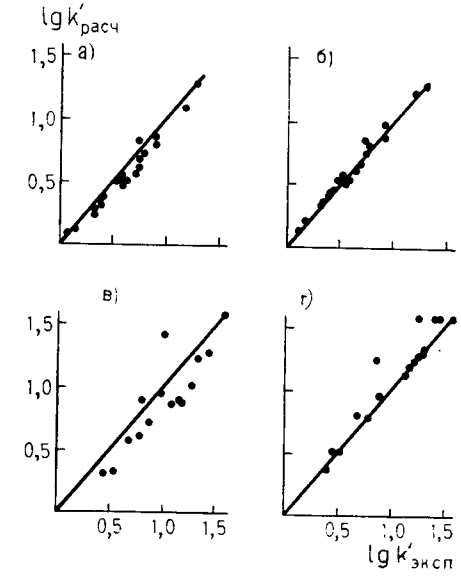
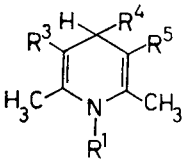


Рис. 4.14. Сравнение экспериментально найденных величин удерживания производных 5-фторурацила и 1,4-дигидропиридина с рассчитанными по уравнениям (4.53) (*а,в*) и (4.54) (*б,г*) для концентраций ацетонитрила в подвижной фазе 50% (*а,б*) и 10% (*в,г*).

Таблица 4.16

Логарифмы коэффициентов емкости производных 1,4-дигидропиридина



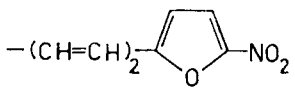
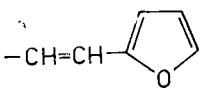
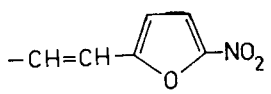
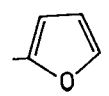
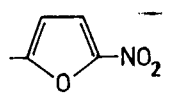
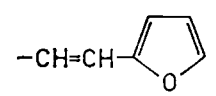
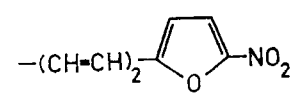
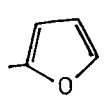
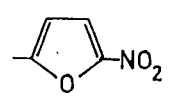
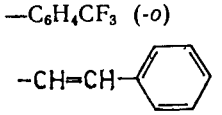
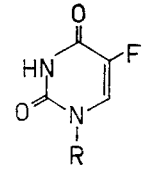
№ п/п	$R_3=R_5$	R_4	R_1	Концентрация CH_3CN, %					
				30	40	50	60	70	80
1	$-COOC_2H_5$	$-H$	$-H$	1,20	0,73	0,34	0,07		
2	$-COOC_2H_5$	$-CH_3$	$-H$		0,81	0,41	0,12	−0,14	
3	$-COOC_2H_5$	$-C_6H_5$	$-H$		1,06	0,56	0,23	−0,062	
4	$-COOC_2H_5$	$-H$	$-CH_3$			0,59	0,30	0,11	−0,12
5	$-COOC_2H_5$	$-C_6H_5$	$-CH_3$			0,79	0,43	0,12	−0,08
6	$-COOC_2H_5$		$-H$			0,69	0,28	0,007	−0,27
7	$-COOC_2H_5$		$-H$		1,095	0,58	0,22	−0,02	−0,3
8	$-COOC_2H_5$		$-H$		1,07	0,54	0,18	−0,12	
9	$-COOC_2H_5$		$-H$		0,80	0,35	0,02	−0,25	
10	$-COOC_2H_5$		$-H$		0,89	0,40	0,065	−0,22	
11	$-COOCH_3$		$-H$		0,72	0,28	−0,11	−0,26	
12	$-COOCH_3$		$-H$		0,91	0,40	0,01	−0,29	
13	$-COOCH_3$		$-H$	0,85	0,42	0,05	−0,25		
14	$-COOCH_3$		$-H$		0,51	0,11	−0,2	−0,52	
15	$-COOCH_3$	$-C_6H_4OCHF_2(-o)$	$-H$		0,81	0,34	−0,02	−0,29	
16	$-COOCH_3$	$-C_6H_4NO$ $(-o)$	$-H$		0,59	0,18	−0,087	−0,31	
17	$-COOC_2H_5$	$-C_6H_4CF_3$ $(-o)$	$-H$			0,77	0,39	−0,08	−0,19
18	$-COOC_2H_5$		$-H$			0,75	0,39	0,097	−0,18
19	$-COOCH_3$	$-C_6H_4SCHF_2$	$-H$		1,06	0,55	0,20	−0,09	
20	$-COSC_2H_5$	$-H$	$-H$			0,94	0,61	0,39	0,16
21	$-COSC_2H_5$	$-C_6H_4NO_2(-o)$	$-H$			0,72	0,33	0,061	−0,27
22	$-COOC_6H_{11}$	$-H$	$-H$				1,14	0,82	0,53
23	$-COOC_6H_{11}$	$-CH_3$	$-H$				1,15	0,88	0,61
24	$-COOC_6H_{11}$	$-C_6H_5$	$-H$				1,21	0,90	0,51

Таблица 4.17

Логарифмы коэффициентов емкости производных 5-фторурацила



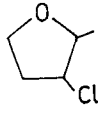
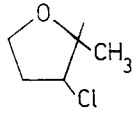
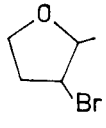
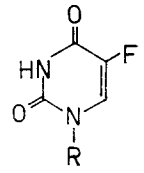
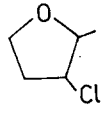
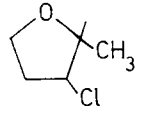
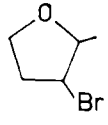
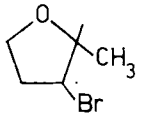
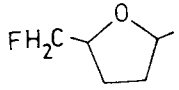
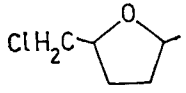
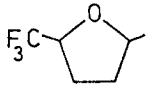
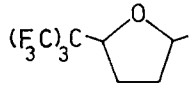
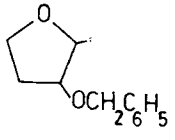
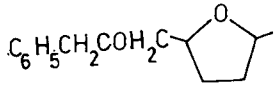
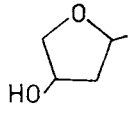
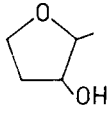
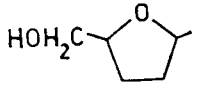
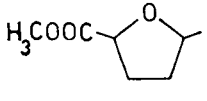
№ п/п	Радикал	Концентрация ацетонитрила в подвижной фазе, %												
		2	3	5	10	15	20	25	30	40	50	60	70
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
1	$-CH_2OCH_3$			0,389	0,104	−0,086	−0,26						
2	$-CH_2OC_2H_5$			0,822	0,49	0,238	0,037	−0,092	−0,26				
3	$-CH_2OC_3H_7$				0,967	0,691	0,764	0,260	0,072				
4	$-CH_2OC_4H_9$				1,468	1,158	0,872	0,639	0,407				
5	$-CH_2OC_5H_{11}$								0,766	0,301	−0,125		
6	$-CH_2OC_6H_{13}$								1,159	0,614	0,151		
7	$-CH_2OC_7H_{15}$									0,943	0,412	0,047	
8	$-CH_2OC_8H_{17}$									1,273	0,682	0,271	
9	$-CH_2OC_9H_{19}$										0,944	0,500	0,125
10	$-CH_2OC_{10}H_{21}$										1,209	0,716	0,332
11	$CH_3CHOC_2H_5$ (	)			1,294	0,918	0,633	0,389	0,238	0,037				
12	$CH_3CHOC_3H_7$ (	)				1,435	1,114	0,834	0,611	0,373				
13	$CH_3CHOC_4H_9$ (	)					1,550	1,267	1,004	0,707				
14	$-CH_2OCH_2CH_2OCH_3$			0,765	0,367	0,104	−0,137	−0,194					
15	$-CH_2OCH_2CH_2OC_2H_5$			1,176	0,722	0,422	0,161	0,00					
16	$-CH_2OCH_2CH_2Cl$			1,029	0,707	0,477	0,281	0,134	−0,041				
17	$-CH_2OCH_2CH_2OH$			0,104	−0,194								
18	$-CH_2OCH_2CH_2COOCH_3$			0,975	0,538	0,238	0,037	−0,137	−0,260				
19				1,025	0,581	0,312	0,130						
20					1,123	0,800	0,580	0,402	0,255				
21						1,268	0,945	0,685	0,470	0,133			
22					1,191	0,800	0,538	0,325	0,145				

Таблица 4.17

Логарифмы коэффициентов емкости производных 5-фторурацила



№ п/п	Радикал	Коицентрация ацетонитрила в подвижной фазе, %												
		2	3	5	10	15	20	25	30	40	50	60	70
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
1	$-CH_2OCH_3$			0,389	0,104	−0,086	−0,26						
2	$-CH_2OC_2H_5$			0,822	0,49	0,238	0,037	−0,092	−0,26				
3	$-CH_2OC_3H_7$				0,967	0,691	0,764	0,260	0,072				
4	$-CH_2OC_4H_9$				1,468	1,158	0,872	0,639	0,407				
5	$-CH_2OC_5H_{11}$								0,766	0,301	−0,125		
6	$-CH_2OC_6H_{13}$								1,159	0,614	0,151		
7	$-CH_2OC_7H_{15}$									0,943	0,412	0,047	
8	$-CH_2OC_8H_{17}$									1,273	0,682	0,271	
9	$-CH_2OC_9H_{19}$										0,944	0,500	0,125
10	$-CH_2OC_{10}H_{21}$										1,209	0,716	0,332
11	$CH_3CHOC_2H_5$			1,294	0,918	0,633	0,389	0,238	0,037				
12	$CH_3CHOC_3H_7$				1,435	1,114	0,834	0,611	0,373				
13	$CH_3CHOC_4H_9$					1,550	1,267	1,004	0,707				
14	$-CH_2OCH_2CH_2OCH_3$			0,765	0,367	0,104	−0,137	−0,194					
15	$-CH_2OCH_2CH_2OC_2H_5$			1,176	0,722	0,422	0,161	0,00					
16	$-CH_2OCH_2CH_2Cl$			1,029	0,707	0,477	0,281	0,134	−0,041				
17	$-CH_2OCH_2CH_2OH$			0,104	−0,194								
18	$-CH_2OCH_2CH_2COOCH_3$			0,975	0,538	0,238	0,037	−0,137	−0,260				
19				1,025	0,581	0,312	0,130						
20					1,123	0,800	0,580	0,402	0,255				
21						1,268	0,945	0,685	0,470	0,133			
22					1,191	0,800	0,538	0,325	0,145				

1	2	3	4	5	6	7
23						
24				1,285	0,810	0,527
25						1,317
26						1,295
27						
28						
29						
30		0,900	0,715	0,490	0,184	0,00
31		0,907	0,828	0,496	0,145	
32			1,125	0,680	0,345	0,143
33						0,628

Продолжение таблицы 4.17

8	9	10	11	12	13	14
1,170	0,830	0,556	0,131			
0,331	0,171	0,043				
0,928	0,669	0,455	0,280			
0,945	0,660	0,415	0,050			
		1,602	0,910	0,350		
	1,112	0,746	0,175			
	1,285	0,930	0,357			
0,007						
0,405	0,222	0,083				

Окончание таблицы 4.17

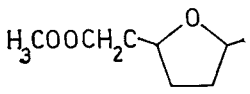
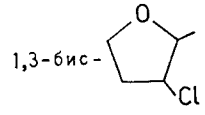
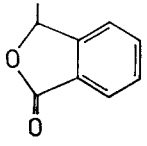
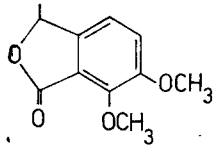
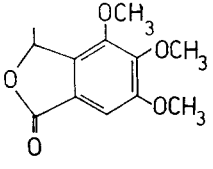
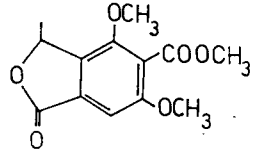
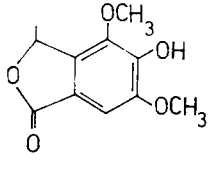
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
34					1,210	0,761	0,461	0,212	0,007				
35								1,445	1,131	0,612	0,215		
36				1,387	1,004	0,751	0,550	0,356	0,134				
37					1,375	1,037	0,772	0,538	0,260				
38						1,337	1,045	0,765	0,436				
39						1,403	1,100	0,816	0,464				
40					0,839	0,602	0,422	0,161	−0,086				

Таблица 4.18

Параметры уравнений (4.46) и (4.52) для производных 5-фторурацила и 1,4-дигидропиридина

№ п/п	Номер вещества по табл. 4.17 либо табл. 4.16*	Уравнение (4.46)					Уравнение (4.52)				
		a	$-m$	r	F	σ	b	$-p$	r	F	σ
1	1	0,57	0,04	0,993	134	0,04	0,38	1,06	0,997	305	0,03
2	2	0,94	0,04	0,986	137	0,07	0,84	1,38	0,996	441	0,04
3	11	1,44	0,05	0,988	161	0,08	1,32	1,60	0,994	343	0,06
4	14	0,91	0,05	0,970	48	0,11	0,75	1,43	0,997	431	0,04
5	15	1,37	0,06	0,984	88	0,10	1,17	1,70	0,998	835	0,03
6	16	1,25	0,05	0,958	44	0,15	1,15	1,62	0,996	472	0,05
7	18	1,07	0,05	0,974	75	0,12	0,97	1,60	0,999	3091	0,02
8	20	0,92	0,07	0,969	46	0,12	0,47	1,03	0,999	78057	0,002
9	21	1,71	0,04	0,994	176	0,04	2,52	2,70	0,999	327110	0,003
10	23	2,14	0,05	0,993	151	0,06	3,18	3,45	0,999	33304	0,004
11	35	2,63	0,05	0,996	253	0,06	4,23	4,10	0,999	35623	0,005
12	4*	1,73	0,02	0,996	286	0,03	3,98	3,46	0,999	2752	0,01
13	5*	2,21	0,03	0,992	129	0,06	5,04	4,36	0,996	225	0,04
14	6*	2,23	0,03	0,994	185	0,05	5,28	4,70	0,999	907	0,02

уменьшении концентрации органического растворителя уравнение (4.53) дает все возрастающую систематическую погрешность и при малых c использование формулы (4.54) предпочтительнее.

При рассмотрении зависимости параметров удерживания от концентрации органического модификатора для родственных соединений обнаруживается интересное явление, аналогичное эффекту компенсации энтропии и энтальпии. Согласно рис. 4.13, прямые для отдельных соединений располагаются веерообразно и при экстраполяции пересекутся приблизительно в одной области графика. Аналитическим выражением для этого эффекта является корреляция между членами b и p уравнения (4.52):

$$b = b_0 + b_1 p. \qquad (4.55)$$

Параметры уравнения (4.55), найденные нами для ряда классов соединений, приведены в табл. 4.19. Аналогичные данные, полученные после соответствующей математической обработки величин удерживания, опубликованных в литературе, приведены в табл. 4.20.

Сведения, подтверждающие веерообразное расположение прямых $\lg k'$—$\lg C$ или $\lg k'$—c, имеются также в работах [96, 99, 121, 192, 228, 307, 310, 319, 339, 341].

Коэффициенты корреляции уравнения (4.55), как правило, превышают 0,99. Нам известны лишь единичные случаи, когда

Таблица 4.19

Параметры уравнения (4.55). Сорбент — Зорбакс ODS

Класс соединений	Ацетонитрил, пределы концентрации, %	b_0	b_1	r
Алканы	60—100	−0,953	−1,458	0,999
Алкилбензолы	50—100	−0,953	−1,482	0,999
Сложные эфиры	30—70	−0,837	−1,427	0,999
Кетоны	30—70	−0,904	−1,467	0,999
Спирты	30—70	−0,931	−1,527	0,999
Алканы, алкилбензолы, сложные эфиры, кетоны, спирты	30—100	−0,873	−1,466	0,999
Кислородсодержащие пронзводные цнклопентана	20—70	−0,963	−1,482	0,998
Производные 5-фторурацила	5—70	−0,635	−1,165	0,995
Производные 1,4-дигидропиридина	20—70	−1,388	−1,439	0,983
Пептнды	20—50	−1,001	−1,168	0,992
Пептнды*	20—50	−0,835	−1,127	0,983

* Сорбент — Силасорб С18.

соединения одного класса не подчинялись уравнению (4.55). Можно поэтому считать, что данная закономерность универсальна для обращенно-фазовой хроматографии. Пересечение прямых $\lg k' - \frac{1}{T}$ в одной точке при компенсации энтропии и энтальпии (см. 4.1.2.3) указывает на общность механизма удерживания в рассматриваемом ряду веществ. Аналогичным образом можно предположить, что стремление прямых $\lg k'$—$\lg C$ к изопараметрической точке с координатами $\lg k' = b_0$, $\lg c = -b_1$ свидетельствует о том, что вещества данного ряда сорбируются по одинаковому механизму. Интересно отметить, что аналогичная закономерность наблюдается для зависимостей (4.23) и (4.24). Так, прямые $\lg k'$—n_c, соответствующие различным концентрациям органического растворителя в подвижной фазе, также располагаются веерообразно, и коэффициенты уравнений (4.23) и (4.24) a и b коррелированы между собой:

$$a = a_0 + a_1 b. \qquad (4.56)$$

Обнаруженная закономерность может быть интерпретирована в рамках теории сольвофобной хроматографии Хорвата [202], согласно которой для родственных соединений справедливо соотношение

$$\lg k' = A'' + \frac{N}{RT}\gamma\Delta A, \qquad (4.57)$$

Таблица 4.20

Параметры уравнения (4.55), рассчитанные по литературным данным

Класс соединений	Сорбент	Органический модификатор*, пределы концентрации, %	b_0	b_1	r**	Литература
Ароматические кислоты	Хитачи 3011	А, 20—50	−0,486	−1,340	0,997	[174]
	Хромосорб LC-8	А, 10—70	−0,967	−1,467	0,980	[172]
N-алкилбензамиды	Партисил ODS-2	А, 20—40	−0,716	−1,394	0,981	[436]
	То же	М, 20—40	−0,761	−1,524	0,999	[436]
Ароматические нитросоединения	Лихросорб RP18	А, 60—80	−0,227	−1,394	0,992	[68]
Барбитураты	Партисил ODS	М, 30—50	−0,320	−1,362	0,998	[434]
	Партисил ODS-2	М, 30—50	−1,170	−1,619	0,996	[434]
N-замещенные фталимиды	Лихросорб RP18	М, 50—80	−1,726	−1,545	0,947	[122]
Производные пиридазинона	То же	М, 55—80	−1,647	−1,492	0,997	[80]
Различные ароматические и алифатические соединения	Лихросорб RP8	А, 0—100	−0,808	−1,391	0,994	[197]
Ароматические углеводороды	То же	М, 20—80	−0,145	−1,352	0,999	[197]
	»	Э, 20—80	−0,239	−1,160	0,999	[197]
Ароматические углеводороды	»	Т, 30—90	−0,443	−0,975	0,997	[197]
	»	П, 10—60	−0,544	−1,050	0,996	[197]
Изомерные алкилбензолы	Гиперсил ODS	М, 40—50	−0,556	−1,349	0,997	[361]
Алкилпарабены	Бондапак C18	М, 50—70, 36°С	−0,306	−1,353	0,993	[64]
	То же	М, 50—70 52°С	−0,275	−1,295	0,999	[64]
Ароматические соединения	Зорбакс ODS	М, 45—70	−0,235	−1,267	0,996	[117]
	То же	Т, 40—50	−0,541	−0,976	0,998	[117]
	»	А, 40—75	−1,306	−1,540	0,998	[117]
Желчные кислоты	Нуклеосил C18	А, 40—70; Ф pH 3	−0,921	−1,412	0,972	[285]
	То же	М, 65—85; Ф pH 3	−0,372	−1,397	0,996	[285]
	»	А, 35—60; Ф pH 7,5, ТБА 0,005 М	−0,507	−1,399	0,945	[285]
	»	М, 65—85; Ф pH 7, 5, ТБА 0,005 М	−1,619	−1,387	0,992	[285]
Метиловые эфиры карбоновых кислот	Гиперсил ODS	М, 10—100	−0,631	−1,387	0,999	[96]
Алкилбензолы	То же	М, 60—100	−1,210	−1,471	0,999	[96]
	»	Т, 30—80	−0,607	−1,053	0,997	[96]
Алканы	»	М, 60—90	−0,886	−1,416	0,997	[96]
Фенолы	Бондапак C18	М, 50—80	−0,242	−1,440	0,999	[434]
Замещенные N этилбензамиды	Сферисорб ODS-2	М, 40—70	−0,895	−1,867	0,999	[276]
	Бондапак C18	М, 40—70	−0,388	−1,326	0,999	[276]
	Нуклеосил 7-C_6H_5	М, 40—70	−0,190	−1,304	0,999	[276]

* А — ацетонитрил; М — метанол; Э — этанол; П — пропанол; Т — тетрагидрофуран; Ф — фосфатный буфер; ТБА — тетрабутиламмоний.

** r — коэффициент корреляции.

где A'' — константа для данного класса веществ; γ — поверхностное натяжение подвижной фазы; N — число Авогадро; ΔA — уменьшение общей неполярной поверхности в результате образования адсорбированного комплекса. Следовательно, коэффициент b уравнения (4.52) может быть представлен в виде

$$b=A''+\frac{N}{RT}\gamma_1\Delta A, \qquad (4.57')$$

где γ_1 — поверхностное натяжение подвижной фазы, содержащей 1 моль/л органического модификатора.

Параметр ΔA для данного класса веществ пропорционален общей площади гидрофобной поверхности молекулы сорбата

$$\Delta A=\alpha A_x. \qquad (4.58)$$

С другой стороны, чем больше гидрофобная поверхность молекулы сорбата, тем больше сольватирующих молекул органического растворителя с нею связано, и поэтому между параметром p уравнения (4.52) и A_x также существует линейная зависимость

$$A_x=sp, \qquad (4.59)$$

где s — средняя площадь неполярной поверхности, сольватируемая одной молекулой органического растворителя. Объединив уравнения (4.57′—4.59), получим уравнение

$$b=A''+\left(\frac{N}{RT}\gamma_1\alpha s\right)p, \qquad (4.60)$$

совпадающее по форме с уравнением (4.55) и раскрывающее физический смысл коэффициентов b_0 и b_1. Коэффициент

$$b_1=\frac{N}{RT}\gamma_1\alpha s \qquad (4.61)$$

не содержит параметров, связанных с природой рассматриваемого сорбента, а всецело определяется параметрами подвижной фазы. Этот теоретический вывод получил свое экспериментальное подтверждение в данных табл. 4.19 и 4.20.

Рассмотрим величины b_1 для алканов, алкилбензолов, сложных эфиров, кетонов и спиртов (см. табл. 4.19). Из таблицы видно, что они лишь незначительно колеблются около средней величины. Объединение всех соединений в одну группу также не привело к изменению величины параметра b_1. Более того, этот параметр мало изменился при переходе к более сложным, полифункциональным производным 1,4-дигидропиридина и циклопентана. Исключение составили высокополярные сорбаты —

производные 5-фторурацила и пептиды. Внутри этих классов, разумеется, зависимость (4.55) также соблюдается, однако отличающееся значение b_1 позволяет предположить, что механизм их сорбции несколько отличен от такового для других классов веществ. Величины b_0 хотя и менее стабильны, чем b_1, но также колеблются в довольно узких пределах. Согласно уравнению (4.57), b_0 равно параметру A'' сольвофобной теории Хорвата и является сложной функцией свойств компонентов системы — мольных объемов, дипольных моментов, поляризуемости и др. Поэтому, естественно, особенности рассматриваемых систем оказывают на этот параметр большое влияние. Роль сорбента позволяют проследить данные табл. 4.20, в которой сопоставлены величины b_0 и b_1, полученные для набора монофункциональных соединений. Коэффициент b_1 весьма устойчив, в то время как b_0 подвержен заметным колебаниям.

Вывод теории о том, что величина параметра b_1 определяется преимущественно характером органического растворителя, подтверждается при анализе данных табл. 4.20. Средние величины b_1 уменьшаются с увеличением элюирующей силы органического растворителя либо его гидрофобности. Полученные данные позволяют утверждать, что если сорбаты некоторой группы удерживаются по сходному механизму, то для них выполняется зависимость (4.55). Параметр b_1:

— независим от типа сорбатов;

— независим от типа неполярного сорбента;

— сохраняет постоянство даже в присутствии буферных растворов и ион-парных агентов;

— уменьшается с ростом гидрофобности органического растворителя.

Таким образом, подчинение или неподчинение сорбата уравнению (4.55) в сравнении с другими сорбатами может служить критерием единства механизма сорбции. С другой стороны, эта зависимость может быть использована для интерпретации механизма удерживания как адсорбционного или распределительного. Рассуждения, аналогичные приведенным выше относительно природы закономерности (4.55), могут быть применены и к распределению в модельных системах жидкость—жидкость. Если в качестве полярной фазы используем бинарные растворители, аналогичные подвижным фазам обращенно-фазовой хроматографии, то для коэффициентов распределения P получим зависимости, аналогичные (4.52) и (4.55):

$$\lg P=b_p-p_p\lg C, \qquad (4.62)$$

$$b_p=b_{0p}+b_{1p}p_p, \qquad (4.63)$$

где b_p, p_p, b_{0p}, b_{1p} — коэффициенты. Для анализа механизма удерживания сопоставим поведение алкилбензолов в обращенно-

Таблица 4.21

Параметры уравнений (4.52) и (4.62) для алкилбензолов

Соединение	Уравнение (4.52)				Уравнение (4.62)			
	b	p	r	F	b_p	p_p	r	F
Органический модификатор — ацетонитрил								
Бензол	2,97	−2,62	0,992	119	3,86	−2,87	0,999	1452
Толуол	3,64	−3,09	0,995	199	4,65	−3,51	0,999	2994
о-Ксилол	4,12	−3,41	0,997	323	5,53	−4,09	0,999	2828
Псевдокумол	4,78	−3,85	0,997	384	5,94	−4,26	0,999	2911
Дурол	5,22	−4,12	0,998	436	6,59	−4,69	0,999	2531
Метанол								
Бензол	5,25	−4,24	0,998	424	5,83	−4,00	0,991	214
Толуол	6,31	−4,90	0,997	331	6,71	−4,55	0,992	231
о-Ксилалол	7,13	−5,40	0,998	488	7,64	−5,05	0,987	151
Псевдокумол	8,21	−6,08	0,998	501	8,60	−5,64	0,989	182
Дурол	9,07	−6,61	0,997	394	8,79	−5,63	0,984	124
Этанол								
Бензол	3,52	−3,40	0,999	3271	4,79	−3,79	0,997	1567
Толуол	4,31	−3,98	0,999	5542	5,61	−4,60	0,998	2341
о-Ксилол	4,99	−4,47	0,999	14225	6,48	−5,04	0,996	520
Псевдокумол	5,71	−4,98	0,999	9743	7,17	−5,54	0,994	357
Дурол	6,30	−5,38	0,999	8219	7,65	−5,84	0,991	225
Пропанол-2								
Беизол	2,68	−3,08	0,999	1768	4,00	−3,35	0,993	139
Толуол	3,29	−3,60	0,999	3528	4,68	−3,84	0,991	116
о-Ксилол	3,63	−3,84	0,999	1466	5,18	−4,32	0,990	101
Псевдокумол	4,14	−4,25	0,999	1966	5,45	−4,43	0,983	57
Дурол	4,50	−4,51	0,999	1744	5,99	−4,98	0,990	105

фазовой хроматографии и при распределении жидкость—жидкость в модельных системах (данные Л. А. Бривкалне). Параметры уравнений (4.52) и (4.62) представлены в табл. 4.21, параметры уравнений (4.55) и (4.63). — в табл. 4.22. Анализ приведенных данных показывает, что величины b_p в среднем выше b на 1,0, что качественно соответствует логарифму фазового отношения использованной колонки. Величины p близки к p_p, и между ними наблюдается линейная связь как в режиме хроматографии, так и при распределении. Величина b_1 для различных органических растворителей в режиме хроматографии близка к аналогичному параметру b_{1p} для распределения жидкость—жидкость. Порядок изменения этих величин в ряду метанол—ацетонитрил—этанол—пропанол-2 совпадает с порядком изменения элюирующей силы модификаторов. Из всей совокупности данных следует, что механизм обращенно-фазовой хроматографии указанного класса соединений близок к распределительному.

Существование общей точки пересечения прямых (4.52) представляет практический интерес, так как позволяет прогнозировать удерживание при произвольных концентрациях органического растворителя исходя из одного экспериментального значения k'. На рис. 4.15 результаты такого рода прогноза для производных 1,4-дигидропиридина сопоставлены с экспериментальными данными. Для расчета использована модификация уравнения (4.54):

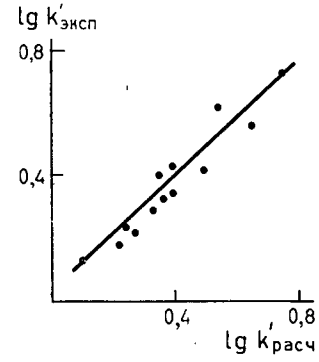


Рис. 4.15. Прогиозирование удерживания производных 1,4-дигидропиридина по модели (4.64).

$$\lg k'_i = \frac{\lg C_i + b_1}{\lg C_1 + b_1}(\lg k'_1 - b_0) + b_0. \qquad (4.64)$$

Для данного массива соединений $b_0 = -1{,}39$; $b_1 = -1{,}44$. Чтобы охарактеризовать возможность этого подхода для экстраполяции в широком интервале концентраций, в качестве C_1 брали самую низкую концентрацию ацетонитрила, для которой имелись экспериментальные данные. Прогнозировали удерживание при самых высоких значениях C. По представленным данным, надежность такого прогноза вполне удовлетворительна.

Если для конкретной хроматографической системы и класса сорбатов величины b_0 и b_1 неизвестны, то для ориентировочной оценки удерживания вместо них в уравнение 4.64 могут быть подставлены средние значения, найденные при обобщении данных табл. 4.18: ацетонитрил — $b_0 = -0{,}83$, $b_1 = -1{,}41$; метанол — $b_0 = -0{,}71$, $b_1 = -1{,}41$.

Особую с точки зрения зависимости удерживания от концентрации органического растворителя группу веществ составляют

Таблица 4.22

Параметры уравнений (4.55) и (4.63) для алкилбензолов

Органический компонент полярной фазы	Уравнение (4.55)				Уравнение (4.63)			
	$-b_0$	$-b_1$	r	F	$-b_{0p}$	$-b_{1p}$	r	F
Ацетоинтрил	0,853	1,471	0,999	3231	0,441	1,489	0,998	1026
Метаиол	1,372	1,571	0,999	5417	1,207	1,756	0,998	931
Этаиол	1,501	1,441	0,999	3211	0,454	1,379	0,999	2714
Пропаиол-2	1,230	1,271	0,999	7003	0,104	1,233	0,997	841

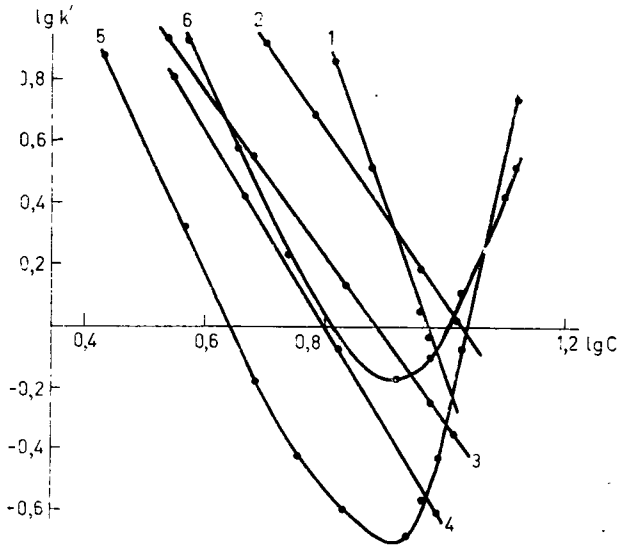


Рис. 4.16. Зависимость удерживания пептидов от концентрации ацетонитрила в подвижной фазе. Сорбент—Зорбакс ODS, подвижная фаза приготавливалась на основе 0,1 М фосфатного буфера (pH 2,5). *1—4* — пептиды с защищенными аминогруппами; *5, 6* — свободные пептиды: *1* — Z-Ser-Tyr-Ser--Met-ONb; *2* — Z-Val-Gly-OEt; *3* — 2HCl·H-His-Phe-ONb; *4* — Z-Ser-Tyr--Ser-Met-OH; *5* — Asn-Arg-Val-Tyr-Val-His-Pro-Phe; *6* — *цикло*-(Lys-Pro--Gly-Phe-Gly-Pro-Phe-Arg).

органические основания. В то время как для всех остальных сорбатов параболический характер зависимости $\lg k' = f(c)$ экспериментально обнаружить нелегко, для оснований он выражен совершенно явно, хотя причины этого определенно отличаются от общих причин, описанных в [219, 230, 341, 405]. Соединения такого типа, как правило, хроматографируют в присутствии буферных растворов с pH 2—7. При увеличении концентрации органического растворителя сначала, как обычно, коэффициенты емкости уменьшаются, а при концентрациях 30—60% этот процесс сменяется противоположным. Кривая, выражающая зависимость $\lg k'$ от c (или $\lg C$) в широком интервале величин C, приобретает выраженный параболический характер. По-видимому, впервые это явление было систематически изучено в работе [164] на примере ряда полипептидных гормонов. В дальнейшем такое поведение было выявлено и у более коротких пептидов: окситоцина, 2-эндорфина, ранатензина [430]. Исследование различных синтетических пептидных фрагментов показало [4], что параболическая зависимость $\lg k'$ — $\lg C$ присуща только пептидам с незащищенными аминогруппами (рис. 4.16). Наконец, согласно работе [124], такая зависимость

наблюдается и для широкого круга протонированных лекарственных препаратов основного характера.

Все перечисленные работы приводят к выводу, что возрастание удерживания при больших значениях C обусловлено полярными взаимодействиями в неподвижной фазе при уменьшении концентрации воды в подвижной. Наиболее вероятный механизм таких взаимодействий — ионный обмен [315].

4.1.2.5. ОПТИМИЗАЦИЯ КАЧЕСТВЕННОГО СОСТАВА ПОДВИЖНОЙ ФАЗЫ

При использовании современных высокоэффективных колонок для анализа смесей не слишком сложного состава обычно требуется только один органический модификатор. Выбор его определяется в первую очередь физическими свойствами, стоимостью, доступностью, а иногда и личным вкусом экспериментатора. При этом выбор состава подвижной фазы сводится (если решен вопрос о необходимости специфических модификаторов) к выбору оптимальной концентрации органического растворителя (см. 5.2.1.4). Однако по мере усложнения анализируемой смеси нарастает вероятность того, что коэффициенты емкости некоторых компонентов будут слишком близки и разделить их не удастся. В то же время разделение других компонентов настолько хорошее, что между ними на хроматограмме можно было бы разместить еще несколько пиков. В таких случаях встает вопрос об оптимизации селективности системы за счет применения двух или большего числа органических растворителей.

Общие вопросы классификации растворителей по селективности рассмотрены в главе 3. Выбор органических растворителей, отвечающих основным требованиям обращенно-фазовой ВЭЖХ, небольшой. Практически только три растворителя, пригодные для обращенно-фазовых разделений, обладают существенно различающейся селективностью: метанол, ацетонитрил и тетрагидрофуран. Изредка применяемый этанол в смысле селективности дублирует метанол, а диоксан незначительно отличается от тетрагидрофурана. К тому же, поскольку наиболее сильные взаимодействия в обращенно-фазовой хроматографии имеют место в подвижной фазе между молекулами воды, роль этих растворителей в обеспечении селективности вообще не столь велика, как при хроматографии на силикагеле. Обзоры работ, посвященных оптимизации селективности [111, 152], позволяют заинтересованным читателям ознакомиться с проблемой во всей полноте. Здесь же мы остановимся на одном из популярных и наглядных приемов оптимизации, основанном на использовании так называемого «треугольника селектив-

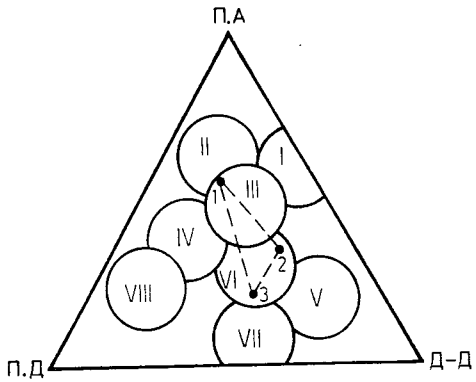
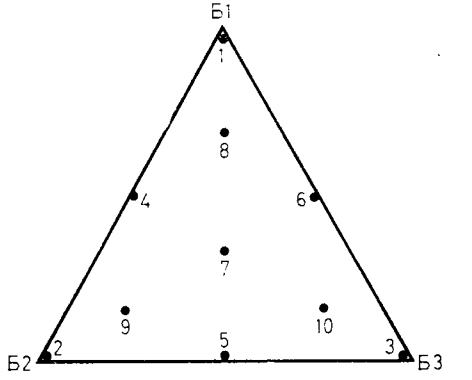


Рис. 4.17. Треугольник селективности. Вершинам соответствуют гипотетические растворители, способные только к протонодонориым (ПД), протоноакцепторным (ПА) и диполь-дипольиым (ДД) взаимодействиям. Пуиктиром обозначена область селективности, доступная в обращенио-фазовом режиме. Точки *1, 2, 3* отражают селективиость метаиола, тетрагидрофурана, ацетонитрила соответственно. Группы селективности (табл. 3.4) обозначены римскими цифрами.



	АБ1	АБ2	АБ3
1	1	0	0
2	0	1	0
3	0	0	1
4	0,5	0	0,5
5	0	0,5	0,5
6	0,5	0,5	0
7	0,33	0,33	0,33
8	0,67	0,16	0,16
9	0,16	0,16	0,67
10	0,16	0,67	0,16

Рис. 4.18. Планированиие эксперимеита по оптимизации состава подвижиой фазы. В таблице показаны соотношення бииарных растворителей, соответствующие точкам иа рисуике.

ности» [154, 353, 369] (рис. 4.17). Принцип оптимизации заключается в следующем:

1) выбирают три бинарные подвижные фазы (вода—метанол, вода—ацетонитрил, вода—тетрагидрофуран) с примерно одинаковой элюирующей силой по отношению к разделяемой смеси;

2) приготавливают по определенной схеме (рис. 4.18) 10 подвижных фаз и для каждой из них измеряют коэффициенты емкости.

Полученные результаты обрабатывают на ЭВМ по специальной программе и находят оптимальный состав подвижной фазы. Рациональное зерно метода, конечно, не в применении ЭВМ, а именно в обоснованном планировании экспериментов. Когда

же необходимые 10 опытов выполнены, хроматографист даже с небольшим опытом легко оценит визуально, где на треугольнике состава находится тот одиннадцатый режим, который следует считать оптимальным.

4.1.2.6. ГРАДИЕНТНОЕ ЭЛЮИРОВАНИЕ

В химии лекарственных веществ и органическом синтезе исследователь чаще всего работает с относительно простыми смесями, содержащими не более 5—10 компонентов. Если компоненты не слишком различаются по своим свойствам, обычно удается подобрать такую подвижную фазу, которая обеспечивает приемлемые скорость анализа и разделение. Однако в отдельных случаях смесь может содержать вещества, сильно различающиеся по сорбционным свойствам, и, следовательно, для анализа таких соединений требуются подвижные фазы различной элюирующей силы. На рис. 4.19 приведены хроматограммы смеси, для которой не удается подобрать изократический (т. е. при постоянном составе подвижной фазы) режим разделения. В противоположность этому режиму под градиентным элюированием понимают такой способ проведения хроматографического

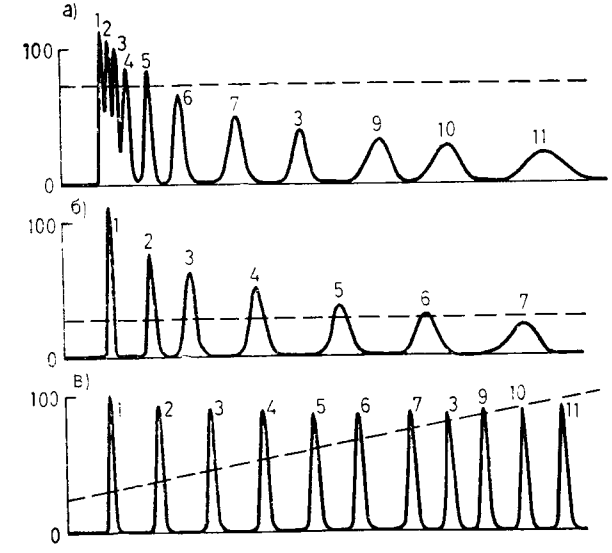


Рис. 4.19. Хроматограммы сложной смеси. *а* — изократическое элюирование, подвижная фаза снльная, из колонки выходят все компоиеиты пробы, одиако раио выходящие делятся плохо; *б* — изократическое элюирование, сила подвижной фазы недостаточна, компоиенты 8—11 из колонки не выходят; *в* — градиентиое элюироваиие. Пуиктир изображает содержание компонента Б в подвижной фазе в ходе элюирования.

процесса, когда в ходе анализа концентрация сильного компонента подвижной фазы повышается по заданному закону.

Вопросы теории и методики применения градиентного элюирования детально рассмотрены в монографии Яндеры и Хурачека [226]. Помимо этой монографии заинтересованному читателю можно рекомендовать оригинальные работы [77, 78, 117, 219—225, 227, 228, 231, 232, 238, 339—341, 371]. Здесь же мы воспроизводим только простейшие соотношения из работы[226]. Расчет удерживаемых объемов при градиентном элюировании базируется на следующей основной идее. Предположим, что бесконечно малому количеству подвижной фазы dV, прошедшему через колонку, отвечает смещение максимума хроматографической зоны, пропорциональное величине объема подвижной фазы в колонке dV_m. В течение этой бесконечно малой ступени элюирования коэффициент емкости можно считать постоянной величиной, потому

$$dV = k' dV_m. \tag{4.65}$$

Это уравнение может быть записано в другой форме:

$$\int_0^{V_m} dV_m = V_m = \int_0^{V'_g} \frac{1}{k'} dV, \tag{4.66}$$

где V'_g — удельный удерживаемый объем в режиме градиентного элюирования. Это же соотношение может быть представлено в единицах времени:

$$\int_0^{t} dt_0 = t_0 = \int_0^{t'_R} \frac{1}{k'} dt, \tag{4.67}$$

где t'_R — время удерживания в режиме градиентного элюирования.

Для решения этих уравнений необходимо выразить зависимость коэффициентов емкости от объема элюента (или времени с начала градиента) в виде двух функций. Одна из них описывает связь между удерживанием и концентрацией более сильного растворителя, вторая — связь между этой концентрацией и объемом элюента (временем). Уравнение (4.66) тогда можно записать в виде

$$\int_0^{V_m} dV_m = V_m = \int_0^{V'_g} \frac{dV}{f[\Phi(V)]}, \tag{4.68}$$

где $\Phi(V)$ — функция градиента. В простейшем случае $\Phi(V)$ —

Таблица 4.23

Сопоставление расчетных и экспериментальных значений V'_g для алкалоидов и барбитуратов. Колонки с Лихросорбом RP18 (300×4,2 мм), V_m=3,2 мл, градиент по уравнению (4.71)

Соединение	A=0; B=0,06872		A=0,1; B=0,06872		A=0,1; B=0,01718	
	$V'g_{расч}$	$V'g_{эксп}$	$V'g_{расч}$	$V'g_{эксп}$	$V'g_{расч}$	$V'g_{эксп}$
Теобромин	4,71	5,14	3,33	3,54	11,78	12,17
Теофиллин	5,78	6,32	4,42	4,74	13,84	15,56
Кофеин	6,92	7,26	5,50	5,64	18,71	19,21
Барбитал	7,09	7,25	5,69	5,84	18,05	17,92
Гептобарбитал	8,02	8,14	6,58	6,68	22,81	22,27
Аллобарбитал	8,61	8,72	7,17	7,31	24,74	24,34
Апробарбитал	9,14	9,28	7,70	7,90	27,10	26,75
Бутобарбитал	9,85	10,01	8,40	8,63	30,17	29,98
Гексобарбитал	10,37	10,58	8,91	9,13	32,21	31,90
Пентобарбитал			9,16	9,41	34,30	33,97

линейная функция, и концентрация может быть выражена следующим образом:

$$c = \Phi(V) = A + BV, \tag{4.69}$$

где A — исходная концентрация сильного растворителя; B — крутизна градиента.

С другой стороны, зависимость k' от c может быть выражена уравнением (4.46). Объединив уравнения (4.46), (4.69) и (4.68), получим

$$V_m - \int_0^{V'_g} \frac{1}{k'_w} \cdot 10^{m(A+BV)} dV \tag{4.70}$$

и после интегрирования найдем удельный удерживаемый объем:

$$V'_g = \frac{1}{mB} \lg (2{,}31 mBk'_w V_m \cdot 10^{-mA} + 1). \tag{4.71}$$

Приведенный подход позволяет с достаточной точностью предсказать поведение соединений в градиентном режиме, если известны параметры уравнения (4.46).

Сказанное иллюстрирует табл. 4.23, где величины V'_g, рассчитанные по уравнению (4.71), сопоставлены с экспериментально найденными значениями для ряда лекарственных веществ.

Относительные удерживаемые объемы в градиентном режиме α_g могут быть рассчитаны по аналогии с изократическими

параметрами из формально вычисляемых, «кажущихся» коэффициентов емкости:

$$\alpha_g = \frac{k'_{g_2}}{k'_{g_1}}. \qquad (4.72)$$

Наконец, величина критерия разделения R_g определяется для линейного градиента выражением

$$R_g = \frac{\sqrt{N}}{4} \cdot \frac{\alpha_g - 1}{\alpha_g} \cdot \frac{\lg\left(2{,}31 m_2 B V_m k'_{w_2} \cdot 10^{-m_2 A} + 1\right) - 1}{\frac{B}{A} \cdot V_m \left[1 + k'_{w_2}\left(2{,}31 m_2 B V_m k'_{w_2} + 10^{m_2 A}\right)^{-1}\right]}, \qquad (4.73)$$

где значение символов то же, что в уравнениях (4.65)—(4.71), а индексы «2» отвечают параметрам второго пика разделяемой пары.

При общей оценке применимости метода для разделения многокомпонентных смесей может быть использован параметр P — емкость хроматограммы:

$$P_c = \frac{\sqrt{N}}{4} \ln\left(\frac{V_{RZ}}{V_{RA}}\right); \qquad (4.74)$$

$$P_g = \frac{\sqrt{N}}{4}\left(\frac{V_{gZ}}{V_{gA}} - 1\right), \qquad (4.75)$$

где V_{RZ}, V_{RA} — удерживаемые объемы, отвечающие начальной и конечной точкам рассматриваемого участка хроматограммы в изократическом режиме; V_{gZ}, V_{gA} — аналогичные величины для режима градиентного элюирования. На рис. 4.20 сравниваются величины P_c и P_g для различной продолжительности хроматограмм в предположении, что $V_{gA} = V_m$ и $t_0 = 1$ мин. В изократическом режиме емкость хроматограммы возрастает незначительно с увеличением продолжительности разделения свыше 15 мин, в то время как градиентное элюирование обеспечивает линейное увеличение числа пиков со временем.

Как ясно из предыдущего изложения, чисто расчетный выбор оптимальных условий градиентного элюирования требует знания параметров k'_w и m уравнения (4.46). Разумеется, эти величины можно определить, проведя необходимые предварительные измерения в изократическом режиме. Однако не всегда компоненты смеси доступны в индивидуальном виде, в связи с чем чаще условия градиентного элюирования, близкие к оптимальным, выбирают опытным путем на основании следующих правил.

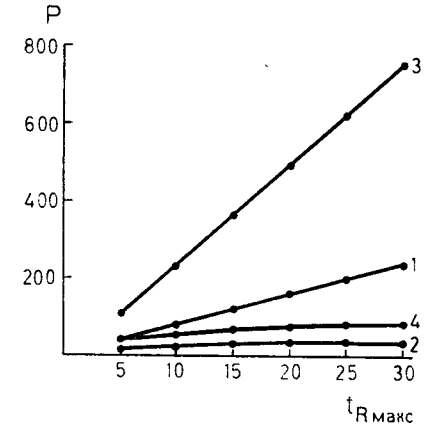


Рис. 4.20. Зависимость емкости хроматограммы P от предельного времени удерживания $t_{R\,макс}$ для градиентного и изократического элюирования и различной эффективности колонок; время удерживания несорбирующегося вещества 1 мин. Элюирование (теоретич. тарелки): *1* — градиентное, 1000; *2* — изократическое, 1000; *3* — градиентное, 10 000; *4* — изократическое, 10 000.

Выбрав подходящую колонку, проводят градиентное элюирование в таком режиме, чтобы концентрация сильного растворителя изменялась линейно от 0 до 100%, а объем растворителя в 10—15 раз превышал V_m. Если все пики выходят в течение не более чем 25% продолжительности градиента, вполне вероятно, что для данной смеси можно подобрать условия изократического элюирования. В противном случае градиентное элюирование необходимо, и дальнейшее улучшение режима производят на основании анализа распределения пиков по хроматограмме:

— если пики располагаются равномерно, причем первые из них отстоят далеко от t_0 и разделение недостаточное, следует уменьшить крутизну градиента B;

— если при равномерном распределении пиков первые из них удерживаются слабо, должна быть уменьшена начальная концентрация сильного растворителя A;

— если при равномерном распределении пиков они слишком хорошо разделены и продолжительность анализа велика, рекомендуется увеличить A и (или) B;

— если разделение пиков удовлетворительно, но первое соединение имеет слишком большое удерживание, требуется увеличить A;

— если компоненты исследуемой смеси элюируются слишком рано и плохо отделены друг от друга, то параметры A и B должны быть снижены;

— если некоторые соединения элюируются после завершения градиента, но разделение компонентов удовлетворительно и продолжительность анализа невелика, нет необходимости изменять профиль градиента. Однако если в этом случае компоненты смеси имеют избыточное разделение и удерживание

последнего компонента слишком продолжительно, то органический растворитель должен быть заменен на другой, обладающий большей элюирующей силой;

— если последние компоненты смеси имеют избыточное разделение, а соединения, элюирующиеся рано, плохо отделены друг от друга, следует изменить профиль градиента; крутизна его должна возрастать по ходу анализа, либо в начале его должен быть участок изократического элюирования;

— если соединения, элюирующиеся рано, имеют избыточное разделение, а последующие компоненты — недостаточное, то крутизна градиента должна снижаться по мере его прохождения, либо в конце градиента должен быть введен участок изократического элюирования;

— если разделение и местоположение большинства пиков на хроматограмме удовлетворительно, но имеется одна или несколько пар плохо поделенных пиков в различных частях хроматограммы, то рекомендуется оптимизировать селективность разделения этих пар, например, меняя B либо сменив сильный растворитель другим, отличающимся по селективности.

4.1.2.7. СОВМЕСТНОЕ ВЛИЯНИЕ СТРОЕНИЯ СОРБАТОВ И КОНЦЕНТРАЦИИ ОРГАНИЧЕСКОГО МОДИФИКАТОРА НА УДЕРЖИВАНИЕ

Интерпретация зависимости величин удерживания от концентрации органического растворителя в подвижной фазе, приведенная в 4.1.2.4, позволяет, используя основные представления сольвофобной теории обращенно-фазовой хроматографии, получить единую модель, описывающую влияние строения сорбатов и состава подвижной фазы на коэффициенты емкости.

Обратимся к физическому смыслу параметров b и p уравнения (4.52). Параметр b представляет собой логарифм коэффициента емкости при концентрации органического растворителя 1 моль/л. Ясно, что если рассматриваемые сорбаты принадлежат к одному классу, то к параметру b могут быть применены соотношения, связывающие удерживание со строением. Например, из (4.17) вытекает, что должна соблюдаться корреляция

$$b=\beta_0+\beta_1 \lg P. \qquad (4.76)$$

С другой стороны, параметр p линейно коррелирован с величиной гидрофобной поверхности молекул сорбата (уравнение (4.59)). Наконец, эта последняя величина линейно связана также с $\lg P$, поэтому и параметр p может быть выражен как функция коэффициента распределения:

$$p=\pi_0+\pi_1 \lg P. \qquad (4.77)$$

Аналогичные рассуждения, естественно, справедливы для связи параметров b и p с другими структурными дескрипторами: n_c, X, собственно с площадями гидрофобных поверхностей сорбатов. Соотношения (4.76) и (4.77) действительно наблюдаются в эксперименте. В табл. 4.24 приведены параметры этих уравнений. Значения коэффициентов корреляции не столь высоки, как в других случаях, однако, несомненно, отражают объективный характер связи b, p и $\lg P$.

Подстановка уравнений (4.76) и (4.77) в уравнение (4.52) приводит к следующей модели удерживания:

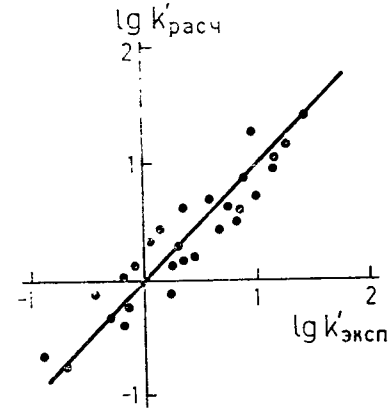


Рис. 4.21. Прогнозирование удерживания монозамещенных производных адамантана на Силасорбе С18 по модели (4.78).

$$\lg k'=\beta_0+\beta_1 \lg P+\pi_0 \lg C+\pi_1 \lg P \lg C. \qquad (4.78)$$

Нами показано, что уравнение (4.78) и аналогичная ему закономерность, где вместо $\lg P$ использованы индексы связуемости X:

$$\lg k'=\beta_0+\beta_1 X+\pi_0 \lg C+\pi_1 X \lg C, \qquad (4.79)$$

выполняются для различных классов соединений (табл. 4.25).

Уравнение (4.78) может быть использовано для прогнозирования удерживания хроматографически не изученных соединений. На рис. 4.21 результаты таких расчетов для производных адамантана сопоставлены с экспериментальными данными. Погрешность полуколичественной оценки $\lg k'$ составляет в среднем около 0,3 [33]. С помощью уравнения (4.78) можно решить и обратную задачу: определить концентрацию органического модификатора, необходимую для хроматографирования с заданным значением k'.

Использованная здесь схема вывода моделей, описывающих совместное влияние факторов гидрофобности и концентрации органического растворителя в подвижной фазе, справедлива и при других способах выражения гидрофобности и состава элюента. Так, в аналогичных моделях концентрация выражается в объемных долях [190, 217, 218, 233, 270, 356], а в качестве параметра гидрофобности в рядах родственных веществ использовано число атомов углерода [190, 217], число мономерных звеньев в олигомерах [270, 356]. Согласно [218,

Таблица 4.24

Параметры уравнений (4.76) и (4.77)

Класс сорбатов	Сорбент	Уравнение (4.76)			Уравнение (4.77)		
		β_0	β_1	r	π_0	π_1	r
Алканы*	Зорбакс ODS	1,46	1,67	0,998	−1,66	−1,12	0,997
Алкилбензолы*	То же	1,13	1,12	0,980	−1,40	−0,76	0,985
Сложные эфиры*	»	2,09	1,44	0,998	0,87	−1,009	0,998
Кетоны*	»	−1,59	1,37	0,999	0,47	−0,93	0,999
Спирты*	»	1,76	1,18	0,997	0,54	0,77	0,994
Производные 5-фторурацила	»	1,59	1,55	0,988	−1,96	−1,20	0,971
Полупродукты синтеза простагландинов	»	2,48	0,82	0,983	−2,34	−0,55	0,974
Пептиды	»	3,33	0,80	0,754	−3,92	−0,62	0,683
Производные 1,4-дигидропиридина	»	2,44	0,51	0,852	−3,25	−0,26	0,594
Производные адамантана	Силасорб С18	−0,95	1,90	0,820	0,57	−1,48	0,931

* В качестве параметра гидрофобности использован X.

Таблица 4.25

Параметры уравнения (4.78)

Класс сорбатов	Сорбент	β_0	β_1	π_0	π_1	r	F	σ
Алканы (I*)	Зорбакс ODS	1,37	1,68	−1,54	−1,14	0,999	5246	0,014
Сложные эфиры (II*)	То же	1,74	1,36	0,55	−0,93	0,999	4353	0,016
Кетоны (III*)	»	1,55	0,48	−2,41	−0,12	0,984	229	0,066
Спирты (IV*)	»	1,56	1,13	0,33	−0,72	0,995	1350	0,040
Алкилбензолы (V*)	»	1,41	1,03	−1,67	−0,67	0,985	457	0,058
Классы I*—V*	»	1,76	0,80	−1,88	0,45	0,938	397	0,144
Классы I—V**	»	2,56	1,26	−2,36	−0,84	0,993	3777	0,049
Производные 5-фторурацила	»	1,30	1,02	−1,62	−0,70	0,983	581	0,07
Полупродукты синтеза простагландинов	»	1,93	0,37	−1,40	−0,07	0,994	1027	0,03
Пептиды	»	2,34	0,57	−2,83	−0,40	0,931	380	0,15
Производные 1,4-дигидропиридиина	»	2,46	0,62	−3,28	−0,30	0,997	4081	0,03
Производные адамантана	Силасорб С18	−0,96	1,80	0,23	−1,25	0,953	174	0,12

* Вместо $\lg P$ использован параметр X.
** Вместо X использован параметр X_H.

233], параметр гидрофобности является аддитивной функцией двух вкладов, соответствующих липофильным и полярным свойствам молекул сорбатов.

4.1.2.8. СОВМЕСТНОЕ ВЛИЯНИЕ СОСТАВА ПОДВИЖНОЙ ФАЗЫ И ТЕМПЕРАТУРЫ НА УДЕРЖИВАНИЕ

Существует определенная аналогия в действии температуры и концентрации органического компонента подвижной фазы на величины удерживания. Повышение как концентрации органического компонента, так и температуры ведет к уменьшению удерживания и некоторому уменьшению селективности разделения.

В работе [139] предложен простой способ расчета удерживания при произвольных концентрации органического модификатора и температуре на основе уравнений

$$\lg k'_{\Phi_1 s} = \lg k'_s - c(\Phi - \Phi_s); \tag{4.80}$$

$$\lg k' = \lg k'_{\Phi_1 s} - a\left(\frac{1}{T_s} - \frac{1}{T}\right); \tag{4.81}$$

$$a = d - e\Phi. \tag{4.82}$$

Порядок расчетов следующий. Находят:

— значение k'_s — коэффициент емкости при «стандартных» температуре T_s и объемной доле органического растворителя Φ_s;

— значение коэффициента c по уравнению (4.80) исходя из k'_s и k', измеренных при $\Phi \neq \Phi_s$, $T = T_s$;

— значение a по меньшей мере для двух значений Φ_1, пользуясь уравнением (4.81); по найденным величинам a рассчитывают коэффициенты d и e (уравнение (4.82));

— для значения k' при произвольных T и Φ сначала определяют $k'_{\Phi_1 s}$ по уравнению (4.80), затем по уравнению (4.82) находят a и, наконец, по (4.81) — коэффициент емкости.

В работе [293] предложена формула

$$\lg k' = A_1\Phi\left(1 - \frac{T_c}{T}\right) + A_2/T + A_3, \tag{4.83}$$

где A_1, A_2, A_3 — коэффициенты; T_c — температура компенсации. Связь между величинами Φ и T для двух режимов анализа, приводящих к одинаковому удерживанию, устанавливает уравнение

$$T_2 = \frac{T_1(A_2 - A_1\Phi_2 T_c)}{T_1 A_1 \Phi_1 (1 - T_c/T_1) + A_2 - A_1 T_1 \Phi_2}. \tag{4.84}$$

В работе [300] для алкилбензолов найдены значения A_1, A_2, A_3 и показано, что эти коэффициенты линейно связаны с числом атомов углерода. Исследована зависимость значений A_1, A_2, A_3 от природы органического компонента подвижной фазы.

Совместное влияние структуры полиядерных ароматических углеводородов, температуры разделения и состава подвижной фазы на величины удерживания рассмотрено в работе [247] и положено в основу прогнозирования удерживания веществ этого класса с помощью ЭВМ. Погрешность априорного расчета k' почти для всех изученных веществ оказалась меньше 10%.

Сопоставление различных моделей удерживания с точки зрения совместной роли температуры и концентрации органического растворителя показало [297], что наибольший интервал значений Ф и T охватывает уравнение (4.83).

Приведенные в этом разделе уравнения (4.80)—(4.84), несомненно, представляют интерес в первую очередь как показатель современного уровня зрелости теории обращенно-фазовой хроматографии, и могут использоваться в работах по систематической оптимизации условий разделения. В то же время нахождение параметров этих моделей в каждом конкретном случае требует определенных затрат труда. Потому зачастую оценка совместного влияния этих двух факторов осуществляется чисто опытным путем или на основе простейших приближенных эмпирических правил. Одно из таких правил (для концентраций органического растворителя свыше 30%) может быть сформулировано так: повышение температуры разделения на 20° вызывает такое же уменьшение удерживания, как увеличение концентрации органического растворителя на 15% от первоначальной величины.

4.2. ХРОМАТОГРАФИЯ НА СИЛИКАГЕЛЕ

4.2.1. МЕХАНИЗМ УДЕРЖИВАНИЯ

В нормально-фазовой хроматографии на силикагеле используются подвижные фазы, обладающие значительно меньшей полярностью, чем поверхность адсорбента. Полярность сорбатов, анализируемых в этом режиме, является промежуточной между полярностью подвижной и неподвижной фаз. Удерживание определяется сложной гаммой взаимодействий между молекулами сорбатов, поверхности адсорбента и подвижной фазы. Поверхность адсорбента, находящегося в равновесии с подвижной фазой, всегда покрыта более или менее прочно связанным адсорбционным слоем. Если подвижная фаза содержит два или

более компонентов, то состав адсорбционного слоя отличается от состава подвижной фазы. Адсорбция анализируемой молекулы может происходить с вытеснением одной или нескольких молекул адсорбированного слоя или без него. Взаимодействие молекул сорбатов с адсорбционными слоями и поверхностью твердого адсорбента, собственно, и служит предметом теоретических исследований в области нормально-фазовой хроматографии. В результате этих исследований выдвинут ряд моделей удерживания, наиболее популярные из которых рассматриваются ниже.

Модель Снайдера [367] предполагает, что однородная поверхность сорбента полностью покрыта либо молекулами подвижной фазы S, либо молекулами анализируемого вещества X. Сорбция в этом случае может быть описана уравнением

$$X_m + nS_a \rightleftarrows X_a + nS_m, \tag{4.85}$$

где $n = A_s/A_l$ — отношение площадей молекул сорбата X и растворителя S. Индексы m и a относятся к подвижной и адсорбированной фазам соответственно. Следовательно, при адсорбции одной молекулы X в подвижную фазу вытесняется n молекул растворителя S. Отношение коэффициентов емкости данного сорбата, полученного в двух подвижных фазах различной силы (ε_1 и ε_2), выражается соотношением

$$\lg(k'_2/k'_1) = \alpha' A_s(\varepsilon_1 - \varepsilon_2), \tag{4.86}$$

где α' — параметр активности сорбента. Элюирующая сила бинарного растворителя ε_{AB} может быть найдена по формуле

$$\varepsilon_{AB} = \varepsilon_A + \frac{\lg(N_B 10^{n_B(\varepsilon_B - \varepsilon_A)} + 1 - N_B)}{\alpha' n_B}, \tag{4.87}$$

где ε_A и ε_B — значения ε^0 для чистых растворителей A и B; N_B — мольная доля растворителя B в подвижной фазе.

По Снайдеру, зависимость удерживания от состава бинарной подвижной фазы выражается уравнением

$$\lg k' = a - n \lg N_B, \tag{4.88}$$

где $n = A_s/n_B$ — отношение площадей молекул сорбата X и более сильного компонента подвижной фазы. Таким образом, модель Снайдера рассматривает адсорбцию как неспецифический процесс на однородной поверхности.

Модель Сочевиньского [378] в отличие от модели Снайдера предполагает, что поверхность сорбента не однородна, а состоит из дискретных активных центров, между которыми расположены менее активные участки. Адсорбция происходит на активных центрах, при этом с участием функциональной группы

сорбата с сорбентом образуются адсорбированные комплексы состава 1:1. Влияние состава бинарной подвижной фазы на удерживание описывается тем же уравнением, что в теории Снайдера:

$$\lg k' = a - n' \lg N_B. \qquad (4.89)$$

Исходная концепция предполагала, что, поскольку адсорбция одной молекулы происходит на одном центре, значение $n'=1$. В ходе дальнейших исследований этой школы [379] выяснилось, что величина n' может довольно значительно отличаться от единицы в обе стороны, т. е. истинная стехиометрия вытеснения молекул растворителя с поверхности сорбента отличается от постулированного первоначально отношения 1:1.

Таким образом, единственная разница между двумя моделями заключается в физическом смысле углового коэффициента уравнений (4.88) и (4.89). По Снайдеру, это отношение площадей молекул сорбата и сильного компонента подвижной фазы, по Сочевиньскому — число активных центров сорбента, участвующих в адсорбции одной молекулы сорбата. Поскольку обе модели предполагают, что сорбент полностью покрыт (по Снайдеру — вся поверхность, по Сочевиньскому — все центры) адсорбированным слоем, то возможна и общая для обеих моделей формулировка физического смысла n и n': как число молекул подвижной фазы, вытесняемое при сорбции одной молекулой хроматографируемого вещества.

Модель Скотта—Кучеры [346—348, 350, 351] основана на полученных данных о строении поверхности силикагеля. Последняя, согласно этой модели, покрыта рядом молекулярных слоев, строение которых определяет сорбционную активность.

Первый слой состоит из поверхностных силанольных групп. На них располагается второй слой — вода, связанная с силанолами водородными связями. Эти связи довольно прочны, поэтому первый слой воды растворителями не удаляется, его можно удалить лишь при нагревании сорбента до 200—650°С. Следующий слой состоит из более слабо связанной воды, он уже может быть удален сухими растворителями (и восстановлен пропусканием через колонку влажных растворителей). Наконец, четвертый слой связан наименее прочно и может состоять из молекул воды либо полярного компонента подвижной фазы.

В зависимости от полярности сорбата возможны следующие схемы взаимодействия с сорбентом:

— замещение молекул подвижной фазы в наружном слое (для наименее полярных сорбатов);

— ассоциация с адсорбционным слоем;

— ассоциация с замещением молекул воды в адсорбционном слое (для наиболее полярных сорбатов).

Согласно модели Скотта—Кучеры, взаимодействия сорбат—сорбент играют существенную роль только при небольших концентрациях полярного растворителя, пока не завершена дезактивация им сорбента. При дальнейшем увеличении концентрации полярного растворителя (примерно свыше 2%) удерживание продолжает уменьшаться, но уже за счет нарастания межмолекулярных взаимодействий в подвижной фазе. В соответствии с этой теорией зависимость удерживания от состава подвижной фазы выражается уравнением

$$\frac{1}{k'} = A' + B'C_p, \qquad (4.90)$$

где A', B' — константы; C_p — концентрация полярного растворителя в подвижной фазе. Авторами получены обширные экспериментальные данные, подчиняющиеся выражению (4.90). Однако, как указано в [376], аналогичное соотношение при определенных условиях может быть выведено также из моделей Снайдера—Сочевиньского, так что подчинение экспериментальных данных (4.90) не может служить решающим доводом в пользу модели Скотта—Кучеры.

В работе [359] было проведено раздельное исследование процессов в неподвижной и подвижной фазах. Установлено, что оба типа взаимодействий вносят существенный вклад в удерживание. При малых концентрациях полярного растворителя в подвижной фазе на поверхности доминирует конкурирующая сорбция. Если же концентрация полярного растворителя больше некоторого предела, становится возможным проникновение анализируемых молекул в адсорбированную фазу без вытеснения ее компонентов в элюент. Детально модели Снайдера—Сочевиньского и Скотта—Кучеры сопоставлены в работе [376]. Авторы всесторонне доказывают, что первая из моделей лучше соответствует реальным физическим процессам, хотя исходная модель Снайдера и не свободна от противоречий. Главные из них связаны с тем обстоятельством, что поверхность силикагеля в большинстве случаев неоднородна. Поэтому при сорбции молекулы не могут занимать произвольные положения на поверхности. Существует определенное количество центров, на которых сорбция статистически более вероятна, т. е. происходит локализация. Развитие теории Снайдера, учитывающее это явление, дано в работах [370, 373, 374].

Единая теория удерживания и селективности развита в работе [73]. Неподвижная фаза рассматривается как монослой полярного растворителя на плоской поверхности адсорбента. Одновременно указывается, что полярный растворитель

способен насыщать более отдаленные слои и в таких случаях неподвижная фаза может быть лучше описана как однокомпонентный растворитель, а сорбция — как распределение жидкость—жидкость. Предложена также более общая модель хроматографии со смешанными подвижными фазами, рассматривающая процесс одновременно как вытеснительно-адсорбционный и распределительный [240]. Вопросам идеальности подвижной и неподвижной фаз, эффектам ассоциации посвящены работы [76, 239]. Невзирая на различие трактовок механизма хроматографии на силикагеле, представленных в работах [73, 76, 239, 240, 346—348, 350, 351, 359, 367, 370, 373, 374, 376, 378, 379], все авторы единодушно признают, что важнейшим процессом, который определяет величины удерживания, является формирование из молекул подвижной фазы адсорбционных приповерхностных слоев. Независимо от того, каким образом, в каких стехиометрических соотношениях и как глубоко проникают молекулы разделяемых веществ в адсорбированную фазу, ясно, что строение ее представляет большой интерес.

Особое внимание в литературе обращается на проблему стандартизации влажности силикагеля. Безоговорочное мнение о том, что при работе с силикагелем необходимо очень тщательно контролировать влажность растворителей, кочует по страницам учебников по жидкостной хроматографии. Между тем по этому поводу следует сделать весьма значимое уточнение, а именно: влажность растворителей и силикагеля существенна только тогда, когда подвижная фаза содержит малое количество (например, менее 1%) полярного растворителя. Пользуясь моделью поверхности, предложенной Скоттом и Кучерой, можно утверждать, что все проблемы в отношении влажности исключаются, если содержание воды в подвижной фазе достаточно для образования стабильной адсорбированной фазы, состоящей из двух-трех слоев молекул.

Большинство сорбатов, исследуемых на силикагеле, представляют собой вещества значительной полярности. Для их хроматографирования, а иногда даже просто для растворения необходимы элюенты, содержащие заметные количества полярных растворителей. Такие элюенты всегда содержат также и воду в количествах, вполне достаточных для формирования устойчивых адсорбированных слоев, полного насыщения поверхности. В работе [393] исследовано влияние воды, растворенной в подвижных фазах — хлороформе и дихлорэтане, на удерживание ацетофенона, диметилфталата, диэтилфталата. При содержании воды около 600 частей на 1 млн достигается почти полное насыщение сорбента, и при дальнейшем увеличении концентрации воды удерживание больше почти не меняется.

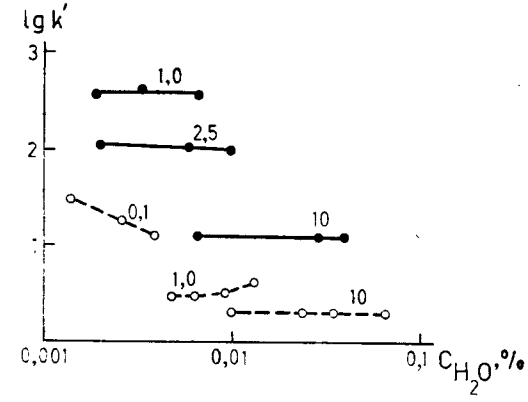


Рис. 4.22. Зависимость коэффициентов емкости нитробензола на силикагеле от влажности подвижной фазы, содержащей в качестве полярного компонента бутанол (— — —) и этилацетат (———). Цифрами на кривых обозначена концентрация полярного органического растворителя.

Модель, количественно описывающая роль воды в хроматографии на силикагеле, представлена в работе [381]. По данным работы [180], с увеличением концентрации полярных растворителей в подвижной фазе влияние воды становится все менее ощутимым (рис. 4.22). При концентрациях полярных растворителей 1% и более влиянием воды на удерживание можно пренебречь, если работа носит прикладной, аналитический характер и не ставит целью строгое измерение физико-химических параметров. Насыщение элюента водой положительно влияет на хроматографическое поведение полярных соединений. Так, отмечается улучшение эффективности и формы хроматографических пиков, увеличение максимально допустимой нагрузки на колонку в области линейной изотермы адсорбции Ленгмюра [375, с. 374]. Показано, что добавка к подвижной фазе 0,45% воды существенно улучшает форму пиков таких трудных для хроматографии соединений, как производные дезоксирибонуклеотидов [186].

Помимо модифицирования сорбента водой при его контакте с бинарной подвижной фазой образуется также слой (приблизительно мономолекулярный) из молекул полярного растворителя. В работе [350] представлены изотермы сорбции бутилхлорида, тетрагидрофурана, этилацетата, изопропилового спирта. Они имеют характерную ленгмюровскую форму. Максимальная концентрация полярного растворителя составляет около 100 мг/г силикагеля и слабо зависит от типа растворителя. В то же время концентрация полярного растворителя в подвижной фазе, при которой наблюдается насыщение поверхности, увеличивается с уменьшением элюирующей силы и составляет для изопропилового спирта, тетрагидрофурана, этилацетата и бутилхлорида 1, 10, 15 и 30% соответственно. Интересны также

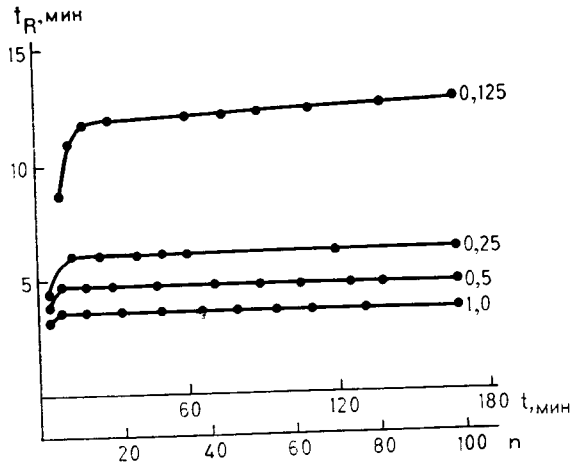


Рис. 4.23. Стабилизация времени удерживания ацетофенона на Зорбаксе SIL подвижными фазами, состоящими из гексана и пропанола-2, концентрация которого (%) указана на кривых; t — время после перехода на новый состав подвижной фазы; n — отношение объема подвижной фазы нового состава к объему колонки.

данные о взаимном вытеснении полярных растворителей. Например, при концентрации в подвижной фазе изопропилового спирта, равной 1%, и этилацетата, равной 0,5%, адсорбированная фаза содержит 120 мг/г первого и только 10 мг/г второго.

В литературе часто можно встретиться с утверждением, что уравновешивание силикагеля подвижной фазой требует пропускания через колонку значительных ее объемов, прежде чем будет достигнута стабильность времен удерживания. Из-за этого существенного недостатка рекомендуется предпочтительное использование обращенно-фазовых систем. По нашему мнению, утверждение о медленной стабилизации режима на силикагеле сильно преувеличено. Если только подвижная фаза содержит достаточное количество полярных компонентов для образования адсорбированной фазы, силикагель уравновешивается так же быстро, как химически модифицированные сорбенты. Бинарные элюенты, содержащие свыше 1% полярного растворителя, почти всегда удовлетворяют этому условию.

В качестве критерия установления стационарного режима в колонке может использоваться стабильность времен удерживания. На рис. 4.23 представлены кривые, свидетельствующие о том, что при использовании бинарных смесей гексана с пропанолом-2 уравновешивание колонки подвижной фазой измененного состава требует пропускания всего 40 мл при объеме колонки 4,2 мл. Опасения относительно продолжительности стабилизации режима обоснованы лишь в случае, если концентрация пропанола-2 становится меньше 0,25%.

4.2.2. СОСТАВ ПОДВИЖНОЙ ФАЗЫ И УДЕРЖИВАНИЕ

Лекарственные вещества, как правило, высокополярны, и при их хроматографии на силикагеле применяют элюенты, содержащие значительные количества полярных компонентов; поэтому влиянием влажности подвижных фаз на удерживание можно пренебречь. Именно такой подход использован во множестве экспериментальных исследований, целью которых была систематизация величин удерживания и выбор оптимального состава подвижной фазы. Общим правилом в нормально-фазовой хроматографии является уменьшение удерживания при увеличении концентрации полярного компонента подвижной фазы. Этот эффект описывается разными авторами с помощью уравнений (4.88) — (4.90).

В цикле работ Хары с сотр. [180, 181, 187—189] изучалось хроматографическое поведение стероидов. На примере самых разнообразных систем растворителей показано, что уравнение (4.88) выполняется со вполне удовлетворительной точностью. Интересно отметить, что во многих случаях прямые $\lg k'$—$\lg C$ располагались веерообразно, как в обращенно-фазовой хроматографии.

Авторами предложен способ расчета эквиэлюотропных систем растворителей. Если в двух бинарных системах уравнение (4.89) выполняется достаточно точно и для них известны значения коэффициентов a_1, n'_1, a_2, n'_2, можно рассчитать концентрацию растворителя B_2, который будет иметь ту же элюирующую силу, что и элюент, содержащий полярный растворитель B_1:

$$\lg N_{B_2}=\frac{a_1-a_2}{n'_1}+\frac{n'_2}{n'_1}\lg N_{B_1}. \qquad (4.91)$$

В работе [206] в системе Лихросорб Si60 — гексан — этилацетат исследовано поведение производных 1,2,4-триазола (рис. 4.24). Установлено, что удерживание всех представленных соединений закономерно уменьшается с ростом полярности бинарной подвижной фазы.

Уравнение (4.89) использовано в работе [333] для интерпретации геометрии адсорбции азотсодержащих гетероциклов на Порасиле. Полярным растворителем служил диметилсульфоксид. Найденные величины n' сравнивали с расчетными параметрами для параллельного и перпендикулярного расположения молекул сорбатов по отношению к поверхности силикагеля. Полученные данные указывают на то, что молекулы сорбатов ориентированы преимущественно перпендикулярно поверхности сорбента.

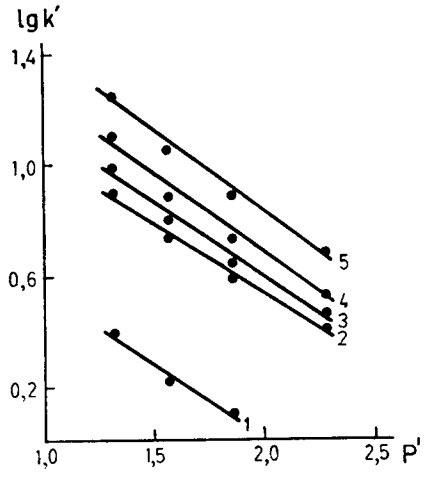


Рис. 4.24. Зависимость удерживания производных 1,2,4-триазола на силикагеле от полярности P' бинарной подвижной фазы гексан—этилацетат: *1* — триадимефон; *2* — диклобутразол; *3* — наклобутразол; *4* — триадименол; *5* — триадимеиол В.

К хроматографии на силикагеле можно применить подход Мураками [307], использованный нами при интерпретации данных обращенно-фазовой хроматографии. При этом коэффициент уравнения (4.52), представляющий собой логарифм коэффициента емкости при концентрации сильного компонента подвижной фазы 1 моль/л, может быть выражен в терминах модели Снайдера:

$$b=\lg k'_A+\alpha A_s(\varepsilon_A-\varepsilon_1), \qquad (4.92)$$

где ε_1 — элюирующая сила подвижной фазы, содержащей 1 моль/л компонента B. С другой стороны, в первом приближении Снайдера величина $\lg k'_A$ может быть представлена в следующем виде [367]:

$$\lg k'_A=\lg\frac{V_A W}{V_m}+S^\circ-\varepsilon_A A_s, \qquad (4.93)$$

где V_A — объем адсорбированного монослоя компонента B; V_m — объем подвижной фазы в колонке; W — масса сорбента в колонке; S° — член, характеризующий энергию взаимодействия сорбат—сорбент.

Предположим, что в рамках данного ряда соединений энергия взаимодействия полярных групп сорбатов с сорбентом относительно постоянна. Тогда, обозначив $D=\lg\frac{V_A W}{V_m}+S^\circ$ и подставив (4.93) в (4.92), получим

$$b=D+A_s[\alpha'(\varepsilon_A-\varepsilon_1)-\varepsilon_A]. \qquad (4.94)$$

Вытеснительный механизм сорбции предполагает, что параметр p уравнения (4.52) может быть выражен как

$$p=A_s/n_B, \qquad (4.95)$$

где n_B — площадь поперечного сечения молекулы компонента B. Из (4.94) и (4.95) может быть получено соотношение

$$b=D+pn_B[\alpha'(\varepsilon_A-\varepsilon_1)-\varepsilon_A], \qquad (4.96)$$

идентичное по форме уравнению (4.55).

В уравнение (4.96) не входят переменные, связанные с различием свойств сорбатов данного множества, и, таким образом, ясно, что в пределах справедливости сделанных допущений уравнение (4.55) должно выполняться не только в обращенно-фазовой хроматографии, но и в хроматографии на полярных неподвижных фазах. Параметр

$$b_0=D=\lg\frac{V_A W}{V_m}+S^\circ \qquad (4.97)$$

является характеристикой хроматографической колонки и энергии взаимодействия данного класса веществ с данным сорбентом. В свою очередь,

$$b_1=n_B[\alpha'(\varepsilon_A-\varepsilon_1)-\varepsilon_A], \qquad (4.98)$$

Этот член далее может быть выражен через свойства чистых компонентов подвижной фазы A и B:

$$b_1=-\lg N_B(10^{\alpha' n_B(\varepsilon_B-\varepsilon_A)}+1-N_B)-\varepsilon_A n_B, \qquad (4.99)$$

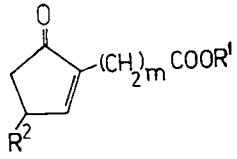
где N_B — мольная доля компонента B при его концентрации 1 моль/л.

Из физического смысла коэффициента b_1 следует, что при постоянстве активности сорбента величина b_1 должна уменьшаться с ростом элюирующей силы растворителя B. С другой стороны, величина b_0 должна быть приблизительно постоянной в рамках таких групп соединений, где сорбция обусловлена взаимодействием одной и той же функциональной группы с активным центром сорбента. Наоборот, в группах веществ различной химической природы величина b_0 должна быть различной, в то время как b_1 — сохранять относительное постоянство.

Для проверки этих предположений нами было изучено поведение производных циклопентенона (табл. 4.26), полиядерных ароматических углеводородов (табл. 4.27). Кроме того, в координатах уравнения (4.52) переработаны 248 массивов данных по удерживанию, взятых из литературы [181, 185, 189, 318, 395, 429]. Перечень рассмотренных классов соединений и краткая характеристика условий исследования представлены в табл. 4.28.

Таблица 4.26

Параметры уравнений (4.52) для производных общей формулы



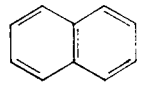
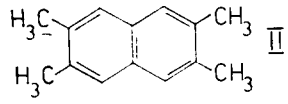
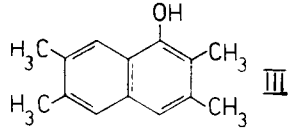
Сорбент — силикагель Силасорб 600;
подвижная фаза — гексан—пропанол-2—уксусная кислота

R^1	R^2	m	b	$-p$	r	b^*	$-p^*$
C_2H_5	H	6	0,372	0,506	0,977	4,56	3,91
H	H	6	0,877	1,054	0,992	2,74	2,82
H	H	4	1,130	1,433	0,978	1,79	2,17
H	H	2	1,334	1,609	0,989	0,76	1,34
H	OH	6	1,592	2,114	0,995	1,36	1,83

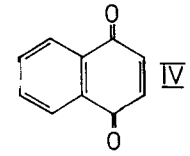
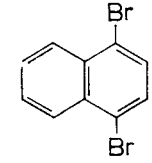
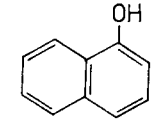
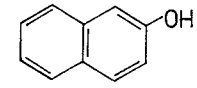
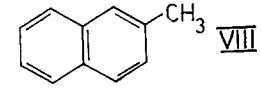
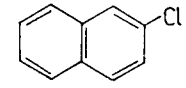
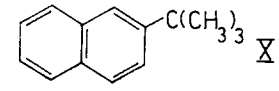
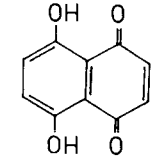
* Сорбент — Зорбакс ODS; подвижная фаза — вода—ацетонитрил—фосфорная кислота.

Таблица 4.27

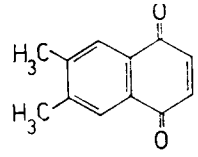
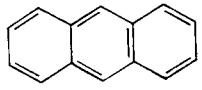
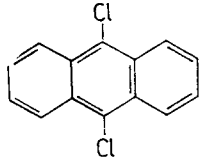
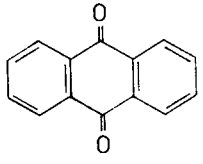
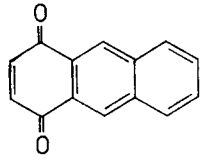
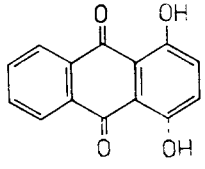
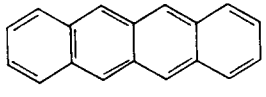
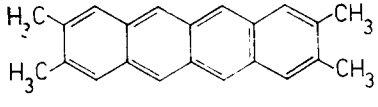
Параметры уравнений (4.52) для некоторых производных полиядерных ароматических углеводородов на Силасорбе 600. Неполярный растворитель — гексан [15]

Соединение	Полярный растворитель			
	хлороформ		тетрагидрофуран	
	b	$-p$	b	$-p$
1	2	3	4	5
 I	−0,96	0,52		
 II	−1,15	0,86		
 III	0,66	1,17		

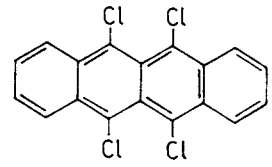
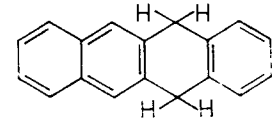
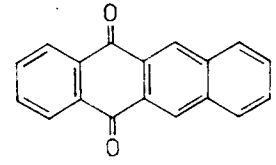
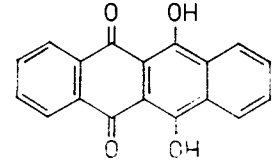
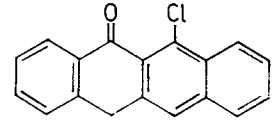
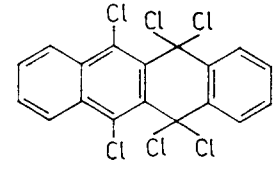
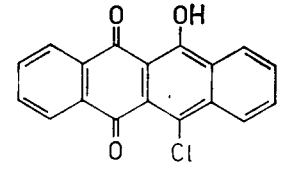
Продолжение таблицы 4.27

1	2	3	4	5
 IV	0,62	1,32		
 V	−1,26	0,56		
 VI	1,35	1,33		
 VII	1,58	1,30		
 VIII	−1,03	0,58		
 IX	−1,00	0,52		
 X	−0,43	0,88		
 XI	0,43	1,38		

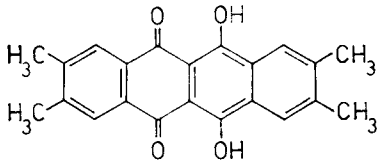
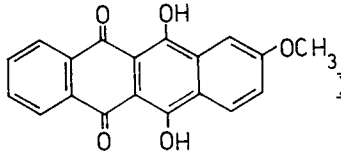
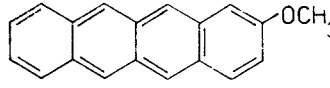
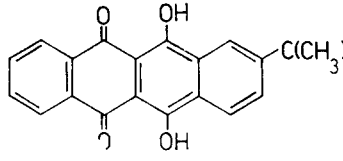
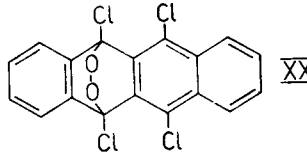
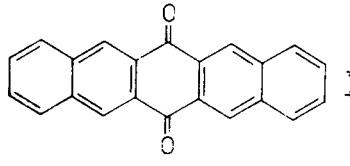
Продолжение таблицы 4.27

1	2	3	4	5
 XII	0,63	1,71		
 XIII	−0,84	0,68		
 XIV	−1,21	0,57		
 XV	0,43	1,41		
 XVI	0,73	1,93		
 XVII	0,01	1,43		
 XVIII	−0,68	0,68	−0,35	0,36
 XIX	−0,79	0,96	−0,56	0,36

Продолжение таблицы 4.27

1	2	3	4	5
 XX	−1,04	0,58	−0,50	0,26
 XXI	−0,83	1,00	−0,58	0,38
 XXII	0,50	1,71	0,10	0,73
 XXIII	−0,11	1,14	−0,16	0,44
 XXiV	0,40	1,70	−0,11	0,68
 XXV	−0,80	0,63	−0,26	0,34
 XXVI	0,10	1,40	−0,05	0,58

Окончание таблицы 4.27

1	2	3	4	5
 XXVII	−0,10	1,58	−0,26	0,57
 XXVIII	0,15	1,38	0,02	0,62
 XXIX	−0,28	1,00	−0,01	0,32
 XXX	−0,26	1,25	−0,33	0,36
 XXXI	−0,41	0,78	−0,07	0,44
 XXXII	0,60	2,02		

Установлено, что уравнение (4.52) во всех случаях описывает экспериментальные данные, и коэффициенты корреляции, как правило, выше 0,98, если концентрация полярного растворителя превышает 0,2 моль/л. Параметры b и, в особенности, p уравнения (4.52) значительно менее чувствительны к структуре сорбатов, чем в обращенно-фазовой хроматографии. В табл. 4.26 приведены величины b и p для ряда производных

Таблица 4.28

Параметры уравнений (4.55)

Класс соединений	Сорбент	Компонент элюента: неполярный	Компонент элюента: полярный	$-b_0$	$-b_1$	n*	r	Литература**
Стероиды	Лихросорб Si60	Бензол	Эфир	1,81	2,03	13	0,99	[318]
			Этилацетат	1,97	1,98	13	0,98	[318]
			Метилацетат	1,90	1,83	13	0,99	[318]
			Хлороформ	1,55	2,52	13	0,98	[318]
			Диоксан	1,80	1,43	13	0,99	[318]
			Пропанол	1,29	1,22	13	0,99	[318]
			Метилэтилкетон	2,05	1,83	13	0,99	[318]
			Ацетон	1,83	1,59	13	0,99	[318]
3- и 17-Замещенные андростаны	Силикагель	Гексан	Ацетон	1,30	0,96	8	0,91	[185]
			Пропанол-2	1,47	1,15	4	0,98	[185]
		Бензол	Этилацетат	4,51	4,48	6	0,97	[185]
			Пропанол-2	1,09	1,78	6	0,91	[185]
3,7-Дизамещенные андростаны	Силикагель	Бензол	Эфир	3,08	2,26	8	0,91	[185]
			Этилацетат	3,72	2,36	8	0,95	[185]
			Ацетон	1,60	1,23	8	0,99	[185]
			Пропанол-2	0,88	0,92	8	0,96	[185]
Индольные алкалоиды	”	Гексан	Тетрагидрофуран	0,101	0,97	6	0,99	[189]
Стероиды	”	”	Эфир	1,97	1,86	12	0,96	[181]
			Этилацетат	1,90	1,39	12	0,97	[181]
			Ацетон	1,05	1,01	12	0,90	[181]
Азосоединения	Окись алюминия	Гептан	Этилацетат	1,49	1,60	13	0,96	[429] ***
Производные 1,4-бензодиазепина	Полиамид	”	Ацетон	0,93	1,19	7	0,92	[395] ***
			Этилацетат	2,53	2,02	6	0,99	[395] ***

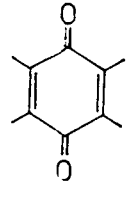
* Число соединений.
** Откуда позаимствованы величины удерживания.
*** Величины R_M тонкослойной хроматографии переработаны аналогично $\lg k'$.

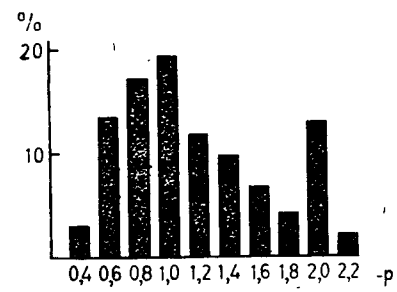
циклопентенона при хроматографии на силикагеле; они сопоставлены с аналогичными величинами для обращенно-фазовой хроматографии. Видно, что диапазон изменения величин b и p в зависимости от строения сорбатов на силикагеле значительно меньше, чем в аналогичных обращенно-фазовых экспериментах. Вообще, значения p при хроматографии на силикагеле изменяются в очень узких пределах. Для рассмотренных соединений величина p находится в пределах $-2{,}1<p<-0{,}5$ в 95% случаев.

На рис. 4.25 показано, как часто среди исследованных нами 299 массивов $\lg k'$—$\lg C$ встречались те или иные значения p. Чаще всего величина $-p$ при хроматографии на силикагеле близка к единице, и второй максимум, менее интенсивный, приходится на значение $p=-2$. Размеры молекул соединений, представленных в табл. 4.26—4.28, в несколько раз превышают размеры молекул полярных растворителей.

Следовательно, с точки зрения исходной гипотезы Снайдера значения n (а также n' и мало отличающихся по численным значениям p) должны меняться для сорбатов различных размеров в довольно широких пределах. Это, однако, не подтверждается экспериментальными данными. Согласно данным табл. 4.27, величину параметра p определяет не столько размер молекул сорбатов, сколько полярность его функциональных групп. Таким образом, имеющиеся данные позволяют для большинства сорбатов отвергнуть гипотезу об адсорбции параллельно однородной поверхности силикагеля. Значительно более вероятной представляется локализованная на дискретных центрах адсорбция с «перпендикулярным» по отношению к поверхности расположением молекул сорбатов. При этом наиболее предпочтительное стехиометрическое отношение в процессе сорбции (даже полифункциональных соединений) 1:1. Адсорбция на 2 центрах одновременно представляется значительно менее вероятной.

Величины поверхности сорбатов в табл. 4.27 заметно превышают аналогичные величины для использованных полярных растворителей — тетрагидрофурана и хлороформа. Следовательно, с точки зрения концепции Снайдера значения $p=A_s/n_B$ по абсолютной величине должны быть намного больше, чем оказалось в действительности. В этом массиве данных значения p приближались к 2 только для соединений со структурным фрагментом





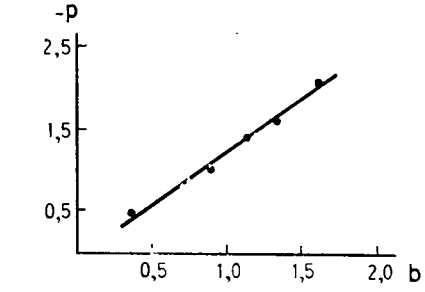


Рис. 4.25. Распределение значений параметра p для 299 массивов данных $\lg k'$—$\lg C$.

Рис. 4.26. Зависимость между параметрами b и p уравнения (4.55) для производных циклопентенона на силикагеле Зорбакс SIL. Подвижная фаза — пропанол-2—гексан—уксусная кислота.

в которых возможность ассоциации с сорбентом не была ослаблена внутримолекулярными взаимодействиями. Сравнение величин p для двух антрахинонов и высших полиядерных хинонов еще раз подтверждает, что размер молекулы сорбата как таковой не определяет чувствительность величин удерживания к составу подвижной фазы.

Рассмотрим зависимость между коэффициентами b и p. Эти параметры при хроматографии на силикагеле оказались сравнительно мало чувствительными к строению сорбатов. Значит, для того чтобы надежно зафиксировать или отвергнуть существование зависимости (4.55), исходные величины удерживания и производные от них b и p должны быть найдены с высокой точностью, и диапазон их изменения в рассматриваемом массиве данных должен быть достаточно велик. На рис. 4.26 представлены такие зависимости для групп веществ, описанных в табл. 4.26. Корреляция между этими величинами видна отчетливо.

Аналогичные данные получены нами при обработке опубликованных в литературе величин удерживания (см. табл. 4.28). В условиях обращенно-фазовой хроматографии закономерность (4.55) универсальна, и ей подчиняются практически все классы соединений. При хроматографии на силикагеле корреляция между b и p и соответствующее ей веерообразное расположение прямых $\lg k'$—$\lg C$ также довольно характерны. Однако в этом случае мы обнаружили, что многие из опубликованных в литературе массивов данных не подчиняются закономерности (4.55). Такое положение объясняется по меньшей мере двумя причинами. Одна из них — физико-химическая, а именно: механизм сорбции на силикагеле значительно сложнее, чем в режиме

обращенно-фазовой хроматографии. Энергетические и стерические факторы здесь играют более существенную роль, благодаря чему селективность разделения на силикагеле близких по строению сорбатов в целом намного выше. Это же обстоятельство приводит к различной чувствительности сорбатов к составу подвижной фазы, и в результате уравнения (4.52) и (4.55) оказываются справедливыми не всегда. Вторая причина носит статистический характер и заключается в том, что диапазон изменений b и p на силикагеле невелик, и поэтому точность их измерения часто недостаточна для достоверной констатации зависимости (4.55).

В настоящее время еще отсутствует нужное количество данных, чтобы выявить закономерности изменения параметров b_0 и b_1 в зависимости от характера изучаемых сорбатов и условий эксперимента. Можно отметить лишь некоторые явления, замеченные при подготовке табл. 4.28. Неподчинение величин b и p уравнению (4.55) наблюдалось нами чаще всего тогда, когда подвижная фаза состояла из двух близких по элюирующей силе растворителей. Такая ситуация рассмотрена в работе [185], где в качестве менее полярного растворителя использовали метиленхлорид. Вероятно, в этом случае приповерхностный слой содержит в сопоставимых количествах оба компонента подвижной фазы, потому процессы вытеснения не могут быть описаны обсуждаемой моделью.

Анализ приведенных в табл. 4.28 значений b_0 и b_1 показывает, что некоторые тенденции их изменения, вытекающие из обсуждаемой модели, действительно имеют место. Так, величина b_1, найденная по данным одной и той же работы, отчетливо уменьшается с увеличением элюирующей силы полярного растворителя. Иногда параметры b_1, найденные по данным разных работ, оказываются близкими.

Более детальный анализ зависимости (4.55) пока не представляется возможным, и дальнейшие исследования в этом направлении, несомненно, потребуют проведения целенаправленных систематических экспериментов. В то же время, по нашему мнению, уравнения (4.52) и (4.55) относятся к числу наиболее общих закономерностей жидкостной хроматографии с бинарными подвижными фазами. Они должны соблюдаться во всех системах, где определенные множества сорбатов взаимодействуют с поверхностью по одному и тому же вытеснительному механизму. Подобное явление наблюдается и при хроматографии на полярных химически связанных неподвижных фазах. В качестве дополнительных примеров, подтверждающих сказанное, мы включили в табл. 4.28 также данные, полученные в условиях тонкослойной хроматографии на окиси алюминия и полиамидном сорбенте.

Таблица 4.29

Элюирующая сила (ε°) бинарных смесей полярных растворителей с гексаном. Сорбент — силикагель [374]

Полярный растворитель	Мольная доля полярного растворителя									
	0	0,005	0,01	0,02	0,05	0,1	0,2	0,5	0,7	1,0
Диэтиловый эфир					0,22	0,25	0,28	0,31	0,35	0,41
Этилацетат				0,18	0,23	0,27	0,32	0,36	0,44	0,50
Тетрагидрофуран							0,33	0,40	0,48	0,51
Диоксан						0,30	0,34	0,38	0,48	0,52
Пропанол-2	0,27	0,29	0,31	0,33	0,36	0,41	0,46			

Разумеется, при хроматографии на силикагеле, как и при обращенно-фазовой хроматографии, не все задачи могут быть решены с помощью лишь одной пары растворителей. Выбор полярных растворителей, пригодных для нормально-фазовых разделений, вообще говоря, довольно широк, и комбинации двух или большего числа сильных компонентов подвижной фазы используются значительно чаще. Тактика оптимизации состава подвижной фазы с точки зрения селективности и в этом случае основывается на описании свойств растворителя с помощью «треугольника селективности» либо других систем, характеризующих способность к межмолекулярным взаимодействиям различных типов.

При решении вопросов оптимизации часто возникает необходимость соотнесения силы бинарных систем, содержащих различные полярные растворители. Теоретические вопросы оценки силы и селективности бинарных элюентов детально рассмотрены в работах [183, 372, 374, 375], вопросы выбора подвижных фаз более сложного состава — в [153, 155, 184]. Для практической оценки элюирующей силы бинарных подвижных фаз могут оказаться полезными данные табл. 4. 29.

4.2.3. СТРОЕНИЕ СОРБАТОВ И УДЕРЖИВАНИЕ

В нормально-фазовой хроматографии на силикагеле невозможно выделить какое-либо одно свойство сорбатов, которое бы определяло прочность их ассоциации с подвижной фазой и величины удерживания. В самом общем виде принцип, по которому можно оценить удерживание, гласит, что более полярные соединения удерживаются сильнее, чем менее полярные. Однако и сам термин «полярность» в применении к хроматографическим процессам неоднозначен, так как охватывает разнообразные типы межмолекулярных взаимодействий, а способность конкретных сорбатов и компонентов системы к этим взаимодействиям может быть различной. В связи с этим в нор-

мально-фазовой хроматографии пока не удалось выработать сколько-нибудь общие модели удерживания и проблема прогнозирования и интерпретации коэффициентов емкости значительно сложнее, чем в обращенно-фазовом режиме. Попытки моделирования связи структуры и хроматографического поведения, как правило, более или менее успешны, если в рамках рассматриваемого множества сорбатов все факторы, определяющие сорбционное равновесие, кроме одного, сохраняют постоянство. Классификация структурных факторов, которые находят свое отражение в величинах удерживания, дана в [12]. Это:

— соотношение полярных и неполярных структурных фрагментов в молекулах сорбатов;
— распределение электронной плотности;
— геометрическое строение;
— внутримолекулярные взаимодействия;
— экранирование полярных функциональных групп.

В зависимости от характера рассматриваемого класса соединений исследователь обычно выбирает тот или иной путь моделирования связи удерживания со строением.

Рассмотрим влияние на коэффициенты емкости простейшего фактора — числа атомов углерода. По мнению многих исследователей, при хроматографии на силикагеле трудно добиться разделения гомологов. Действительно, для этой цели лучше применять обращенно-фазовую хроматографию. Однако и при хроматографии на силикагеле положение совершенно небезнадежно, особенно если рассматриваемые гомологи обладают достаточной полярностью. Цветковским [32] показано, что в режиме адсорбционной хроматографии при росте размеров сорбционно неактивного фрагмента должно происходить уменьшение удерживания и выполняться уравнение, аналогичное (4.23). Это подтверждено также измерениями $\lg k'$ олигобутадиенмоноолов. В литературе имеется еще целый ряд примеров подобного рода. Так, в [12, с. 199] представлено разделение алкилбензолов на силикагеле КСС-4. Инкремент величины $\lg k'$, соответствующий метиленовой группе, составляет около 0,04, что равнозначно относительному удерживанию гомологов $\alpha = 0{,}91$. Следовательно, эти гомологи могут быть разделены на достаточно эффективных колонках. В то время как удлинение алкильной цепи вызывает уменьшение удерживания, введение дополнительных метильных заместителей в ядро бензола приводит к возрастанию k' и в ряду бензол—толуол—...—гексаметилбензол $\lg k'$ возрастает примерно на 0,1 при добавлении каждой следующей метильной группы. В работе [267] показано, что эта закономерность соблюдается для алкилбензолов различных гомологических рядов.

Согласно работе [421], при введении метильных заместителей в молекулу адамантанола наблюдается линейная зависимость (4.24). Угловой коэффициент b зависит от взаимного положения метильных заместителей и гидроксильных групп, принимая максимальное значение в случае α-замещения. При изучении удерживания адамантанонов и других циклических кетонов выявлено [422], что $\lg k'$ убывают закономерно с увеличением числа атомов углерода в цикле от циклопентанона до диамантанона ($n_c = 14$). Аналогичные зависимости получены нами при изучении удерживания гомологического ряда 2-карбоксиалкилциклопентен-2-онов-1, а также ω-нор- и гомоаналогов 11-дезоксипростагландина E_1 (рис. 4.27 и 4.28).

По-видимому, уже этого количества примеров достаточно для утверждения, что закономерность (4.23) для хроматографии на силикагеле ие менее характерна, чем для обращенно-фазовой хроматографии.

Величины $\lg k'$ закономерно возрастают с увеличением числа конденсированных колец в производных полиядерных аренов [15]. Значения b и p уравнения (4.55) для родственных соединений в данном случае также подчиняются обсуждаемой закономерности (рис. 4.29). Вопросы аддитивности параметра n' (уравнение (4.89)) применительно к бифункциональным стероидам рассмотрены также в работе [185]. Для сложения вкладов

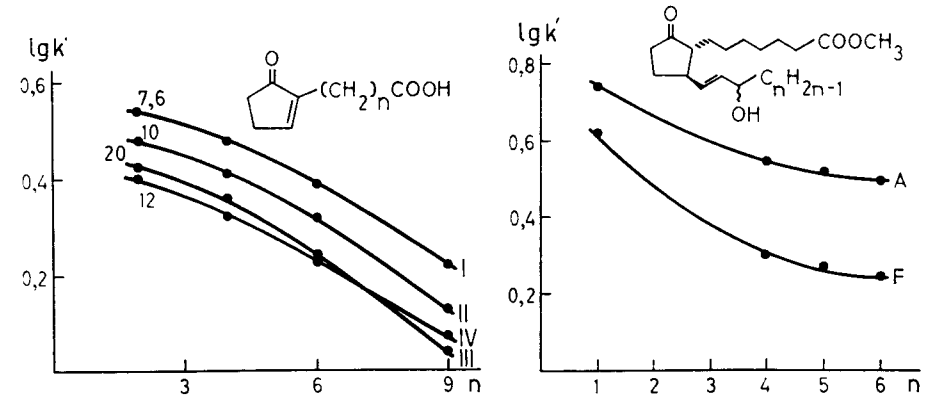


Рис. 4.27. Удерживание 2-карбоксиалкилциклопентен-2-онов-1. Сорбеит — Силасорб 600, неполярный компоиент подвижиой фазы — гексан, поляриые компонеиты — этанол (I), пропаиол-2 (II), бутанол (III), диоксан (IV). Цифрами на кривых указаиа процентиая концентрация поляриого растворнтеля.

Рис. 4.28. Зависимость удерживания ω-нор- и гомоаналогов метилового эфира 11-дезоксипростагландиа E_1 от длины ω-цепи. А — α-изомер; Б — β-изомер. Сорбент — Силасорб 600, элюеит — гексан—пропаиол-2 (93 : 7).

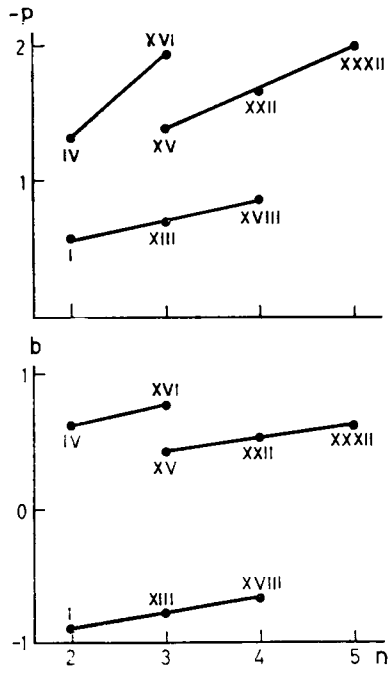


Рис. 4.29. Зависимость параметров b и p уравнения (4.52) от числа коиденсированных колец в молекулах сорбатов. Цифры на прямых соответствуют нумерации соединений в табл. 4.27.

в величину n', соответствующих двум полярным функциональным группам n'_1 и n'_2, предложено уравнение

$$n'_{1,2}=\gamma(n'_1+n'_2), \quad (4.100)$$

где γ — коэффициент усреднения для бинарных растворителей гексан—бензол и гексан—метиленхлорид, $\gamma\approx0{,}7$.

Несмотря на эти и некоторые другие отдельные удачные демонстрации принципов аддитивности, можно утверждать, что в целом аддитивность вкладов структурных фрагментов в удерживание соблюдается редко. Поэтому расчеты удерживания по уравнениям типа (4.23) не нашли при хроматографии на силикагеле широкого применения. В то же время концепция аддитивности может служить в отдельных случаях эффективным инструментом выявления внутримолекулярных эффектов. Так, в уже упоминавшемся исследовании производных полиядерных аренов нами выявлены инкременты параметра b (табл. 4.30). С их помощью для соединений, не использованных непосредственно при определении δb_i, найдены значения $b_{\text{расч}}$. Эти значения сопоставлены с $b_{\text{эксп}}$ в табл. 4.31. Видно, что типичная разность между расчетным и экспериментальным значениями не превышает 0,2. Следовательно, постоянство и аддитивность вкладов структурных фрагментов в целом соблюдаются. Ярко выраженное исключение составляют соединения с оксихиноновым фрагментом. В результате внутримолекулярного взаимодействия между гидроксилом и карбонилом резко уменьшается вероятность взаимодействия этих групп с сорбентом. Поэтому расчетное удерживание оказывается завышенным в 600 (!) раз по сравнению с экспериментальным в случае реализации одного внутримолекулярного взаимодействия и примерно в 160 000 раз при возможности двух таких взаимодействий. Этот эффект не может остаться не замеченным экспериментатором, несмотря на невысокую точность аддитивного расчета.

Таблица 4.30

Средние вклады структурных фрагментов в параметр b

Структурный фрагмент	δ_{bi}
Коиденсированиая система	$-1{,}10+0{,}07\ n_1$, где n_1 — число колец
Алкильные заместнтели	$-0{,}03\ n_2$, где n_2 — число атомов углерода
—Cl	−0,09
—Br	−0,15
Хинонная система	+1,40
—OH	+2,40
—OCH_3	+0,53

Влияние электронных эффектов на удерживание может быть описано с помощью различных модификаций уравнения Гаммета—Тафта. Например, в работе [50] показано существование корреляций между $\lg k'$ и σ^*-константами Гаммета, а также величинами pK_{BH^+}.

Трудности аддитивных расчетов удерживания в известной мере можно обойти, используя простейший вариант аддитивного метода — метод сравнительных расчетов. Этот подход предусматривает использование инкрементов, которые соответствуют не вкладу отдельных групп в удерживание, а изменению величин удерживания в результате замены в молекуле сорбата одного структурного фрагмента другим. Вместо инкре-

Таблица 4.31

Расчетные и экспериментальные значения параметра b

Соединение по табл. 4.27	$b_{\text{расч}}$	$b_{\text{эксп}}$	$b_{\text{расч}}-b_{\text{эксп}}$	Соединение по табл. 4.27	$b_{\text{расч}}$	$b_{\text{эксп}}$	$b_{\text{расч}}-b_{\text{эксп}}$
II	−1,08	−1,15	+0,07	XIX	−0,94	−0,79	−0,15
III	1,32	0,66	+0,66	XX	−1,18	−1,04	−0,14
IV	0,46	0,62	−0,16	XXII	0,58	0,50	+0,08
VIII	−0,93	−1,03	+0,10	XXIII	5,38	−0,11	+5,49
IX	−1,05	−1,00	−0,05	XXIV	0,40	0,40	0,00
XI	5,26	0,43	+4,83	XXVI	2,89	0,10	+2,79
XII	0,40	0,63	−0,23	XXVII	5,26	−0,10	+5,36
XIV	−1,07	−1,21	+0,14	XXVIII	5,91	0,15	+5,76
XV	0,51	0,43	+0,08	XXIX	−0,29	−0,28	−0,01
XVI	0,51	0,63	−0,12	XXX	5,26	−0,26	+5,52
XVII	5,33	0,01	+5,32				

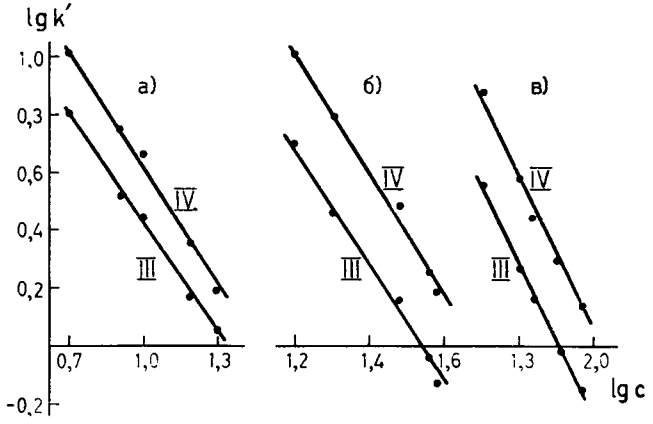


Рис. 4.30. Зависимость $\lg k'$ соединенй III и IV (табл. 4.32) от концентрации полярного модификатора c: *а* — пропанол-2; *б* — диоксан; *в* — этилацетат.

ментов $\delta\lg k'_i$ фрагмента i структуры вводятся инкременты $\delta\lg k'_{i,j}$, соответствующие замене фрагмента i фрагментом j. Особенность таких расчетов заключается в выделении среди соединений данного множества прототипа, наиболее полно отражающего черты структуры, присущие всему классу. Удерживание любого другого аналога этого ряда описывается формулой

$$\lg k' = \lg k'_p + \sum \delta \lg k'_{ij}, \qquad (4.101)$$

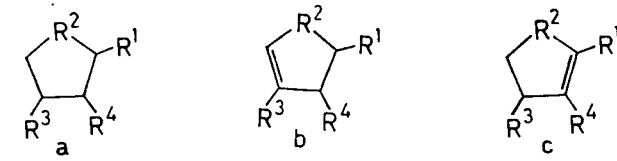
где k'_p — коэффициент емкости прототипа.

Такой подход оказался довольно эффективным при исследовании поведения производных циклопентанона — полупродуктов синтеза простагландинов [24]. Структура изученных соединений приведена в табл. 4.32.

Для определения возможности применения уравнения (4.101) к подвижным фазам различной элюирующей силы были исследованы зависимости удерживания от концентрации полярного модификатора, аналогичные (4.52). На рис. 4.30 представлены примеры таких зависимостей для пары соединений, различающихся только одним структурным фрагментом. В рассматриваемом диапазоне C прямые $\lg k'$—$\lg C$ можно считать параллельными, и, следовательно, значения $\delta\lg k'_{i,j}$ мало зависят от концентрации полярного модификатора, а зависят от типа модификатора. Сказанное иллюстрируют данные табл. 4.33, в которую сведены значения $\delta\lg k'_{i,j}$ для трех полярных растворителей. Анализ данных показывает различие в селективности используемых модификаторов. Это различие может стать основой для выбора модификатора, обеспечивающего наилучшее разделение

Таблица 4.32

Структура исследуемых соединений [24]



Номер соединения	Тип циклопентанового кольца	R^1	R^2	R^3	R^4
1	2	3	4	5	6
I	*a*	$\cdots(CH_2)_6COOC_2H_5$	C=O	—H	—CH=CH—CH—C_5H_{11} (OH)
II	*a*	$\cdots CH_2COOCH_3$	C=O	—H	—CH=CH—CH—C_5H_{11} (OH)
III	*a*	$\cdots CH_2COOCH_3$	C=O	$\cdots$OH	—CH=CH—CH—C_5H_{11} (ОТГФ)
IV	*a*	$\cdots CH_2COOCH_3$	C=O	$\cdots$OH	—CH=CH—CH—C_5H_{11} (OH)
V	*a*	$\cdots CH_2COOCH_3$	CH—OH	$\cdots$OH	—CH=CH—CH—C_5H_{11} (ОТГП)
VI	*a*	$\cdots(CH_2)_6COOC_2H_5$	C=O	—H	—CH=CH—CH—C_5H_{11} (ОТГП)
VII	*a*	$\cdots CH_2COOCH_3$	C=O	$\cdots OCH_3$	—CH=CH—CH—C_5H_{11} (ОТГФ)
VIII	*a*	$\cdot CH_2COOCH_3$	C=O	$\cdots OCH_3$	—CH=CH—CH—C_5H_{11} (OH)
IX	*a*	$\cdots CH_2COOCH_3$	C=O	~ОТГП	—H

Окончание таблицы 4.32

1	2	3	4	5	6
X	*a*	···CH_2COOCH_3	>CH—OH	~OTГП	—H
XI	*a*	···CH_2COOCH_3	>CH—OH	~OTГП	—CH=CH—CH_3
XII	*a*	···CH_2COOCH_3	>C=O	···OTГП	—CH=CH—CH(C_5H_{11})—OTГП
XIII	*a*	···CH_2COOCH_3	>CH—OH	···OH	—CH=CH—CH(C_5H_{11})—OTГФ
XIV	*b*	·CH_2COOCH_3	>C=O	—H	~OTГП
XV	*a*	···$CH_2CH_2COOCH_3$	>C=O	—H	—CH=CH—CH(C_5H_{11})—OH
XVI	*a*	···CH_2COOCH_3	>CH—OH	—H	—CH=CH—CH(C_5H_{11})—OTГФ
XVII	*a*	···CH_2COOCH_3	>CH—OH	···OTГФ	—CH=CH—CH(C_5H_{11})—OTГФ
XVIII	*a*	···CH_2COOCH_3	>C=O	···OTГФ	—CH=CH—CH(C_5H_{11})—OTГФ
XIX	*c*	—CH_2COOCH_3	>C=O	—OH	—H
XX	*a*	···CH_2COOCH_3	>C=O	~OH	—H
XXI	*c*	—CH_2COOCH_3	>C=O	—OCH_3	—H
XXII	*a*	···CH_2COOCH_3	>CH—OH	···OCH_3	—CH=CH—CH(C_5H_{11})—OTГФ

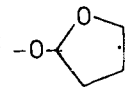
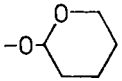
Примечание. Структурные фрагменты  и  обозначаются далее как —ОТГФ и —ОТГП соответственно.

Таблица 4.33

Значения инкрементов $\delta\lg k'_{i,j}$ для подвижных фаз с различными полярными модификаторами

$i \to j$	$\delta \lg k'_{i,j}$			Найдено по данным для соединений табл. 4.32
	пропанол-2	диоксан	этил-ацетат	
—H→ —$OH_{(1)}$*	0,60	0,66	0,70	
—H→ —$OH_{(2)}$	0,40	0,56	0,70	II, IV
$=CH_2$→ =C=O*	0,30	0,26	0,32	
>C=O → >CH—$OH_{(1)}$	0,30			IX, X
>C=O → >CH—$OH_{(2)}$		0,30	0,38	III, XIII
—OTГП→ —$OH_{(1)}$	0,63	0,55	0,50	VI, I
—OTГФ→ —$OH_{(1)}$	0,40	0,40	0,26	VII, VIII
—OTГФ→ —$OH_{(2)}$	0,20	0,30	0,26	III, IV
—OCH_3→ —$OH_{(1)}$	0,40	0,46	0,54	VII, III
—OCH_3→ —$OH_{(2)}$	0,20	0,46	0,52	VIII, IV
—H→ —OTГФ	0,20	0,20	0,43	II, III
—H→ —OTГП*	−0,03	0,01	0,20	
—H→ —OCH_3	0,27	0,10	0,13	II, VIII
—CH_3→ —CH_2CH_3	−0,11	−0,11	−0,11	X, XI
—CH_2R→ —CH_2CH_2R	−0,03	−0,03	−0,02	II, I

* Значения найдены не по экспериментальным данным, а по другим инкрементам этой таблицы.

той или иной конкретной пары веществ. Далее, вклад в удерживание, обусловленный введением в молекулу сорбата первой гидроксильной группы ($OH_{(1)}$), обычно больше соответствующего значения для второй группы ($OH_{(2)}$). Значит, вероятность двухцентровой сорбции молекул, содержащих две гидроксильные группы, относительно мала. Различия между инкрементами для первого и второго гидроксилов увеличиваются по мере увеличения элюирующей силы полярного растворителя.

Для прогнозирования хроматографического поведения на основе найденных значений $\delta\lg k'_{i,j}$ в качестве прототипа было выбрано соединение I (см. табл. 4.32). Оно имеет типичное для простаноидов строение углеводородного скелета и три наиболее часто встречающиеся функциональные группы — гидроксильную, карбонильную и сложноэфирную. В табл. 4.34 отражены результаты расчета значений k' соединений по уравнению (4.101). Точность прогнозирования удерживания удовлетворительна. Обычно погрешность составляет не более 10%, однако для соединений IX—XI достигает 30%. По-видимому, это объясняется не неточностью расчетных значений $\delta\lg k'_{i,j}$ для различ-

Прогнозирование удерживания производных циклопентана в бинарных

Соединение по табл. 4.32	Число структурных изменений	Пропанол-2			
		% в гексане	$k'_{расч}$	$k'_{эксп}$	$\frac{k'_{эксп}}{k'_{расч}}$
I		10		1,11	
II	1	10	1,77	1,91	1,08
III	2	10	2,80	2,81	1,00
IV	2	10	4,44	4,89	1,10
V	3	10	5,58	5,95	1,07
VI	1	10	0,26	0,31	1,17
VII	3	10	1,29	1,23	0,95
VIII	2	10	3,26	2,92	0,90
IX	3	10	1,86	1,34	0,72
X	4	10	3,71	2,51	0,68
XI	3	10	1,73	1,20	0,70
XII	3				
XIII	2				
XIV	2				

Таблица 4.35

Прогнозирование удерживания в трехкомпонентных элюентах

Соединение по табл. 4.32	Прототип соединения	Число структурных различий	Состав элюента	k'_p	$k'_{расч}$	$k'_{эксп}$	$\frac{k'_{эксп}}{k'_{расч}}$
1	2	3	4	5	6	7	8
VII	XV	3	5% пропанола-2 5% этилацетата 90% гексана	3,15	1,73	1,51	0,87
VII	VIII	1	8% пропанола-2 5% диоксана 87% гексана	2,15	0,85	0,83	0,98
XXII	XVI	1	15% этилацетата 10% диоксана 75% гексана	1,68	2,16	2,78	1,26
XVIII	XVII	1	15% этилацетата 10% диоксана 75% гексана	4,13	2,02	1,41	0,70
XIX	IV	3	10% пропанола-2 5% диоксана 85% гексана	3,20	4,23	3,56	0,84
XIII	III	1	10% пропанола-2 5% диоксана 85% гексана	1,25	2,89	2,96	1,02
XX	III	3	10% пропанола-2 5% диоксана 85% гексана	1,25	3,82	3,71	0,97
XXI	XIX	1	13% пропанола-2 7% диоксана 80% гексана	3,12	1,19	1,41	1,18

Таблица 4.34

элюентах по уравнению (4.101) (прототип — соединение I)

Диоксан				Этилацетат			
% в гексане	$k'_{расч}$	$k'_{эксп}$	$\frac{k'_{эксп}}{k'_{расч}}$	% в гексане	$k'_{расч}$	$k'_{эксп}$	$\frac{k'_{эксп}}{k'_{расч}}$
30		0,63		70		0,4	
30	1,0	0,99	1,0	70	0,56	0,52	0,93
30	1,58	1,50	0,95	70	1,51	1,42	0,94
30	3,63	3,74	1,03	70	2,81	3,04	1,08
30	0,50	0,52	1,04	70	0,42	0,41	0,98
30	1,26	1,24	0,98	70	0,76	0,71	0,94
30	3,16	2,99	0,95	70	3,63	3,47	0,96
30	0,40	0,37	0,93	70	0,28	0,24	0,85
				50	0,56	0,53	0,95

Окончание таблицы 4.35

1	2	3	4	5	6	7	8
IV	XV	2	5% пропаиола-2 20% диоксаиа 75% гексаиа	0,80	3,11	2,34	0,75
VIII	IV	1	5% пропаиола-2 20% диоксаиа 75% гексаиа	2,34	1,09	1,18	1,08
VIII	IV	1	5% пропаиола-2 10% этилацетата 85% диоксаиа	8,07	4,13	3,94	0,95
IV	XV	1	5% пропанола-2 10% этилацетата 85% гексаиа	2,22	8,07	6,82	0,85

ных структурных изменений (соединения, отличающиеся от I тремя подобными изменениями, описываются достаточно точно), а характером несущего их углеводородного скелета. Поэтому для более успешного прогнозирования целесообразно выбирать в качестве прототипа вещество с максимально близким углеводородным скелетом. Так, при расчете k' соединений IX и XI по соединению X погрешность составляет 6 и 3% соответственно.

При разделении сложных смесей часто используют не один, а два или даже больше модификаторов. В рамках рассматриваемого множества соединений может быть оценена сравнительная сила каждого из трех исследуемых модификаторов. Для

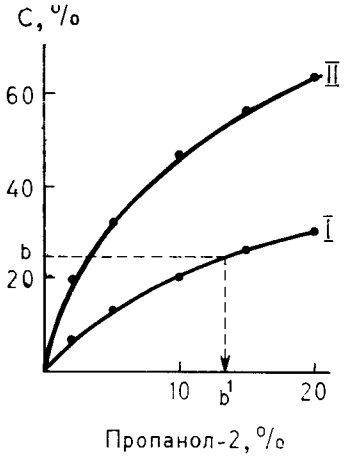


Рис. 4.31. Концентрации пропанола-2, диоксана (I) и этилацетата (II) в гексане, обладающие равной элюирующей силой по отношению к производным циклопентанона.

этого можно взять достаточно представительную группу веществ (например, 10 соединений, приведенных в табл. 4.32, содержащих характерные для всего множества структурные фрагменты) и для каждого из них найти концентрации диоксана и этилацетата, обладающие такой же силой, как ряд бинарных элюентов пропанол-2—гексан. Естественно, в силу различной селективности найденные значения для разных веществ не совпадут. Средние же значения для всей группы веществ будут отражать сравнительную силу модификаторов применительно к рассматриваемому множеству (рис. 4.31). Чтобы использовать уравнение (4.101) для трехкомпонентных систем растворителей (неполярный A и полярные B_1, B_2), необходимо найти усредненное значение $\delta \lg k'_{i,j}$ для данной системы. Пусть необходимо рассчитать $\delta \lg k'_{i,j}$ для системы, содержащей a% пропанола-2 и b% диоксана в гексане. Для этого по рис. 4.31 найдем величину b'. Она соответствует концентрации пропанола-2, обладающей такой же элюирующей силой, как b% диоксана. Среднее значение $\delta \lg k'_{i,j}$ для данного состава элюента находим по формуле

$$\delta \lg k'_{i,j} = \frac{a\delta \lg k'_{i,j,\text{п}} + b'\delta \lg k_{i,j,\text{д}}}{a+b} \qquad (4.102)$$

где $\delta \lg k'_{i,j,\text{п}}$ и $\delta \lg k'_{i,j,\text{д}}$ — инкременты для бинарных подвижных фаз, содержащих пропанол-2 и диоксан соответственно.

С помощью уравнений (4.101) и (4.102) нами рассчитаны величины удерживания ряда простаноидов на силикагеле в трехкомпонентных подвижных фазах. В табл. 4.35 представлены данные, которые позволяют судить о точности данного метода.

4.2.4. НЕТРАДИЦИОННЫЕ РЕЖИМЫ ХРОМАТОГРАФИИ НА СИЛИКАГЕЛЕ

Выше рассмотрены основные закономерности хроматографии на силикагеле в нормально-фазовом режиме. Такой способ использования силикагеля — исторически первый, и с помощью его решено множество практически важных задач. Впоследствии силикагель в значительной степени был вытеснен обращенно-фазовыми сорбентами. Однако данные самого последнего периода свидетельствуют о том, что возможности силикагеля далеко не исчерпываются классической нормально-фазовой хроматографией. Помимо относительно малополярных элюентов при хроматографии на силикагеле могут использоваться различные нетрадиционные подвижные фазы. При этом возможно получение хороших практических результатов даже для таких сорбатов, которые, как правило, рекомендуют разделять в обращенно-фазовом режиме. Механизм сорбции в таких случаях довольно сложен и изучен еще недостаточно. Обычно принято считать, что поверхность силикагеля слабокислая, и это иногда является причиной затруднений при нормально-фазовой хроматографии оснований. Установлено, однако, что современные марки силикагеля для ВЭЖХ, имеющие сферическую форму частиц, могут быть как кислыми, так и щелочными [128]. Это обстоятельство следует иметь в виду при разработке методик, так как высокое значение pH силикагеля может положительно сказаться на форме пиков оснований и селективности разделений. Аналогичен результат при применении буферированного силикагеля [343, 344]. Для получения этого материала силикагель пропитывали 0,1 М раствором соли или кислоты, после чего высушивали в вакууме и затем заполняли колонку суспензионным способом. В качестве подвижных фаз использовали обычные для нормально-фазовой хроматографии системы: например, смеси гексана с диэтиловым эфиром в различных соотношениях. Пропитка силикагеля гидросульфатом натрия либо щавелевой, лимонной, винной кислотами способствовала существенному улучшению формы пиков изомеров гераниевой кислоты. Аналогичного эффекта для сорбатов основного характера — производных антраниловой кислоты — удалось добиться пропиткой фосфатно-цитратным буфером. Последний прием позволил также получить вполне симметричные пики ФТГ-производных аминокислот.

Как правило, силикагель используют с органическими элюентами, почти не содержащими воды. Однако оказывается, что он вполне может работать в равновесии и с водными растворами — типичными элюентами обращенно-фазовой хромато-

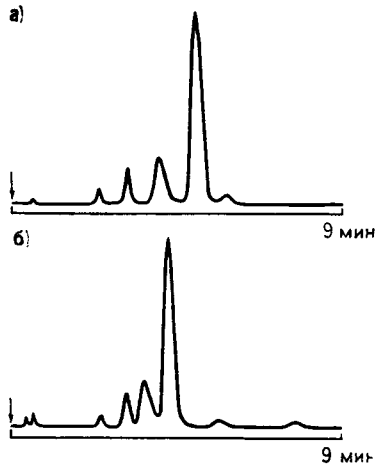


Рис. 4.32. Хроматограмма Asn-Arg-Val--Tyr-Val-His-Pro-Phe. Подвижная фаза — ацетоинтрил — 0,1 М ацетатный буфер pH 5,0 (70:30). Сорбент — Зорбакс ODS (*а*), Силасорб 600 (*б*).

графии. При этом можно получить хроматограммы, не уступающие по качеству, а иногда и лучше, чем на алкилсиликагелях. Так, при исследовании синтетических пептидов нами установлено [4], что в элюентах, содержащих ацетатный или фосфатный буфер и ацетонитрил (свыше 60%), характер хроматограмм почти не зависит от типа использованного сорбента (рис. 4.32).

Таким образом, в соответствующих подвижных фазах возможна такая ситуация, когда алкильные лиганды обращенно-фазового сорбента на процесс сорбции влияния не оказывают. Вероятнее всего, при хроматографии оснований в таких условиях начинают играть роль процессы ионного обмена. В работе [387] изучалось влияние pH, ионной силы, концентрации метанола на поведение ампролиума, амилокаина, бензокаина, бутакаина и кокаина на октадецилсиликагеле и немодифицированном силикагеле. Многие закономерности оказались весьма близкими для двух различных сорбентов. Более того, немодифицированный силикагель проявил бóльшую эффективность (рис. 4.33 и 4.34). Наиболее яркий пример эффектов такого рода приведен в работе [66]. Исследовано поведение на силикагеле характерных сорбатов обращенно-фазовой хроматографии: трициклических антидепрессантов, анестетиков (лидокаин и аналоги), пропранолола, прометазина и др. Все они обладали выраженными основными свойствами. Вопреки общепринятому мнению, что неудовлетворительная форма пиков органических оснований связана с влиянием остаточных силанольных групп на поверхности алкилсиликагелей, было показано, что асимметрия определяется не наличием силанольных групп, а их стерической недоступностью. Авторы использовали сорбенты с различной степенью модификации поверхности алкиль-

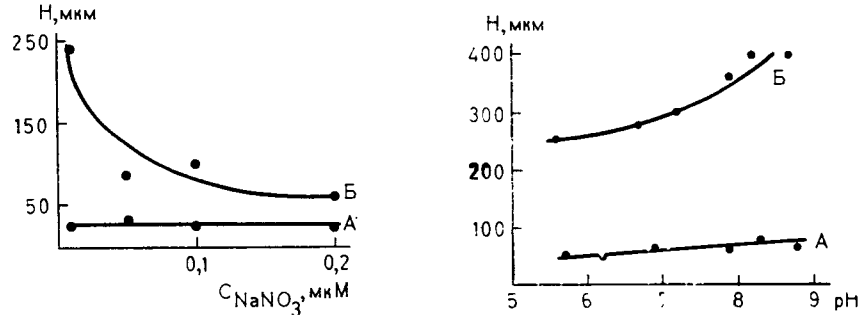


Рис. 4.33. Зависимость ВЭТТ от концентрации нитрата натрия в подвижной фазе. Сорбат — кокаин, подвижная фаза — 70% метанола в воде, pH 7,0. Сорбенты — силикагель (А), октадецилсиликагель (Б).

Рис. 4.34. Зависимость ВЭТТ от pH подвижной фазы (5% 0,05 М формиата аммония в метаноле). Сорбат — ампролиум. А — силикагель; Б — октадецилсиликагель.

ными радикалами и обнаружили, что удовлетворительное удерживание и безупречная форма пиков характерны для немодифицированного силикагеля. Модификация его ведет к увеличению удерживания (подвижная фаза во всех случаях одна и та же) и резкому увеличению «хвостов». Приводятся вполне удовлетворительные хроматограммы изученных лекарственных соединений на немодифицированном силикагеле при использовании подвижных фаз, состоящих из воды, метанола и добавок бутиламина либо гидрофосфата аммония. Аналогичные условия использованы для разделения производных тетрациклина и имидазола, ряда алкалоидов [281].

Неводные ионогенные растворители также могут быть применены при хроматографии на силикагеле. В работе [134] изучено влияние ионной силы, pH элюента и основности сорбатов на величины удерживания. Роль этих факторов указывает на то, что основным процессом, определяющим сорбцию, является катионный обмен с силанольными группами поверхности. Подвижные фазы состояли из метанола с добавками хлорной кислоты, перхлората аммония, гидроксида калия. Сопоставление хроматограмм, полученных на различных силикагелях (Партисил-5, Гиперсил, Силоид, Сферисорб), свидетельствует о том, что абсолютные величины удерживания на последних трех сорбентах воспроизводятся хорошо. Партисил удерживает изученные лекарственные соединения слабее, хотя селективность сорбента по отношению к ним примерно такая же, как у других материалов. В отличие от нормально-фазовой и обращенно-фазовой хроматографии, селективность разделения несколько улучшается при малом удерживании. На рис. 4.35 представлена

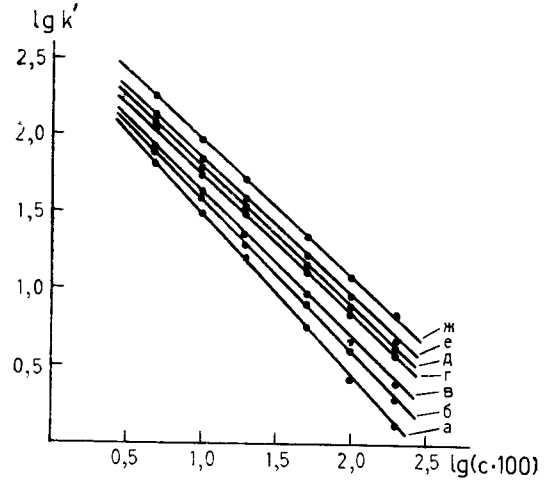


Рис. 4.35. Зависимость удерживания сорбатов от логарифма объемной концентрации хлорной кислоты в метаноле (по данным [134]): *а* — амфетамин; *б* — дезэтиламнодарон; *в* — нортриптилин; *г* — амиодарон; *д* — амитриптилин; *е* — имипрамин; *ж* — эмепроний.

зависимость $\lg k'$ от концентрации хлорной кислоты в метаноле. Прямые для различных лекарственных соединений располагаются веерообразно, подобно тому, как это наблюдалось в других режимах хроматографии. Однако общая точка, к которой стремятся прямые, расположена не в области больших концентраций и малого удерживания, а в противоположной части графика.

В работе [234] силикагель Сферисорб S5W и подвижная фаза, содержавшая 0,01 моль/л хлорной кислоты и 0,0001 моль/л гидроксида калия, были испытаны для хроматографирования 462 лекарственных веществ — оснований различных групп. Из приведенного материала ясно, что такая система универсальна и открывает возможности селективного детектирования по сочетанию УФ-поглощения и сигнала электрохимического детектора. Однако почти для всех сорбатов, имеющих коэффициенты емкости выше трех, характерна также значительная асимметрия пиков.

4.3. ХРОМАТОГРАФИЯ НА ПОЛЯРНЫХ ХИМИЧЕСКИ СВЯЗАННЫХ НЕПОДВИЖНЫХ ФАЗАХ

Сорбенты этого типа уже на протяжении ряда лет выпускаются всеми основными фирмами, специализирующимися на материалах для ВЭЖХ. Тем не менее вплоть до настоящего времени области и способы их применения не удалось сформулировать однозначно. Их преимущества по сравнению с силикагелем, с одной стороны, и алкилсиликагелями — с другой пока выявлены лишь для некоторых классов соединений. По-видимому, единственная область, где сорбенты этого класса (точнее, лишь один из них — аминосиликагель) открыли принципиально новые возможности, — это анализ углеводов, а также групповые разделения углеводородов [345].

Полярность материалов, модифицированных органическими радикалами с амино- и цианогруппами, меньше, чем у исходных силикагелей, и полярные органические соединения удерживаются такими сорбентами слабее. Следовательно, они могут быть рекомендованы для разделения наиболее полярных соединений в нормально-фазовом режиме. С другой стороны, эти сорбенты гидролитически устойчивы при pH 2,0—7,5 и потому могут использоваться также в обращенно-фазовом режиме. Хотя возможности такого их использования изучены пока недостаточно, можно ожидать, что помимо неспецифических гидрофобных взаимодействий проявятся также взаимодействия между полярными группами в молекулах сорбатов и неподвижной фазой. В результате селективность таких систем будет отличаться от селективности традиционных обращенно-фазовых систем.

В случае использования органических элюентов механизм сорбции на материалах этого класса мало отличается от механизма сорбции на немодифицированном силикагеле, хотя дискуссия о его деталях в литературе до сих пор не завершена. Так, в работе [197] показано, что аминогруппы поверхности способны связывать различное количество молекул полярного растворителя. В случае умеренно полярных растворителей поверхностный комплекс, по мнению авторов, состоит из одной аминогруппы и одной молекулы растворителя. Более полярные растворители, например спирты, связываются с аминогруппами в отношении 1:3. Предполагается, что в первом случае молекула сорбата взаимодействует со свободными аминогруппами сорбента и полярным растворителем в подвижной фазе. В системе, таким образом, реализуются следующие равновесия:

$$\equiv NH_2 + B \overset{K_1}{\rightleftharpoons} \equiv NH_2 \cdots B; \qquad (4.103)$$

$$\equiv NH_2 + X \overset{K_2}{\rightleftharpoons} \equiv NH_2 \cdots X; \qquad (4.104)$$

$$B + X \overset{K_3}{\rightleftharpoons} B \cdots X, \qquad (4.105)$$

где B — полярный компонент подвижной фазы;
X — хроматографируемое вещество;
K_1, K_2, K_3 — соответствующие константы равновесия.

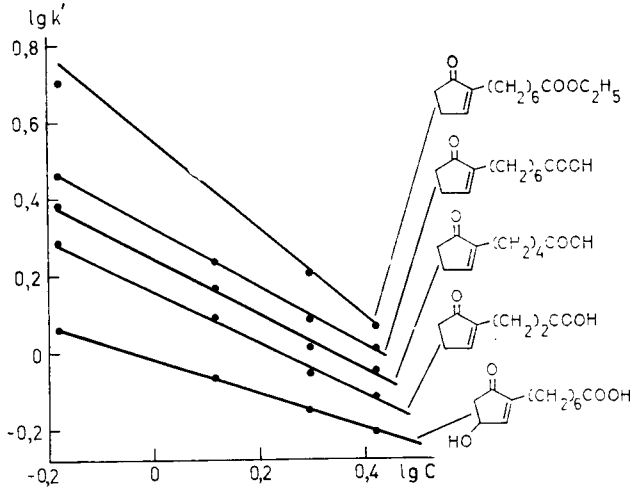


Рис. 4.36. Зависимость удержнвания производных цнклопентенона на колонке Микропак CN-10 от концентрации пропанола-2 в гексане, моднфицнрованном 1% уксусной кислоты.

на себя внимание веерообразное расположение прямых $\lg k'$—$\lg C$ на этом рисунке. Подобное расположение прямых отмечено также в работе [377]. Оно родственно обсуждавшемуся выше для хроматографии на алкилсиликагелях и немодифицированных силикагелях. Некоторые примеры зависимостей, найденных нами, обобщены в табл. 4.37.

Таблнца 4.37

Параметры уравнения (4.55) для химически модифицированных полярных сорбентов

Класс соединенй	Сорбент	Компоненты элюента		$-b_0$	$-b_1$	n	r
		А	Б				
Алкилпиридины	Зорбакс CN	Гексан	Диоксан	0,19	0,97	14	0,95
Пронзводные циклопентенона	Микропак CN	„	Пропаиол-2	0,49	0,97	5	0,93
Силатраны	Зорбакс CN	„	Хлороформ	2,47	2,71	4	0,95
	То же	„	Диоксан	0,88	2,41	4	0,98
Ароматическне соединения*	Росил NH_2	Гептан	Пропанол-2	1,42	2,0[illegible]	[illegible]	0,93
Комплексы арентрикарбонилхрома*	То же	„	„	0,65	1,18	8	0,99

* Переработанные данные из [102].

Аналогичная закономерность позволила разработать систему прогнозирования удерживания ароматических оксисоединений [100]. Установлено, что между величиной $\lg k'$ на μБондапаках CN и NH_2 и параметром растворимости бинарной подвижной фазы существует линейная зависимость

$$\lg k' = I - S \lg \delta_{m,T}, \qquad (4.110)$$

где I, S — коэффициенты.

Параметр растворимости бинарной подвижной фазы $\delta_{m,T}$ связан с параметрами сильного ($\delta_{s,T}$) и слабого ($\delta_{w,T}$) ее компонентов соотношением

$$\delta_{m,T} = X_s \delta_{s,T} + (1 - X_s)\delta_{w,T}, \qquad (4.111)$$

где X_s — мольная доля сильного компонента.

В ряду структурно родственных соединений коэффициенты I и S уравнения (4.110) линейно связаны между собой:

$$S = -pI + q. \qquad (4.112)$$

Подставив (4.112) в (4.110), получим уравнение, позволяющее прогнозировать удерживание при произвольном составе бинарной подвижной фазы:

$$\lg k' = (1 + p \lg \delta_{m,T})I - q \lg \delta_{m,T}. \qquad (4.113)$$

Аналогичную зависимость для коэффициентов уравнения Снайдера $\lg k'_0$ и A_s/n_B авторам обнаружить не удалось. Коэффициенты корреляции уравнения (4.113) для разных массивов данных составили 0,95—0,98. Прогнозирующая способность (4.113) оценивалась по удерживанию веществ, данные о которых не использовались при определении коэффициентов q и p. Для различных классов сорбатов погрешность прогнозирования k' составила 4—8%.

Разумеется, при хроматографии на полярных химически связанных неподвижных фазах описание процесса только в терминах силы подвижной фазы (или концентрации данного полярного растворителя) неполное. Как и в других видах хроматографии, не меньшую роль играет селективность [102].

Взаимосвязь между строением сорбатов и их удерживанием на полярных химически связанных неподвижных фазах изучена пока слабо. Однако имеющиеся в литературе примеры позволяют полагать, что общие подходы, оправдавшие себя в хроматографии на силикагелях и алкилсиликагелях, применимы и к этому классу сорбентов. Так, в [432] показано, что удерживание ароматических углеводородов на цианопропилсиликагеле Супелкосил CN подчиняется уравнению (4.23). Найдены вклады некоторых функциональных групп в удерживание на этом сор-

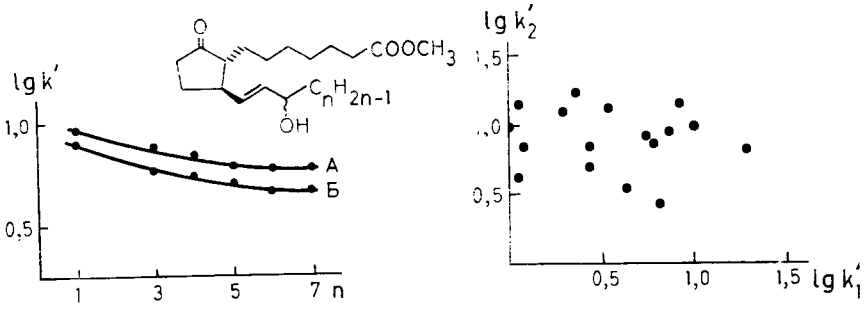


Рис. 4. 37. Зависимость удерживания гомологов метилового эфира 11-дезоксипростагландина E_1 от числа атомов углерода в ω-цепи. А — α-изомер; Б — β-изомер. Колонка — Микропак CN. Подвижная фаза — пропанол-2—гексан (5:95).

Рис. 4. 38. Удерживание пронзводных *симм*-триазина на Мнкропаке CN: $\lg k'_1$ — в подвнжной фазе гептан—пропанол-2 (1000:15); $\lg k'_2$ — в подвижной фазе вода—ацетонитрил—уксусная кислота (95:5:0,5).

бенте. Оказалось, что они приблизительно в 5 раз меньше соответствующих вкладов в хроматографии на силикагеле. Отсюда следует практически важный вывод относительно области применения нитрильных неподвижных фаз: они должны оказаться наиболее выгодными в тех случаях, когда на одной хроматограмме необходимо получить пики соединений, сильно различающихся по полярности.

Нитрилсиликагели, в частности, проявляют меньшую селективность при разделении гомологов, чем алкилсиликагели. На рис. 4.37 отражена зависимость удерживания гомологов метилового эфира 11-дезоксипростагландина E_1 от числа атомов углерода. Видно, что инкремент $\lg k'$ непостоянен и уменьшается с удлинением ω-цепи.

На величины удерживания, естественно, влияет не только размер молекул сорбатов, но и электронные факторы. Так, выявлено наличие корреляции между $\lg k'_0$ и pK [213]. В работе [159] для описания поведения полярных ароматических углеводородов предложено уравнение

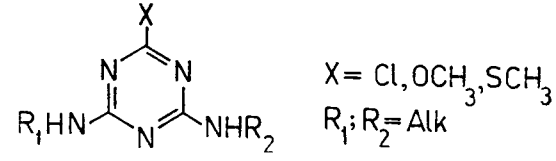
$$\lg k' = a + b\,(n_\pi + n_\pi/l), \qquad (4.114)$$

где n_π — число π-электронов; l — длина молекулы. Параметр n_π/l служит здесь мерой компактности π-электронного облака.

Влияние температуры на удерживание на амино- и нитрилсиликагелях также изучено довольно слабо. Можно, однако, предполагать, что основные закономерности, характерные для других привитых неподвижных фаз, будут соблюдаться и в этом случае. В работе [336] показано, что с повышением температуры удерживание на μБондапаке CN уменьшается. При этом

для данного варианта хроматографии также характерен эффект компенсации энтальпии и энтропии.

Полярные химически связанные неподвижные фазы могут использоваться и в режиме обращенно-фазовой хроматографии. На рис. 4.38 сопоставлены коэффициенты емкости производных *с*-триазина [366] общей формулы



на одном и том же же сорбенте (Микропак CN) при применении типичных нормально- и обращенно-фазового элюентов. По отношению к данному классу соединений цианэтилсиликагель обладает достаточной удерживающей способностью как в нормально-, так и в обращенно-фазовом режиме. Величины $\lg k'$ в этих режимах между собой не коррелированы; следовательно, переход из одного режима в другой может служить средством изменения селективности разделения. Замена алкилсиликагеля цианэтилсиликагелем в режиме обращенно-фазовой хроматографии также может привести к изменению селективности [101]. С этой же целью можно использовать и аминосиликагель. На рис. 4.39 представлены данные из [126] по удерживанию производных пиримидина на Зорбаксе C8, Сепароне CN и Сепароне NH_2. Величины удерживания, изображенные таким образом, характеризуют сравнительную селективность двух систем. Если точки располагаются вдоль одной линии, это означает, что по селективности данные системы сходны и не следует ожидать существенного изменения характера разделения при замене одной ко-

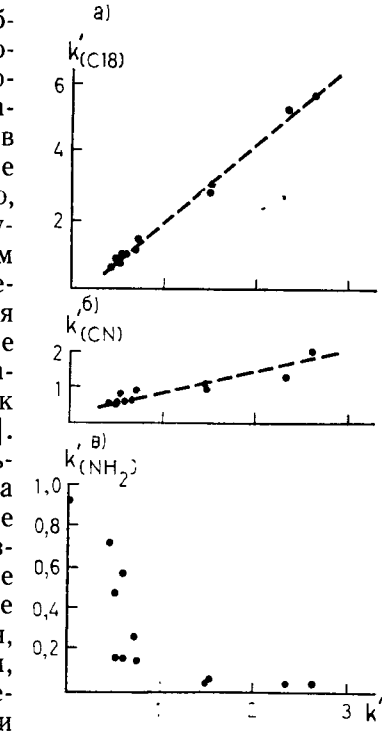


Рис. 4.39. Сравнение коэффициентов емкости производных пирнмидина на Зорбаксе C8 с аналогичными величинами на Сепароне C18 (*а*), Сепароне CN (*б*), Сепароне NH_2 (*в*). Подвижная фаза — ацетонитрил—вода (20:80).

лонки другой. Представленная на рис. 4.39,*а* корреляция между величинами удерживания на Зорбаксе С8 и Сепароне С18 свидетельствует об одинаковом механизме удерживания и примерно одинаковой селективности этих двух сорбентов.

На рис. 4.39,*б* Зорбакс С8 сравнивается с Сепароном CN. Рассеяние точек больше и селективность цианэтилсиликагеля выше, хотя по-прежнему доминирует обращенно-фазовый механизм и порядок элюирования совпадает с таковым для октилсиликагеля. Противоположная закономерность характерна для Сепарона NH_2 — в этом случае порядок элюирования меняется по сравнению с Зорбаксом С8 на обратный (рис. 4.39,*в*). Возможность представления удерживания производных пиримидина как суммы структурных инкрементов показана в работе [125]. Аналогично хроматографии на алкилсиликагеле при хроматографии на μБондапаке CN может оказаться полезным «корреляционный фактор» [342].

4.4. ХРОМАТОГРАФИЯ В СИСТЕМАХ С ДИНАМИЧЕСКИМ МОДИФИЦИРОВАНИЕМ

Во всех рассмотренных выше вариантах хроматографии удерживание в конечном счете определялось сродством молекул хроматографируемых соединений с поверхностью сорбента. Последняя, как правило, сольватирована более сильным компонентом подвижной фазы. Однако молекулы этого более сильного растворителя (B) оказывают лишь количественное влияние на распределение сорбата X между подвижной и неподвижной фазами. Несмотря на то что разные по химической природе растворители B могут придавать хроматографической системе различную селективность, качественная картина распределения в первую очередь зависит от способности молекул X вступать в ассоциацию с молекулами или функциональными группами поверхности S. Этот процесс чаще всего может описываться уравнением

$$X+SB_n \rightleftarrows XS+nB. \qquad (4.115)$$

Качественно новые свойства могут приобретать хроматографические системы, в состав которых введен динамический модификатор. Под этим термином мы понимаем такое соединение (Y), которое постоянно поступает в колонку вместе с подвижной фазой и, находясь в динамическом равновесии с другими компонентами системы, радикальным образом изменяет механизм сорбции, а также ведет к качественному изменению селективности системы.

Изменение селективности может происходить за счет образования ассоциатов Y с неподвижной фазой либо молекулами сорбатов. В первом случае процесс определяется следующими равновесиями:

$$Y+SB_m \overset{K_1}{\rightleftarrows} SYB_{m-n}+nB; \qquad (4.116)$$

$$X+SYB_{m-n} \overset{K_2}{\rightleftarrows} XSY_{m-n-p}+pB, \qquad (4.117)$$

откуда следует выражение для коэффициента емкости:

$$\lg k'=\lg\varphi+\lg(K_2K_1[SB_m])+\lg[Y]-u[B], \qquad (4.118)$$

где $u=p+n$.

Во втором случае равновесия

$$Y+X \overset{K_1}{\rightleftarrows} XY; \qquad (4.119)$$

$$XY+SB_m \overset{K_2}{\rightleftarrows} XYSB_{m-q}+qB \qquad (4.120)$$

приводят к выражению, идентичному (4.118), где $u=q$. Значит, при $[SB_m]=\text{const}$; $\lg\varphi=\text{const}$ в системах с динамическим модифицированием должны выполняться следующие соотношения:

$$\lg k'=a+b\lg[Y] \quad ([B]=\text{const}); \qquad (4.121)$$

$$\lg k'=a'+b'\lg[B] \quad ([Y]=\text{const}). \qquad (4.122)$$

Коэффициент b должен быть равен единице, если модифицирование идет в стехиометрическом отношении 1:1, согласно уравнениям (4.88) и (4.89).

Системы с динамическим модифицированием широко распространены в современной жидкостной хроматографии. Основной целью такого модифицирования является подавление нежелательных механизмов сорбции, создание условий, для которых характерны линейные изотермы сорбции и, следовательно, симметричная форма хроматографических пиков. Например, при хроматографии ионогенных соединений, в особенности оснований, на силикагеле в обычных бинарных элюентах форма пиков зачастую далека от идеальной потому, что в адсорбционном слое, обогащенном молекулами воды, могут происходить процессы диссоциации и ионного обмена. Стандартный прием их подавления — включение в элюент специфических модификаторов — уксусной кислоты (если сорбаты кислые) или органических оснований (для сорбатов основной природы). С аналогичной целью в обращенно-фазовой хроматографии к элюенту добавляют кислоты или буферные растворы. Во всех системах такого рода с помощью динамического модифицирования удается добиться реализации в более чистом виде тех механизмов

сорбции, которые внутренне присущи данной комбинации сорбента и подвижной фазы. Коль скоро такая цель достигнута, поведение сорбатов в модифицированной системе подчиняется закономерностям, общим для данного режима хроматографии.

Противоположной целью динамического модифицирования является создание в системе условий для реализации таких механизмов сорбции, которые для немодифицированных сорбентов и подвижной фазы не характерны. Этим путем на относительно небольшом числе исходных сорбентов можно создавать разнообразные по селективности системы.

К числу наиболее важных в практическом отношении приложений динамического модифицирования относится ион-парная хроматография. Особое значение этого метода определяется осложнениями, которыми зачастую сопровождается хроматография ионогенных соединений. Так, даже самые современные ионообменные колонки по эффективности существенно уступают колонкам, заполненным силикагелем и алкилсиликагелями. С другой стороны, ионогенные соединения в режиме обращенно-фазовой хроматографии обычно дают асимметрические пики. К тому же наиболее гидрофильные органические кислоты и основания вообще слабо удерживаются неполярными сорбентами. Ион-парная хроматография во многих случаях совмещает в себе достоинства обращенно-фазовой и ионообменной хроматографии. Основные аспекты теории и практического использования ион-парной хроматографии изложены в работах [65, 123, 156, 204, 408].

Суть этого метода заключается в динамическом модифицировании сорбента группами, обладающими ионообменными свойствами. В качестве сорбента применяют октил- или октадецилсиликагель. Подвижная фаза помимо обычных для обращенно-фазовых разделений компонентов содержит гидрофобные ионы в качестве специфических модификаторов. Для разделения оснований применяют натриевые соли алкилсульфокислот с числом атомов углерода 4—12, для разделения кислот — соли тетраалкиламмония.

В литературе до сих пор не сформировалось единое мнение о механизме ион-парной хроматографии. Согласно одной модели, гидрофобные ионы модификатора сорбируются на поверхности алкилсиликагеля таким образом, что к подвижной фазе обращены заряженные группы (рис. 4.40,*а*; реакция I). В результате образуется поверхность, обладающая ионообменными свойствами. Предполагается, что сорбция в таких системах подчиняется обычным закономерностям ионообменной хроматографии (реакция II). Такой точки зрения придерживаются авторы работ [112, 352, 402].

Согласно противоположной модели, поверхностное модифи-

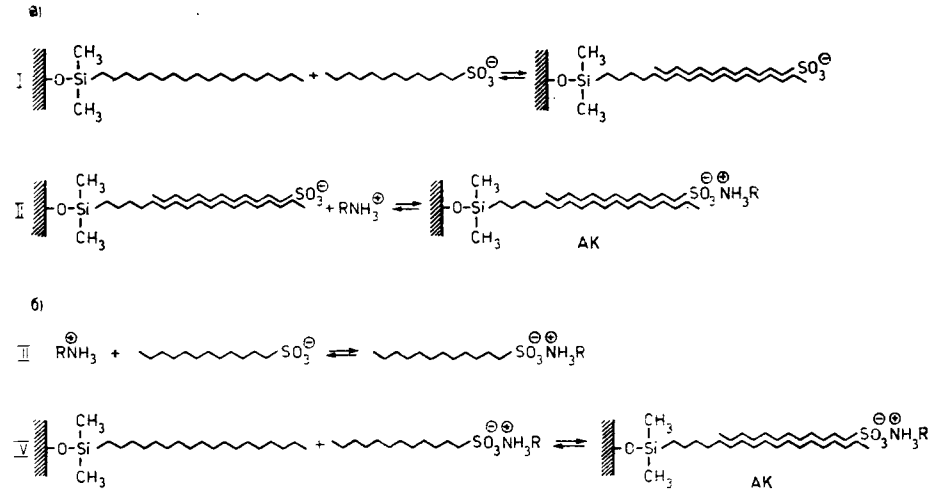


Рис. 4.40. К механизму ион-парной хроматографии: А — ионообменная сорбция на динамически модифицированном алкилсиликагеле; Б — сорбция ионных пар на алкилсиликагеле.

цирование сорбента не играет существенной роли. Предполагается, что гидрофобный противоион образует с хроматографируемым ионом пару в растворе подвижной фазы (рис. 4.40,*б*; реакция III). Эта ионная пара затем сорбируется на неполярной поверхности по обычному обращенно-фазовому механизму (реакция IV). Такой взгляд на процесс ион-парной хроматографии также имеет своих приверженцев [262, 299, 330]. В подтверждение одного и другого механизма приводятся разнообразные экспериментальные данные, однако однозначное решение проблемы крайне затрудняется тем обстоятельством, что обе модели предполагают одну и ту же структуру адсорбированного комплекса (АК на рис. 4.40). Кроме того, вполне вероятно, что истинный механизм процесса зависит от типа динамического модификатора и условий опыта. Например, установлено, что механизм сорбции морфина и его аналогов зависит от длины алкильного радикала в молекулах ион-парного модификатора — алкилбензолсульфоната. В последнее время предложены также другие модели, которые в известной степени преодолевают противоречия первоначальных концепций.

В ряде работ изучалась сорбция динамического модификатора алкилсиликагелями. Количество этого реагента в неподвижной фазе зависит от его гидрофобности, концентрации в подвижной фазе и ее pH. При отсутствии органического растворителя в подвижной фазе либо неизменной его концентрации изотермы сорбции ион-парных модификаторов близки к ленгмюровским.

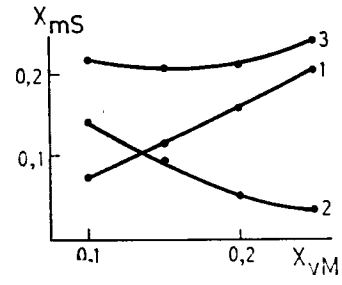
При концентрации иона тетрабутиламмония 0,007 моль/л поверхность сорбента покрыта им на 75%.

Обычно концентрация ион-парного модификатора при насыщении имеет порядок 100—1000 мкмоль/г [57, 237, 352]. При увеличении концентрации органического растворителя в подвижной фазе концентрация ионов додецилсульфата и тетрабутиламмония резко снижается [352]. Эти же авторы указывают, что сорбция ион-парного реагента на поверхности алкилсиликагеля имеет место только тогда, когда сорбент подвижной фазой не смачивается (т. е. она содержит мало органического растворителя) [349]. Если же сорбент смачивается, дополнительное введение в систему ион-парного модификатора способствует ускорению элюирования за счет нарастания взаимодействий в подвижной фазе. Интересные данные, указывающие на конкуренцию ион-парного реагента и органического модификатора, представлены в работе [402]. На рис. 4.41 изображена зависимость состава адсорбированной фазы на Лихросорбе RP8 от содержания *н*-пропанола в элюенте. Помимо *н*-пропанола элюент содержал 0,4% цетримида (цетилтриметиламмония бромида); pH 6,0. По мере увеличения концентрации *н*-пропанола в подвижной фазе его концентрация в неподвижной также увеличивалась, в то время как концентрация цетримида уменьшалась. Суммарная концентрация *н*-пропанола и цетримида сохраняла при этом относительное постоянство.

Величина и направление модифицирующего эффекта связаны с гидрофобностью и знаком заряда ион-парного модификатора (рис. 4.42). Если сорбат и модификатор имеют одинаковые заряды, введение последнего уменьшает удерживание. При разноименных зарядах удерживание увеличивается. Введение ион-парных агентов обычно немного уменьшает даже коэффициенты емкости нейтральных сорбатов [28, 58, 59, 67, 210, 365, 406].

При одинаковой молярной концентрации более выраженный модифицирующий эффект характерен для более гидрофобных ионов, с большим числом атомов углерода [59, 175, 204, 437]. В работе [58] показано, что разница в действии гомологичных ион-парных реагентов определяется различиями их собственных сорбционных свойств. Зависимость удерживания от концентрации получается одинаковой для любых модификаторов, если выражать концентрацию не в молях на литр подвижной фазы, а в молях на грамм сорбента.

Согласно кривой *3* рис. 4.42, зависимость удерживания от концентрации ион-парного реагента имеет максимум. Положение его важно знать хотя бы ориентировочно при выборе условий элюирования. Обсуждаемая кривая вблизи максимума достаточно полога, поэтому, если речь не идет о тонкой оптимизации разделения сложной смеси, вполне можно воспользо-



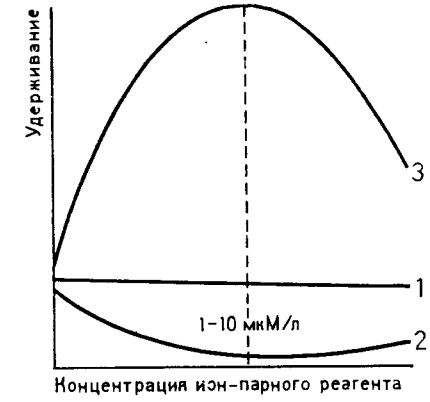


Рис. 4.41. Зависимость массовой доли X_{ms} *н*-пропанола (*1*) и бромида цетилтриметнламмония (*2*) в неподвижной фазе от объемной доли пропанола в подвижной фазе. *3* — суммарное содержание пропанола и динамического модификатора.

Рис. 4.42. Типичные кривые, выражающие зависимость удерживания от концентрации ион-парного реагента в подвижной фазе: *1* — сорбат нейтрален; *2* — ион-парный реагент и сорбат имеют одинаковые заряды; *3* — заряды ион-парного реагента и сорбата противоположны.

ваться средними данными из литературы [57, 156, 204, 209, 210, 262, 322, 323]. Из них следует, что модифицирующий эффект всегда проявляется достаточно отчетливо, если концентрация ион-парного агента находится в пределах 1—10 ммоль/л.

На проявление модифицирующего эффекта существенное влияние оказывает pH подвижной фазы. Ассоциация модификатора с сорбатом, где бы она ни происходила, будет наиболее прочной, если оба они ионизированы. Поэтому pH подвижной фазы выбирают в зависимости от свойств сорбата и модификатора. На рис. 4.43 изображена типичная зависимость коэффициентов емкости слабой кислоты от pH подвижной фазы и концентрации модификатора. Нижняя кривая, соответствующая обычному обращенно-фазовому режиму, совпадает по форме с кривыми рис. 4.4. При добавлении в подвижную фазу динамического модификатора удерживание увеличивается. Более всего этот эффект выражен при pH около 6, где в достаточной степени ионизированы и сорбат, и модификатор. Рекомендуемые значения pH для ион-парной хроматографии приведены в табл. 4.38.

Систематические сведения о влиянии концентрации органического растворителя на коэффициенты емкости в литературе сравнительно немногочисленны, но дают основания полагать, что в этом режиме соблюдается уравнение (4.52). Отмечено [57], что при постоянной концентрации ион-парного модифи-

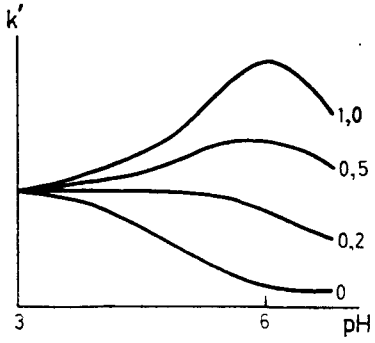


Рис. 4.43. Типичные зависимости удерживания слабой кислоты от pH подвижной фазы. Цифры на кривых — концентрация ион-парного реагента (ммоль/л).

катора в неподвижной фазе величины $\lg k'$ уменьшаются по мере роста концентрации органического растворителя в подвижной фазе. В работе [329] показано, что в ион-парном режиме выполняется уравнение (4.46). Данные работы [285] по хроматографии желчных кислот переработаны нами в координатах уравнения (4.52), получены коэффициенты корреляции, превышающие 0,99. Коэффициенты b и p этих уравнений подчинялись также компенсационной закономерности (4.55) (см. табл. 4.20). Компенсационные зависимости между энтальпией и энтропией сорбции могут быть использованы и для интерпретации механизма удерживания [329, 330].

Сложность процессов, протекающих при ион-парной хроматографии, препятствует созданию моделей, описывающих влияние структурных факторов сорбатов на удерживание. В данном режиме наряду с гидрофобностью сорбатов удерживание будет определяться и величинами pK_a, однако анализ относительной роли этих факторов осуществим с трудом. Имеются указания, что параметры моделей удерживания можно связать со вкладами определенных структурных фрагментов и π-константами гидрофобности Ганча [69].

При разделении сложных смесей, содержащих сорбаты различной основности и гидрофобности, в соответствии с существующими теоретическими представлениями трудно предвидеть

Таблица 4.38

Выбор pH подвижной фазы

Тип сорбата	pK_a	Интервал pH
Сильные кислоты	<2	2—7
Слабые кислоты	>2	6—7
Слабые основания	<8	2—5
Сильные основания	>8	2—7

с достаточной точностью отклик системы на изменение тех или иных условий опыта. Поэтому для поиска оптимальных режимов целесообразно применять статистические методы.

В последние годы возрастает внимание исследователей к мицеллярной, или псевдофазовой, жидкостной хроматографии [43—45, 75, 120, 161, 260, 271, 324, 450]. Подвижные фазы, используемые в этом режиме, аналогичны применяемым в ион-парной хроматографии, но содержат поверхностно-активный модификатор в концентрациях, достаточных для образования мицелл. Молекулы сорбатов могут связываться с мицеллами, либо не связываться, либо выталкиваться электростатическими силами из окрестности мицеллы [43]. Первому типу взаимодействия соответствует резкое уменьшение удерживания, третьему — увеличение. Мицеллярная хроматография открывает перед экспериментатором дополнительные возможности варьирования удерживания и селективности. Так, например, в мицеллярном режиме удается элюировать с Ультрасфера ODS антрацен с помощью подвижной фазы, содержащей всего 3% пропанола. В условиях обычной обращенно-фазовой хроматографии для этого требуется не менее 30% органического растворителя. Как указано в работах [120, 271], применение мицеллярной хроматографии особенно выгодно при градиентном элюировании. Это связано с тем, что концентрация свободного поверхностно-активного агента в растворе почти постоянна, а увеличение элюирующей силы достигается за счет изменения концентрации мицелл. Объем элюента, требуемый для уравновешивания таких систем, не превышает свободного объема системы от инжектора до входа в колонку. В качестве мицеллообразователя может использоваться неионогенное поверхностно-активное вещество — полиоксиэтилен-23-додеканол [75], а также цвиттерионный агент — пропансульфонат додецилдиметиламмония [324]. Установлено, что чувствительность такой системы к различиям сорбатов меньше, чем у обычных обращенно-фазовых систем. Следовательно, одним из перспективных направлений использования мицеллярной хроматографии может явиться анализ смесей соединений различной химической природы.

Предложена модель, описывающая процессы в мицеллярной хроматографии нейтральных молекул [44] и ионов [45] как распределение сорбата между тремя фазами: неподвижной, подвижной и мицеллами, перемещающимися по колонке с подвижной фазой.

По данным [161], при переходе процесса в мицеллярный режим может изменяться селективность разделения и даже порядок элюирования.

На примере ряда хелатов металлов показано, что эти сорбаты вступают во взаимодействие с неполярным ядром мицеллы

[260]. Недостаток мицеллярной хроматографии заключается в пониженной скорости массопередачи между мицеллой и растворителем [450], что ведет к снижению эффективности разделения. Повышение температуры колонки позволяет этот недостаток частично устранить.

Лигандообменная хроматография, впервые предложенная В. А. Даванковым [21, 107], также обычно основана на динамическом модифицировании. В настоящее время она является наиболее селективным средством разделения оптических изомеров. Основы этого метода и обзор достижений изложены в работах [7, 105, 106]. Возможны три варианта модификации в лигандообменных системах. Один из них предусматривает ковалентное связывание оптически активного агента, чаще всего аминокислоты, с матрицей сорбента. В систему с подвижной фазой вводят ионы металла-комплексообразователя, связывающиеся с оптически активным сорбентом. Металл выбирают таким образом, чтобы после связывания с сорбатом оставались еще две вакантные позиции для связывания с ионами сорбатов. В зависимости от конфигурации сорбатов при этом возможно образование двух диастереомерных комплексов. Например, если сорбент содержит L-аминокислоту, он может с рацемическим сорбатом образовать L,L- и L,D-комплексы. Поскольку устойчивость этих комплексов различна, средняя скорость миграции энантиомеров тоже различна.

Другой вариант реализации лигандообменного метода заключается не в ковалентном связывании аминокислоты с сорбентом, а в динамическом модифицировании неполярного сорбента гидрофобным производным оптически активной аминокислоты. Далее на нем фиксируется металл-комплексообразователь, и процесс протекает так же, как в первом случае.

Наконец, возможно модифицирование не сорбента, а подвижной фазы. В этом случае диастереомерные комплексы образуются в элюенте, а сорбент как таковой энантиоселективными свойствами не обладает. Разделение достигается за счет разной сорбируемости комплексов на неспецифической неподвижной фазе.

Наиболее впечатляющие практические результаты получены пока в лигандообменной хроматографии аминокислот. Между тем ясно, что принцип метода — общий, применим для соединений различных классов, и следует ожидать, что число задач, решенных с его помощью, будет постепенно возрастать.

К системам с динамическим модифицированием близки жидкость-жидкостные хроматографические системы, в которых неподвижная фаза генерируется подвижной, имеющей соответствующим образом подобранный состав [103, 207, 208]. Для приготовления таких систем перед экспериментом в отдельной емкости приводят в равновесие два или более взаимно несмешивающихся растворителя, например диметилсульфоксид и циклогексан. Если в качестве носителя неподвижной фазы используют силикагель, через колонку пропускают менее полярную фазу, т. е. насыщенный раствор диметилсульфоксида в циклогексане. При инертном носителе — октадецилсиликагеле в качестве элюента используют более полярную фазу. Компонент, лучше смачивающий носитель, образует на последнем пленку неподвижной жидкой фазы. Установлено, что системы этого типа обладают высокой воспроизводимостью и стабильностью.

Сопоставление коэффициентов емкости и распределения, найденных в аналогичных статических системах, доказало, что в подобных случаях образуются истинные системы жидкость—жидкость. Недостатком таких динамически генерированных неподвижных фаз является ограниченная возможность варьирования состава подвижной фазы. С другой стороны, их внедрение может значительно расширить арсенал селективности жидкостной хроматографии. Поэтому, несмотря на ряд ограничений, они могут найти применение в рутинном анализе либо препаративной хроматографии.

Ряд исследователей с помощью динамического модифицирования получили системы, по свойствам напоминающие системы с химически связанными неподвижными фазами. При этом часто отмечается высокая эффективность, стабильность и хорошая воспроизводимость результатов. Так, в работе [141] описано поведение полиядерных ароматических соединений на силикагеле и окиси циркония, находящихся в равновесии с типичным обращенно-фазовым элюентом — смесью метанола и воды (1:1). К элюенту добавляли различные количества цетилтриметиламмонийбромида. Введение этого реагента в подвижную фазу в концентрациях до 0,01—0,02 моль/л приводило к возрастанию удерживания. Порядок элюирования сорбатов — обращенно-фазовый. Как видно из рис. 4.44, величины удерживания на силикагеле, модифицированном динамически, и октадецилсиликагеле различаются не слишком сильно. Коэффициент емкости на динамически модифицированной окиси циркония меньше, чем на аналогичным образом обработанном силикагеле, и разница примерно соответствует различной удельной поверхности этих сорбентов. Зависимость удерживания от концентрации метанола в подвижной фазе также напоминает закономерности, характерные для обращенно-фазовой хроматографии на алкилсиликагелях.

Системы, состоящие из силикагеля, динамически модифицированного цетилтриметиламмонийбромидом, изучены также в работах [177—179]. Показаны пути регулирования удерживания и селективности за счет изменения концентрации модифи-

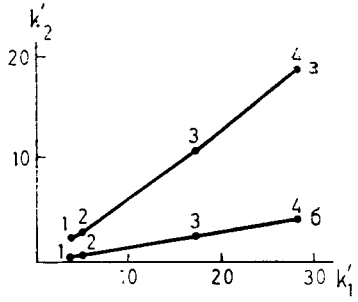


Рис. 4.44. Сравнение коэффициентов емкости на октадецилсилнкагеле Гиперсил ODS (k'_1) и динамически моднфицированных сорбеитах (k'_2): силикагеле (*а*, удельная поверхность 200 м²/г) и окнсн цирконня (*б*, удельная поверхиость 9 м²/г). Сорбаты: *1* — флуоренон; *2* — нафталин; *3* — антрацен; *4* — пирен. Данные из [141].

цирующего иона, ионной силы, pH, природы и концентрации органического растворителя в подвижной фазе. Приведены примеры разделения некоторых классов веществ, представляющих интерес в лекарственной химии: трициклических антидепрессантов, стероидов, бензоатов, барбитуратов [177]. Поверхностно-активные анионы, например додецилсульфат, также могут быть связаны аналогичным образом с поверхностью окиси алюминия [140]. При этом образуются системы, которые по отношению к нейтральным сорбатам ведут себя как обычные обращенно-фазовые. В то же время катионы сорбируются одновременно по гидрофобному и ионообменному механизмам.

Согласно работе [142], динамическое модифицирование наблюдается также при использовании неионогенных поверхностно-активных веществ (твины 20, 40, 60, 80). Установлено, что они очень прочно связаны с поверхностью силикагеля и полностью снять модифицирующий слой, однажды образованный, не удается даже несколькими литрами воды или водного метанола.

В работе [236] описано разделение лекарственных веществ ряда феноксипропаноламина на силикагеле, динамически модифицированном гидрофобными аминами. В отсутствие модификатора решающий вклад в удерживание вносит способность сорбатов к образованию водородных связей, а в режиме динамического модифицирования — их гидрофобность.

При введении добавок гидрофобных диаминов в подвижную фазу, состоящую из воды и органического растворителя, силикагелю удалось придать свойства, характерные для аминоалкилсиликагелей [79]. Порядок элюирования углеводов на таком сорбенте свидетельствует о том, что с помощью одной аминогруппы динамический модификатор связан с силикагелевой матрицей, а вторая обращена в сторону подвижной фазы и ответственна за удерживание сорбатов [440].

Авторы работ [424, 425], добавляя к элюенту обычной обращенно-фазовой хроматографии пентанол-1, получили на сорбентах Лихросорб RP2, Лихросорб RP8, Лихросорб RP18 системы, по характеристикам приближающиеся к распределительной хроматографии «жидкость—жидкость». При этом одновременно в ряде случаев удалось реализовать ион-парный распределительный режим. Этим способом можно хроматографировать трициклические антидепрессанты и ряд других аминов, причем система также довольно селективна при разделении *цис-транс*-изомеров [425].

Гидроокиси тетраалкиламмония использованы также для модификации силикагеля при элюировании органическими растворителями. Такие неводные системы могут использоваться с электрохимическими детекторами [163].

Динамическое модифицирование может служить не только средством радикального изменения механизма сорбции, но и средством регулирования селективности, подавления нежелательных процессов в колонке, приводящих к искажению формы пика. Так, в обычном обращенно-фазовом режиме добавка 0,005 моль/л ниниламина к подвижной фазе позволила существенно сократить время анализа и улучшить форму пиков трициклических антидепрессантов [98, 257]. Влияние добавок различных карбоновых кислот при нормально-фазовой хроматографии детально изучено в работе [162]. Эти добавки значительно улучшают форму хроматографических пиков (особенно добавки карбоновых кислот с более длинной углеводородной цепью).

В работе [311] в качестве динамических модификаторов при хроматографии аминов были использованы краун-эфиры. Их введение в систему (0,01—0,05 моль/л) увеличивало удерживание аминов и аминокислот и практически не влияло на коэффициенты емкости нейтральных сорбатов. Согласно предложенной модели и экспериментальным данным, при дальнейшем повышении концентрации краун-эфира прирост удерживания постепенно прекращался и уступал место обратному процессу.

Модификация Лихросорба RP8 трибутилфосфатом и другими производными фосфора использована в работе [287] для изменения величин удерживания и селективности разделения ряда ароматических кислот и фенолов.

В отдельных случаях удается получить динамически модифицированные системы, обладающие энантиоселективностью. Например, полярный сорбент может быть модифицирован из неполярной подвижной фазы D-(—)хинином [320]. На таком сорбенте достигнуто разделение камфорсульфоновой кислоты. Выбор системы растворителей в подобных случаях должен быть таким, чтобы другие процессы динамического модифицирования сводились к минимуму и сорбция определялась именно взаимодействием разделяемых молекул с молекулами хираль-

ного динамического модификатора, но не с другими компонентами системы. В частности, для успешных разделений такого рода необходимо, чтобы вода в системе отсутствовала.

Перечисленные в данном разделе примеры и варианты динамического модифицирования далеко не исчерпывают всего разнообразия новых сорбционных свойств, которые этим способом можно придать традиционным сорбентам. В то же время они убеждают в том, что возможности регулирования селективности разделения на относительно небольшом ассортименте обычных сорбентов могут быть значительно расширены с помощью этого простого и доступного метода.

5. МЕТОДИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ВЭЖХ

5.1. АППАРАТУРА

Все узлы современного жидкостного хроматографа являются по своей сути периферическими, вспомогательными элементами по отношению к колонке, где протекает собственно физический процесс разделения. Рабочие параметры высокоэффективных колонок определяют основные технические требования, предъявляемые к ряду других элементов аппаратуры. К таким параметрам относятся в первую очередь высокое гидравлическое сопротивление и малая степень размывания хроматографических зон, а также небольшие объемы аналитических колонок для ВЭЖХ.

Сорбенты, используемые в ВЭЖХ, характеризуются высокой скоростью массопередачи, что позволяет работать при больших линейных скоростях потока подвижной фазы без снижения эффективности разделения. Это, однако, достигается главным образом за счет уменьшения размера частиц сорбента. Поэтому потенциально высокая скорость процесса разделения может быть реализована лишь в том случае, если подвижная фаза подается в колонку под достаточно высоким давлением.

С другой стороны, высокоэффективные колонки имеют значительно меньший размер, чем колонки для классической жидкостной хроматографии. Следовательно, меньше должен быть объем вводимой пробы и меньше становится объем растворителя, соответствующего хроматографическому пику. К такому же результату приводит и повышение эффективности самого разделения. Малые объемы пиков и вводимых проб определяют требования к миниатюризации детекторов и устройств ввода. Так, совершенно ясно, что детектор регистрирует сигнал, полностью адекватный процессу разделения, произошедшему в колонке, лишь если объем его чувствительного элемента значительно меньше объема пика. Из табл. 5.1, где сопоставлены некоторые характеристики, типичные для колонок различной эффективности и размеров, видно, что все варианты ВЭЖХ требуют применения давлений (при хорошей проницаемости колонок) в пределах 50—200 атм. Кроме того, рабочий объем чувствительного

Таблица 5.1

Характеристики некоторых типичных хроматографических колонок

Параметр	Колоночная хроматография	ВЭЖХ			
		аналитическая	скоростная аналитическая	микроколоночная	препаративная
Размер частиц сорбента, мкм	100	5	3	5	5
Длина колонки, см	100	25	5	15	25
Внутренний диаметр, мм	20	4,6	4,6	1,0	21,2
Эффективность, тыс. теоретических тарелок	1	15	6	6	15
Линейная скорость подвижной фазы, см/мин	0,5	15	25	15	10
Расход подвижной фазы, мл/мин	1,5	1,5	2,5	0,1	30
Объем пика (мл) при					
$k'=1$	40	0,1	0,04	0,006	3
$k'=10$	220	0,7	0,23	0,034	16
Рабочее давление на входе в колонку, атм	0,01—0,1	50—200	100—200	50—150	50—200
Продолжительность цикла разделения, мин ($k'=5$)	1000	10	1,2	6	15

элемента детектора должен иметь для аналитической и скоростной хроматографии порядок $1\cdot10^{-3}$—$1\cdot10^{-2}$ мл, а для микроколоночной — $1\cdot10^{-4}$—$1\cdot10^{-3}$ мл.

Блок-схема современного жидкостного хроматографа приведена на рис. 5.1. Часть узлов обязательна, и собственно они образуют минимальный рабочий комплект высокоэффективного прибора. В их число входят насос для подачи подвижной фазы ($Н_1$), дозатор для ввода исследуемого вещества в колонку (Д), хроматографическая колонка (К). Детектор ($ДТ_1$) предназначен для измерения какого-либо физико-химического свойства элюата и преобразования полученных значений в электрический сигнал. Система регистрации и обработки данных (РОД) в простейшем случае представляет собой самописец, регистрирующий хроматограмму в координатах время—сигнал детектора. Помимо самописца (или вместо него) могут использоваться специализированные вычислительные устройства различных классов либо даже универсальные мини-ЭВМ.

Другие узлы, изображенные на схеме пунктирными линиями, существенно повышают производительность оборудования, а иногда позволяют получить результаты, принципиально недостижимые на простейших системах.

Устройства подготовки растворителей (ПР) выполняют функции фильтрования и дегазации подвижной фазы. Градиентное

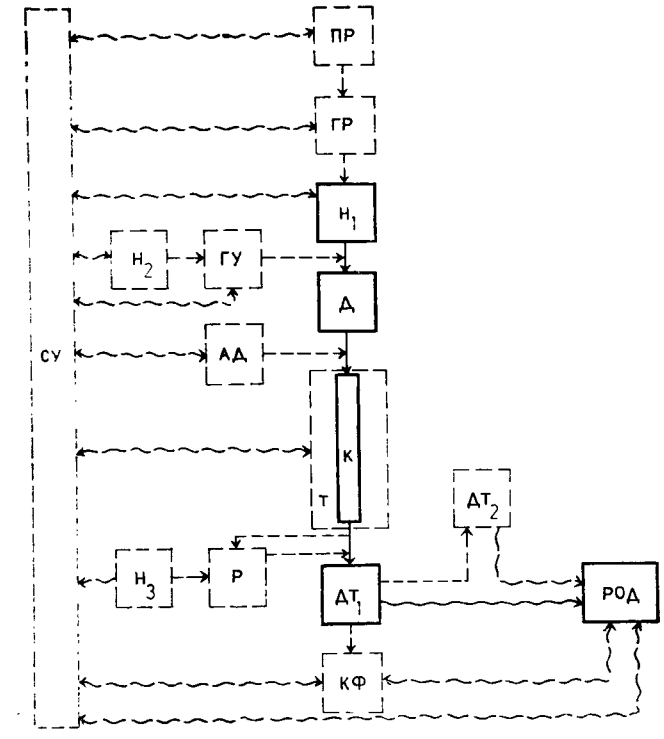


Рис. 5.1. Блок-схема современного хроматографа: ПР — узел подготовки растворителя; ГУ — узел формирования градиента; Н — насосы; Д — дозатор; АД — автоматический дозатор; К — колонка; Т — термостат; Р — реактор; ДТ — детекторы; КЛ — коллектор фракций; РОД — система регистрации и обработки данных; СУ — система управления. Прямыми линиями обозначены гидравлические соединения узлов, волнистыми — электрические.

устройство (ГУ) обеспечивает изменение состава подвижной фазы в ходе разделения по заданному закону. Автоматические дозаторы (АД) дают возможность организовать последовательный ввод и анализ больших серий однотипных образцов. Термостат (Т) обеспечивает в необходимых случаях поддержание строго постоянной температуры колонки. Для некоторых соединений трудно подобрать подходящий способ прямого детектирования, в таких случаях подсистема, состоящая из насоса ($Н_3$) и реактора (Р), позволяет перевести разделяемые вещества в форму, детектирование которой не вызывает затруднений. При этом часто удается добиться высокой селективности и чувствительности: например, в системе ВЭЖХ-аминокислотного анализа

таким способом можно детектировать до $5 \cdot 10^{-14}$ молей разделенных соединений.

При препаративном выделении веществ возможно соединение выхода детектора с коллектором фракций (КФ), обеспечивающее механизацию либо даже автоматизацию этой операции.

5.1.1. УСТРОЙСТВА ДЛЯ ПОДГОТОВКИ РАСТВОРИТЕЛЕЙ

Надежная работа всех элементов современного хроматографа возможна лишь в том случае, если применяемые растворители отвечают ряду специфических требований. Разумеется, они должны быть высокочистыми. Основные растворители, используемые в ВЭЖХ, в настоящее время выпускаются за рубежом и в СССР специальной квалификации «для жидкостной хроматографии». Тем не менее перед использованием они должны быть подвергнуты определенной подготовке, включающей в себя следующие операции: фильтрование; дегазацию; формирование градиента состава.

Фильтрование растворителей перед их подачей в насос совершенно необходимо, так как механические примеси могут нарушить работу клапанов насоса, что выразится в непостоянстве подачи растворителя. Особо твердые частицы способны повредить уплотнения насоса и дозатора. Кроме того, твердые частицы, попадая на входной фильтр колонки, задерживаются на нем, и со временем их накопление ведет к серьезному увеличению сопротивления колонки потоку.

Обычно фильтры являются составной частью аппаратуры и изготавливаются из пористой нержавеющей стали. Они могут быть погружными, т. е. располагаться непосредственно в резервуаре для подвижной фазы, либо проточными. Размер пор, как правило, 2—5 мкм. Естественно, перед использованием в системе растворитель должен быть профильтрован и через обычный стеклянный пористый фильтр для удаления наиболее крупных механических примесей. Схематично конструкция некоторых типов фильтров отражена на рис. 5.2,*а, б*.

Растворитель — не единственный источник механических загрязнений в системе. С течением времени изнашиваются уплотнения насоса и дозатора, и продукты износа этих узлов могут также накапливаться на входном фильтре колонки. Поэтому дополнительные фильтрующие элементы помещают иногда между насосом и дозатором (рис. 5,2,*в*) или между дозатором и колонкой (рис. 5.2,*г*). В последнем случае одновременно обеспечивается защита колонки от загрязнений, попадающих с исследуемым образцом.

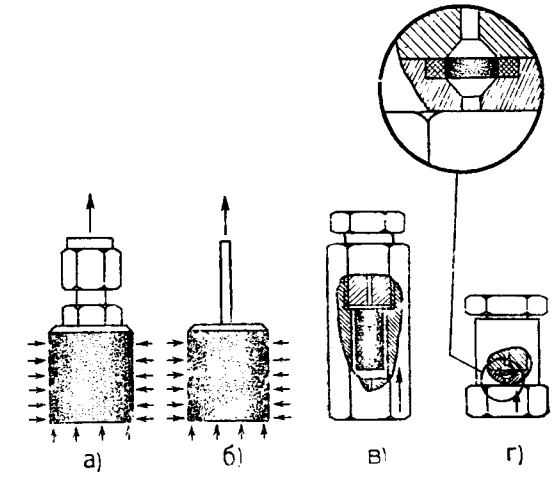


Рис. 5.2. Типичные конструкции фильтров для установки: *а, б* — в резервуаре подвижной фазы; *в* — перед дозатором; *г* — перед колонкой.

Газы воздуха, растворенные в подвижной фазе, могут стать причиной нарушений работы насосов и детекторов. Так, в период заполнения в рабочей камере насоса возникает разрежение, что способствует выделению пузырьков газа. При последующем периоде нагнетания они препятствуют работе клапанов насоса, и фактическая подача растворителя оказывается меньше заданной. Кроме того, резко возрастают пульсации потока подвижной фазы. Помимо этой части прибора выделение газов возможно и в детекторе при быстром переходе подвижной фазы из колонки, где давление повышено, к ячейке, где оно близко к атмосферному. Пузырьки накапливаются в ячейке, их рост и периодическое вымывание из нее обычно приводят к появлению на диаграммной ленте зигзагообразной линии. В связи с этим дегазацию подвижных фаз можно считать крайне желательной.

Устройства для дегазации растворителей могут быть основаны на различных физических принципах и использоваться как в виде отдельных приборов, так и в виде узлов, непосредственно включенных в хроматографическую систему.

Дегазация может достигаться при резком уменьшении давления, под которым находится жидкость. Такой принцип использовался в получившем в свое время распространение хроматографе фирмы «Дюпон», мод. 830. Этот прибор снабжен пневмоусилительным насосом с объемом жидкостной камеры 70 мл. С помощью системы кранов перед работой осуществляется многократная циркуляция подвижной фазы между насосом и резервуаром. При резком всасывании растворителя из резервуара в насос растворенные газы воздуха выделяются в виде пузырей. При вытеснении растворителя назад в резервуар

он увлекает за собой выделившуюся парогазовую фазу. Интересно, что для дегазации используется то самое физическое явление, которое в значительной мере осложняет работу возвратно-поступательных плунжерных насосов.

Эффективное удаление газов из растворителей может быть достигнуто их выдерживанием под вакуумом. Обычно для этого достаточно в течение 3—10 мин перемешивать растворитель с с помощью магнитной мешалки в колбе Бунзена, подключенной к водоструйному насосу. В некоторых случаях возникают затруднения при определении момента окончания дегазации, так как пузырьки газа постепенно сменяются паровыми пузырями при вскипании растворителя. Опыт показывает, что при дегазации в колбе Бунзена газовые пузырьки более многочисленны и меньше размером. Увеличение размеров и уменьшение числа пузырей свидетельствуют о том, что дегазация переходит в кипение.

Иногда для дегазации рекомендуют нагревать растворитель до температуры, близкой к температуре кипения.

Нередко полезным оказывается выдерживание растворителя в ультразвуковой ванне или интенсивная продувка резервуара гелием.

Многие дегазированные растворители способны с большой легкостью вновь поглощать газы воздуха, поэтому дегазация должна выполняться в сосуде, который используется в качестве резервуара подвижной фазы в хроматографе. Желательно дегазировать индивидуальные растворители, так как смеси при этой процедуре могут в некоторой степени изменять свой состав. С другой стороны, опыт показывает, что при смешении индивидуальных растворителей в градиентных устройствах (при градиентном элюировании либо при подготовке подвижных фаз для изократического разделения) может начаться выделение газов, даже если каждый из компонентов в отдельности был тщательно дегазирован. Это явление наблюдается обычно при работе в обращенно-фазовом режиме и объясняется, по-видимому, тем, что растворимость остаточных газов в смесях меньше, чем в индивидуальных жидкостях. В связи с этим там, где возможно, рекомендуется заполнять резервуары градиентных систем не индивидуальными растворителями, а составами, соответствующими предельным режимам предстоящей работы. Например, если предстоит разделение в градиенте от 20 до 70% метанола в воде, не следует заполнять резервуары водой и метанолом и программировать смешение от 20 до 70%. Предпочтительнее заполнить один резервуар смесью 20% метанола в воде, а второй — раствором с 70% метанола. Естественно, программировать градиент в этом случае нужно в пределах 0—100%.

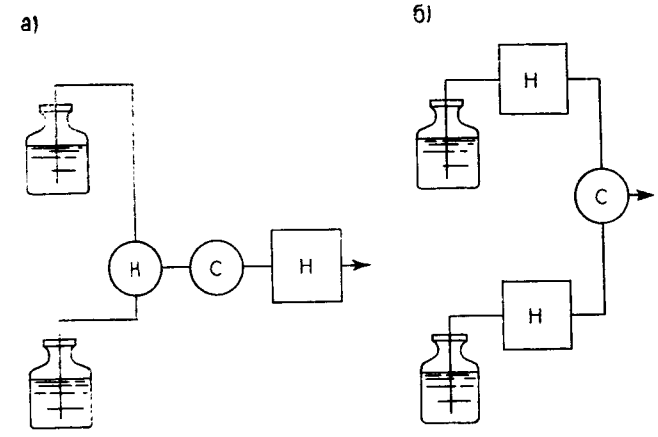


Рис. 5.3. Принципы формирования градиента: *а* — в области низкого давления; *б* — в области высокого давления. К — клапан; С — смеситель; Н — насосы.

Для изменения состава подвижной фазы в ходе анализа применяются градиентные устройства. При этом возможны три основных способа генерирования градиента: в области низкого и высокого давления, а также в шприцевом насосе. В первом случае (рис. 5.3,*а*) два или большее число растворителей подаются каждый из своего отдельного резервуара в клапанное устройство, которое управляется электронным программатором либо микропроцессором. С его помощью на входе в смеситель генерируются периодические импульсы каждого из компонентов подвижной фазы. Относительная продолжительность импульсов соответствует относительной концентрации компонентов подвижной фазы. Смеситель обычно представляет собой камеру из нержавеющей стали, внутри которой располагается мешалка, приводимая во вращение расположенным снаружи магнитом. После смесителя подвижная фаза поступает на вход насоса и далее в систему.

При создании градиента в области высокого давления (рис. 5.3,*б*) хроматограф должен содержать два или более насосов. Каждый из компонентов поступает в свой насос. Скорость объемной подачи растворителей каждым из насосов в течение цикла изменяется с помощью электронного программатора или микропроцессорного устройства таким образом, чтобы: а) суммарная подача оставалась все время постоянной; б) относительное содержание компонентов подвижной фазы в смеси изменялось по заданному закону. Далее потоки от насосов поступают в смеситель и дозирующее устройство.

Формирование градиента в камере шприцевого насоса является, пожалуй, простейшим, хотя и наименее точным спосо-

Таблица 5.2

Сравнительные характеристики систем формирования градиента

Тип градиентного устройства	Точность формирования смеси растворителей в начале и конце граднента	Пригодность для работы с микроколонками	Стоимость	Точность поддержания постоянства потока
Устройства низкого давления	Высокая	Плохая	Умеренная	Высокая
Устройства высокого давления	Хорошая с шприцевыми насосами; плохая с плунжерными	Удовлетворительная	Высокая	Удовлетворительная
Формирование градиента в шприцевом насосе	Плохая	Хорошая	Низкая	Высокая

бом. К тому же он пригоден лишь для создания ступенчатых градиентов. Принцип его в том, что в режиме заполнения в насос подаются порции растворителя последовательно изменяющегося состава. При соответствующих предосторожностях можно избежать их смешения; когда насос начинает работать в режиме подачи, слои растворителя вытесняются в колонку в обратной последовательности.

Некоторые характеристики систем формирования градиента сопоставлены в табл. 5.2.

5.1.2. НАСОСЫ

К наиболее важным техническим характеристикам насосов для ВЭЖХ относятся: диапазон объемной подачи; максимальное рабочее давление; воспроизводимость объемной подачи; диапазон пульсаций подачи растворителя.

В начальный период развития приборостроения для жидкостной хроматографии применялись разнообразные по принципам действия насосы, однако постепенно произошел отсев менее пригодных для ВЭЖХ конструкций, и в настоящее время используются почти исключительно насосы трех типов: шприцевые; пневмоусилительные; плунжерные возвратно-поступательные.

Хотя множество насосов первых двух типов все еще находится в эксплуатации, новые модели в подавляющем большинстве относятся к последней группе. Так, анализ конструкций, созданных в 1983—1985 гг. [10], показал, что 80% разработок основаны на плунжерном возвратно-поступательном принципе.

По характеру подачи растворителя насосы могут быть постоянной подачи и постоянного давления. К первой группе от-

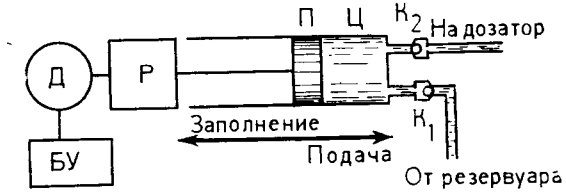


Рис. 5.4. Принципиальная схема шприцевого насоса.

носятся шприцевые и плунжерные насосы, ко второй — пневмоусилительные. При необходимости, однако, с помощью дополнительных устройств можно обеспечить работу любой конструкции в любом необходимом режиме.

Шприцевые насосы. Принцип действия насосов этой группы изображен на рис. 5.4. Блок управления (БУ) подает на шаговый либо прецизионный синхронный двигатель (Д) команды, определяющие скорость и направление его вращения. Вращение двигателя с помощью редуктора (Р) преобразуется в перемещение поршня (П) внутри цилиндра (Ц). Работа насоса осуществляется в два цикла. В цикле заполнения клапан K_2 запирается, а клапан K_1 открывается. При этом растворитель поступает из резервуара в цилиндр. В режиме подачи клапан K_1 закрыт, а через клапан K_2 подвижная фаза поступает в дозирующее устройство.

Для насосов этого типа характерно практическое отсутствие пульсаций потока подвижной фазы в ходе работы. Диапазон объемной подачи, воспроизводимость и максимальное рабочее давление также удовлетворяют основным требованиям. Важно также и то, что принцип шприцевого насоса хорошо сочетается с требованиями, предъявляемыми микроколоночной хроматографией. Насосом такого типа снабжен, в частности, хроматограф «Милихром», выпускаемый ПО «Научприбор» в г. Орле. Объем резервуара насоса 2,5 мл, диапазон объемной подачи 2—600 мкл/мин, максимальное рабочее давление 50 бар.

В то же время шприцевые насосы не лишены и серьезных недостатков. Главный из них — невозможность создания градиента растворителя с помощью одного насоса. Для этой цели необходимо использовать два насоса, подача которых регулируется специальным электронным блоком. Поэтому системы такого типа неизбежно относительно дороги.

При работах исследовательского характера, когда требуется относительно частая смена растворителей в хроматографе, становится существенным другой недостаток шприцевых насосов — большой расход растворителей и времени на промывку.

Пневмоусилительные насосы. Насосы этого типа обеспечивают постоянное давление на входе в колонку. Следовательно,

для получения воспроизводимых величин удерживания необходимо, чтобы гидравлическое сопротивление колонки, вязкость растворителя и температура были постоянными. Принцип устройства этих насосов изображен на рис. 5.5.

Насос состоит из пневматического и жидкостного цилиндров, внутри которых перемещается сдвоенный поршень. Диаметры его частей соответствуют диаметрам цилиндров. В цикле заполнения насоса сжатый газ под давлением в несколько атмосфер подается в левую часть пневматического цилиндра (см. рис. 5.5). Поршни смещаются назад, и растворитель всасывается в жидкостный цилиндр. Когда поршень занимает крайнее правое положение, подача газа в левую часть цилиндра прекращается и начинается — в правую. Клапан ($К_1$) закрывается, клапан ($К_2$) открывается, и растворитель подается в дозатор хроматографа. Площадь поперечного сечения газового поршня $А_1$ во много раз превышает таковую жидкостного поршня. В результате в жидкостном цилиндре создается давление $P_ж$, которое прямо пропорционально давлению подаваемого газа $P_г$:

$$P_ж = P_г \frac{A_1}{A_2}, \qquad (5.1)$$

где $А_1$ и $А_2$ — площади сечения большого и малого поршней. Поскольку гидравлическое сопротивление всасывающей линии невелико, цикл заполнения длится не более нескольких секунд. Объем жидкостного цилиндра, как правило, достаточен для проведения нескольких разделений на аналитических колонках. Когда поршень достигает крайнего левого положения, подача газа автоматически переключается и повторяется цикл заполнения.

К преимуществам насосов пневмоусилительного типа следует отнести отсутствие пульсаций потока подвижной фазы, относительную простоту конструкции, высокую надежность.

При соединении подающей линии с резервуаром растворителя во время подготовки к работе можно осуществлять рециркуляцию и непосредственно в насосе дегазировать подвижную фазу. Насосы этого типа позволяют получить в жидкостном тракте давление свыше 1000 атм, поэтому на их основе часто создаются установки для заполнения колонок.

Главный недостаток пневмоусилительных насосов — невысокая воспроизводимость объемной подачи подвижной фазы. Кроме того, они малопригодны для градиентного элюирования.

Плунжерные возвратно-поступательные насосы. Принцип действия такого насоса приведен на рис. 5.6. Электромеханическое устройство (М) приводит в возвратно-поступательное движение плунжер, перемещающийся в рабочей головке насоса. Клапаны ($К_1$) и ($К_2$) открываются, когда насос находится в

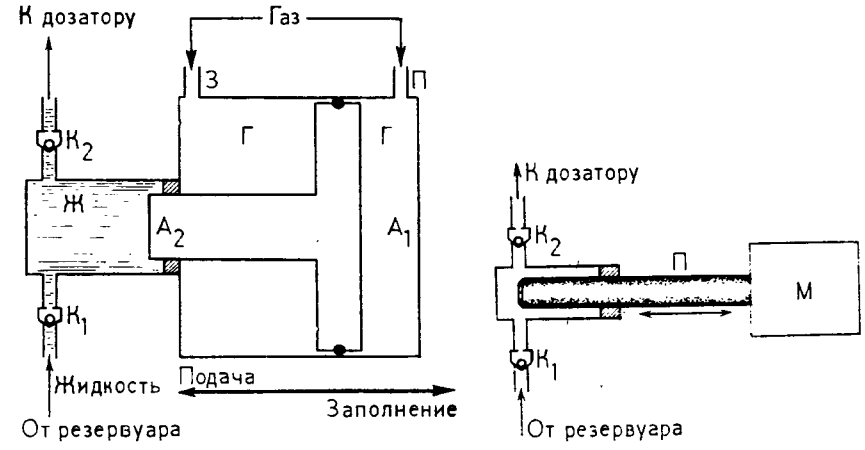


Рис. 5.5. Принципиальная схема пневмоусилительного насоса: Г — газовый цилиндр; Ж — жидкостный цилиндр; З и П — подача газа в цилиндах заполнения жидкостного цилиндра и подачи жидкости соответственно.

Рис. 5.6. Принципиальная схема плунжерного возвратно-поступательного насоса.

фазе всасывания и подачи соответственно. Величина объемной подачи насоса определяется тремя параметрами: диаметром плунжера, его амплитудой и частотой.

Насосы этого типа обеспечивают постоянную объемную подачу подвижной фазы, во многих случаях они имеют возможность компенсировать сжимаемость растворителя. Максимальное рабочее давление указанных насосов обычно несколько меньше, чем у рассмотренных выше. Оно составляет 300—500 атм, чего, как правило, вполне достаточно для работы на современных колонках. Воспроизводимость объемной подачи вполне удовлетворительна при надлежащей работе клапанов. Основной недостаток насосов состоит в том, что растворитель подается в систему в виде серии последовательных импульсов.

Пульсации потока элюента являются основной причиной повышенного шума и снижения чувствительности почти всех типов детекторов, применяемых в ВЭЖХ. Способы борьбы с ними можно подразделить на две основные группы: за счет введения специальных узлов — гасителей пульсаций и за счет совершенствования конструкции самих насосов.

Простейший способ уменьшения пульсаций — уменьшение объема растворителя, подаваемого в систему за один цикл работы насоса при соответствующем увеличении частоты движения плунжера. Современные насосы за один цикл подают 0,1—0,01 мл подвижной фазы.

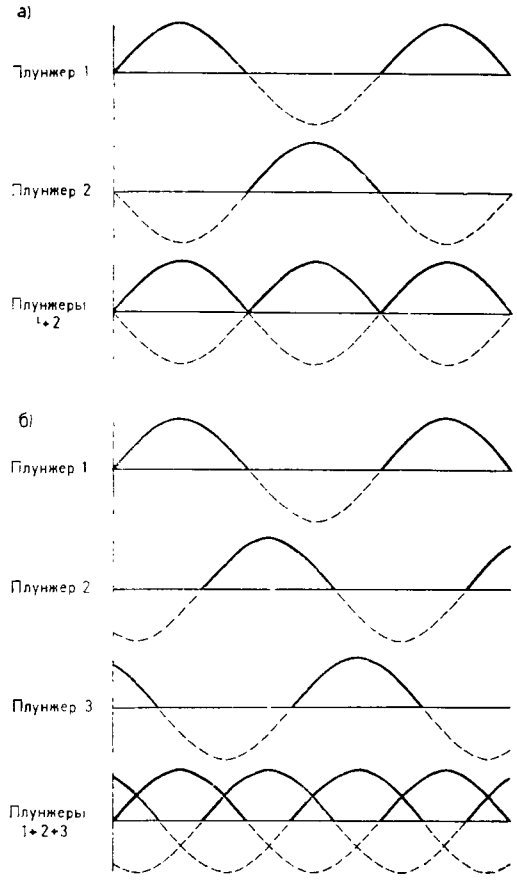


Рис. 5.7. Принцип гашения пульсаций в сдвоенных (*а*) и строенных (*б*) насосах. ——— фаза всасывания; ——— фаза подачи.

Широкое распространение получили системы сдвоенных и строенных насосов. Идея их заключается в том, что два или три идентичных плунжера приводятся в движение единым приводом, причем фазы, в которых в каждый момент находятся плунжеры, сдвинуты на 180 и 120°. Принцип такого гашения пульсаций изображен на рис. 5.7. Согласно ему, тройной насос подает растворитель уже практически без пульсаций. Тем не менее общая тенденция приборостроения в этой области такова, что более популярны двойные насосы. Видимо, улучшение характеристик, которое обеспечивает тройной насос, не оправдывает его повышенной сложности и стоимости. К тому же надежность работы таких систем, хотя бы в силу увеличенного до 6 числа клапанов, неизбежно несколько снижается.

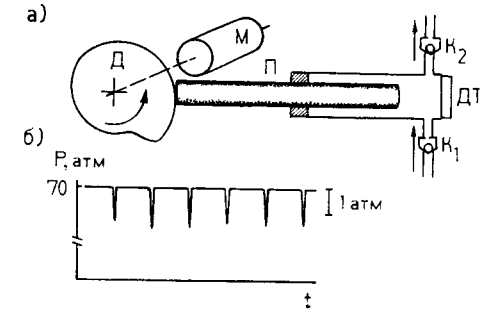


Рис. 5.8. Насос модели 112 фирмы «Бекман». *а* — принципиальная схема: М — двигатель; Д — кулачок; П — плунжер; ДТ — датчик давления. *б* — характеристика пульсаций давления.

Другой способ уменьшения пульсаций — создание специальных конструкций приводных устройств. С их помощью скорость линейного перемещения плунжера во времени изменяется по такому закону, чтобы по возможности сгладить пульсации. Например, может осуществляться электронное управление скоростью вращения мотора, чтобы плунжер ускоренно проходил нейтральные положения, а в периоды всасывания и подачи скорость его была бы почти постоянной. Того же результата можно добиться, применяя в редукторе зубчатые колеса либо кулачки специального профиля. Некоторые конструкции позволяют провести очень быстрое всасывание, за которым следует довольно длительный период беспульсационной подачи. Оба эти принципа объединены в интересной конструкции насоса модели 112 фирмы «Бекман». Принципиальная схема ее изображена на рис. 5.8. На валу шагового двигателя помещен кулачок специальной формы. Вращение его приводит в возвратно-поступательное движение плунжер. Уже сама по себе форма кулачка обеспечивает оптимальное изменение скорости движения плунжера в различных фазах цикла. Помимо этого скорость вращения мотора периодически в течение цикла изменяется, чтобы фаза всасывания происходила с максимальной скоростью. Наконец, непосредственно в головку насоса встроен датчик давления, с помощью которого на управляющую схему двигателя поступает информация, корректирующая скорость вращения. В результате фактический профиль подачи жидкой фазы в систему представляет собой прямую линию, прерываемую очень незначительными по продолжительности паузами. Падение давления в системе в момент заполнения насоса составляет всего около 1,5 атм.

Другой подход к снижению пульсаций в системе заключается в применении специальных демпфирующих устройств. Для этой цели могут использоваться спиральные трубки специального профиля из нержавеющей стали, включаемые последова-

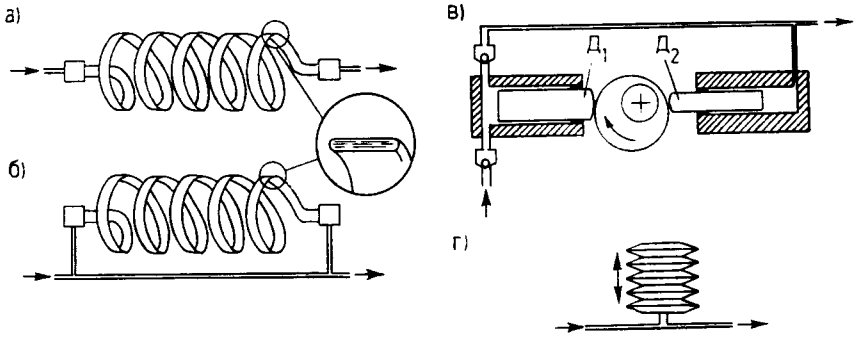


Рис. 5.9. Демпфирующие устройства.

тельно (рис. 5.9,*а*) или параллельно (рис. 5.9,*б*) в систему между насосом и дозатором.

Демпфирующие устройства могут быть выполнены в виде вспомогательного цилиндра меньшего сечения, в котором в моменты максимальной подачи «запасается» под давлением определенное количество растворителя, подаваемого в колонку в период заполнения насоса (рис. 5.9,*в*). Наконец, для демпфирования можно использовать конструкцию на основе сильфона, принцип действия которой ясен из рис. 5.9,*г*. Простейшее устройство, выполняющее функцию демпфирования, представляет собой манометр, установленный на нагнетательной линии насоса.

5.1.3. ДОЗАТОРЫ

Назначение дозаторов заключается в переносе пробы, находящейся при атмосферном давлении, на вход колонки, находящейся под давлением вплоть до нескольких сот атмосфер. Важно, чтобы в дозаторе отсутствовали непромываемые подвижной фазовой «мертвые объемы» и размывание пробы в ходе дозирования. Поэтому создание устройств, отвечающих всем современным требованиям, — значительный шаг в развитии ВЭЖХ. Самым простым решением было бы воспользоваться общей конструктивной схемой дозаторов с мембраной, хорошо зарекомендовавших себя в газовой хроматографии (рис. 5.10,*а*). Такого рода дозаторы и шприцы к ним могут использоваться при давлениях до 100 бар, чего во многих случаях недостаточно. Кроме того, воспроизводимость ввода проб также относительно невелика.

Гораздо меньшие по сравнению с газовой хроматографией скорости диффузии в жидкой подвижной фазе позволяют осуществить другой принцип дозирования — с остановкой потока.

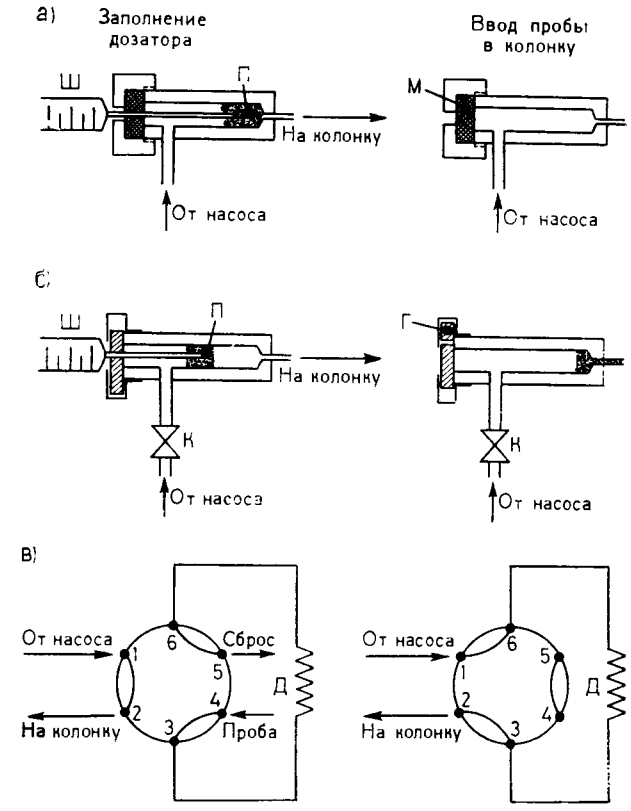


Рис. 5.10. Принципы работы дозаторов с мембраной (*а*), с остановкой потока (*б*), петлевого (*в*). М — самоуплотняющаяся мембраиа; Ш — шприц; П — проба; К — клапан нлн кран; Г — герметнзирующий узел; Д — дозирующая петля.

Специальный клапан или кран перекрывает на время ввода пробы подачу растворителя. Давление на входе в колонку быстро снижается, и уже через несколько секунд может быть открыт доступ в дозирующую камеру, куда проба вводится обычным микрошприцем. После обратных переключений органов управления поток подвижной фазы по колонке восстанавливается и начинается процесс разделения. Принцип действия дозаторов такого типа изображен на рис. 5.10,*б*. Они могут использоваться при высоких давлениях — вплоть до 800 бар, не требуют применения специальных шприцев.

Недостаток дозаторов с остановкой потока в том, что в них почти неизбежно происходит дополнительное размывание, особенно сильно сказывающееся на пиках слабоудерживающихся

соединений. Эти устройства получили некоторое распространение, однако применяются по большей части в комбинации с шприцевыми насосами, запуск которых после остановки осуществим практически мгновенно.

В некоторых случаях удается сконструировать вполне работоспособный хроматограф вообще без отдельного узла дозатора. Так, в хроматографе «Милихром», снабженном микрошприцевым насосом, в качестве дозатора используется отрезок подающего трубопровода. Анализируемый образец засасывается в него при обратном ходе поршня, включаемом на определенный промежуток времени.

Преимущества всех названных дозаторов заключаются в их относительной простоте изготовления и дешевизне. Однако наиболее совершенны петлевые дозаторы (рис. 5.10,*в*). Чаще всего применяемые дозаторы фирмы «Реодайн» состоят из двух взаимно пришлифованных дисков с системой каналов в них. К каналам подключаются все необходимые коммуникации: подвода и отвода подвижной фазы, ввода проб и сброса растворителя, а также дозирующая петля Д. Поворотом одного диска относительно другого можно изменять взаимный порядок подключения коммуникаций. При заполнении дозатора под высоким давлением оказываются входы *1, 2* и канал между ними. Входы *3—6,* каналы между ними и дозирующая петля находятся при атмосферном давлении, что позволяет беспрепятственно заполнить дозирующую петлю с помощью шприца или любым другим способом. При повороте диска поток подвижной фазы вытесняет содержимое дозирующей петли в колонку. При этом исключаются погрешности ввода пробы, связанные с неверным отсчетом объема в микрошприце, так как вводимый в дозатор объем превышает объем дозирующей петли. Устройства этого типа могут работать при давлениях до 600 бар, их отличительной чертой является гибкость при решении различных задач. Так, при желании можно варьировать объем пробы, вводя в петлю не избыточное, а необходимое ее количество, отмеренное шприцем. Сама дозирующая петля может быть выполнена сменной, что позволяет одним и тем же дозатором вводить пробы от 10 мкл до 10 мл.

5.1.4. КОЛОНКИ

Как бы совершенны ни были все остальные части хроматографической системы, они останутся бесполезными, если качество колонки не соответствует поставленной задаче. Прогресс в технологии изготовления колонок послужил одним из факторов, которые привели к качественному скачку в уровне развития ВЭЖХ.

Некоторые типичные характеристики современных ВЭЖХ-колонок были приведены выше (см. табл. 5.1). В настоящем разделе кратко рассматриваются основные типы колонок.

Общая конструктивная схема колонки включает в себя корпус, фильтры и наконечники (рис. 5.11). Корпус представляет собой цилиндрическую трубку из нержавеющей стали, стекла или полимерных материалов; он служит емкостью для слоя сорбента. Верхний и нижний концы корпуса закрывают фильтры. Чаще всего это диски из пористой нержавеющей стали, по диаметру соответствующие наружному диаметру колонки. Диаметр пор фильтров 0,5—2 мкм, их назначение — удерживать слой сорбента в колонке. Кроме того, фильтр на входе в колонку задерживает механические примеси из подвижной фазы и образцов. Наконечники герметизируют всю колонку и служат для подключения капиллярных трубок, соединяющих колонку с дозатором и детектором. Конструкция наконечников должна быть такой, чтобы свести к минимуму внеколоночное размывание пробы и разделенных компонентов. Наконечник хорошей конструкции так формирует поток на входе в колонку, что поперечное размывание и отрицательное влияние стеночного эффекта сводятся к минимуму. Фактически в колонке работает при этом только центральная часть сорбента. Такие колонки характеризуются высокой эффективностью. Однако при указанной конструкции колонки сорбент будет легко перегружаться по мере увеличения массы вводимой пробы, и поэтому наконечники препаративных колонок призваны решать прямо противоположную задачу — распределять пробу по возможно большей части поперечного сечения. В настоящее время чаще всего применяются колонки трех типов: цельнометаллические, разборные со сменными разделительными патронами, полимерные для работы в режиме радиального сжатия.

Схема устройства цельнометаллических колонок дана на рис. 5.11,*а*. Эта конструкция получила наибольшее распространение в период становления ВЭЖХ и свое значение сохраняет по сей день. Формирование слоя сорбента в таких колонках происходит в момент их упаковки. При использовании колонок промышленного заполнения пришедшие в негодность, как правило, выбрасывают вместе с наиболее сложными и дорогими деталями — наконечниками. Естественно, потенциальный срок службы металлических деталей колонки значительно превышает срок службы сорбента, поэтому такая практика значительно удорожает использование метода ВЭЖХ.

От этого недостатка свободны разборные колонки со сменными стеклянными разделительными патронами. Принцип их конструкции изображен на рис. 5.11,*б*. Наконечники таких колонок используются многократно, а патроны легко заменяются

по мере надобности. Дополнительную гибкость некоторым конструкциям придает возможность прямого соединения разделительных патронов, что позволяет по мере надобности варьировать длину слоя сорбента и включать форколонки, предназначенные для защиты основной колонки (рис. 5.11,*в*). Разделительные патроны упаковываются теми же методами, что и обычные цельнометаллические. Колонками такого типа укомплектовываются хроматографы фирмы «Лабораторные приборы» (ЧССР).

Принципиально иной способ формирования высокоэффективного слоя сорбента использован в разработках фирмы «Уотерс». Колонки этого типа изготавливаются из достаточно мягких полимерных материалов, просто засыпаются сухим сорбентом. Слой минимально уплотняется одним из простейших способов. Затем колонка помещается в специальную камеру, где происходит радиальное сжатие слоя. При этом все пустоты, оставшиеся после первоначального заполнения, ликвидируются и достигается достаточная однородность слоя (рис. 5.11,*г*). Этот принцип использован также для изготовления препаративных колонок диаметром до 40 мм. Аналитические колонки такого типа также имеют относительно большой внутренний диаметр (8—10 мм), и скорее их следует отнести к категории полупрепаративных. Сравнительная дешевизна этих колонок вряд ли компенсирует их несколько пониженную эффективность.

Промышленный выпуск заполненных аналитических и препаративных колонок для ВЭЖХ налажен многими фирмами, и, по-видимому, большая часть разделений в мире выполняется на колонках фабричной упаковки. В то же время соображения экономики, экспериментальной гибкости и, наконец, здоровый «спортивный интерес» заставляют многих хроматографистов осваивать методы упаковки собственных колонок. Это во всяком случае оправдано, если предстоит работать в условиях, быстро выводящих слой сорбента из строя, либо при работе с оригинальными сорбентами, синтезированными в лаборатории.

Вкратце рассмотрим принципы упаковки колонок «жесткого» типа. Установлено, что по мере уменьшения диаметра частиц способы «сухой» упаковки колонок, заключающиеся в засыпании сорбента при постоянной вибрации, становятся все менее эффективными. Уже сорбент с размером частиц 20 мкм упаковать таким образом не удается. Для частиц меньшего размера в настоящее время применяют исключительно так называемый суспензионный способ упаковки: суспензию сорбента в подходящем растворителе быстро отфильтровывают через заполняемую колонку с установленным нижним фильтром. Принципиальная схема прибора для заполнения колонок приведена на рис. 5.12. Она состоит из насоса высокого давления

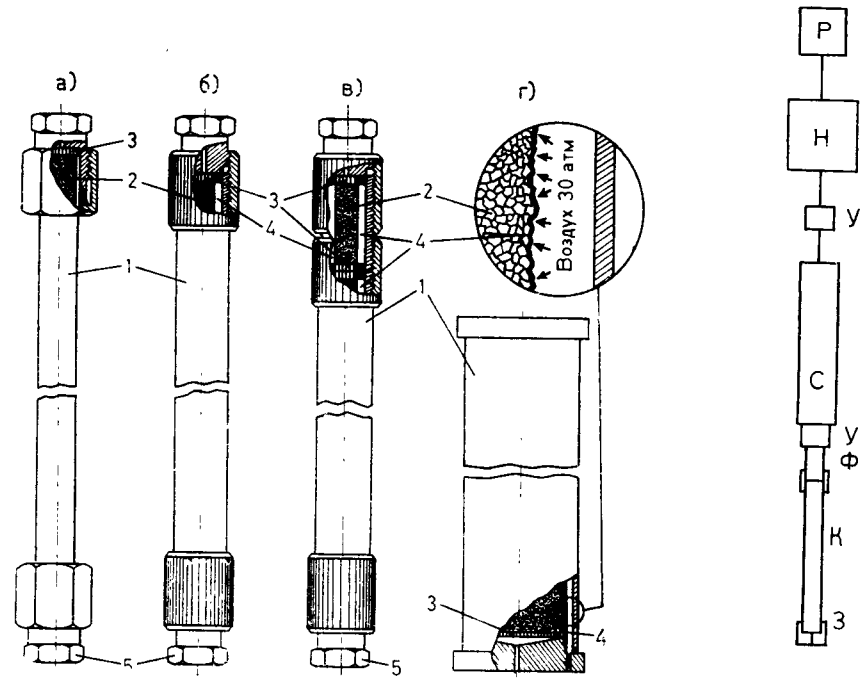


Рис. 5.11. Колонки для ВЭЖХ: *а* — цельнометаллическне; *б* — со сменными стеклянными патронами; *в* — с непосредственным присоединением форколонок; *г* — с радиальным сжатием. *1* — корпус; *2* — сорбент; *3* — фильтры; *4* — сменный патрон; *5* — наконечники.

Рис. 5.12. Принципиальная схема устройства для заполнения колонок: Р — резервуар с растворителем; Н — насос; С — сосуд для суспензии; Ф — форколонка; К — колонка; У — разъемные уплотнения; З — заглушка.

(Н), резервуара с растворителем (Р), емкости для суспензии (С), направляющей форколонки, к которой подключается заполняемая колонка. Перед началом работы резервуар заполняется растворителем, колонка присоединяется к форколонке и также заполняется растворителем. Выход колонки при этом должен быть перекрыт подходящей заглушкой. Суспензионный сосуд присоединяется к форколонке и заполняется приготовленной суспензией. После этого сосуд быстро присоединяют к насосу, снимают заглушку и включают насос.

При давлении 500—1000 атм фильтрование суспензии завершается в течение нескольких секунд, после чего через колонку прокачивают 50—200 объемов растворителя для так называемой «доупаковки».

Основные факторы, определяющие эффективность получаемых колонок, следующие: качество сорбента; выбор раство-

рителя для приготовления суспензии; качество внутренней поверхности колонки; концентрация суспензии; выбор растворителя для «доупаковки».

Технологии заполнения колонок посвящена довольно обширная литература, однако выводы и рекомендации, к которым приходят авторы, зачастую противоречивы. Ясно, что конечный результат определяется сложным взаимодействием множества факторов и получение хороших результатов требует немалого опыта. Тем не менее практика показывает, что после некоторой оптимизации режима упаковки колонок данной геометрии сорбентом определенной марки можно получить колонки эффективностью 5000—10 000 теоретических тарелок. Этот показатель примерно в два раза хуже, чем у колонок, упакованных в производственных условиях, однако и на таких самодельных колонках можно уже решать большинство задач.

Суспензия сорбента должна быть достаточно устойчивой, и это обстоятельство часто является решающим при выборе растворителя. Желаемой устойчивости можно достичь, используя смесь растворителей, обладающую плотностью, близкой к плотности сорбента. С этой целью используют бинарные смеси растворителей, содержащие бромистый метилен, йодистый метил либо другие галогенуглеводороды большой плотности. Второй растворитель имеет значительно меньшую плотность, и их соотношение выбирается таким, чтобы частицы сорбента не оседали из суспензии в течение 10—15 мин.

Другой путь стабилизации суспензии — применение вязких растворителей: например, бутанола, пропанола или этиленгликоля. Требование стабильности суспензии в целом доминирует в литературе. Однако в ряде случаев хорошие результаты были получены при особо быстрой упаковке с применением малоустойчивых суспензий в невязких и легких растворителях. Помимо стабилизирующего действия на суспензию растворитель должен обладать достаточным сродством к частицам сорбента, чтобы препятствовать их агрегации. Несмотря на то что сорбенты промышленного выпуска обычно достаточно хорошо фракционированы, при их хранении и транспортировке может образоваться некоторое количество «пыли» — частиц с диаметром во много раз меньше номинального. Наличие «пыли» даже в относительно небольшом количестве может отрицательно сказаться на проницаемости колонки. Поэтому перед употреблением сорбент следует дополнительно очистить, проведя несколько раз его суспендирование в подходящем растворителе (ацетон, гексан) и декантацию взвеси пыли после оседания основного количества материала.

В качестве материала колонок чаще всего используют трубки из нержавеющей стали. Для получения хороших результатов

важно качество внутренней поверхности трубки. Обычным трубкам присуща шероховатость внутренней поверхности, сопоставимая с размером зерна сорбента, поэтому для получения хороших колонок они малопригодны и требуют дополнительной полировки.

Относительно оптимальной концентрации суспензии мнения столь же разноречивы, как и относительно выбора суспендирующей среды. Хорошие результаты получены и при концентрации 2%, и при концентрации 30%, но чаще всего в пределах 5—15%.

5.1.5. ДЕТЕКТОРЫ

Функция детектора заключается в преобразовании концентрации анализируемого вещества, растворенного в подвижной фазе, в электрический сигнал.

В принципе для детектирования может быть использовано любое физико-химическое свойство подвижной фазы, которое изменяется при наличии в ней молекул разделяемых соединений. И действительно, десятки принципов к настоящему времени испытаны для детектирования. Подробный обзор по способам детектирования опубликован Уайтом [444, 445]. Однако лишь несколько способов оказались пригодными во всех отношениях и легли в основу промышленно выпускаемых конструкций. Чаще всего используются детекторы по поглощению, излучению и преломлению света, а также электрохимические.

Практически все используемые в настоящее время детекторы реализуют измерения физических величин, давно освоенные инструментальной аналитической химией в макромасштабе. Поэтому характерной технической проблемой, которая решалась при создании детекторов, было конструирование миниатюрных ячеек, отвечающих параметрам высокоэффективных колонок. В настоящее время для большинства детекторов разработаны ячейки объемом 0,01—10 мкл, отвечающие всем требованиям при работе с колонками различного диаметра.

Физические принципы, лежащие в основе различных методов детектирования, детально описаны в специальной литературе, посвященной соответствующим методам анализа, и потому здесь не рассматриваются.

Важнейшая характеристика детектора — его чувствительность. Способы ее выражения могут быть различными. При этом нужно различать чувствительность детектора как физического прибора, чувствительность хроматографа к данному соединению в данных условиях разделения и детектирования и, наконец, чувствительность аналитической методики в целом.

Таблица 5.3

Детекторы для ВЭЖХ

Детектор	Измеряемое свойство элюата	Ориентировочная чувствительность, мг в одиократно вводимой пробе	Селективность
Фотометр (УФ и видимой области)	Оптическая плотность при фиксированной длине волн	10^{-10}	Высокая
Спектрофотометр (УФ и виднмой области)	Оптическая плотность при избираемой оператором длине (длинах) волн	10^{-9}	„
Рефрактометр	Разность показателей преломленя растворителя в сравнительной и измерительной ячейках	10^{-6}	Малая
Флуориметр	Интенсивность флуоресценции молекул сорбатов в подвижной фазе	10^{-11}	Очень высокая
Амперометрическнй	Ток окисления нли восстановления электрохимически активных соединенй	10^{-9}—10^{-11}	„

Чувствительность детектора может быть примерно одинаковой для веществ различной химической природы, но может и сильно различаться, иногда даже для близких соединений. В первом случае говорят о неселективном детектировании, во втором — о селективном. Часто селективность детектора имеет не меньшее значение, чем чувствительность, причем в зависимости от характера конкретной аналитической проблемы селективность может оказаться как достоинством, так и недостатком. Так, если разделение преследует цель дать общий обзор состава исследуемого объекта, предпочтение должно быть отдано неселективному детектору. В другой ситуации, когда требуется определить лишь одно соединение на фоне сложной смеси, удобно воспользоваться селективным детектором. Он поможет решить проблему, даже если изучаемая смесь столь сложна, что полное ее разделение невозможно. Такого рода задачи довольно типичны для биомедицинского применения жидкостной хроматографии. Основные характеристики наиболее распространенных типов детекторов даны в табл. 5.3.

5.1.6. СИСТЕМЫ РЕГИСТРАЦИИ СИГНАЛА И ОБРАБОТКИ ДАННЫХ

Простейшее устройство для регистрации сигнала детектора — обычный потенциометрический самописец, с помощью которого хроматограмма изображается в координатах «время — сигнал

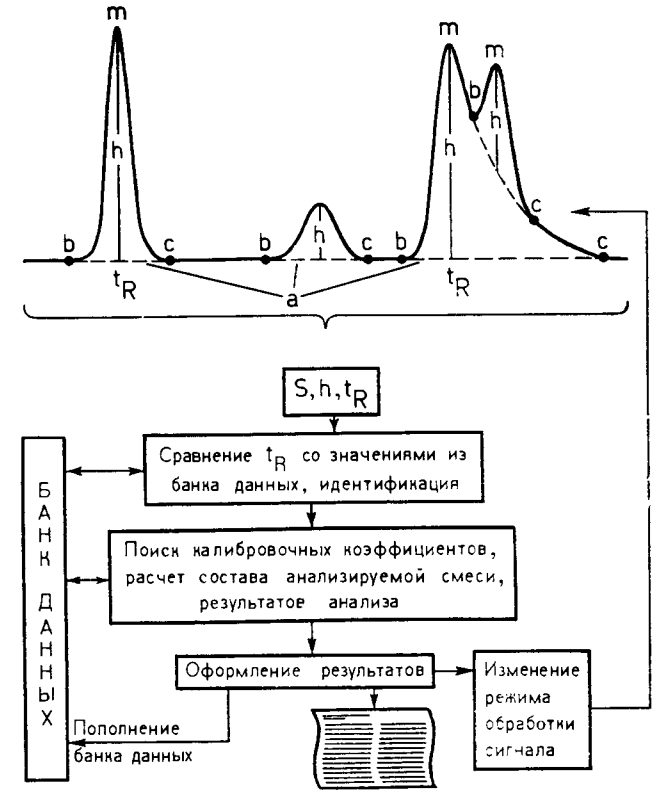


Рис. 5.13. Принципиальная схема обработки хроматограмм.

детектора» подобно приведенной на рис. 1.2. Она содержит, хотя и в неявной форме, всю новую информацию об изученном объекте, однако ее необходимо перевести в форму, пригодную для использования.

Все проводимые при этом операции могут выполняться вручную либо с помощью средств автоматизации различных классов. Ручная и автоматизированная обработки данных содержат много общих операций, однако отличаются по способу измерения площади пика. Последняя при ручной обработке измеряется как произведение высоты пика на ширину на половине высоты, а при автоматизированной — методом численного интегрирования. Операции, выполняемые при обработке хроматограмм:

— проведение базовой линии (рис. 5.13,*а*);
— выявление моментоз начала (*b*) и конца (*c*) пиков;
— выявление максимумов (*m*) пиков;
— измерение площади (или высоты) пиков (*S*, *h*);

— идентификация пиков по временам удерживания и их функциям;

— расчет состава анализируемой смеси.

Как вид современных жидкостных хроматограмм, так и характер получаемой информации ничем не отличаются от таковых при ГЖХ. Поэтому почти все результаты, достигнутые при автоматизации ГЖХ, непосредственно применимы к ВЭЖХ. Вопросу автоматизированной обработки хроматограмм посвящена обширная литература [6, 25, 252], к которой мы и отсылаем читателей. Здесь же перечислим только основные классы средств автоматизации.

Интеграторы первых поколений позволяли автоматически проводить базовую линию, измерять времена удерживания и площади пиков. Расчет состава смеси и идентификацию осуществлял в этом случае оператор.

Вычислительные интеграторы выполняют указанные функции и содержат определенный объем памяти и программируемое вычислительное устройство. Времена удерживания сравниваются с данными в памяти, на основании чего проводятся идентификация пика и выбор значений калибровочных коэффициентов. Измеренные площади пиков и взятые из базы данных коэффициенты служат для расчета состава исследуемой смеси. На долю оператора обычно остаются лишь функции контроля и оптимизации параметров интегрирования, а также оформления результатов. Многие современные модели одновременно дают и графическое изображение хроматограммы.

Вычислительные машины позволяют практически беспредельно расширять круг операций с полученными данными. На их базе можно организовывать большие банки данных, проводить изощренный статистический анализ результатов множества определений, автоматический поиск оптимальных условий. Одна и та же хроматограмма может обрабатываться многократно, появляется возможность эффективного диалога с оператором, учета его опыта и интуиции. Кроме того, универсальные мини-ЭВМ способны взять на себя функции управления всеми узлами хроматографа.

5.2. РАБОТА С РАСТВОРИТЕЛЯМИ

Основные требования к используемым растворителям изложены выше (см. главу 3). Здесь рассмотрим дополнительно отдельные практические приемы, которые можно рекомендовать для повышения надежности работы всей хроматографической системы.

Фильтрование растворителей. Основной фильтр подвижной фазы, имеющийся в каждом приборе, расположен во всасывающей линии насосной системы. Для нормальной работы насосов необходимо, чтобы сопротивление этой линии было минимальным, в противном случае при всасывании возможно образование паровых пузырей и нарушение работы клапанов. Поэтому поверхность используемых фильтров довольно большая. Для улучшения работы насоса иногда рекомендуют размещать резервуары с подвижной фазой на несколько десятков сантиметров выше насоса. С течением времени фильтры засоряются, их сопротивление увеличивается, возрастает вероятность нарушений работы насоса. Чтобы продлить срок непрерывной службы встроенного в прибор фильтра, необходимо предварительно фильтровать все растворители, помещаемые в резервуар, через материалы с размером пор 2—5 мкм.

Оценить состояние всасывающего фильтра хроматографа можно следующим образом. К выходу насоса присоединяют отрезок капилляра длиной 40—60 см и внутренним диаметром 0,25—0,5 мм. Конец капилляра размещают на 40—60 см ниже уровня подвижной фазы в резервуарах. Засасывают (с помощью вакуума, шприца, резиновой груши) в капилляр жидкость из резервуара. После отсоединения источника вакуума при остановленном насосе подвижная фаза должна продолжать самопроизвольно вытекать из капилляра со скоростью не менее 0,5 мл/мин. Меньшая скорость свидетельствует о засорении фильтра. Для его очистки можно рекомендовать следующую процедуру. Фильтр отсоединяют от системы и продувают сжатым воздухом в направлении, противоположном рабочему. Затем помещают в стакан, заливают ацетоном и устанавливают стакан в ультразвуковую ванну. Через 10 мин ацетон заменяют дистиллированной водой, затем 30%-ной азотной кислотой. После 10-минутной выдержки в ультразвуковой ванне фильтр отмывают от азотной кислоты дистиллированной водой до pH 5. После этого он готов к использованию в водных растворителях. Для работы с органическими подвижными фазами продолжают промывку: два раза ацетоном или спиртом, затем два раза подвижной фазой.

Совместимость растворителей. При составлении подвижных фаз, любых промывках фильтров, колонок и других элементов аппаратуры категорически запрещается использовать одновременно или последовательно не полностью смешивающиеся растворители. Сведения о совместимости наиболее часто используемых компонентов подвижных фаз отражены на рис. 5.14. Особую осторожность следует проявлять при работе с буферными растворами: при их смешении с водорастворимыми органическими растворителями возможно выпадение осадков. Поэтому состав используемой подвижной фазы всегда должен быть достаточно далеким от таких критических пропорций. Все узлы

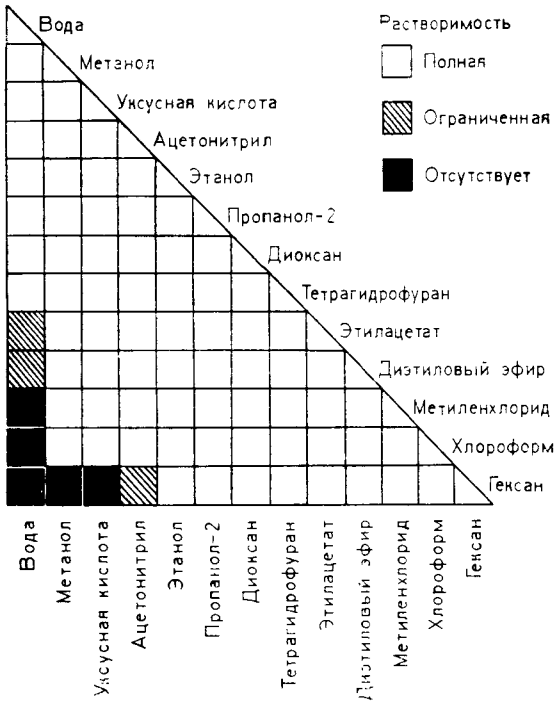


Рис. 5.14. Взаимная совместимость некоторых часто применяемых растворителей.

системы следует отмывать от буферных растворов только водой. Затем в случае нужды можно переходить к метанолу или ацетонитрилу и далее — к менее полярным органическим растворителям.

Повторное использование растворителей. Чаще всего подвижную фазу используют однократно, после чего уничтожают или, того хуже, выливают в канализацию. По нашему мнению, такая практика не оправдана ни экономически, ни экологически, ни даже с точки зрения хроматографии как таковой. Можно предложить два пути повторного использования растворителей — регенерацию и рециркуляцию. При регенерации элюат после детектора собирают и порциями подвергают перегонке. В результате получают смесь растворителей, несколько отличающуюся по составу от первоначального элюента. Проанализировав ее (например, методом ГЖХ), можно рассчитать, сколько и какого растворителя необходимо добавить, чтобы получить подвижную фазу первоначального состава. Регенерация позволяет избавиться от всех нелетучих примесей, и поэтому ее следует использовать преимущественно для подготовки элюентов для препаративной ВЭЖХ.

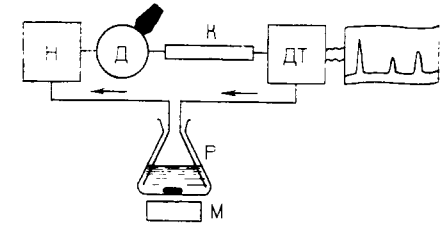


Рис. 5.15. Схема циркуляционного использования подвижной фазы: Н — насос; Д — дозатор; К — колонка; ДТ — детектор; Р — резервуар; М — магнитная мешалка.

При аналитической ВЭЖХ в изократическом режиме практически проще воспользоваться приемом рециркуляции. Схема циркуляционного использования подвижной фазы приведена на рис. 5.15. После детектора элюат возвращается в резервуар, где осуществляется его перемешивание с помощью магнитной мешалки. Такой прием можно всячески рекомендовать для проведения серийных анализов. Легко показать, что в этом случае никакого существенного загрязнения колонки не происходит: ведь в элюент попадают только те соединения, которые уже колонку прошли и, следовательно, сорбируются достаточно слабо. По этой же причине и ввиду большого разбавления компонентов пробы есть все основания пренебречь изменением сорбционных свойств колонки в результате динамического модифицирования. Наконец, такой прием вполне допустим и с точки зрения детектирования. Допустим, хроматограмма содержит n пиков, имеющих высоту 100% шкалы самописца и ширину на половине высоты 0,5 мл. Легко подсчитать, что при емкости резервуара 500 мл и хорошем перемешивании базовая линия сместится на $0{,}1 \cdot n$% шкалы. Следовательно, если хроматограмма не слишком сложна и не содержит сильно зашкаленных пиков, смещение базовой линии в результате рециркуляции незначительное. Данный прием нельзя рекомендовать в тех случаях, когда (например, при анализе микропримесей) на хроматограмме имеются пики высотой в десятки шкал.

Работа с рециркулирующими растворителями может способствовать продлению срока службы фильтров и колонок. Ясно, что безопаснее пользоваться подвижной фазой, отфильтрованной через идеальный фильтр — колонку, чем прокачивать через систему все новые и новые объемы элюента. Если подвижная фаза способна растворять сорбент, то при рециркуляции этот процесс будет замедлен в несколько раз.

Соли и буферные растворы. Во многих случаях в состав подвижных фаз помимо воды и органических растворителей входят также неорганические соли или ион-парные агенты. Они могут стать источником дополнительных примесей в подвижной фазе и отрицательно сказаться на результатах. Так, ион-парные агенты могут содержать органические соединения, для

удаления которых можно использовать предварительное пропускание подвижной фазы через колонку с октадецилсиликагелем.

Фосфатные буферные растворы могут служить средой для размножения микроорганизмов, потому их рекомендуется хранить в холодильнике. По этой же причине не следует оставлять неработающие колонки в контакте с этими растворами.

Нержавеющая сталь, из которой изготавливаются почти все детали хроматографического оборудования, вполне устойчива в контакте с подавляющим большинством буферных растворов и солей, применяемых в ВЭЖХ. Исключение составляют формиаты и галогениды, обладающие заметной коррозионной активностью.

При приготовлении подвижных фаз для ион-парной, обращенно-фазовой или ионообменной хроматографии получение необходимой молярной концентрации компонентов не вызывает затруднений, в то время как установка необходимого значения pH водно-органических элюентов может быть связана с затруднениями. Поэтому принято указывать значения pH не для элюента в целом, а для его водной части, до смешения с органическим растворителем. Следует одновременно иметь в виду, что прибавление к водному буферу органического растворителя может увеличить «кажущееся значение pH» на 1—2 единицы, в результате чего смешанный водно-органический элюент может оказаться довольно агрессивным по отношению к химически модифицированным силикагелям.

5.3. РАБОТА С КОЛОНКАМИ

Концевые фитинги. Фитинги современных колонок весьма просты по конструкции и в эксплуатации (см. рис. 5.11). Работа с ними не требует особых навыков, и герметичность, необходимая при давлении до 500 атм, достигается легким затягиванием уплотнения с помощью двух ключей. Проблемы с уплотнениями колонок возникают чаще всего из-за их износа при частой сборке, разборке и демонтаже. В ходе эксплуатации фитингов до поры до времени герметизация не требует значительных усилий. Однако по мере износа необходимое усилие затягивания возрастает, и с этого момента деформация уплотнения ускоряется, быстро приближается и момент его необратимого выхода из строя. Во избежание чрезмерного «перетягивания» уплотнений и быстрого их выхода из строя можно рекомендовать сборку всех коммуникаций прибора, находящихся под давлением, при включенном насосе. Каждое уплотнение при этом затягивают постепенно, в несколько приемов, только до устранения течи.

Фильтры. Фильтры современных колонок представляют собой диски из пористой нержавеющей стали. Их толщина обычно 0,5—1 мм, диаметр равен наружному диаметру колонки. Размер пор колеблется от 0,5—2 мкм на выходе колонки до 2—5 мкм на входе. Как правило, фильтры на выходе безотказно функционируют в течение всего периода эксплуатации колонки, фильтры на входе в колонку засоряются значительно чаще. Удобнее всего иметь сменные фильтры. Для замены фильтра входной фитинг разбирают, извлекают использованный фильтр и устанавливают новый. Использованный фильтр затем можно промыть подобно тому, как описано выше для фильтра подвижной фазы.

Стабильность колонок. Силикагель и химически модифицированные силикагели вполне устойчивы в органических растворителях и водных подвижных фазах с pH 2,0—7,5. Тем не менее даже при соблюдении всех правил эксплуатации с течением времени в колонке могут образовываться пустоты, резко отрицательно влияющие на ее эффективность. Пока до конца не ясно, связано ли их образование с химическим разрушением сорбента либо является результатом механической «доупаковки», перераспределения частиц сорбента. Чаще всего пустоты образуются на входе в колонку, причем они имеют неправильную форму (рис. 5.16,*б*). Признаком нарушения формы слоя служит появление вторых вершин у всех пиков на хроматограмме или резкое снижение эффективности (рис. 5.16,*в*). Диагностика и устранение пустот в верхней части колонки не вызывают затруднений. Разобрав концевое уплотнение и сняв фильтр, осматривают слой сорбента. При обнаружении картины, подобной той, что на рис. 5.16,*б,в,* с помощью шпателя удаляют верхние 0,5—2 мм слоя, придают ему горизонтальную форму. Затем приготавливают кашицу из используемого сорбента и «заполняют» ею всю верхнюю часть колонки, уплотняя слой надавливанием шпателя. После этого устанавливают на место фильтр и герметизируют колонку. Поскольку канал в слое сорбента, нарушающий его однородность, может быть довольно тонким, незаметным невооруженным глазом, то к описанной выше процедуре иногда прибегают и при отсутствии видимых нарушений слоя.

Другая неисправность в работе колонок может быть связана с увеличением их сопротивления. Чаще всего это вызывается засорением фильтра на входе, и его замена приводит к нормализации работы системы. Однако нередко заметного загрязнения фильтра нет, а верхняя часть слоя покрыта плотным слоем смолообразного осадка. В этих случаях опять-таки замена верхних 0,5—1 мм слоя может помочь решить проблему.

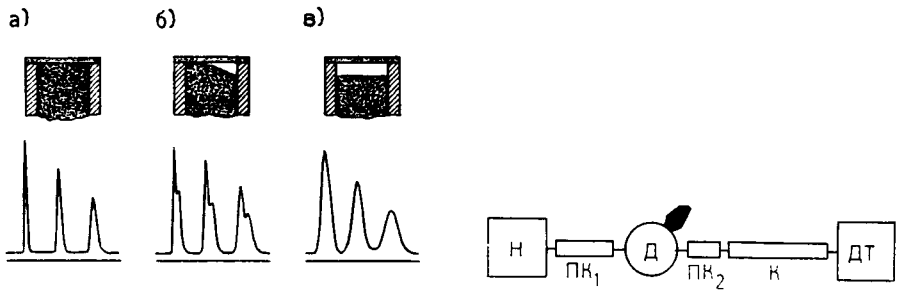


Рис. 5.16. Форма слоя сорбента на входе в колонку и соответствующие характерные хроматограммы: *а* — нормальный слой; *б* — иесимметричная полость; *в* — симметричная полость.

Рис. 5.17. Варианты расположения защитных форколонок $ПК_1$, $ПК_2$: Н — насос; Д — дозатор; К — колонка; ДТ — детектор.

Предколонки (форколонки) — одно из средств профилактики описанных нарушений работы колонок. Они могут располагаться в двух точках хроматографической системы (рис. 5.17). Предколонки ($ПК_1$) между насосом и инжектором заполняются обычно пелликулярными сорбентами, родственными по химическому типу тем материалам, которыми заполняется основная колонка (К). Если подвижная фаза обладает способностью растворять сорбент, этот процесс происходит в предколонке ($ПК_1$). В результате подвижная фаза насыщается продуктами деструкции сорбента и, подходя к основной колонке (К), почти полностью теряет свою растворяющую способность. Все отрицательные явления, подобные изображенным на рис. 5.16, в этом случае отмечаются в предколонке, однако это несущественно, так как на ней разделение не происходит.

Предколонки ($ПК_2$), расположенные между дозатором и основной колонкой (защитные колонки), участвуют в разделении, поэтому часто их конструкция и технология заполнения в общем повторяют таковые высокоэффективных колонок. Вместе с тем в них можно использовать и более крупнозернистые и пелликулярные материалы. Если предколонки упакованы тщательно, они не вызывают сколько-нибудь серьезного снижения эффективности системы, но зато позволяют защитить основную колонку от разрушающего и засоряющего воздействия подвижной фазы и разделяемых смесей.

Промывка и регенерация колонок. В типичных условиях проявительной ВЭЖХ колонка постоянно промывается потоком подвижной фазы, поэтому необходимость ее специальной очистки и регенерации возникает редко, лишь в особенно неблагоприятных случаях. Для промывки и регенерации используют последовательность растворителей возрастающей элюирующей силы.

Объем каждого из них равен примерно десятикратному геометрическому объему колонки. Для колонок с силикагелем, работающих в нормально-фазовом режиме, можно рекомендовать последовательность: хлороформ—этилацетат—ацетон—этанол—вода—этанол—ацетон—этилацетат—хлороформ. При работе с алкилсиликагелями в обращенно-фазовом режиме последовательность такова: вода—метанол—хлороформ—метанол—вода—0,1 М серная кислота—вода—0,1 М гидроксид аммония—вода. Для повышения эффективности промывки ее можно проводить при температуре колонки 40—60°С. Приведенные методики промывки универсальны; безрезультатность их применения, повидимому, можно считать признаком необратимого выхода колонки из строя. В то же время далеко не всегда необходима всесторонняя, исчерпывающая промывка. Во многих случаях положительный результат может быть достигнут быстрее и проще — вводом через дозатор серии 10—20 импульсов растворителя большой элюирующей силы, объемом 100—200 мкл.

В ранний период становления ВЭЖХ фирмы-производители в своих инструкциях запрещали изменять направление потока в колонке, подключая ее выход к насосу. С течением времени тон этих рекомендаций становился все менее категоричным, и сейчас уже наряду с прежней точкой зрения существует прямо противоположная. Согласно ей, изменение направления потока не только допустимо, но и является самым простым способом удаления загрязнений.

5.4. ПОДГОТОВКА ПРОБ

Подготовка проб для анализа преследует цели:

— перевод образца в растворитель, совместимый с используемой хроматографической системой;

— удаление компонентов и механических примесей, отрицательно влияющих на работу хроматографа и колонки;

— предварительное отделение таких компонентов, которые не представляют интереса либо затрудняют анализ;

— обогащение пробы определяемыми компонентами;

— перевод компонентов пробы в форму, способствующую селективному разделению;

— перевод компонентов пробы в форму, способствующую чувствительному и селективному детектированию.

Избираемый способ подготовки проб должен соответствовать характеру аналитической задачи. При исследовании реакционных смесей, готовых продуктов или лекарственных форм подготовка проб обычно сравнительно проста. Как правило, навеску исследуемого образца растворяют в определенном количестве растворителя и отфильтровывают от механических при-

месей. В качестве растворителя лучше всего использовать подвижную фазу. Это обеспечивает наилучшую воспроизводимость результатов и форму хроматографических пиков. В отдельных случаях возникает необходимость растворения образца в подвижной фазе меньшей элюирующей силы, что допустимо, хотя воспроизводимость анализа может оказаться несколько ухудшенной. Запрещается использовать для растворения проб смеси, обладающие большей элюирующей силой, чем подвижная фаза. В результате смешения такого растворителя с элюентом в колонке форма хроматографического пика окажется искаженной, возможно также выпадение компонентов пробы в осадок и засорение фильтра на входе в колонку. Силикагель и химически модифицированные силикагели неустойчивы при pH>8, поэтому растворы, имеющие хотя бы слабощелочную реакцию, необходимо подкислить перед введением в колонку.

При работе с образцами особо сложного состава (например, биологическими жидкостями) подготовка к анализу, как правило, многостадийная. Она может включать операции по осаждению, центрифугированию, фильтрованию, экстракции. При этом успех анализа в большей степени зависит от качества подготовки проб, чем от выбора условий хроматографирования. В последние годы ряд фирм освоили выпуск пластмассовых хроматографических патронов для очистки и концентрирования образцов. Эти патроны (объем 1—20 мл) заполняются крупнозернистыми сорбентами, по химии поверхности совершенно аналогичными тем сорбентам, которые используются в ВЭЖХ. Принцип их использования следующий. Изучаемый объект растворяют в растворителе, обладающем незначительной элюирующей силой по отношению к анализируемым веществам. Полученный раствор пропускают через патрон, при этом более подвижные компоненты пробы в нем не задерживаются, а определяемые соединения накапливаются в верхней части слоя сорбента. Таким образом через патрон можно пропустить довольно большой объем образца, во много раз превышающий объем сорбента в нем. По окончании этой операции колонку промывают небольшим объемом растворителя, обладающего значительной элюирующей силой по отношению к определяемым соединениям ($k' \approx 10^{-1}$). В результате такой процедуры из образца удаляются механические примеси, слабо и необратимо сорбирующиеся вещества. Получают фракцию небольшого объема, содержащую помимо определяемых соединений лишь фоновые компоненты с близкой хроматографической подвижностью.

В некоторых случаях при подготовке проб прибегают к получению производных, обладающих улучшенными по сравнению с исходными веществами хроматографическими характеристиками. Так, например, для разделения оптических изомеров их переводят в диастереомерные производные с подходящими хиральными реагентами. С этой целью используют такие реагенты, как N-трифторацетил-L-пролилхлорид для получения производных аминов и (−)-метилхлорформиат для оптически активных спиртов. Значительно чаще производные используются для улучшения чувствительности и селективности детектирования [72, 268, 273, 274]. В табл. 5.4 приведены функциональные группы органических соединений и соответствующие производные, содержащие хромофорные или флуорофорные группы. Некоторые методики получения производных приводятся ниже.

1. УФ-поглощающие эфиры карбоновых кислот

Растворяют 10 мкмоль карбоновой кислоты, 20 мкмоль реагента (фенацил- или бензоилбромида) и 40 мкмоль N,N-диизопропилэтиламина в 1 мл диметилформамида. Нагревают раствор в течение 1 ч при 60°С. Образец непосредственно можно вводить в хроматографическую колонку с обращенно-фазовым сорбентом.

2. *п*-Нитробензиловые эфиры карбоновых кислот

Растворяют 3 мкмоль карбоновой кислоты и 9 мкмоль нитробензил-N,N′-диизопропилмочевины в 250 мкл метиленхлорида в реакционном сосуде. Нагревают до 80°С и выдерживают 2 ч. Реакционную смесь можно непосредственно анализировать в режиме нормально-фазовой хроматографии, или после продувки в токе азота и замены растворителя образец можно анализировать в обращенно-фазовом режиме.

3. 2,4-Динитрофенилгидразоны карбонильных соединений

Растворяют 10 мкмоль образца в 0,5 мл метанола, подкисляют одной каплей концентрированной соляной кислоты. Растворяют 15 мкмоль 2,4-динитрофенилгидразина в 0,5 мл метанола. Смешивают два раствора и нагревают в течение нескольких минут при 50°С до завершения реакции.

4. *п*-Нитробензилоксимы карбонильных соединений

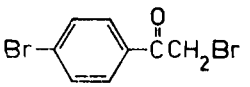
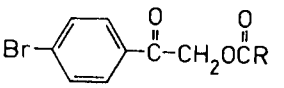
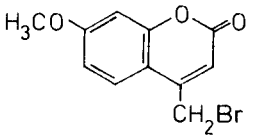
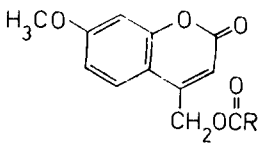
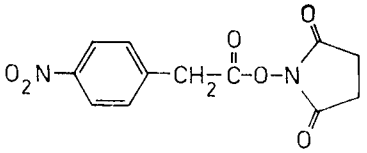
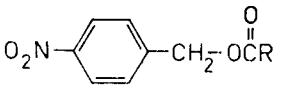
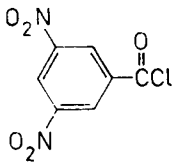
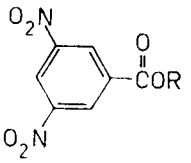
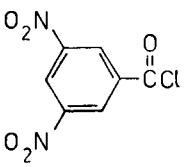
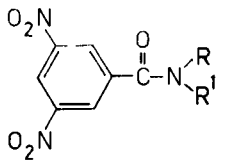
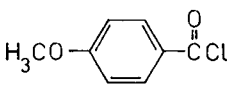
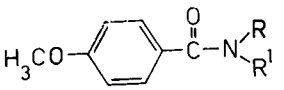
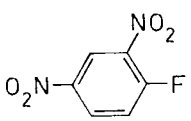
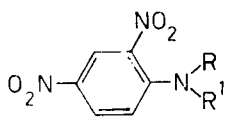
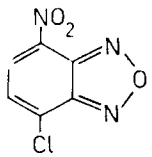
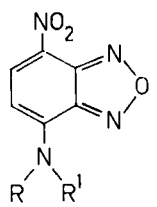
Растворяют 1 мкмоль образца и 5 мкмоль *п*-нитробензилоксиамина и 50 мкл пиридина. Нагревают реакционную смесь при 60°С в течение 30 мин. Упаривают пиридин током азота и растворяют осадок в метиленхлориде, промывают разбавленным раствором соляной кислоты перед введением образца в хроматографическую колонку.

5. УФ-поглощающие эфиры спиртов

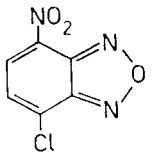
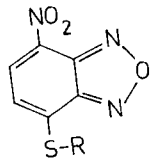
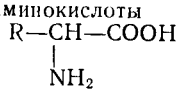
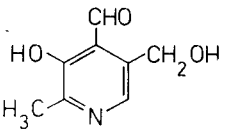
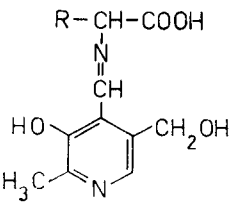
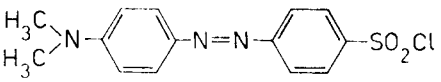
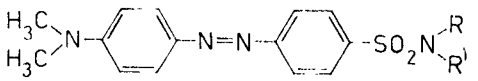
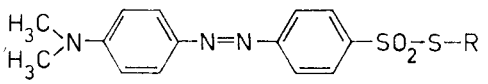
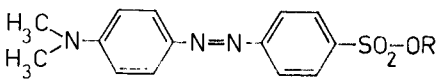
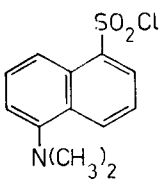
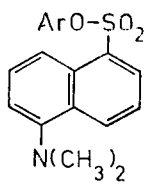
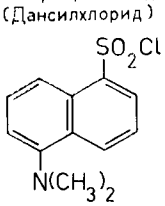
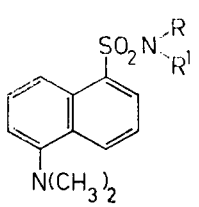
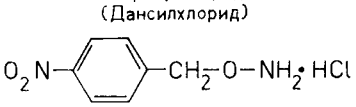
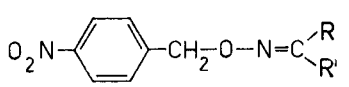
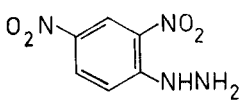
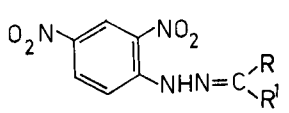
Растворяют 10 мкмоль спирта, 50 мкмоль подходящего фенацил- или бензоилбромида и 10 мкмоль пиридина в метиленхлориде. Реакционную смесь выдерживают в течение 1 ч при 55°С. Упаривают пиридин и метиленхлорид в токе азота и гидролизуют избыток реагента одной или двумя каплями 2 н. соляной кислоты. Удаляют избыток кислоты промыванием 1%-ным

Производные для высокоэффективной жидкостной хроматографии

Таблица 5.4

Класс анализируемых соединений	Реагент	Производное	Детектор*
1	2	3	4
Карбоновые кислоты R—COOH	 п-бромфенацилбромид		УФ (260 нм)
	 4-бромметил-7-метоксикумарин		Ф (360/420 нм)
	 N-сукцинимидил-п-нитрофенилацетат		УФ (265 нм)
Спирты, фенолы R—OH	 3,5-динитробензоилхлорид		УФ (254 нм)
Амины R—NH—R′	 3,5-динитробензоил-хлорид		УФ (254 нм)
	 п-метоксибензоилхлорид		УФ (254 нм)
	 2,4-динитро--1-фторбензол		УФ (360 нм)
	 7-хлор-4-нитро-бензил-2-оксо--1,3-диазол		Ф (475/545 нм)

Окончание таблицы 5.4

1	2	3	4
Меркаптаны R—SH	 7-хлор-4-нитробензил-2-оксо-1,3-диазол		Ф (420/525 нм)
Аминокислоты 	 пиридоксаль		Ф (330/400 нм)
Амины, имидазолы R—NH—R′	 4-диметиламиноазобензол-4′-сульфохлорид (Дабсилхлорид)		УФ (425 нм)
Меркаптаны R—SH	То же		То же
Спирты, фенолы R—OH			,,
Фенолы Ar—OH	 5-N,N′-диметиламинонафталин-1-сульфохлорид (Дансилхлорид)		Ф (365/520 нм)
Амины, аминокислоты, пептиды	 5-N,N′-диметиламинонафталин-1-сульфохлорид (Дансилхлорид)		Ф (340/520 нм)
Альдегиды, кетоны RCOR′	 п-нитробензилоксиамин гидрохлорид		УФ (265 нм)
То же	 2,4-динитрофенилгидразин		УФ (254 нм)

* УФ — спектрофотометр; Ф — флуориметр.

раствором карбоната натрия. Осадок растворяют в подходящем растворителе и хроматографируют.

6. 2,4-Динитрофенильные производные аминов

К 0,2 мл 3%-ного раствора 1-фтор-2,4-динитробензола в диоксане добавляют раствор образца в 1,5 мл 1%-ного водного тетрабората натрия. В течение 25 мин нагревают раствор при 60°С, затем добавляют 0,2 мл 2 М раствора гидроокиси натрия, выдерживают 15 мин. Охлаждают раствор и встряхивают с 1 мл циклогексана. Экстрагируют слой циклогексана 0,1 М раствором карбоната натрия (3×2 мл). Органическую фазу можно непосредственно хроматографировать в нормально-фазовом режиме.

5.5. ВЫБОР УСЛОВИЙ ЭКСПЕРИМЕНТА

5.5.1. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЛИТЕРАТУРНЫХ ДАННЫХ

Желательно еще до начала работы обобщить литературные сведения о решении стоящей задачи с помощью ВЭЖХ и другими методами. Они, несомненно, окажут большую помощь, позволят справиться с проблемой за более короткое время. В то же время значение этой информации не следует переоценивать, и не всегда следует также пытаться слепо воспроизвести опубликованный режим. (Сказанное, разумеется, не относится к информации, имеющей силу стандартов, фармакопейных статей и т. п.; их необходимо воспроизводить буквально и досконально.) Трудности при воспроизведении методик, опубликованных в литературе, обусловлены:

— неидентичностью технических данных оборудования, имеющегося в разных лабораториях;

— неидентичностью сорбционных свойств однотипных неподвижных фаз и даже разных партий одной и той же неподвижной фазы;

— недостаточной полнотой описания методик;

— недоступностью тех или иных реактивов, растворителей, материалов и приспособлений.

Кроме того, при анализе литературных данных почти всегда оказывается, что проблема, стоявшая перед авторами публикации-прототипа, несколько (или даже сильно) отличается от той проблемы, которую предстоит решить нам, хотя основные определяемые соединения могут быть одни и те же. Это отчасти обесценивает опубликованную методику, так как в нашем случае может потребоваться другая подготовка пробы, может оказаться иным состав примесей, фоновые вещества в биообъекте и т. п.

Все эти затруднения часто приводят к тому, что опубликованные методики не используются для прямого воспроизведения, а служат лишь отправной точкой для дальнейшей модификации применительно к конкретным условиям и задачам. К счастью, возможности такой модификации за счет варьирования тех или иных параметров в ВЭЖХ необычайно широки.

5.5.2. УСЛОВИЯ РАЗДЕЛЕНИЯ

В настоящее время в методиках разделения обычно указывают такие простые и физически наглядные параметры, как геометрические размеры колонок, объемный расход подвижной фазы, время удерживания. Однако основной результат хроматографического процесса — разделение — напрямую связан не с этими параметрами, а со специфическими характеристиками термодинамической и кинетической природы, в первом приближении не зависящими от геометрических характеристик хроматографической системы — коэффициентами емкости соединений, эффективностью колонки и т. п. Поэтому при описании результатов хроматографических экспериментов коэффициенты емкости, эффективность, линейная скорость подвижной фазы должны указываться наряду с приведенными выше характеристиками.

Длина колонки и эффективность. В большинстве случаев хроматографисты пользуются стандартным рядом длин колонок: 25, 15 или 10 см. В последнее время многие фирмы освоили выпуск более коротких колонок (вплоть до 3 см), заполненных особо мелкозернистыми сорбентами. Однако из теоретических основ метода ясно, что сама по себе длина колонки влияния на качество разделения не оказывает, а ее увеличение способствует увеличению продолжительности разделения. Действительно определяющим фактором является эффективность колонки, и именно ее необходимо указывать, описывая разделение. Это позволяет осознанно подходить к воспроизведению методик разделения и одновременно использовать возможности сокращения продолжительности анализа. Допустим, что, согласно опубликованной методике, разделение выполнялось на колонке длиной 25 см и эффективностью 5000 теоретических тарелок. По современным воззрениям такая колонка не может считаться высококачественной, однако примеров подобного рода в литературе, и даже новейшей, более чем достаточно. В настоящее время для получения указанной эффективности достаточно колонки длиной 10 или даже 5 см. Поэтому имеется реальная возможность, сохранив все остальные параметры опыта постоянными, воспроизвести ранее достигнутое качество разделения на более короткой колонке и за более короткое (2,5—5 раз) время.

Следовательно, выбор длины колонки и эффективности в каждом конкретном случае определяется той селективностью, которой обладает данная система по отношению к разделяемым соединениям, и требованиями к быстроте разделения.

Повышение эффективности колонки — рациональный способ улучшения разделения только для достаточно сложных смесей, для простых и умеренно сложных смесей наиболее приемлема оптимизация селективности, позволяющая создавать более скоростные методики разделения.

В руководствах прежних лет отмечалось, что последовательное соединение колонок с целью увеличения суммарной эффективности положительного результата не дает. Вероятнее всего, такое мнение сформировалось из-за пользования недостаточно совершенными соединительными элементами. Наш опыт и данные, опубликованные в последние годы, свидетельствуют о том, что последовательное соединение колонок вполне осуществимо и эффективность при этом равна примерно сумме эффективностей отдельных колонок. Однако этим путем хроматографисты идут довольно редко, так как за удвоение эффективности приходится платить резким увеличением продолжительности разделения, работой насосов вблизи максимальных рабочих давлений.

Внутренний диаметр колонки. Как правило, в современной аналитической практике используются колонки с внутренним диаметром 2—6 мм. Этот параметр влияет в первую очередь на чувствительность детектирования при аналитической ВЭЖХ, а также определяет производительность колонок при препаративной хроматографии. При равной эффективности колонок, различающихся по внутреннему диаметру, объем пика увеличивается пропорционально площади поперечного сечения или квадрату диаметра. В результате одно и то же количество разделяемого вещества дает бóльшую концентрацию вещества в пике при хроматографировании на колонках меньшего диаметра. Это обстоятельство становится решающим доводом в пользу миниатюризации ВЭЖХ в тех случаях, когда количество исследуемого вещества ограничено.

При увеличении диаметра, наоборот, отклик детектора на данное количество вещества становится меньше и одновременно возрастают максимально допустимые объем и масса пробы. Большинство фирм в качестве основного типоразмера выпускают колонки внутренним диаметром 4,6 мм, и, вероятно, на таких колонках выполняется сейчас не менее 90% аналитических разделений. В то же время несколько более дорогие колонки внутренним диаметром 6,2 мм, как нам кажется, наиболее целесообразны, когда необходимо масштабирование аналитического разделения до микропрепаративного уровня. Для этих

колонок характерно сочетание умеренного расхода растворителей (1—2 л в смену) с производительностью (до 10 мг за один цикл разделения в благоприятных условиях).

Состав подвижной фазы. В ходе разработки методики разделения многокомпонентной смеси необходимо решить вопрос о целесообразности применения изократического либо градиентного элюирования. Анализ современной практики жидкостной хроматографии показывает, что градиентное элюирование довольно редко применяется при анализе лекарственных веществ, но становится необходимым при разделении сложных смесей биологического происхождения. Существенный недостаток такого способа элюирования в том, что возврат к исходному режиму по окончании разделения требует довольно значительного времени. Сравнивая возможности градиентного и изократического элюирования, продолжительность приведения колонки в исходное состояние следует суммировать с продолжительностью градиентного разделения. При таком подходе часто оказывается, что лучше провести длительное изократическое разделение, чем незначительно уступающее ему по продолжительности градиентное.

Выбор состава подвижной фазы для изократического разделения проводят на основании общих представлений и моделей, рассмотренных в главе 4.

Благодаря большой гибкости ВЭЖХ одна и та же проблема разделения может быть решена множеством способов, отличающихся характером используемых неподвижных фаз, и в особенности — составом подвижных фаз. Какие же из возможных составов следует признать наиболее подходящими? Разумеется, те, которые обеспечивают необходимое (но не избыточное!) разделение за минимальное время. При выборе соотношения сильного компонента подвижной фазы и разбавителя необходимо иметь в виду, что селективность разделения пары веществ часто несколько уменьшается с увеличением концентрации сильного компонента в подвижной фазе. Однако этот эффект не очень сильно выражен. Согласно (1.10), уменьшение коэффициентов емкости разделяемой пары соединений также приводит к ухудшению их разделения. Следовательно, в общем случае разделение данной пары будет лучше, если пользоваться относительно слабым элюентом, однако при этом продолжительность разделения будет больше. В связи с этим целесообразно оценить оптимальные диапазоны значений k' для различных типов разделений.

На рис. 5.18 представлена зависимость критерия разделения R_s от коэффициентов емкости и относительных удерживаемых объемов. Видно, что кривые $R_s = f(k')$ стремятся к плато. В со-

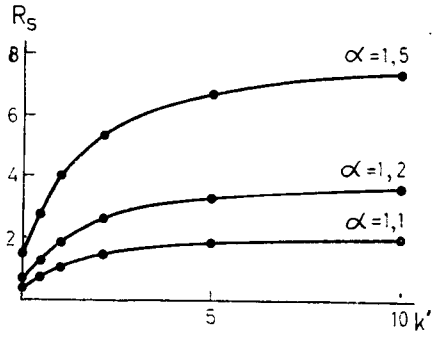


Рис. 5.18. Зависимость критерия разделения R_s от удерживания при различных значениях селективности α. Эффективность колонки 10 000 теоретических тарелок.

ответствии с (1.10) максимальное значение критерия R_s для данных N и α составляет

$$R_{s_{max}}=\frac{1}{4}\,\frac{(\alpha-1)}{\alpha}\sqrt{N}. \qquad (5.2)$$

Как следует из рис. 5.18, выигрыш в величине R_s довольно значителен при увеличении k' приблизительно до трех. Дальнейшее увеличение k' сопровождается очень медленным улучшением разделения. Следовательно, с точки зрения компромисса между достигаемым качеством разделения и его продолжительностью оптимальное значение k' равно примерно трем. Можно уверенно заявить, что если при таких величинах удерживания разделение неудовлетворительно, то следующим шагом по оптимизации должно быть либо радикальное увеличение эффективности колонки, либо изменение селективности за счет изменения состава подвижной фазы. Несколько иначе следует выбирать величину k' при разработке методик определения примесей. В этом случае избранный режим помимо отделения примесей от основного вещества должен обеспечивать обзор максимального диапазона полярности сорбатов. Поэтому желателен такой состав подвижной фазы, чтобы k' основного вещества был около 1,0. С другой стороны, в начальной части хроматограммы, вблизи t_0, часто наблюдаются ложные пики различной природы; поэтому при выборе состава элюента необходимо строго соблюдать следующее правило: ни один интерпретируемый пик не должен иметь $k'<0{,}2$.

Экспериментальный подбор условий разделения желательно начинать с испытания такой подвижной фазы, в которой ожидаемые значения коэффициентов емкости находятся в пределах 0,1—0,5. В этом режиме хроматографируют искусственную смесь, а также реальный образец. На основании хроматограммы искусственной смеси делают вывод, насколько в следующем эксперименте надо уменьшить силу подвижной фазы, чтобы приблизиться к оптимальным значениям k'. Хроматограмма реального образца, снятая в первом режиме, позволяет выявить наличие сильносорбирующихся примесей, которые могли бы быть «потеряны» при хроматографировании в более слабой подвижной фазе.

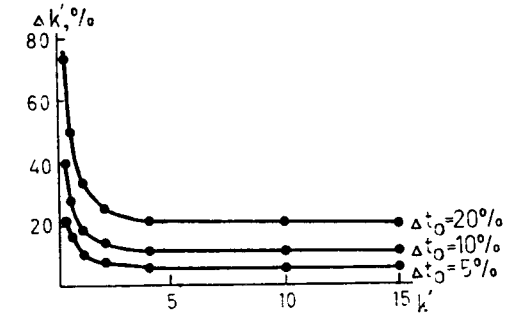


Рис. 5.19. Зависимость погрешности измерения коэффициентов емкости $\Delta k'$ от величины коэффициентов емкости и погрешности измерения t_0.

При исследовании закономерностей хроматографического поведения условия эксперимента необходимо выбирать таким образом, чтобы погрешность измерения коэффициентов емкости была минимальной. Поскольку корректное определение величины t_0, требуемой для расчета k', встречает значительные затруднения, единственным реальным выходом, видимо, является выбор для этой цели *условно* несорбирующихся веществ. Разумеется, систематические погрешности измерения k' устранены не будут, но тем не менее такой подход создаст основу для рационального обобщения и интерпретации данных. Вообще, по нашему мнению, положение с измерением t_0 и k' излишне драматизировать не следует. Во-первых, погрешность измерения t_0 резко отрицательно сказывается только на слабоудерживаемых сорбатах. Согласно рис. 5.19, начиная с $k'\approx 4$ относительная погрешность k' равна погрешности измерения t_0 и практически постоянна для всех соединений с $k'>4$. Во-вторых, при выводе закономерностей, подобных уравнениям (4.52) и (4.23), погрешность измерения k' станет составной частью свободного члена, а коэффициенты, описывающие влияние структуры сорбата или состава элюента, будут найдены правильно.

Таким образом, при исследовании закономерностей хроматографического поведения желательно выбирать такие составы подвижных фаз, чтобы коэффициенты емкости изучаемых соединений были не меньше 4.

В табл. 5.5 приведены условно несорбирующиеся вещества, неплохо зарекомендовавшие себя в лаборатории авторов.

Температура колонки. Температура, при которой проводится разделение, как правило, не оказывает решающего влияния на

Таблица 5.5

Один из возможных каборов условно несорбирующихся веществ

Вариант хроматографии	Детектор	
	УФ-спектрофотометр	рефрактометр
Обращенно-фазовая	Нитрат натрия	Вода
Нормально-фазовая	Четыреххлористый углерод	Гексан

селективность, но определяет абсолютные величины удерживания. Повышение температуры разделения приводит к уменьшению времен удерживания, однако того же эффекта при необходимости проще можно добиться, несколько изменив состав подвижной фазы. В связи с этим большинство ВЭЖХ-разделений выполняется при комнатной температуре, и даже не все фирмы, специализирующиеся в жидкостной хроматографии, включают соответствующие термостаты колонок в свою производственную программу.

Термостатирование колонки при повышенных (до 40—60°С) температурах можно рекомендовать в тех случаях, когда используются подвижные фазы большой вязкости. Это позволяет значительно снизить давление в системе и расширить круг используемых растворителей. Например, при 60°С становится возможным использование изопропилового спирта в качестве органического компонента подвижной фазы в обращенно-фазовой хроматографии. Применение термостатирования необходимо также при прецизионных физико-химических измерениях.

Расход подвижной фазы выбирают в зависимости от внутреннего диаметра колонки, технических данных насоса, свойств разделяемых соединений. С точки зрения возможности воспроизведения методик правильнее было бы задавать не объемный расход через все сечение колонки, а расход через единицу сечения либо линейную скорость подвижной фазы. Тем не менее, поскольку насосы ВЭЖХ градуированы в единицах объемного расхода, именно этот параметр, как правило, приводится в описаниях методик.

Для низкомолекулярных сорбатов характерно незначительное уменьшение эффективности разделения с увеличением скорости подвижной фазы, что в принципе позволяет сильно сократить продолжительность анализа. Однако этой возможностью пользуются довольно редко, так как пропорционально расходу увеличивается давление на входе в колонку, что вызывает определенные неудобства. В результате используемые разными авторами величины расхода подвижной фазы колеблются в сравнительно узких пределах. Так, почти все разделения на колонках с внутренним диаметром 4,6 мм выполняются при расходе подвижной фазы 1—2 мл/мин, что соответствует линейной скорости 1,5—4 мм/с (при характерных для ВЭЖХ значениях V_m). Именно эта величина представляет собой наиболее разумный компромисс между продолжительностью разделения и давлением. Разумеется, при масштабировании разделения на колонках иного диаметра расход следует изменить пропорционально площади поперечного сечения колонки.

Объем и концентрация пробы. Массу вещества, которую надлежит ввести в колонку, выбирают исходя из стоящих задач. Так, если необходимо препаративное выделение очищенных фракций либо определение примесей, стремятся ввести в колонку возможно большее количество пробы, в то время как при анализе реакционных смесей или лекарственных форм этого не требуется. Одно и то же количество исследуемого образца можно ввести в колонку в виде относительно большого объема менее концентрированного раствора либо в виде концентрированной пробы малого объема. При выборе объема и концентрации пробы руководствуются требуемой точностью дозирования, предельно допустимыми режимами разделения и детектирования.

Погрешность дозирования проб, как правило, снижается с увеличением их объема. Следовательно, когда этот показатель важен (например, при количественной обработке хроматограмм методом абсолютной калибровки), целесообразно выбирать объем, максимально допустимый для данных условий. Использование проб слишком большого объема может привести к заметному снижению эффективности разделения, особенно при работе с колонками эффективностью 10 000—20 000 теоретических тарелок. Чтобы реализовать всю эффективность, присущую данной колонке, объем пробы не должен превышать 1/10 части объема, соответствующего ширине хроматографического пика на половине его высоты. Предельный объем проб возрастает прямо пропорционально площади поперечного сечения слоя сорбента. Для колонок с внутренним диаметром 4,6 мм и эффективностью свыше 10 000 теоретических тарелок он составляет примерно 25 мкл.

Если предстоит измерение и обработка основных пиков на хроматограмме, масса соответствующих компонентов, вводимых в колонку, не должна выходить за пределы линейности детектора. Максимальное с этой точки зрения количество вещества при детектировании по УФ-поглощению зависит в первую очередь от коэффициента экстинкции сорбата и его удерживания. В качестве ориентировочных пределов для соединений с молярным коэффициентом экстинкции порядка 10^4 можно назвать

массу 10—50 мкг для колонок с внутренним диаметром 4,6 мм. Диапазон линейности малочувствительных детекторов, например рефрактометра, соответствует значительно большему количеству вещества. Поэтому при работе с ними (а также при препаративной хроматографии с УФ-детектором) приходится считаться уже не столько с перегрузкой детектора, сколько с перегрузкой слоя сорбента. Симметричная форма пиков, изначально присущая хорошей колонке, остается таковой лишь до тех пор, пока сорбция протекает в линейной части изотермы. При увеличении концентрации вещества в пробе свыше некоторого предела процесс на первых теоретических тарелках выходит из линейного режима, что приводит к нарастанию асимметрии, в особенности сильно проявляющемуся для сорбатов с большими k'. Предельная с этой точки зрения концентрация также сильно зависит от режима хроматографирования. Вероятность явлений подобного рода следует учитывать, если концентрация вещества в пробе превышает 2 мг/мл, хотя во многих случаях серьезные искажения хроматограммы не наступают и при 5—10 мг/мл.

Итак, выбор концентрации и объема анализируемой пробы — в каждом случае результат определенного компромисса. Такие компромиссные условия в современной ВЭЖХ найти, как правило, нетрудно. В качестве ориентировочных значений параметров, пригодных для первой попытки при разработке метода разделения на колонках диаметром 4,6 мм, укажем объем пробы 10—25 мкл, концентрацию 0,1—1 мг/мл для УФ-детекторов и 1—5 мг/мл для рефрактометра.

5.5.3. РЕГИСТРАЦИЯ И ОБРАБОТКА ДАННЫХ

Несмотря на широкое развитие средств автоматизированной обработки хроматографических данных, не менее половины измерений по-прежнему выполняются вручную. В связи с этим уместно остановиться на некоторых правилах записи хроматограмм на самопишущих потенциометрах и измерения хроматографических величин.

Время удерживания. Наибольшая точность измерения времени удерживания достигается при пользовании секундомером с ценой деления 0,2 с и менее. Однако этот прием не слишком удобен, так как «привязывает» оператора к хроматографу, к тому же точность фиксации момента максимума пика оператором невелика, и это обстоятельство частично сводит на нет усилия по максимально точному измерению времени удерживания с помощью секундомера. В связи с этим многие авторы измеряют

время удерживания как расстояние на диаграммной ленте от момента ввода пробы до максимума пика. По нашему мнению, если точность лентопротяжного механизма проверена, такой прием вполне допустим. Необходимо только правильно выбрать скорость протяжки диаграммной ленты, чтобы измеряемые величины были не менее 20 мм.

Масштаб записи хроматограммы. Выбор масштаба записи хроматограммы определяется характером решаемой аналитической задачи. Общее правило при этом: масштаб следует выбирать таким, чтобы измеряемые пики на хроматограмме имели высоту 50—90% шкалы. Это требование обычно легко выполнить при анализе основных компонентов изучаемой смеси, однако оно может быть трудновыполнимым при анализе примесей, изучении биологических смесей на предельных чувствительностях детектирования. Ненадежно с метрологической точки зрения измерение пиков высотой 1—2% шкалы.

Скорость протяжки ленты самописца выбирается таким образом, чтобы обеспечить необходимую точность измерений времени удерживания и ширины пика. Один из критериев приведен выше: измеряемое расстояние, соответствующее времени удерживания, должно быть не менее 20 мм. С другой стороны, если предстоит измерение площадей пиков, развертка должна быть такой, чтобы ширина пиков на половине высоты была не менее 5 мм.

Площадь или высота пика. Обе эти величины используются при количественной обработке хроматограмм, выбор той или иной из них диктуется отчасти методом количественного расчета. Так, при использовании метода нормализации допустимо только измерение площадей, в то время как методы внутреннего стандарта и абсолютной калибровки допускают пользование и высотами, и площадями пиков. С физической точки зрения, конечно, более обоснованно измерение площади пиков. Однако при использовании современного оборудования и методических приемов во многих случаях ширина данного пика есть постоянная величина, и, значит, площадь пика определяется лишь его высотой. В то же время измеренная вручную ширина пика, по-видимому, служит основным источником суммарной погрешности анализа. Поэтому во всех случаях, где это возможно, после соответствующей проверки необходимо рекомендовать ручное измерение высоты пика вместо его площади как более простое и не менее точное.

Приемы измерения пиков в ВЭЖХ практически идентичны тем, которыми пользуются в газовой хроматографии. Они многократно описаны в литературе, поэтому здесь сошлемся лишь на специальное руководство, посвященное количественным аспектам хроматографического анализа [14].

5.6. ОПИСАНИЕ МЕТОДИК АНАЛИЗА

Форма и содержание описания методики, а также результатов могут различаться в зависимости от цели выполняемой работы, характера итогового документа, контингента специалистов, для которых предназначается данная методика или результаты. В самом общем случае, при наиболее подробном изложении описание должно включать следующую информацию:

— характеристику аналитической задачи и изучаемого объекта;

— обзор литературных сведений о решении данной или аналогичной задачи;

— обоснование выбора ВЭЖХ как метода решения данной задачи;

— описание использованной аппаратуры, материалов и реактивов;

— экспериментальное или теоретическое обоснование выбора условий разделения;

— обоснование использованного метода подготовки пробы к анализу;

— обоснование метода качественного анализа;

— обоснование условий детектирования, регистрации хроматограммы, обработки данных и метода количественной интерпретации результатов;

— статистическую оценку предлагаемого метода;

— собственно методику, т. е. последовательное изложение области применимости, условий разделения, операций по подготовке пробы, выполнению анализа, вычислению результатов;

— результаты анализа.

Представленная здесь структура описания напоминает традиционную структуру научных статей по аналитической химии. Перечисленные разделы в своей совокупности должны давать полное представление о теоретической и экспериментальной обоснованности методики, ее возможностях; методическая часть должна быть максимально компактной и одновременно содержать всю информацию, необходимую для воспроизведения анализа. В качестве примера приводим схему методики, используемую в лаборатории авторов:

1) наименование;

2) характеристика объекта анализа. Указывается, для какого объекта (реакционная смесь, технический продукт, лекарственная форма и т. п.) и каких предельных концентраций определяемого вещества данная методика разработана;

3) хроматограф. Указываются все марки хроматографов, на которых данная методика выполнялась;

4) детектор;

5) колонка. Указываются геометрические размеры; сорбент; минимальная эффективность, обеспечивающая решение поставленной задачи;

6) подвижная фаза. Указываются качественный и количественный состав; объемный расход; условно несорбирующееся вещество и его время удерживания; линейная скорость подвижной фазы;

7) температура колонки;

8) подготовка пробы. Дается детальное описание приготовления всех анализируемых и калибровочных растворов;

9) объем пробы;

10) требования к условиям регистрации хроматограмм. Указываются скорость диаграммной ленты и масштаб записи;

11) качественный анализ. Указываются коэффициенты емкости или относительные удерживаемые объемы компонентов;

12) методика расчета. Приводится формула расчета определяемых величин.

5.7. ПРЕПАРАТИВНАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ

В аналитической лаборатории препаративная хроматография чаще всего применяется для выделения образцов индивидуальных соединений с целью дальнейшего их исследования, установления структуры другими физико-химическими методами. Необходимое для этих целей количество вещества редко превышает 100 мг, а работы такого рода являются не систематическими, а эпизодическими. Поэтому препаративная хроматография подобных масштабов основана на тех же принципах, что и хроматография аналитическая.

При дальнейшем укрупнении масштабов разделения, переходе от препаративной хроматографии к производственной все большую роль начинают играть факторы, которые в аналитической практике не столь существенны: требования экономики, техники безопасности, охраны труда и окружающей среды. В этой ситуации традиционные решения, основанные на использовании проявительной ВЭЖХ, часто не выдерживают критики с точки зрения инженерно-технологической, потому разработка крупномасштабных хроматографических процессов является самостоятельной задачей. Рассмотрение ее выходит за рамки данной книги, здесь мы остановимся только на вопросах масштабирования ВЭЖХ от обычной аналитической до препаративной хроматографии производительностью 10—1000 мг в одном цикле разделения.

Пути увеличения производительности хроматографического процесса рассмотрим на примере гипотетического разделения

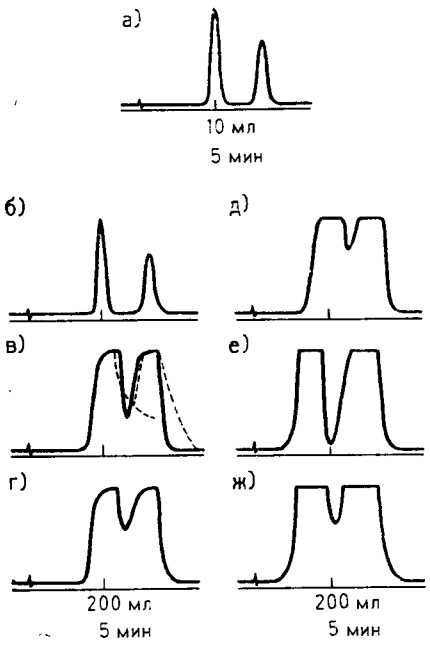


Рис. 5.20. Масштабирование разделения. Условия см. в табл. 5.6.

бинарной смеси X_1, X_2. Ее хроматограмма на аналитической колонке приведена на рис. 5.20,*а*, условия разделения — в табл. 5.6. Простейший прием масштабирования — воспроизведение аналитической методики на колонке большего диаметра, заполненной идентичным сорбентом. Этот прямолинейный подход не требует никаких дополнительных экспериментов. В настоящее время рядом фирм выпускаются препаративные ВЭЖХ-колонки с внутренним диаметром свыше 20 мм. Следовательно, воспроизведя процесс на такой колонке, можно увеличить массу разделяемой смеси примерно в 20 раз (рис. 5.20,*б*) и получить за один цикл по 0,4 мг очищенных веществ. Однако, если учесть объем растворителей и время, затраченное на разделение, станет ясно, что такой результат совершенно неудовлетворителен. Дальнейшего повышения производительности можно достичь следующим образом:

Таблица 5.6

Условия экспериментов по масштабированию ВЭЖХ-разделения

Хроматограмма на рис. 5.20	Размер колонки, мм	Подвижная фаза	Селективность	Объем пробы, мкл	Концентрация, мг/мл	Масса пробы, мг	Производительность, мг	
							за 1 мин	на 1 мл подвижной фазы
а	4,6×250	$АБ_1$	1,5	10	2	0,02	0,002	0,001
б	21,2×250	$АБ_1$	1,5	$2\cdot10^2$	2	0,4	0,04	0,001
в	21,2×250	$АБ_1$	1,5	$2\cdot10^2$	40	8	0,8	0,02
г	21,2×250	$АБ_2$	1,5	$2\cdot10^2$	100	20	2	0,05
д	21,2×250	$АБ_2$	1,5	$2\cdot10^3$	100	200	20	0,5
е	21,2×250	$АБ_3$	2,0	$2\cdot10^3$	100	200	20	0,5
ж	21,2×250	$АБ_3$	2,0	$2\cdot10^4$	100	2000	200	5,0

— увеличить концентрацию разделяемой смеси;
— увеличить объем вводимой пробы;
— применить подвижную фазу большей растворяющей способности;
— применить подвижную фазу большей селективности.

Увеличение концентрации разделяемой смеси при сохранении прежних условий хроматографирования приводит к нарушению линейности сигнала детектора и перегрузке сорбента. В данном случае линейность сигнала большого значения не имеет. Разумеется, при интерпретации препаративных хроматограмм этот эффект следует иметь в виду. На рис. 5.20,*в* представлена хроматограмма, детектирование которой осуществлялось за пределами линейной области. Минимальная высота впадины между пиками составляет около половины высоты пиков. Однако истинное качество разделения выше, чем это показывает хроматограмма в таком нелинейном режиме детектирования. Картина, подобная приведенной, не должна обескураживать оператора: получение чистых фракций даже в этом случае вполне вероятно. В приведенном примере пики хотя и имеют плоские вершины, но еще симметричны; следовательно, перегрузка касается пока только работы детектора. При дальнейшем увеличении концентрации образца возможна перегрузка сорбента, что приведет к образованию «хвостов» и снижению чистоты фракций (пунктирная линия на рис. 5.20,*в*). Перегрузку сорбента иногда удается уменьшить, взяв подвижную фазу лучшей растворяющей способности (рис. 5.20, *г*).

Далее, поскольку объем пиков на хроматограмме рис. 5.20,*г* и так уже велик, разделение ухудшится лишь незначительно, если увеличить объем вводимой пробы, например, до 2000 мкл (рис. 5.20,*д*).

Наконец, наиболее мощное средство повышения производительности — оптимизация селективности системы. Представим, что при сохранении прежней элюирующей силы удалось подобрать подвижную фазу с большей селективностью по отношению к разделяемой паре веществ. На хроматограмме (рис. 5.20,*е*) между зонами X_1 и X_2 появилось свободное пространство, которое позволяет еще в 10 раз увеличить объем разделяемой смеси при сохранении удовлетворительного разделения и чистоты фракций. Производительность процесса достигает вполне удовлетворительной величины как по отношению к затраченному времени, так и по отношению к количеству израсходованного растворителя (рис. 5.20,*ж*).

5.8. НЕПОЛАДКИ В ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИХ СИСТЕМАХ И ИХ УСТРАНЕНИЕ

Современный жидкостный хроматограф представляет собой сложный агрегат с химическими, электромеханическими и электронными подсистемами. Ни одна из этих подсистем не обладает бесконечной надежностью, поэтому каждый хроматографист периодически сталкивается с отказами и неполадками в работе отдельных узлов. В то же время опыт показывает, что лишь незначительная часть проблем бывает вызвана действительной неисправностью того или иного узла прибора. Чаще всего неполадки связаны с естественными процессами, происходящими при длительной работе прибора или колонки, а также с нарушениями допустимых режимов работы со стороны оператора. Поэтому, столкнувшись с какими-либо ненормальными явлениями при работе прибора, полезно руководствоваться следующими правилами:

— не впадать в панику, последовательно проверить правильность положения всех органов управления прибором;

— восстановить последовательность событий — какие действия оператора предшествовали появлению неполадки?

— воспроизвести какой-либо хорошо знакомый режим анализа или то разделение, на котором пускал в эксплуатацию прибор представитель завода-изготовителя;

— проанализировать логически связь узлов прибора и выявить узлы, которые не могут быть причиной наблюдаемых явлений;

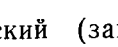
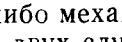
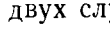
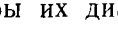
— последовательно переключая органы управления и соединения остальных узлов, наблюдать отклик прибора и логическим анализом установить, какой из узлов стал причиной неполадок;

— уяснить характер неполадки: химический (загрязнение любых элементов) или выход из строя каких-либо механических либо электронных деталей. Лишь в последних двух случаях обратиться за помощью к наладчикам.

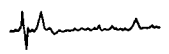
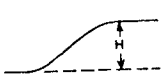
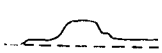
Наиболее характерные неполадки, способы их диагностики и устранения приведены в табл. 5.7.

Таблица 5.7

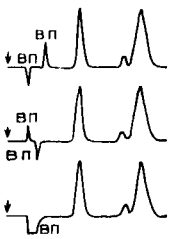
Некоторые распространенные неполадки в хроматографических системах и способы их устранения

Неполадка	Проявление на хроматограмме	Диагностика	Причина	Устранение
1	2	3	4	5
1. «Шум» базовой линии с периодичностью 10—60 с		На 1—3 с перекрыть выход из детектора. Шум исчезнет или его характер резко изменится	1.1 Выделение пузырьков газа в ячейке детектора	Тщательно дегазировать подвижную фазу. К выходу детектора можно подключить капилляр длиной 1 м, внутренним диаметром 0,1—0,25 мм
2. «Шум» базовой линии с частотой, совпадающей с частотой насоса		Расход подвижной фазы соответствует заданному Расход подвижной фазы меньше заданного	2.1. Пульсации давления и расхода подвижной фазы 2.2. Неисправность клапанов или уплотнений насоса, образование паровых и газовых пузырьков при всасывании	Использовать демпфер пульсаций Проверить проницаемость фильтра подвижной фазы, дегазацию. Промыть клапаны 30%-ным раствором азотной кислоты, заменить неисправные детали
3. «Шум» базовой линии с частотой 1—10 Гц		Замкнуть накоротко вход самописца. Шум не прекращается	3.1. Неправильная регулировка самописца	Отрегулировать усиление и демпфирование самописца
4. Непериодический шум базовой линии			4.1. Слишком высокая чувствительность детектора 4.2. Неправильное заземление прибора 4.3. Плохое соединение контактов	Установить более низкую чувствительность Заземлить Устранить

Продолжение таблицы 5.7

1	2	3	4	5
			4.4. Загрязнена ячейка детектора	Промыть ячейку спиртом, водой, 30%-ной азотной кислотой, водой, спиртом. Внимательно рассмотреть окошки ячейки, в случае необходимости заменить их
			4.5. Неисправна лампа	Заменить лампу
5. Непериодические всплески на базовой линии		Отсоединить колонку от детектора, детектор промыть подвижной фазой со скоростью 5—20 мл/мин. Если при повторном подключении колонки всплески возобновятся, то вероятен дефект фильтра на выходе из колонки либо расслоение несмешивающихся компонентов подвижной фазы	5.1. Взвешенные твердые частицы или капли растворителя в ячейке	Проверить совместимость компонентов подвижной фазы, целостность фильтра на выходе колонки
6. Дрейф базовой линии при изократическом режиме работы, без ввода проб		Остановить насос на 10—15 мин; — характер дрейфа не меняется;	6.1. Неисправность лампы, электроники схемы или подключения детектора	Проверить контакты, электронику, при необходимости заменить лампу
		— дрейф прекращается	6.2. Колонка не уравновешена подвижной фазой	Промыть колонку не менее чем 50 объемами подвижной фазы
			6.3. Элюируются прочно сорбированные компоненты ранее введенных проб	Промыть колонку не менее чем 50 объемами более сильного элюента
7. То же, при периодическом вводе проб		Периодичность дрейфа совпадает с периодичностью ввода проб	7.1. Элюируются прочно сорбированные компоненты из вводимых проб	Использовать подвижную фазу большей силы или градиентное элюирование. При невозможности — увеличить интервал времени между последовательными вводами проб
8. Дрейф базовой линии при пользовании рефрактометрическим детектором		Часто встречается, особенно после изменения состава подвижной фазы	8.1. Колебания температуры ячейки	Термостатировать ячейку
			8.2. Колебания состава подвижной фазы	Желательно промыть колонку и обе ячейки детектора подвижной фазой
9. Дрейф базовой линии при градиентном элюировании		— строго соответствует по периодичности градиенту и имеет постоянную амплитуду H	9.1. Оптическая плотность компонентов градиента А и Б различна	При возможности использовать растворители близкой оптической плотности
		— при последовательных циклах градиента амплитуда изменяется	9.2. Элюирование загрязнений, скопившихся в колонке	Длительно промывать колонку растворителем Б
10. Ложные пики при градиентном элюировании		Наблюдаются также при выполнении градиента без ввода пробы	10.1. Элюирование примесей в растворителе А, накопившихся на начале колонки	Использовать очищенный растворитель А
11. Ступенчатый характер записи хроматограммы, плоские вершины невысоких пиков, базовая линия не возвращается на исходный уровень			11.1 Неправильная регулировка чувствительности и демпфирования самописца	Отрегулировать самописец
12. Отрицательные пики		— все пики на хроматограмме	12.1. Неправильная полярность подключения детектора к самописцу	Переключить полярность

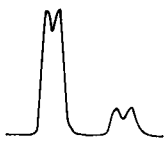
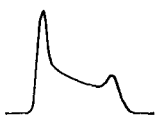
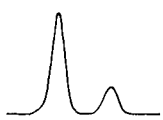
Продолжение таблицы 5.7

1	2	3	4	5
		— часть пиков на хроматограмме с УФ-детектором	12.2. Проба содержит компоненты, слабее поглощающие УФ-свет, чем подвижная фаза	Использовать для растворения пробы подвижную фазу. Использовать более чистую подвижную фазу
13. Вакансионные пики (ВП)		Времена удерживания соответствуют временам удерживания компонентов подвижной фазы, не зависят от типа сорбатов	13.1. Локальные изменения состава подвижной фазы в результате процессов сорбцин—десорбцни	При возможности использовать УФ-детектор, на котором этот эффект выражен слабее. При пользованин рефрактометрическим детектором стараться составлять элюенты из растворителей с блнзкнми коэффнцнентамн преломления
14. При работающем насосе отсутствует поток на выходе из детектора		Проверить правильность сборкн системы	14.1. Система неправильно собрана	Устраннть ошибку
		Проверить давленне: — выше нормы	14.2. Засорен дозатор или один из фильтров	Последовательным отсоединением элементов выявнть засореиный, заменить его нли промыть
			14.3. Дозатор находнтся в неправильном (промежуточном) положенин	Правильно переключнть дозатор
		— иормальное	14.4. Утечка в уплотненнях после колонкн нлн в детекторе	Устраинть утечку, подтянув уплотненння илн замеинв дефектные детали
		— инже нормы илн отсутствует	14.5. Наличие воздуха или загрязнений в клапанах насоса	Дегазировать подвижную фазу, промыть насос
			14.6. Нарушенне уплотнений насоса	Заменить нзношенные детали
15. Давленне в прнборе значительно выше обычного		Расход элюента на выходе из детектора нормальный	15.1. Засорение одного из фильтров	Последовательно отсоединняя детектор от колонки, колонку от дозатора, наблюдать за нзменениями давления. Заметное падение давления должно быть только на колонке. Выявить засоренный элемент, заменить его или прочистить
16. Продолжительное время после запуска иасоса нет стабилизацин давления в системе		Остановить насос, открыть дренажный кран, измернть скорость самопроизвольиого вытекания подвижной фазы. Отсоединить фильтр в резервуаре с подвижной фазой и снова нзмернть скорость	16.1. Большая разница измеренных скоростей потока указывает на засорение фнльтра подвнжной фазы	Прочнстнть или заменнть фнльтр
			16.2. Незначительная разница скоростей указывает на засоренне нли неисправность клапанов нли уплотнений насоса	См. п. 2.2
17. Давление в приборе ниже обычного		Расход элюента на выходе из колонки меньше обычного	17.1. Засорение или неисправность клапанов, утечка	Проверить все соединения, промыть клапаиы, подтянуть или заменить фнтинги

Продолжение таблицы 5.7

1	2	3	4	5
		Расход элюента на выходе из насоса нормальный при отсутствии колонки, после подключения колонки на ее выходе расход ниже нормы	17.2. Утечка из насоса, неисправность или засорение клапанов	Заменить пришедшие в негодность уплотнения, промыть клапаны 30%-ной азотной кислотой
18. Не удается установить базовую линию на заведомо исправном самописце		Перо самописца реагирует при кратковременной блокировке потока подвижной фазы из детектора	18.1. Пузырек воздуха в одной из ячеек детектора	Отсоединив колонку, промыть ячейку детектора подвижной фазой при расходе 5—20 мл/мин. Тщательно дегазировать элюент
		Наблюдается на любых подвижных фазах	18.2. Загрязнена ячейка детектора	Промыть ячейку
			18.3. Неисправна лампа	Заменить лампу
			18.4. Неисправна электроника детектора	Обратиться к специалисту-электроинку
			18.5. Чувствительность самописца не соответствует сигналу детектора	Заменить самописец подходящим
		Наблюдается на некоторых подвижных фазах	18.6. Применяемый растворитель не соответствует избранной длине волны УФ-детектора	Заменить подвижную фазу или изменить длину волны
			18.7. Непрозрачные для УФ-света примеси в подвижной фазе	Использовать растворители специальной очистки
		На короткое время соединить последовательно измерительную и сравнительную ячейки детектора. Самописец устанавливается на нуль	18.8. Неидентичность состава растворителей в измерительной и сравнительной ячейках детектора	Промыть сравнительную ячейку подвижной фазой
19. Пики асимметричны 		Снять хроматограмму хорошо изученной смеси в заведомо подходящих условиях. Если пики симметричны, колонка исправна	19.1. Если пики на контрольной хроматограмме несимметричны, колонка вышла из строя	Заменить колонку
		Форма пиков и эффективность лучше для позже выходящих пиков	19.2. Свободные объемы в системе недопустимо велики для колонки данного размера	Устранить избыточные свободные объемы либо использовать колонку большего объема
		Форма пиков улучшается при уменьшении расхода подвижной фазы	19.3. Недостаточная скорость массопередачи	Использовать другой сорбент, либо повысить температуру колонки, либо работать при малой скорости подвижной фазы
		Форма пиков улучшается при уменьшении концентрации пробы	19.4. Перегрузка колонки	Разбавить образец подвижной фазой
			19.5. Недостаточная растворимость компонента	Использовать подвижную фазу с лучшей растворяющей способностью
		Асимметрия увеличивается или остается постоянной при уменьшении концентрации или объема пробы	19.6. Неоднородность активных центров сорбента. Сорбция по нескольким механизмам	— заменить сорбент более подходящим или — изменить состав подвижной фазы. При хроматографии на силикагеле ввести в подвижную фазу до 1% уксусной кислоты (если сорбаты — кислоты) или амина (если сорбаты — основания). При обращенно-фазовой хроматографии подобрать подходящий состав буферного раствора. Хороший эффект дает переход к ион-парному режиму

Продолжение таблицы 5.7

1	2	3	4	5
20. Искаженная форма пиков заведомо индивидуальных веществ		Характерна для всех пиков хроматограммы, не зависит от природы сорбатов	20.1. Полость в верхней части колонки	Разобрав фитинг на входе колонки, шпателем выровнять поверхность сорбента, плотно заполнить полость свежей порцией сорбента, смоченного подвижной фазой
		Наблюдается в ион-парной хроматографии	20.2. Несоответствие концентрации ион-парного агента и концентрации сорбата	Уменьшить концентрацию пробы и(или) увеличить концентрацию ион-парного агента
		Эффект становится менее выраженным с увеличением расхода подвижной фазы	20.3. Химическое превращение в колонке	Использовать менее реакционноспособный сорбент и подвижную фазу
		Эффект не зависит от расхода подвижной фазы, повторная хроматография выделенных фракций снова дает сдвоенные пики	20.4. В колонке разделяются взаимопревращающиеся изомеры, таутомеры и т. п.	Попытаться изменить pH, состав подвижной фазы
21. Два пика при хроматографии заведомо индивидуального вещества		Соотношение площадей пиков изменяется с течением времени, при повторных вводах пробы	21.1 Химическая реакция в растворе образца	Попытаться устранить условия, способствующие реакции
22. При постоянных расходе и составе подвижной фазы давление в системе постепенно увеличивается		Ввод проб — усугубляет эффект	22.1. Механические примеси в пробах	Тщательно отфильтровать пробы
		— не влияет на эффект	22.2. Механические примеси в подвижной фазе	Тщательно отфильтровать подвижную фазу, установить проточный фильтр
23. Возрастание давления в системе при градиентном элюировании		Нормальное явление, если прирост давления отвечает изменению вязкости подвижной фазы	23.1. Если прирост давления не соответствует увеличению вязкости, можно предполагать выпадение осадков солей при смешении растворителей	Проверить совместимость растворителей, при необходимости изменить их состав
24. Пики широки, симметричны и имеют плоские вершины		При умеиьшении концентрации или объема пробы — картина нормализуется	24.1. Перегрузка детектора	Работать с меньшими по объему или более разбавленными пробами
		— высота пика уменьшается, но ширина остается прежней	24.2. Частичное разделение двух веществ	Увеличить эффективность колонки или селективность системы
25. Существенное уменьшение эффективности		Снять хроматограмму хорошо изученных соединений — эффективность нормальная	25.1 Не подходящая для данного объекта подвижная фаза или сорбент	Продолжить поиск подходящих условий разделения
		— эффективность низкая	25.2. Загрязиение сорбента	Промыть колонку согласно рекомендациям 5.3
			25.3. Полость в верхней части слоя сорбента	См. п. 20.1
26. Нерегулярные колебания коэффициентов емкости при формировании состава подвижной фазы с помощью двух насосов		Явление особенно выражеио при малых k', а также в тех случаях, когда скорость подачи растворителя Б очень мала	26.1. Колебания объемной подачи растворителя Б	При возможности подавать одним насосом заранее приготовленную смесь растворителей. При градиентном элюировании рекомендуется подавать насосом Б не чистый растворитель Б, а его подходящую смесь с А

Окончание таблицы 5.7

1	2	3	4	5
27. Постепенное изменение коэффициентов емкости при многократных разделениях		Выяснить, зависит ли эффект от количества введенных проб (их суммарной массы) или только от количества пропущенной подвижной фазы		
		— усиливается с увеличением массы введенных образцов	27.1. С образцом вводят компоненты, изменяющие активность сорбента (возможно, воду)	Избрать соответствующий способ подготовки образца
		— не зависит от массы введенных образцов	27.2. При работе изменяется состав подвижной фазы (например, в результате чрезмерно интенсивной продувки подвижной фазы)	Продувка подвижной фазы гелием в ходе работы должна быть минимальной
28. Резко изменившиеся по сравнению с обычными коэффициенты емкости			28.1. Ошибка в приготовлении подвижной фазы	Приготовить подвижную фазу заново
			28.2. В приборе установлена неправильная колонка	Заменить колонку

6. ВЭЖХ В КОНТРОЛЕ ПРОИЗВОДСТВА И ФАРМАКОПЕЙНОМ АНАЛИЗЕ

6.1. ХАРАКТЕРИСТИКА ВЭЖХ КАК МЕТОДА АНАЛИЗА

Приступая к использованию того или иного аналитического метода для решения конкретной задачи, необходимо уяснить, можно ли в принципе достичь избранным путем желаемой цели. В противном случае необоснованное применение метода может привести к принятию неверных решений в исследованиях и производстве. Результатом, помимо материальных и других потерь, явится компрометация аналитика либо даже метода в целом. Рассмотрим в связи с этим сильные и слабые стороны высокоэффективной жидкостной хроматографии. При их обсуждении будем исходить из ситуаций, характерных для различных этапов создания новых лекарственных средств, постадийного контроля производства, контроля качества продукции.

Почти все существующие методы анализа органических соединений непосредственно приложимы лишь к индивидуальным соединениям или простейшим смесям. Так, одновременное раздельное определение 2—3 соединений титриметрическими или спектрофотометрическими методами осуществимо лишь в редких случаях, когда свойства определяемых соединений в достаточной степени различаются. При разработке титриметрических и спектральных методик требуется немало труда, чтобы доказать специфичность метода, выявить условия и примеси, мешающие выполнению анализа. Хроматография, объединяющая в одном эксперименте разделение и анализ, почти лишена этих недостатков, и поэтому ее применение для анализа сложных смесей предпочтительно.

Немаловажным фактором при сравнительном анализе возможностей методов является их экспрессность. Если сравнивать продолжительность хроматографирования с продолжительностью других аналитических процедур, то можно прийти к выводу, что по экспрессности ВЭЖХ все еще уступает многим другим методам. И это действительно так, если анализу подлежит индивидуальное соединение и трудоемкостью подготовки пробы можно пренебречь. Однако, сравнивая возможности анализа сложных объектов, следует иметь в виду, что ВЭЖХ-метод

наименее требователен к качеству подготовки пробы, а его универсальность позволяет в одном эксперименте определять сразу ряд соединений. Затраты времени на разработку новых методик с помощью ВЭЖХ также сравнительно невелики, что особенно важно в условиях исследовательских лабораторий, где часто приходится переключаться с одного типа анализа на другой. В зависимости от сложности проблемы трудоемкость разработки методики и продолжительность определения различны. Для разработки простой методики квалифицированному специалисту может потребоваться всего один день, для разработки более сложных — неделя или даже месяц. Продолжительность одного анализа на хроматографе чаще всего находится в пределах 3—15 мин.

Обсуждая воспроизводимость ВЭЖХ-анализа, следует учитывать, что она фактически складывается из двух частей. Первая из них — воспроизводимость методики анализа — связана с теми факторами, которые, независимо от воли оператора, могут влиять на результат разделения и анализа. Основная проблема состоит в том, что все без исключения выпускаемые сорбенты недостаточно стандартизованы. Например, октадецилсиликагели, производимые различными фирмами, могут, по нашим наблюдениям, различаться по удерживающей способности в два раза и более. Даже разные партии одного и того же материала могут различаться на 10—30%. Хуже всего воспроизводимы абсолютные величины — времена удерживания и коэффициенты емкости. В то же время селективность разделения, относительное удерживание зависят от колебаний свойств сорбентов в меньшей степени. Это обстоятельство позволяет разрабатывать методики, воспроизводимые достаточно хорошо. Сказанное проиллюстрируем примером.

Предположим, что с помощью ВЭЖХ необходимо разработать методику испытания подлинности толуола. Это соединение с легкостью хроматографируется в обращенно-фазовом режиме. Однако, измерив коэффициенты емкости на пяти марках октадецилсиликагелей (табл. 6.1), мы обнаруживаем их существенные различия. Значит, в методике испытания нельзя указать в качестве сорбента октадецилсиликагель, а следует указывать конкретную марку. Это ограничение может поставить будущих исполнителей анализа в тупик хотя бы потому, что с течением времени некоторые марки сорбентов могут быть сняты с производства и заменены новыми. С другой стороны, обнаруживаем, что k' толуола, полученные на разных сорбентах, хорошо коррелированы с k' бензола и значения относительных удерживаемых объемов более устойчивы. Следовательно, испытание подлинности, сформулированное как «удерживаемый объем испытуемого образца относительно бензола на октадецилсиликагеле

Таблица 6.1

Сопоставление абсолютных и относительных величин удерживания

Сорбент	Коэффициент емкости		Относительное удерживание $\frac{\text{толуол}}{\text{бензол}}$
	бензола	толуола	
Силасорб SPH C18	4,48	7,53	1,68
Силасорб C18	2,31	3,36	1,57
Зорбакс ODS	3,50	5,64	1,61
Ультропак RP18	2,80	4,28	1,53
Ультрасфер ODS	3,63	5,88	1,62
Среднее значение	3,34±0,83 (24,9%)	5,39±1,52 (28,2%)	1,60±0,06 (3,5%)

равен 1,6±0,1», уже будет независимым от различий в свойствах октадецилсиликагелей разных марок.

Вторая составляющая воспроизводимости почти целиком определяется надежностью используемого оборудования и тщательностью выполнения всех операций при анализе. При исправном и высококачественном насосе, точном приготовлении подвижной фазы воспроизводимость времени удерживания на данной колонке составляет около ±3%. Воспроизводимость высот и площадей пиков (часто определяющая точность количественного анализа) сильно зависит от качества используемого дозатора и навыков аналитика. При последовательном вводе одинаковых по объему проб разброс высот (площадей) пиков относительно среднего может быть около ±2%.

Точность ВЭЖХ-анализа определяется качеством используемых для калибровки эталонных соединений, точностью подготовки пробы, правильным выбором способа количественной обработки, воспроизводимостью режима и результата хроматографирования. Корректный количественный анализ возможен только при наличии эталона определяемого вещества. Это, конечно, является ограничением метода ВЭЖХ, как, впрочем, и других физико-химических методов анализа. Потребители услуг хроматографистов-аналитиков часто задают вопрос: «Какова точность хроматографического анализа?» По нашему убеждению, на вопрос, поставленный таким образом, вообще нельзя дать ответа. Речь может идти только о точности той или иной хроматографической методики применительно к конкретным определяемым соединениям. Всегда необходимо помнить, что любая методика основана на каких-то предположениях. В ходе ее разработки допустимость этих предположений должна быть обоснована. Однако, даже если это сделано добросовестно, при

эксплуатации могут проявиться какие-то новые моменты, требующие корректив. Например, первоначально при разработке методики анализа реакционной смеси было показано, что пики на хроматограмме гомогенны, значит, избранный режим пригоден для количественного анализа. Но, вообще говоря, не исключено, что в результате изменения условий реакции в смеси появится новый компонент, пик которого не отделяется от ранее известных. Хотя такие случаи очень редки, особенно при работе на высокоэффективных колонках, тем не менее с подобного рода источниками ошибок нельзя не считаться. Поэтому при оценке результатов работы хроматографист должен избегать шаблона, постоянно сохранять внимательное и критическое отношение к ним. Впрочем, сказанное касается любого химика-аналитика.

При оценке возможности применения следует сопоставлять точность предлагаемой методики с точностью, требуемой конкретным испытанием. Так, например, максимальные требования к точности предъявляются при количественном определении основного соединения в лекарственном веществе. Здесь погрешность в 2% редко можно признать удовлетворительной. Наоборот, при определении примесей обычно достаточна лишь полуколичественная оценка, и относительная погрешность в 10% вполне допустима. Погрешность менее $\pm 3\%$ труднодостижима при современном уровне жидкостной хроматографии, поэтому данный метод нельзя рекомендовать для определения основного соединения в лекарственном веществе. С другой стороны, достичь точности, требуемой при анализе примесей, обычно нетрудно. В особо сложных случаях (например, при анализе микроколичеств в биообъектах) погрешность может достигать 20% и более. Однако в исследованиях такого рода с повышенной погрешностью можно мириться, к тому же для столь сложных смесей ВЭЖХ часто оказывается единственным специфическим методом.

Чувствительность ВЭЖХ определяется типом используемого детектора и химическим строением анализируемых веществ. Для соединений, в молекулах которых хромофоры отсутствуют, она часто оказывается недостаточной, и примеси такого рода нелегко зарегистрировать. К счастью, большинство лекарственных веществ и полупродуктов содержит хромофоры, и по отношению к таким соединениям чувствительность на 1—2 порядка превышает чувствительность спектрофотометрического анализа. Это обстоятельство может быть решающим при выборе метода анализа лекарственных форм высокоактивных препаратов, где содержание действующего вещества мало.

Таким образом, наряду со многими преимуществами высокоэффективной жидкостной хроматографии присущ ряд ограничений. Поэтому ее нельзя рассматривать как панацею при решении всех аналитических проблем в химии и промышленности лекарственных средств. Существует много задач, которые не хуже, а иногда даже лучше могут быть решены классическими либо другими физико-химическими методами. В табл. 6.2 даны рекомендации по использованию ВЭЖХ при решении типовых задач. Разумеется, эти рекомендации носят лишь самый

Таблица 6.2

Классификация типов анализов и рекомендации по применению ВЭЖХ

Тип анализа	Рекомендации по применению ВЭЖХ*	Примечания
Определение целевого продукта в реакционных смесях	+ −	
Определение целевого и побочных продуктов в реакционных смесях	+ +	
Количественное определение основного соединения в технических продуктах и полупродуктах	+ −	При содержании основного соединения до 95%
Количественное определение основного соединения в лекарственном веществе	—	При содержании основного соединения выше 95% точность ВЭЖХ может быть недостаточной для разбраковки продукции
Определение примесей в лекарственных веществах	+ +	
Определение подлинности лекарственных веществ	+ −	
Определение подлинности лекарственных форм	+ +	
Определение примесей в лекарственных формах	+ +	
Количественное определение в лекарственных формах	+,−	Преимущества особо выявляются при анализе сложных форм или форм с малым содержанием лекарственных веществ
Испытание однородности дозирования	+ −	
Испытание растворения	+ −	Применение особенно эффективно для форм с малым содержанием лекарственных веществ
Определение лекарственных веществ в биообъектах	+ +	

* «—» применение не рекомендуется.
«+ −» может применяться наряду с другими методами.
«+ +» обладает существенными преимуществами перед другими методами.

общий, обзорный характер. В каждом конкретном случае, исходя из свойств веществ и стоящих задач, аналитик должен выбрать оптимальный метод.

6.2. ПРИНЦИПЫ КАЧЕСТВЕННОГО АНАЛИЗА

6.2.1. АНАЛИЗ ПО ВЕЛИЧИНАМ УДЕРЖИВАНИЯ

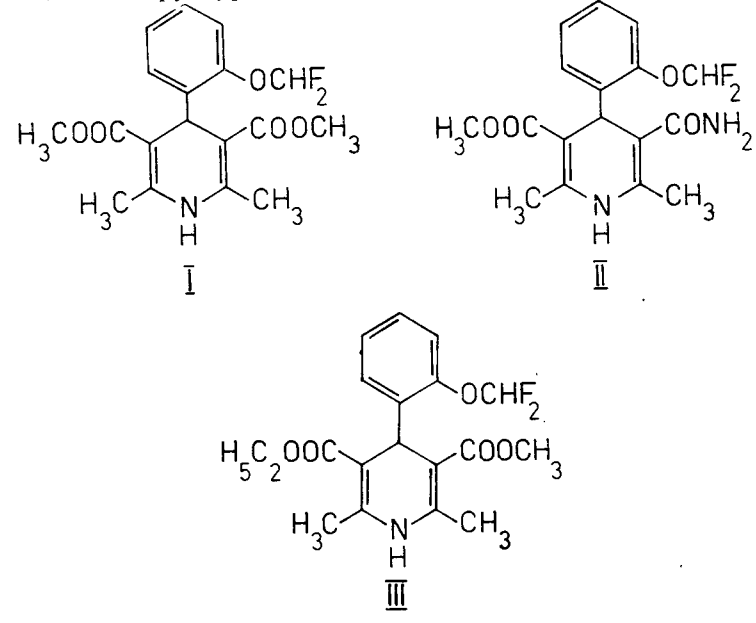
Этот вид анализа основан на том, что при постоянных условиях хроматографирования время удерживания данного вещества, а также все производные от него параметры являются постоянными величинами. В зависимости от наличия эталонных веществ, табличных значений параметров удерживания или детальных сведений о закономерностях поведения данного класса соединений можно избрать один из трех способов анализа.

Прямое сравнение величин удерживания осуществимо в том случае, когда в распоряжении исследователя имеется набор эталонов соединений, присутствие которых предполагается в данной смеси. В хроматограф вводят изучаемую смесь и затем последовательно все необходимые эталоны, измеряют времена удерживания. Различие времени удерживания эталона и идентифицируемого пика однозначно свидетельствует о неидентичности двух соединений, а совпадение указывает на то, что идентичность двух веществ вполне вероятна. Для того чтобы с большей надежностью убедиться в совпадении времен удерживания, эталон можно ввести в хроматограф вместе с изучаемой смесью. Количества идентифицируемого вещества и эталона при этом должны быть приблизительно равны. Если времена удерживания веществ действительно одинаковы, относительная высота идентифицируемого пика возрастет вдвое, а ширина (если колонка не перегружена образцом!) не изменится. Увеличение высоты пика менее чем в два раза и возрастание ширины свидетельствуют о неидентичности двух соединений. С помощью такого приема удается уловить незначительные различия в величинах удерживания.

Предположим, что на колонке эффективностью 5000 теоретических тарелок время удерживания эталона 10 мин, а неизвестного пика — 10,2 мин. При обычной технике эксперимента такое различие недостоверно. Введя два вещества в колонку одновременно, получим суммарный пик. Если приведенное незначительное различие в удерживании действительно имеет место, ширина этого пика будет примерно на 60% больше ширины индивидуального. Такое увеличение ширины легко заметить визуально или с помощью простейших измерений. Тем самым различие двух соединений становится совершенно очевидным.

Совпадение времен удерживания, строго говоря, не является доказательством идентичности веществ, а лишь указывает на ее вероятность. Степень вероятности можно значительно повысить, если повторить всю процедуру в иных условиях, лучше всего в системе с другим механизмом удерживания.

Если набор эталонных соединений отсутствует, можно попытаться провести идентификацию по *табличным значениям величин удерживания.* Межлабораторная воспроизводимость абсолютных величин (t_R, k') пока неудовлетворительна. Поэтому множество опубликованных в такой форме данных почти бесполезно при качественном анализе. Иногда на основе опубликованных величин k' можно рассчитать параметры α со значительно большей надежностью. Однако в этом случае близость табличных и наблюдаемых величин — весьма шаткое доказательство. Тем не менее такой способ идентификации вполне применим по отношению к тем объектам, состав которых хорошо изучен. Лекарственные вещества, а также примеси в них можно отнести именно к такой категории. При воспроизведении методик анализа в этом случае фактически необходимо провести не идентификацию ранее неизвестных веществ, а лишь «привязать» измеренные величины удерживания к опубликованным величинам удерживания и структурам соединений. Например, детальное исследование примесей в форидоне (I) на Зорбаксе ODS показало, что пику с $\alpha=0{,}19$ соответствует структура II, а пику с $\alpha=1{,}51$ — структура III (рис. 6.1):



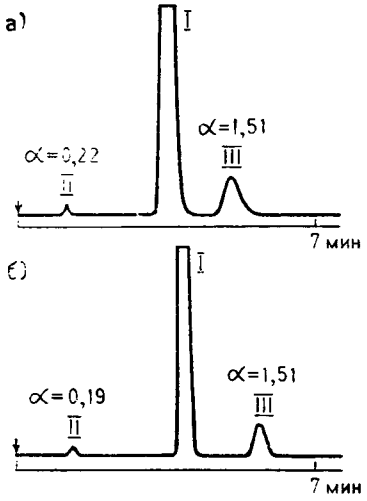


Рис. 6.1. Хроматограммы технического форидоиа. Условня анализа: колонка Зорбакс ODS (*б*), Силасорб С18 (*а*). Подвижная фаза — ацетонитрил—вода (1:1).

В дальнейшем, при замене Зорбакса ODS Силасорбом С18 в качестве материала для серийных анализов, были обнаружены примеси с $\alpha=0{,}22$ и 1,51. Разумеется, в такой ситуации близость величин α к ранее наблюдавшимся можно считать достаточным доказательством при качественном анализе.

При достаточном опыте хроматографии и наличии обширных экспериментальных данных по удерживанию соединений рассматриваемого класса можно использовать так называемую *безэталонную идентификацию.* Она основана на применении моделей удерживания, подробно рассмотренных в предыдущих разделах (4.1—4.4). Надежность таких моделей, однако, ограничена, и выводы, сделанные на их основании, лишь приблизительны. Все же во многих случаях они весьма полезны на предварительных стадиях исследования как средство отбраковки гипотез, совершенно не согласующихся с закономерностями хроматографического поведения.

Таким образом, приемы хроматографического качественного анализа по величинам удерживания можно использовать далеко не всегда, особенно на стадии исследования новых соединений.

6.2.2. КАЧЕСТВЕННЫЙ АНАЛИЗ ПО СПЕКТРАЛЬНЫМ ХАРАКТЕРИСТИКАМ

Спектральные методы — УФ-, ИК-, ЯМР- и масс-спектроскопия в настоящее время составляют основной арсенал средств изучения структуры органических соединений. Как правило, для их применения требуются довольно чистые образцы, которые

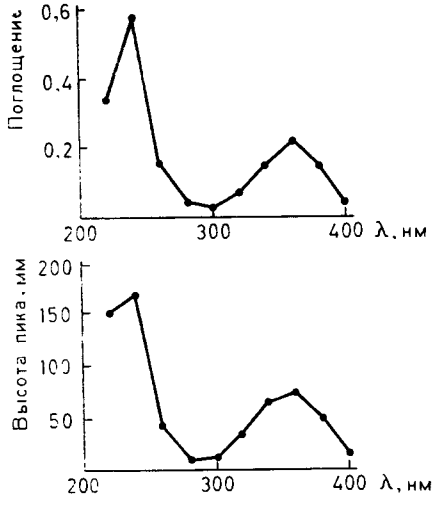


Рис. 6.2. Сопоставление УФ-спектров форидоиа, полученных на спектрофотометре СФ-26 (*а*) и спектрофотометрическом детекторе фирмы «Дюпои» (*б*).

можно приготовить с помощью ВЭЖХ. Если идентифицируемое соединение присутствует в изучаемой смеси в концентрации 5% и выше, необходимое количество очищенных веществ можно получить на обычной аналитической или полупрепаративной колонке. При этом не требуется специальный препаративный хроматограф. Проблема выделения примесей, естественно, значительно сложнее, и в этом случае необходимо предварительное их концентрирование одним из доступных методов. Весьма полезной может оказаться информация, получаемая непосредственно при хроматографировании и детектировании поглощенного света в УФ- и видимой областях. Удобнее всего для этого пользоваться спектрофотометрами с диодной линейкой, позволяющими снять за один цикл разделения также спектры всех пиков. Однако эти приборы дороги и пока широко не распространены. Некоторые конструкции хроматографов предусматривают возможность остановки потока в момент выхода пика и непосредственной регистрации спектра с помощью детектора. При несколько больших затратах труда и времени почти такую же информацию можно получить с помощью обычного спектрофотометрического детектора.

На рис. 6.2 представлен УФ-спектр форидона, сопоставленный с относительной высотой пика этого препарата, при его детектировании на разных длинах волн. Эта зависимость также по существу является УФ-спектром. Для его получения в представленной форме необходимо было снять хроматограмму 10 раз, что потребовало около 2 ч. По нашему мнению, это не столь уж высокая цена за приведенный УФ-спектр. Далее,

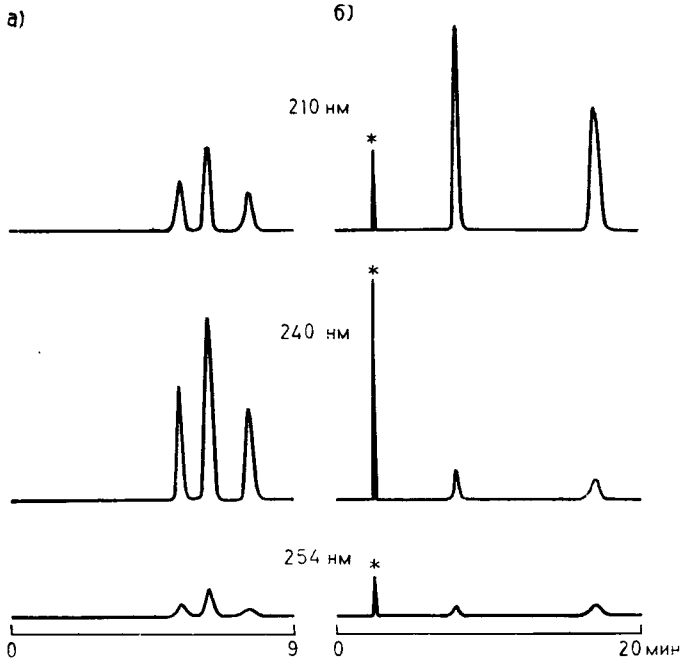
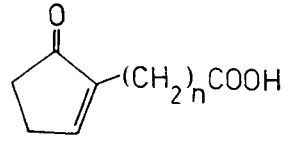
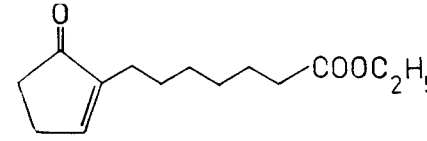


Рис. 6.3. Хроматограммы смесей простаноидов. Детектирование равных количеств образцов *а* и *б* при различных длинах волн.

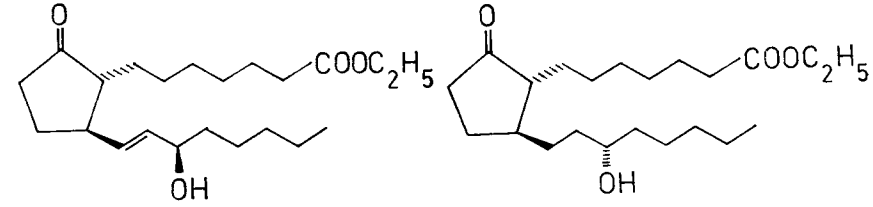
сопоставление хроматограмм смесей, снятых при различных длинах волн, позволяет судить о степени сходства строения изучаемых соединений. На рис. 6.3,*а* представлен ряд хроматограмм реакционной смеси. По мере увеличения длины волны детектирования высóты всех пиков изменяются симбатно и максимум поглощения наблюдается при 240 нм. Следовательно, система хромофоров и ауксохромов всех компонентов этой смеси одинакова. Дальнейшее исследование показало, что все они содержат общий структурный фрагмент



Наблюдаемый спектр отвечает циклопентеноновой системе. В другом случае (рис. 6.3,*б*) обнаружено, что высоты пиков изменяются в различной степени, поэтому логично предположить разный характер ауксохромов и хромофоров. Действительно, с помощью других спектральных методов удалось показать, что пику, обозначенному звездочкой, отвечает структура



в то время как остальным двум соединениям — структуры



Согласно приведенным примерам, уже простейшие испытания непосредственно в хроматографе могут дать некоторое представление о качественном составе смеси и служить отправной точкой при более детальном изучении строения.

6.3. ПРИНЦИПЫ КОЛИЧЕСТВЕННОГО АНАЛИЗА

Все приемы количественного анализа основаны на том, что сигнал детектора (т. е. высота либо площадь пика S) связан определенной функциональной зависимостью с массой вещества m, прошедшей через ячейку детектора:

$$S=f(m). \qquad (6.1)$$

Параметры этой функции априори неизвестны ни для одного детектора и анализируемого вещества, поэтому, как правило, первым этапом количественного анализа служит калибровка, т. е. установление вида и параметров уравнения (6.1), отвечающих данному сорбату, условиям анализа, детектору и способу количественной обработки хроматограммы. Обычно конструкции детекторов и условия анализа подбираются таким образом, чтобы в максимально возможном диапазоне соблюдалась простейшая линейная зависимость

$$S=km, \qquad (6.2)$$

где k — калибровочный коэффициент.

Зависимость (6.2) выполняется в ВЭЖХ очень часто, особенно если в колонку введено не слишком большое количество вещества, т. е. отсутствует перегрузка сорбента и детектора.

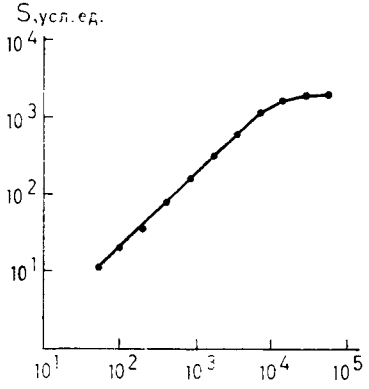


Рис. 6.4. Калибровочный график. Сорбат — форидон; условия анализа см. на рис. 6.1.

Перегрузка УФ-детектора может стать заметной при оптической плотности элюата в максимуме пика более 0,5. Последовательное увеличение концентрации образца в этом случае не будет вызывать пропорционального увеличения сигнала, и калибровочный график, изображающий зависимость (6.2), приобретает заметную кривизну (рис. 6.4). Предельный размер пробы с этой точки зрения определяется коэффициентом экстинкции сорбата.

Перегрузка сорбента связана с переходом процесса на первых теоретических тарелках в область нелинейности изотермы сорбции. Ее можно наблюдать (для колонок с внутренним диаметром около 4 мм) при массе образца 20—100 мкг и выше, в зависимости от типа сорбента и состава подвижной фазы. Обнаруживается такое явление легко: при перегрузке сорбента ширина пика увеличивается и (или) форма его ухудшается по сравнению с той, которая характерна для малых доз образца. Если обстоятельства все же вынуждают работать в области перегрузки сорбента, для количественной оценки допустимо применять площадь пика, но ни в коем случае не его высоту.

При отсутствии указанных осложнений выбор способа измерения пиков (т. е. в виде площадей или высот) диктуется требованиями конкретной методики анализа и наличием средств автоматизации. Все интеграторы позволяют измерять площади пиков, а некоторые модели по желанию оператора могут использоваться и для измерения высот. При работе с интегратором необходимо строго следить, правильно ли выбраны условия интегрирования, параметры, по которым это устройство отфильтровывает шумы и малые пики, обнаруживает начало и конец пика, устанавливает положение базовой линии. Выбор параметров интегрирования требует от оператора определенных навыков и времени. Вероятно, по этой причине интеграторы так и не

вытеснили полностью самописцы и ручную обработку хроматограмм.

Устойчивость работы современных хроматографов, высокое качество колонок позволяют утверждать, что во многих случаях измерение высот пиков приводит к более точным результатам, чем измерение площадей. Это связано с тем, что исключается погрешность определения ширины пиков прн ручной обработке и погрешность определения начала и конца пика — при автоматизированной.

В инструментальной хроматографии используют три основных метода количественной обработки хроматограмм. Хотя они достаточно подробно описаны в хроматографической литературе, тем не менее считаем целесообразным остановиться на некоторых аспектах, определяющих применимость и выбор того или иного варианта для высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Метод нормализации площадей — самый простой и наглядный, первый способ ориентировочной оценки хроматограмм. Он основан на допущении, что все компоненты пробы в данном режиме хроматографирования выходят из колонки и регистрируются детектором. Основное уравнение метода, следовательно, может быть записано так:

$$\Sigma S_i k_i = 100\%. \tag{6.3}$$

Содержание i-го компонента в процентах можно рассчитать по формуле

$$X_i = \frac{S_i k_i}{\Sigma S_i k_i} \cdot 100. \tag{6.4}$$

Часто калибровочные коэффициенты k_i неизвестны, тогда пользуются еще более простой формулой

$$X_i = \frac{S_i}{\Sigma S_i} \cdot 100. \tag{6.5}$$

В аналитической практике условия, при которых метод нормализации применим, почти никогда не соблюдаются, и поэтому к получаемым таким образом результатам следует относиться с большой осторожностью. В то же время нередко складывается ситуация, в которой именно этот метод единственно приемлем. Воспроизводимость результатов, полученных методом нормализации, как правило, неплохая, поэтому он может быть использован тогда, когда необходимо в первую очередь сравнение ряда образцов, а правильность численных результатов не играет первостепенной роли. Подобного рода задачи иногда возникают при оптимизации тех или иных процессов, когда нече-

лесообразно проводить идентификацию всех примесей в изучаемых смесях и нарабатывать эталонные вещества для калибровки. В таких случаях применение метода нормализации вполне оправдано, позволяет достичь цели, поставленной перед данным анализом.

Метод абсолютной калибровки основан на использовании уравнения (6.1) или (6.2). Для его реализации необходим эталон определяемого вещества. Приготавливают растворы эталона различных концентраций, выбранных таким образом, чтобы они охватывали ожидаемый диапазон концентраций определяемого соединения. Снимают хроматограммы и строят график, подобный приведенному на рис. 6.4. Затем измеряют пик определяемого вещества и находят его концентрацию с помощью полученного графика. Разумеется, график может быть заменен соответствующим уравнением, параметры которого нетрудно найти известным способом. Этот метод требует строгой воспроизводимости объема образца, дозируемого в колонку. Если хроматограф снабжен качественным дозатором, относительная погрешность результата обычно не превышает 2—3%. Чаще всего, при работе в среднем диапазоне масс определяемых соединений (0,1—10 мкг), явления необратимой сорбции или нелинейности детектора не осложняют работу, калибровочный график представляет собой прямую, проходящую через начало координат. Тогда допустимо снизить трудоемкость анализа, используя всего один калибровочный раствор, по концентрации определяемого вещества не слишком отличающийся от испытуемого. Для достижения максимальной точности калибровку необходимо проверять не реже, чем через каждые 4—5 ч работы.

Метод внутреннего стандарта позволяет исключить погрешность ввода пробы и некоторые другие ошибки, связанные с подготовкой образца. При работе по этому методу необходимо выбрать постороннее соединение (внутренний стандарт), отсутствующее в анализируемой смеси и хорошо отделяющееся от всех пиков. Из этого соединения и определяемого вещества готовят серию искусственных калибровочных смесей. Концентрация определяемого вещества в таких смесях должна примерно соответствовать концентрации его в анализируемых смесях. В избранном для анализа режиме хроматографируют калибровочные смеси и измеряют площади пиков S_x (определяемый компонент) и $S_{ст}$ (внутренний стандарт).

По формуле

$$k_x = \frac{m_x S_{ст}}{S_x m_{ст}}, \qquad (6.6)$$

где m_x и $m_{ст}$ — навески определяемого вещества и стандарта, находят калибровочный коэффициент k_x. В идеальном случае

он не должен зависеть от отношения $m_x/m_{ст}$, и тогда значения, найденные для разных смесей, можно усреднить. В противном случае строят график в координатах $m_x/m_{ст}$ — $S_x/S_{ст}$. Затем взвешивают анализируемый образец и на весах добавляют к нему внутренний стандарт. После соответствующего разбавления подвижной фазой получают хроматограмму, измеряют величины S_x и $S_{ст}$ и находят содержание определяемого вещества во взятой навеске:

$$m_x = \frac{k_x S_x m_{ст}}{S_{ст}}. \qquad (6.7)$$

Для достижения максимальной точности процедуру калибровки рекомендуется повторять по возможности чаще.

Из приведенных методов количественной интерпретации метод нормализации площадей наименее трудоемок, а метод внутреннего стандарта — наиболее. Обычно принято считать, что последний обеспечивает также наивысшую точность, достижимую в хроматографии. Такое мнение сформировалось в основном на опыте газовой хроматографии, так как метод внутреннего стандарта позволял компенсировать весьма значительную в ГЖХ погрешность объема вводимой пробы. Мы, однако, считаем, что в ВЭЖХ применение метода внутреннего стандарта оправдано лишь в одном случае — когда необходимо компенсировать погрешности, связанные с подготовкой пробы. Эти погрешности действительно велики при работе с биологическим материалом; при работе с реакционными смесями, полупродуктами, лекарственными веществами и формами они незначительны, поскольку образец не требует специальной подготовки и имеется в достаточном количестве. Для сравнительной оценки двух методов применительно к современным характеристикам ВЭЖХ можно использовать известные приемы суммирования парциальных погрешностей.

Для простоты примем, что количества определяемого вещества в анализируемом и калибровочном растворах близки и графики калибровки обоими методами проходят через начало координат. Тогда допустимо проводить калибровку по одному составу.

Методика анализа с помощью абсолютной калибровки включает измерения:

— массы эталона (P_K);

— массы анализируемого образца (P_A);

— объемов растворов при разбавлении эталона и анализируемого образца подвижной фазой (V_{PK}, V_{PA});

— объема проб эталона и анализируемого образца, вводимых в хроматограф (V_K, V_A);

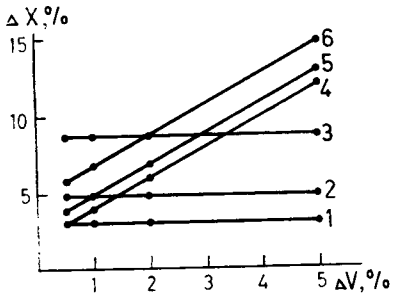


Рис. 6.5. Зависимость погрешности анализа ΔX от погрешностей определения объема вводимой пробы ΔV и площади пика ΔS. *1—3* — метод внутреннего стандарта, $\Delta S = 1, 2, 3\%$ соответственно; *4—6* — метод абсолютной калибровки, $\Delta S = 1, 2, 3\%$ соответственно.

— площадей пиков определяемого вещества на хроматограммах калибровочной и анализируемой смесей (S_K, S_A).

Формула расчета содержания вещества X в процентах в пробе при этом приобретает вид

$$X = \frac{S_A P_K V_K V_{PA}}{S_K P_A V_A V_{PK}} \cdot 100. \qquad (6.8)$$

При анализе методом внутреннего стандарта выполняются измерения:

— навески определяемого вещества и внутреннего стандарта в калибровочной смеси (P_{XK} и $P_{стK}$);

— навески исследуемого образца и внутреннего стандарта в анализируемой смеси (P_{XA}, $P_{стA}$);

— площадей пиков определяемого вещества и внутреннего стандарта в калибровочной смеси (S_{XK} и $S_{стK}$);

— площадей пиков определяемого вещества и внутреннего стандарта в анализируемой смеси (S_{XA} и $S_{стA}$).

Разумеется, разбавление навесок и отмеривание дозируемого объема пробы производятся и здесь, однако эти величины в расчетах не учитываются. Расчетная формула имеет вид

$$X = \frac{P_{XK} \cdot P_{стA} \cdot S_{стK} \cdot S_{XA}}{P_{стK} \cdot P_{XA} \cdot S_{XK} \cdot S_{стA}} \cdot 100. \qquad (6.9)$$

При величине навески 50 мг и пользовании обычными аналитическими весами относительная погрешность взвешивания составляет 0,2%. Погрешность измерения V_{PA} и V_{PK} также можно принять равной 0,2%. Следовательно, сравнительная точность двух методов будет определяться точностью измерения объемов вводимых проб и площадей пиков. С помощью правил суммирования ошибок для некоторых характерных величин относительных погрешностей V и S получены данные, представленные на рис. 6.5. Видно, что применение метода внутреннего стандарта предпочтительно только при очень высокой, труднодостижимой точности измерения площадей пиков либо при значительной погрешности объема вводимой пробы.

6.4. АНАЛИЗ РЕАКЦИОННЫХ СМЕСЕЙ

Типичные реакционные смеси тонкого органического синтеза содержат значительные количества целевого продукта (20—90%) и, кроме того, некоторое число побочных продуктов или балластных соединений. Анализ такого рода смесей выполняется в двух случаях: 1) при синтетических исследованиях, отработке технологии; 2) в ходе производства с целью постадийного контроля.

Как правило, особенно при контроле производства, задача анализа сводится к отделению целевого продукта от других компонентов смеси и его количественному определению. Элюи-

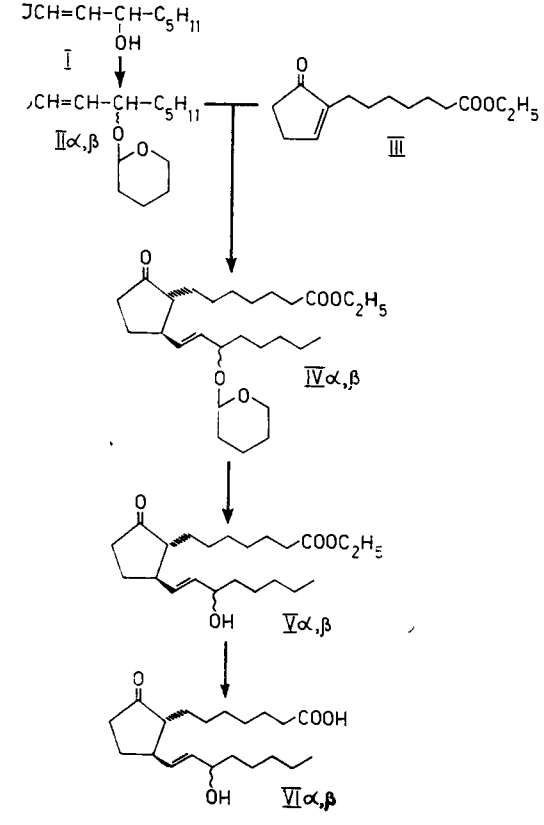


Рис. 6.6. Химическая схема получения 11-дезоксипростагландина $E_{1\alpha}$ (VIα).

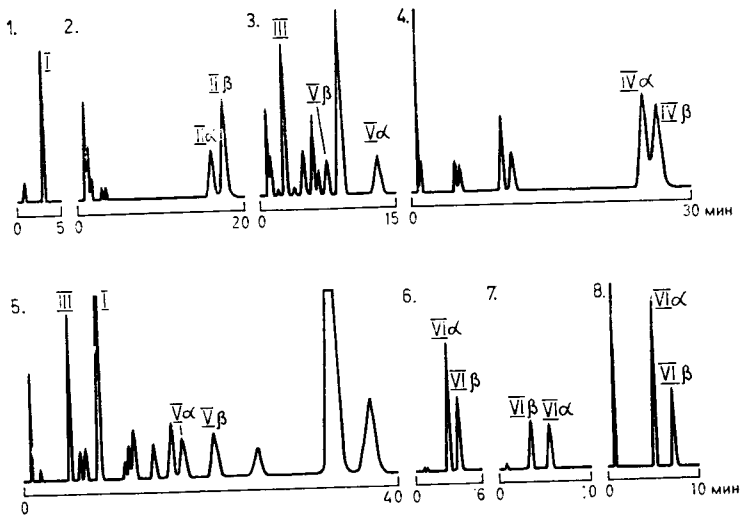


Рис. 6.7. Хроматограммы постадийного контроля синтеза 11-дезоксипростагландина $E_{1\alpha}$ и его лекарственных форм. Обозначения пиков соответствуют схеме на рис. 6.6.

Таблица 6.3

Условия ВЭЖХ при постадийном контроле синтеза 11-дезоксипростагландина $E_{1\alpha}$

Определяемые вещества	Сорбент	Подвижная фаза	Детектор	Номер хроматограмм на рис. 6.7
I	Микропак CN-10	Пропанол-2:гексан (0,8:99,2)	УФ, λ=210 нм	1
II	Зорбакс ODS	Ацетоинитрил:вода (75:25)	УФ, λ=210 нм	2
III, $V_{\alpha,\beta}$	Силасорб 600	Пропанол-2:гексан (5:95)	УФ, λ=210 нм Рефрактометр	3
$IV_{\alpha,\beta}$	Зорбакс ODS	Ацетоинитрил:вода (80:20)	УФ, λ=210 нм	4
III, $V_{\alpha,\beta}$	То же	Ацетоинитрил:вода (55:45)	УФ, λ=210 нм	5
$VI_{\alpha,\beta}$	»	Ацетонитрил: вода:*о*-фосфориая кислота (55:44,5: 0,5)	УФ, λ=210 им	6
$VI_{\alpha,\beta}$ бромфенациловые эфиры	Силасорб 600	Пропанол-2:гексаи (7:93)	УФ, λ=254 им	7
	Зорбакс ODS	Ацетоинитрил:вода (75:25)	УФ, λ=254 им	8

рование из колонки всех компонентов смеси и разделение побочных продуктов требуются не всегда. Эталон целевого продукта для калибровки обычно доступен. Следовательно, имеется возможность применения метода абсолютной калибровки. Результаты анализа предназначены для использования внутри данного научного учреждения или промышленного предприятия, поэтому форма изложения методики и выдачи результатов анализа может быть произвольной.

Метод ВЭЖХ широко использован нами при отработке схемы полного синтеза и технологии получения 11-дезоксипростагландина $E_{1\alpha}$. Химическая схема получения этого лекарственного вещества представлена на рис. 6.6, а хроматограммы постадийного контроля — на рис. 6.7. Условия анализов обобщены в табл. 6.3.

6.5. АНАЛИЗ ТЕХНИЧЕСКИХ ПРОДУКТОВ

Под техническими продуктами будем понимать вещества с чистотой более 90% либо простые смеси родственных соединений, по своему составу пригодные для непосредственной дальнейшей переработки. Анализ таких продуктов выполняют с целью отработки способов очистки, а также при постадийном контроле производства. Задача может ставиться как определение содержания целевого продукта, либо суммарного содержания примесей, либо соотношения компонентов. При определении содержания целевого продукта можно использовать те же приемы, что при анализе реакционных смесей. Следует, однако, учитывать, что по мере приближения содержания основного вещества к 100% требования, предъявляемые к точности анализа, возрастают; поэтому метод абсолютной калибровки не может быть рекомендован для определения содержания основного вещества в чистых продуктах.

При анализе технических продуктов можно определять не основное вещество, а примеси. Если число последних невелико (например, одна или две) и эталоны доступны, можно рекомендовать метод абсолютной калибровки. Если эталонных образцов всех примесей нет, допустимо применение метода нормализации площадей. Аналитик при этом должен полностью осознавать ограничения данного метода применительно к конкретному объекту. Разумеется, химик или технолог, для которого анализ предназначен, также должен быть проинформирован о реальной надежности получаемой информации. Хотя метод нормализации и не может быть рекомендован как общий прием, иногда характер анализируемого объекта позволяет получить вполне надежные результаты.

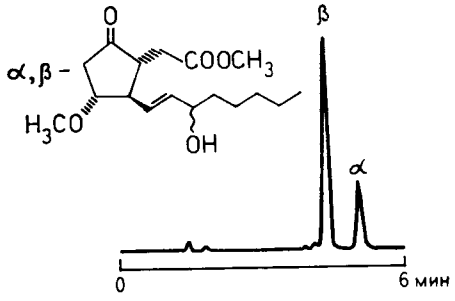


Рис. 6.8. Определение изомерного состава продукта. Колонка 4,6×250 мм. Сорбеит — Зорбакс SIL. Подвижиая фаза — пропанол-2—диоксан—гексан (8:5:87). Детектор — рефрактометр.

В качестве примера можно привести анализ изомерного состава одного из полупродуктов синтеза простагландина $F_{2\alpha}$ (рис. 6.8). Этот полупродукт очищен от всех химически чужеродных примесей и представляет собой смесь изомеров. Поэтому, когда режим хроматографирования найден, есть гарантия, что все компоненты смеси появятся на хроматограмме в виде пиков. Кроме того, их структурная близость позволяет предположить равную чувствительиость детектора. Значит, есть основания использовать простейшую форму метода нормализации площадей (уравнение (6.5)).

Для безэталонной количественной оценки примесей может быть использован также ««метод условной калибровки». Эта разновидность метода абсолютной калибровки основана на предположении, что примеси имеют те же зиачения калибровочных коэффициентов (для УФ-детектора — коэффициентов экстинкции), что и основное вещество. Метод условной калибровки особенно удобен для определения примесей, содержание которых

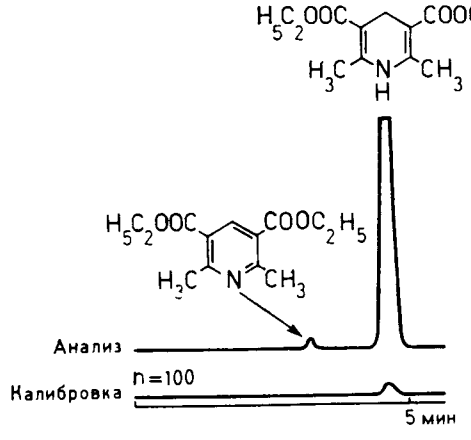


Рис. 6.9. Определение окисленной формы в техническом диэтоне. Условия анализа: колонка 4,6×250 мм; сорбент — Зорбакс SIL; подвижная фаза — хлороформ; детектор — УФ-фотометр, λ=254 им.

не превышает 1%. Он характеризуется хорошей воспроизводимостью, достоверность получаемых результатов не завнсит от того, все ли компонеиты пробы зарегистрироваиы детектором. Суть метода сводится к следующему. Приготавливают раствор анализируемого образца в подвижной фазе такой концентрации, чтобы основной пик на хроматограмме далеко выходил за пределы шкалы. Снимают хроматограмму и измеряют площади пиков примесей. Затем анализируемый раствор разбавляют подвижной фазой в n раз (n, например, может быть равно 50, 100, 200) и хроматографируют разбавленный раствор. Содержание примеси в процентах (X) находят, сравнивая площадь пика примеси на первой хроматограмме $S_п$ с площадью пика основного вещества на хроматограмме разбавленного раствора $S_к$. Для этого используют формулу

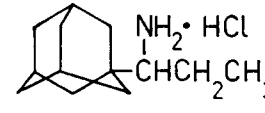
$$X = \frac{S_п \cdot 100}{S_к \cdot n}. \qquad (6.10)$$

Соответствующие хроматограммы определения окисленной формы в техническом диэтоне приведены на рис. 6.9.

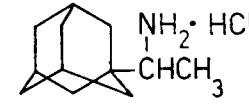
6.6. ДОКАЗАТЕЛЬСТВО ПОДЛИННОСТИ

Определение подлинности лекарственных средств методом ВЭЖХ основано на сопоставлении хроматографической подвижности испытуемого образца с подвижностью эталона. В качестве эталона может использоваться стандарт данного лекарственного вещества либо другое лекарственное вещество. Данное испытание обеспечивает значительно большую достоверность, чем аналогичный эксперимент, выполняемый методом ТСХ. Статистическнй анализ значений R_f и k' в ТСХ и ВЭЖХ соответственно показывает, что в последнем случае воспроизводимость параметра идентификации на порядок лучше, чем в ТСХ.

Использование ВЭЖХ для доказательства подлинности особенно целесообразно, если необходимо идентифицировать один препарат из группы близкородственных, для которых не удается подобрать отличительные химические реакции. Так, например, адапромин (I) и ремантадин (II)



I



II

будучи гомологами, неразличимы по химическим свойствам. Обращенно-фазовая хроматография позволяет различить их и однозначно идентифицировать адапромин. Поскольку испытания подлинности применяются к готовой продукции и включаются в фармакопейные статьи, приведем в качестве примера методику испытания, изложенную в соответствии с требованиями Государственной Фармакопеи.

Подлинность. В устройство ввода жидкостного хроматографа вносят 0,005 мл 1%-ного раствора испытуемого образца в подвижной фазе. Записывают хроматограмму и измеряют время удерживания. Такие же операции выполняют с 1%-ным раствором ремантадина в подвижной фазе. Время удерживания адапромина, отнесенное к времени удерживания ремантадина, равно $1{,}30 \pm 0{,}05$.

Примечания. 1. Условия испытания. Для испытания применяют жидкостный хроматограф, снабженный рефрактометрическим детектором и колонкой, заполненной октадецилсиликагелем, эффективностью не менее 1000 теоретических тарелок. Линейная скорость подвижной фазы 0,2—0,4 см/с. Прибор выводят на рабочий режим в соответствии с инструкцией.

2. Приготовление подвижной фазы. В конической колбе вместимостью 1,0 л смешивают 2,72 г (0,01 моль) натриевой соли додецилсульфокислоты, 375 мл воды, 25 мл уксусной кислоты, 600 мл ацетонитрила. Полученный раствор фильтруют через плотный бумажный фильтр.

3. Приготовление 1%-ного раствора испытуемого образца. 50 мг испытуемого образца растворяют в 5 мл подвижной фазы, фильтруют через плотный бумажный фильтр.

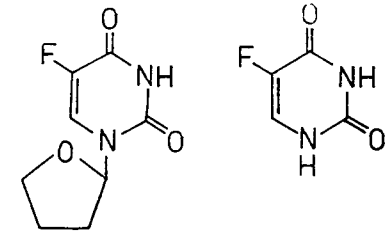
4. Приготовление 1%-ного раствора ремантадина. 50 мг ремантадина растворяют в 5 мл подвижной фазы, фильтруют через плотный бумажный фильтр.

Условия проведения испытания представлены в этом примере в несколько необычной форме, не характерной для литературы по ВЭЖХ (например, не указаны размеры колонки и частиц сорбента, расход подвижной фазы). Фармакопейная статья должна содержать всю информацию, необходимую для однозначного воспроизведения методики, вместе с тем она адресована персоналу, обладающему определенной квалификацией. Поэтому не следует чрезмерно ограничивать те параметры режима, которые не существенны для воспроизведения эксперимента. Например, в данном случае мы не ограничиваем геометрическую характеристику колонки каким-либо одним типоразмером, что сразу создало бы трудности при воспроизведении на приборах различных марок. Возможность проведения такого

испытания определяется фактически только эффективностью колонки, и включение этого параметра в методику представляется нам обязательным. Оно позволяет исключить менее информативные характеристики. Далее, поскольку не регламентируется диаметр колонки, считаем более целесообразным указывать линейную скорость подвижной фазы. Именно этот параметр определяет скорость процесса. Анализ протекает быстро и без существенного снижения эффективности разделения при линейных скоростях до 0,4 см/с. Однако, если колонка имеет плохую проницаемость и (или) предельно допустимое давление в хроматографе не очень велико, эта скорость может быть недостижима, поэтому в качестве нижнего предела указываем 0,2 см/с.

6.7. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПРИМЕСЕЙ

Возможны несколько подходов к оценке чистоты лекарственных препаратов. В одних случаях анализ преследует цель контроля определенной примеси, существенно ухудшающей качество продукта: например, когда примесь токсична по сравнению с основным соединением. Ее содержание нормируется конкретным показателем, и именно эту примесь необходимо оценить количественно по возможности более строгим методом. В таких случаях наиболее приемлем метод абсолютной калибровки. Можно применять один калибровочный раствор, по концентрации отвечающий максимально допустимому содержанию примеси. В анализах такого рода коэффициент емкости определяемого соединения должен быть в пределах 1—3. Иногда в избранных для определения примеси условиях основное вещество не элюируется либо, наоборот, выходит из колонки очень быстро. Конечно, хроматограмма значительно нагляднее, если на ней видна не только примесь, но и основное вещество. Однако в данном случае никакие измерения основного пика не проводятся, поэтому его присутствие на хроматограмме совершенно необязательно. В качестве примера приведем методику определения 5-фторурацила во фторафуре:



фторафур 5-фторурацил

Посторонние примеси. В устройство ввода жидкостного хроматографа вносят 0,050 мл 0,1%-ного раствора испытуемого образца в подвижной фазе. Записывают хроматограмму. Затем вводят 0,050 мл 0,0002%-ного калибровочного раствора 5-фторурацила в подвижной фазе, записывают хроматограмму, измеряют время удерживания и площадь пика 5-фторурацила. На хроматограмме испытуемого образца находят пик, соответствующий 5-фторурацилу, и измеряют его площадь. Содержание 5-фторурацила в процентах в испытуемом образце X рассчитывают по формуле

$$X=\frac{S_a \cdot b}{S_b \cdot a}, \qquad (6.11)$$

где S_a — площадь пика 5-фторурацила на хроматограмме испытуемого образца; S_b — площадь пика 5-фторурацила на хроматограмме калибровочного раствора; a — навеска испытуемого образца; b — навеска образца 5-фторурацила.

Содержание 5-фторурацила в испытуемом образце не должно превышать 0,2%.

Примечания. 1. Условия испытания. Для анализа применяют жидкостный хроматограф, снабженный детектором по поглощению УФ-света с длиной волны 254 или 280 нм, и колонку, заполненную октадецилсиликагелем, эффективностью не менее 2000 теоретических тарелок. Линейная скорость подвижной фазы 0,2—0,4 см/с. Прибор выводят на рабочий режим в соответствии с инструкцией.

2. Приготовление подвижной фазы. В конической колбе смешивают 10 мл 95%-ного этилового спирта и 990 мл воды. Полученный раствор фильтруют через плотный бумажный фильтр.

3. Приготовление раствора испытуемого образца. Около 0,05 г (точная навеска) испытуемого образца переносят в мерную колбу вместимостью 50 мл, прибавляют 40 мл подвижной фазы, растворяют при нагревании на водяной бане до 60°С, доводят подвижной фазой до метки.

4. Приготовление калибровочного раствора. Около 0,05 г 5-фторурацила переносят в мерную колбу вместимостью 50 мл, прибавляют 40 мл подвижной фазы, растворяют при нагревании на водяной бане до 60°С, доводят подвижной фазой до метки. 1 мл полученного раствора переносят в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят подвижной фазой до метки, тщательно перемешивают. 5 мл полученного раствора переносят в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят подвижной фазой до метки, перемешивают.

5. Регенерация колонки. В приведенных условиях фторафур удерживается колонкой очень сильно, что позволяет выполнить значительное число анализов 5-фторурацила. С течением времени в результате элюирования фторафура стабильность базовой линии может ухудшиться. В таком случае необходимо промыть колонку 20 объемами 40%-ного этилового спирта, после чего возвратиться к исходным условиям разделения.

Далеко не всегда имеется возможность и необходимость специфического определения какой-либо конкретной примеси. Часто достаточно определить суммарное содержание некоторой группы примесей. Испытания такого рода носят условный характер, однако достигают поставленной цели — оценки общей степени загрязненности образца. Например, при испытании методом ТСХ нередко критерием служит отсутствие пятен примесей либо их суммарная интенсивность. При этом условия испытания подбираются так, чтобы гарантировать, например, обнаружение 1% наиболее вероятной примеси. Даже весьма невысокой точности метода ТСХ достаточно для решения задачи, поставленной таким образом. Недостатком ТСХ является невысокая эффективность, часто препятствующая определению близких по строению веществ. Высокое число теоретических тарелок, характерное для современных колонок, позволяет определять близкородственные примеси. Часто нецелесообразно или даже невозможно иметь полный набор эталонов для корректного количественного анализа. В таких случаях оптимальным способом количественной оценки может стать условная калибровка.

В качестве примера рассмотрим методику определения примесей изомеров 11-дезоксипростагландина $E_{1\alpha}$ в лекарственной форме, применяемой в ветеринарии (0,5%-ный инъекционный раствор).

Посторонние примеси. Хроматографируют 0,050 мл раствора стандартного образца препарата и 0,050 мл испытуемого образца. Измеряют время удерживания пика субстанции на хроматограмме раствора стандартного образца. На хроматограмме испытуемого образца находят пик с равным временем удерживания и пики возможных примесей с $\alpha=0{,}91$ и 1,83, соответствующие изомерам 11-дезоксипростагландина $E_{1\alpha}$. Измеряют их площади. Содержание каждого из изомеров X_i в процентах находят по формуле

$$X_i=\frac{S_i \cdot P_{ст}}{S_{ст}}, \qquad (6.12)$$

где S_i — площадь пика i-й примеси;

$P_{ст}$ — навеска стандартного образца;

$S_{ст}$ — площадь пика допростона на хроматограмме раствора стандартного образца.

Сумма примесей изомеров в препарате не должна превышать 0,005%.

Примечания. 1. Условия испытания. Для анализа используют жидкостный хроматограф, снабженный спектрофотометром с рабочей длиной волны 210 нм, колонку, заполненную октадецилсиликагелем, эффективностью не менее 3000 теоретических тарелок. Линейная скорость подвижной фазы 0,2—0,4 см/с. Уравновешивают колонку подвижной фазой.

2. Приготовление подвижной фазы. В конической колбе смешивают 400 мл ацетонитрила, 598 мл воды, 2 мл *о*-фосфорной кислоты.

3. Приготовление раствора стандартного образца. Около 0,05 г (точная навеска) стандартного образца субстанции растворяют в 100 мл подвижной фазы.

6.8. КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ

Высокие требования, предъявляемые к качеству современных лекарственных средств, нашли, в частности, свое отражение в том, что содержание основного вещества чаще всего нормируется на уровне не ниже 98%. Погрешность количественного ВЭЖХ-анализа обычно составляет 2—3%, и поэтому данный метод не позволяет достоверно различить продукты с истинным содержанием основного вещества, например, 97 и 99%. Следовательно, для количественного определения основного вещества в лекарственных субстанциях метод ВЭЖХ рекомендован быть не может.

Несколько иная ситуация возникает при анализе лекарственных форм. Содержание действующего вещества нормируется в более широких пределах, и точность ВЭЖХ уже позволяет сделать заключение о соответствии образца требованиям. Во многих случаях решающим обстоятельством при выборе метода анализа может стать высокая чувствительность ВЭЖХ. По мере прогресса лекарственной химии наблюдается тенденция к применению более активных препаратов в меньших дозировках, поэтому классические методы, используемые при количественном анализе субстанций, могут оказаться малопригодными для анализа лекарственных форм. Так, например, одна доза 11-дезоксипростагландина $E_{1\alpha}$ содержит 2,5 мг активного начала, и для однократного определения его титриметрическим методом пришлось бы израсходовать 20 доз, не говоря уже о дополнительных трудностях при подготовке к анализу. Совершенно нереальна в этом случае и оценка однородности дозирования. Именно на лекарственных формах такого типа преимущества ВЭЖХ проявляются наиболее ярко. Появляется даже возможность в одном эксперименте испытать однородность дозирования и количественное содержание. Примерная форма раздела фармакопейной статьи приводится ниже.

Количественное определение и однородность дозирования. Для анализа используют 10 ампул препарата. Ампулы вскрывают, в каждую вводят по 5,0 мл подвижной фазы и перемешивают содержимое стеклянными капиллярами. В дозатор жидкостного хроматографа последовательно вводят по 0,05 мл раствора из каждой ампулы. На десяти полученных хроматограммах измеряют площади пиков. Снимают хроматограмму 0,05 мл раствора стандартного образца, измеряют площадь пика. Содержание субстанции в каждой из ампул в граммах (X) рассчитывают по формуле

$$X=\frac{H_x \cdot b \cdot 0{,}05}{H_{ст}}, \qquad (6.13)$$

где H_x — высота пика на хроматограмме испытуемого раствора; $H_{ст}$ — высота пика на хроматограмме раствора стандартного образца; b — навеска препарата в растворе стандартного образца.

Рассчитывают среднее содержание препарата в ампулах по формуле

$$\bar{X}=\frac{\Sigma X_i}{10}, \qquad (6.14)$$

где ΣX_i — сумма всех полученных значений X. Среднее содержание препарата в одной ампуле должно быть не менее 0,00225 г и не более 0,00275 г. Ни в одной ампуле величина X не должна отличаться от $\bar{X}$ более чем на 15%.

Примечания. Условия испытания и приготовление подвижной фазы см. на с. 268.

6.9. ДРУГИЕ ТИПЫ АНАЛИЗОВ

Универсальность ВЭЖХ делает этот метод незаменимым не только в контроле производства и качества продукции, но в первую очередь на ранних стадиях разработки новых лекарственных средств. Можно утверждать, что своевременное привлечение ВЭЖХ помогает уяснить многие аспекты поведения изучаемых веществ и потому способствует как повышению качества, так и ускорению темпов научно-технических разработок. Ниже рассмотрен ряд задач, при решении которых метод ВЭЖХ оказался наиболее эффективным.

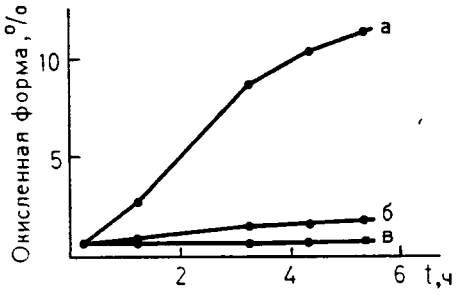
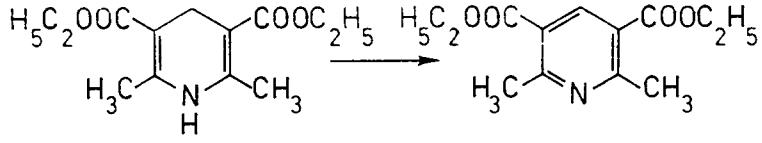


Рис. 6.10. Накопление окисленной формы диэтоиа в образце, растворенном в подвижной фазе, хранящемся во флаконе нз бесцветного стекла (*а*), оранжевого стекла (*б*) и в темном помещении (*в*).

Устойчивость диэтона к окислению. Диэтон способен окисляться или дегидрироваться под воздействием различных факторов согласно уравнению



Селективное определение окисленной формы (хотя бы полуколичественное) осложнено тем, что в условиях тонкослойной хроматографии препарат претерпевает аналогичные превращения; спектрофотометрически диэтон и его окисленная форма различимы с трудом. Многие растворители сами по себе способны катализировать процесс. В то же время ВЭЖХ-разделение диэтона и окисленной формы осуществимо без труда (см. рис. 6.9). Для дальнейших исследований препарата надлежало выяснить, в частности, как влияют условия хранения раствора на содержание окисленной формы. Эксперимент выполнялся непосредственно в растворе подвижной фазы, помещенном во флаконы из бесцветного и оранжевого стекла, находившиеся на свету, а также во флаконы из оранжевого стекла, находившиеся в темноте. На рис. 6.10 приведены данные, полученные с помощью ВЭЖХ в реальном масштабе времени, т. е. в течение всего нескольких часов. Опыты показали, что растворы диэтона требуют особо деликатного обращения.

Изомеризация 11-дезоксипростагландина $E_{1\alpha}$. В экспериментах по изучению стабильности лекарственных форм 11-дезоксипростагландина $E_{1\alpha}$ с целью придания препарату желаемой растворимости использовались щелочные буферные растворы. Было обнаружено, что даже если для приготовления формы применяется высокоочищенная субстанция, полученный инъекционный раствор или лиофилизированный порошок содержит примесь с α по отношению к основному веществу около

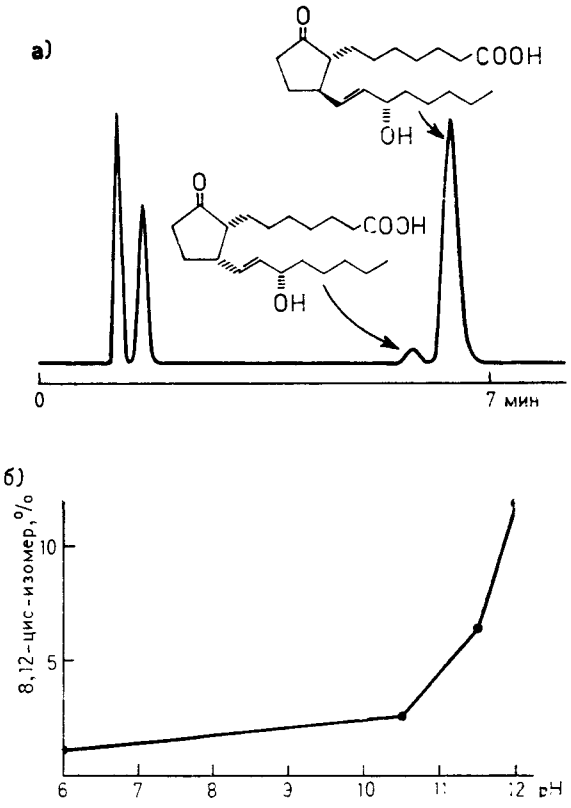
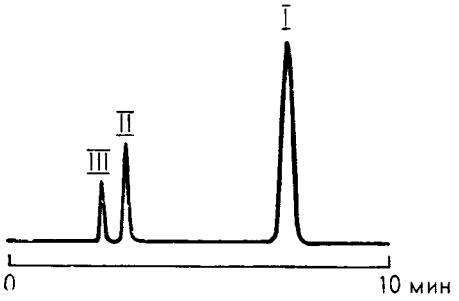


Рис. 6.11. Лиофильный 11-дезоксипростагландин $E_{1\alpha}$. *а* — хроматограмма. Колонка 4,6×150 мм, сорбент — Зорбакс ODS. Подвижная фаза — ацетонитрил—вода—*о*-фосфорная кислота (50:49,8:0,2). Детектор — УФ-спектрофотометр, λ=210 нм; *б* — равновесное содержание 8,12-*цис*-изомера в лекарственной форме в зависимости от pH среды.

0,91. Выдвинуто предположение, что причиной возникновения примеси служит щелочная среда, используемая при растворении препарата. Количественная оценка этого эффекта с помощью ВЭЖХ позволила уточнить рекомендации по составу лекарственной формы (рис. 6.11). В дальнейшем примесь была выделена с помощью препаративной ВЭЖХ и идентифицирована как изомер — (15 α-OH, 8, 12-*цис*)-11-дезоксипростагландин $E_{1\alpha}$.

Растворение таблеток бисакодила, покрытых кишечнорастворимой оболочкой. Испытание растворения таблеток производится с целью оценки биологической доступности лекарственной формы в модельных условиях. Согласно принятым нормам, таблетку с помощью специального устройства растворяют



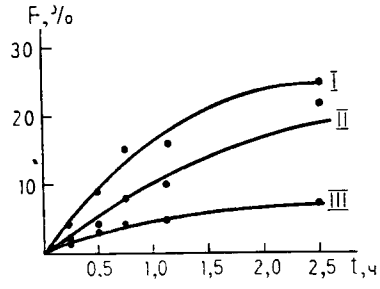
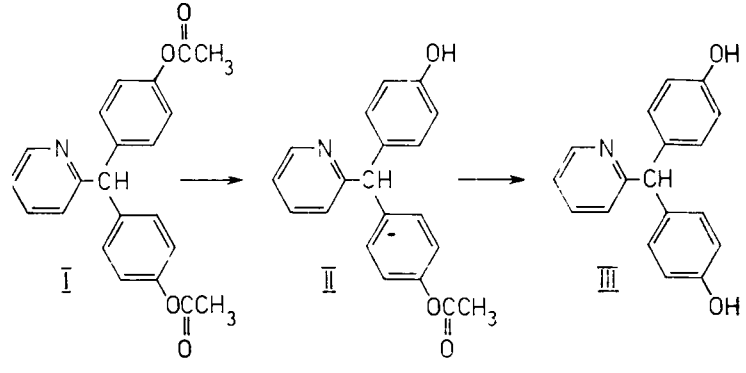


Рис. 6.12. Хроматограмма бисакодила (I) и продуктов его гидролиза (II и III). Колонка 4,6×150 мм, сорбент — Силасорб С18. Подвижная фаза — ацетонитрил — 0,2 М ацетат аммония с pH 5,0 (1:1).

Рис. 6.13. Кривые перехода в раствор бисакодила и продуктов его гидролиза. *F* — доля препарата или метаболитов, перешедших в раствор.

при 37°С в 900 мл растворителя, в данном случае — в растворе гидрокарбоната натрия. Установлена неустойчивость УФ-спектра препарата в щелочной среде, что свидетельствует о химических превращениях. Поэтому для анализа влияния растворителя на содержание бисакодила была применена высокоэффективная жидкостная хроматография. Оказалось, что бисакодил (I) как таковой почти не переходит в раствор гидрокарбоната натрия, а в растворе присутствуют почти исключительно продукты его щелочного гидролиза II, III:



Соответствующая хроматограмма приведена на рис. 6.12, а кривые перехода соединений I—III в раствор — на рис. 6.13. Таким образом, в данном случае применение ВЭЖХ позволило пролить свет на начальные стадии метаболизма.

7. ВЭЖХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ

7.1. ВЫБОР ТИПА ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ

Под типом хроматографической системы мы понимаем сочетание сорбента определенного химического класса с подвижной фазой, характеризующейся определенными признаками качественного состава: величиной pH, наличием добавок кислого, щелочного или поверхностно-активного характера и т. д. Выбор типа системы — это первый этап разработки анализа, он предшествует выбору элюирующей силы и оптимизации селективности подвижной фазы.

Принципы выбора неподвижной фазы для разделения органических соединений неполимерной природы кратко изложены в главе 2. В настоящей главе этот вопрос обсуждается совместно с выбором качественного состава подвижной фазы. Опыт показывает, что подавляющее большинство задач можно решить с помощью всего двух сорбентов — силикагеля и алкилсиликагеля. При этом выбор необходимых компонентов подвижной фазы должен основываться на учете кислотно-основных свойств сорбатов и их полярности либо гидрофобности.

В качестве примера рассмотрим три варианта анализа карбоновых кислот. Высокополярные и гидрофильные кислоты слишком прочно удерживаются силикагелем, но не удерживаются алкилсиликагелями в обычном обращенно-фазовом режиме. Поэтому для них предпочтителен ион-парный вариант обращенно-фазовой хроматографии. Кислоты умеренной полярности вполне поддаются разделению на силикагеле, однако для улучшения формы пиков к подвижной фазе желательно добавить около 1% уксусной кислоты. Третий вариант, пригодный для анализа большинства кислот, кроме наиболее гидрофильных, предусматривает использование алкилсиликагеля в качестве неподвижной фазы. С целью подавления ионизации в составе подвижной фазы применяют буферные растворы с pH 2—5.

Схема выбора, положительно зарекомендовавшая себя в лаборатории авторов, приведена в табл. 7.1.

Таблица 7.1

Рекомендации по выбору типа хроматографических систем

№ п/п	Характеристика сорбата: кислотно-основные свойства	Характеристика сорбата: гидрофобность	Сорбент	Характеристика подвижной фазы
1	Неионогенный	Слабая, умереиная ($12>H^*>0$)	Силикагель	Смеси полярных и неполярных органических растворителей
2		От слабой до сильной ($20>H>0$)	Алкилсилнкагель	Водные растворы органических растворителей
3		Очень снльная ($H>20$)	То же	Смеси ацетонитрила либо метанола с менее полярными растворнтелями
4	Кислота	Умереииая ($12>H>6$)	Силикагель	Как № 1, с добавкой 1% уксусиой кнслоты
5		Очеиь слабая ($H<2$)	Алкилсилнкагель	Буферный раствор, pH 5—7, органический растворитель, 1% соли тетраалкиламмония
6		От слабой до сильной ($0<H<20$)	То же	Буферный раствор, pH 2—5, органический растворитель
7	Осиоваине	От очень слабой до сильиой ($-4<H<20$)	»	0,01 М алкилсульфата иатрия в воде, 2,5% уксусной кислоты, органический растворитель
8		От умеренной до сильиой ($6<H<20$)	»	Как № 6, pH 2—7

* H — упрощенный критерий гидрофобиостн, см. 7.2.1.

7.2. ВЫБОР ЭЛЮИРУЮЩЕЙ СИЛЫ ПОДВИЖНОЙ ФАЗЫ В ОБРАЩЕННО-ФАЗОВОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

В настоящее время выбор концентрации органического растворителя в подвижной фазе осуществляется главным образом методом проб и ошибок с учетом самых общих качественных представлений о влиянии полярности сорбатов на их удерживание.

Другой возможностью выбора состава подвижной фазы для изократического элюирования является проведение пробного разделения в градиентном режиме. Исходя из того, при каких концентрациях элюируются компоненты разделяемой смеси, можно рассчитать состав подвижной фазы, которая обеспечит приемлемое удерживание в изократических условиях [226, с. 173]. Наконец, для решения этой задачи могут использоваться расчетные методы, основанные на моделях, связывающих удерживание с составом подвижной фазы и параметрами гидрофобности сорбатов. Такие модели подробно рассмотрены в главе 4. Приходится, однако, констатировать, что действительные успехи в моделировании хроматографического поведения достигнуты в тех случаях, когда детальные исследования предпринимались в каком-либо одном, ограниченном классе соединений. В практике аналитических лабораторий часто отсутствует возможность проведения подобных исследований. Иногда разнообразие разделяемых смесей и анализируемых веществ очень велико, а анализ каждой из смесей предстоит выполнить всего несколько раз. В этих условиях не оправданы затраты труда на доскональные исследования и одновременно резко возрастает потребность в экспрессиой оценке условий разделения. В данном случае наиболее рациональный подход может заключаться в двухстадийной отработке режима. На первой стадии желательно выбрать условия, чтобы основные компоненты смеси имели коэффициенты емкости в пределах 0,5—2. В таком режиме на хроматограмме более или менее четко проявятся более полярные примеси, удерживаемые слабее основных компонентов смеси. Имеется также значительная вероятность того, что будет зафиксирован весь (или почти весь) спектр менее полярных, сильнее удерживаемых соединений. Во многих случаях уже этот, первичный режим разделения позволит ответить на поставленные вопросы. Если все же разделение смеси недостаточное, может потребоваться изменение силы подвижной фазы, чтобы за счет увеличения k' и (в меньшей степени) α добиться необходимых величин R_S. Выбор новой концентрации органического растворителя может осуществляться с помощью моделей, рассмотренных в 4.1.2.4. В этом разделе мы остановимся несколько подробнее на выборе первичного режима разделения с помощью расчетных методов.

В идеале система априорного расчета величин удерживания должна отвечать следующим требованиям:

— универсальности, применимости к соединениям самого различного строения;

— точности;

— простоте и наглядности структурных параметров.

Среди рассмотренных выше моделей есть очень простые и точные, но неуниверсальные (например, уравнение (4.24)); универсальные, но не слишком простые и неточные (уравнение (4.5)). По-видимому, полностью удовлетворить всем требованиям трудно, и любое предложение в этой области является компромиссом. Поскольку среди лекарственных веществ встречаются представителн различиых классов органических соединений, то с точки зрения поставленной нами задачи желательно,

чтобы модель была по возможности более простой и универсальной, хотя ясно, что эти качества неизбежно оборачиваются некоторой потерей точности. Желаемого результата можно достичь, используя модели, аналогичные уравнениям (4.78) и (4.79), заменив в них параметры $\lg P$ или X на упрощенный критерий гидрофобности.

7.2.1. УПРОЩЕННЫЙ КРИТЕРИЙ ГИДРОФОБНОСТИ

Предлагаемый упрощенный критерий основан на следующих допущениях:

— размер молекул органнческих соединений определяется в первую очередь числом атомов углерода;

— снижение гидрофобности при введении в молекулу сорбата полярной функциональной группы определяется для полифункциональных сорбатов не столько характером группы и ее специфической гидрофильностью, сколько самим фактом ее наличия (см. табл. 4.9—4.11).

Приняв эти допущения, мы, таким образом, вообще отказываемся от детализации инкрементов гидрофобности. Суммарная гидрофобность соединения, молекулы которого состоят из углеводородных фрагментов и полярных функциональных групп, может быть выражена упрощенным критерием гидрофобности H:

$$H = n_c + f(n_f), \tag{7.1}$$

где n_f — число полярных функциональных групп.

Анализ поведения монофункциональных полярных соединений в условиях обращенно-фазовой хроматографии показывает, что введение одной функциональной группы вызывает в среднем такое же уменьшение удерживания, как и уменьшение углеродного скелета на 4 атома углерода. Следовательно, в самой простейшей форме уравнение (7.1) может быть переписано так:

$$H = n_c - 4n_f. \tag{7.2}$$

Однако такая модель не может быть удовлетворительной уже начиная с $n_f = 2$, поскольку эффекты неаддитивности в обращенно-фазовом режиме проявляются даже при весьма отдаленном расположении функциональных групп (см. выше). При последовательном введении в молекулу дополнительных функциональных групп неаддитивность нарастает как вследствие увеличения числа парных взаимодействий, так и вследствие уменьшения среднего расстояния между функциональными группами.

В качестве эмпирической функции, описывающей неаддитивность вкладов функциональных групп в гидрофобность, предлагается выражение

$$f(n_f) = -4\sqrt{n_f}. \tag{7.3}$$

Отдельно следует рассмотреть вопрос влияния на гидрофобность атомов галогенов и атомов серы в меркаптанах и тиоэфирах. Анализ величин парциальной гидрофобности, приводимых Реккером, и того эффекта, который эти группы оказывают на удерживание, свидетельствует о том, что вклад атомов серы и галогенов в гидрофобность сильно зависит от характера остальной части молекулы. Все же в качестве среднего, компромиссного решения можно принять следующие утверждения:

— каждый атом галогена эквивалентен по своему влиянию одной метиленовой группе;

— атомы серы в тиоэфирах и меркаптанах не повышают и не снижают гидрофобности молекулы в целом.

Следовательно, в окончательном виде в уравнении (7.1) необходимо член n_c заменить членом n_h — числом элементарных гидрофобных фрагментов в молекуле, т. е. суммой числа атомов углерода и галогенов

$$H = n_h - 4\sqrt{n_f}. \tag{7.4}$$

Критерий H не претендует на детальное описание гидрофобности в узких группах веществ, мало отлнчающихся по структуре, а предлагается в качестве универсальной меры гидрофобности для описания веществ, сильно отличающихся по структуре. Из сравнения именно таких групп веществ обнаруживаем, что упрощенный критерий гидрофобности хорошо коррелирован с рассчитанными по значительно более сложной схеме параметрами $\lg P$. Такой расчет выполнен нами для ряда соединений, представленных в табл. 7.2.

Для данного массива веществ параметр H линейно коррелирован с $\lg P$

$$\lg P = -1{,}08 + 0{,}42H \quad (n = 39,\ F = 202,\ r = 0{,}917). \tag{7.5}$$

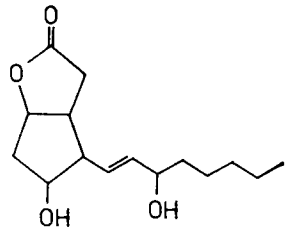
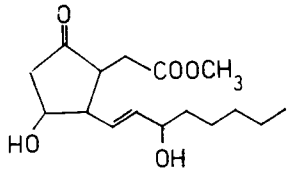
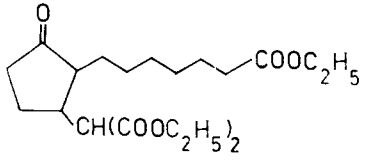
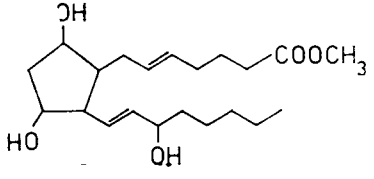
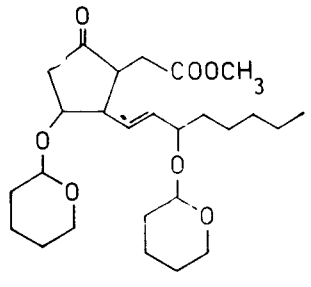
Разброс точек относительно прямой связан главным образом с различием в способах учета взаимного влияния полярных функциональных групп (рис. 7.1). Из уравнения (7.5) следует, что параметр H может быть использован в моделях удерживания, аналогичных уравнениям (4.17) и (4.78):

$$\lg k' = a_0 + a_1 H; \tag{7.6}$$

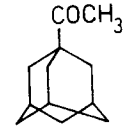
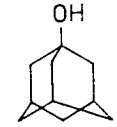
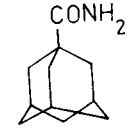
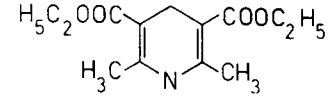
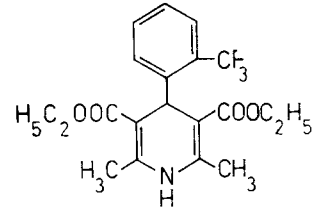
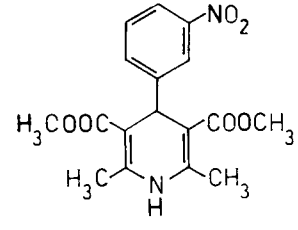
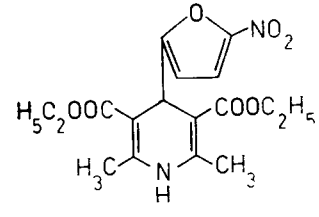
$$\lg k' = a_0 + a_1 H + a_2 \lg C + a_3 H \lg C. \tag{7.7}$$

Таблица 7.2

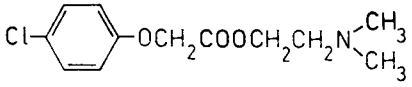
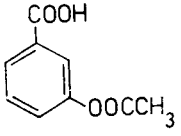
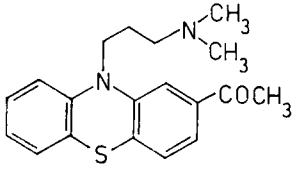
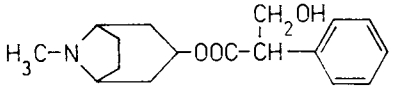
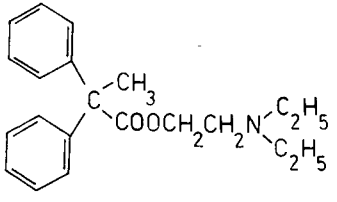
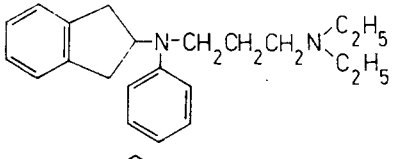
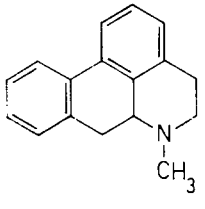
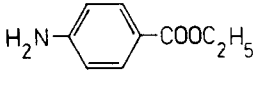
Расчетные параметры гидрофобности некоторых лекарственных веществ и полупродуктов их синтеза

Соединение	lg *P*	*H*
1	2	3
	1,5	3,1
	0,4	8,0
	3,1	13,0
	3,1	13,0
	6,9	16,2

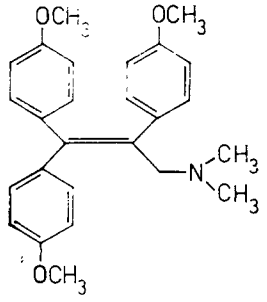
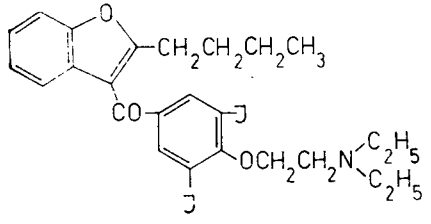
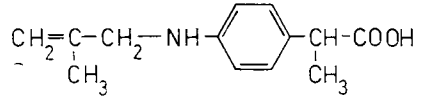
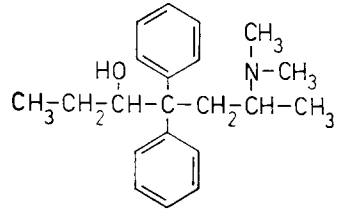
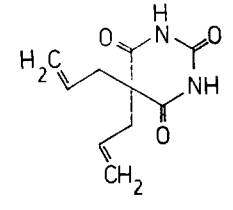
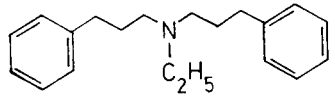
Продолжение таблицы 7.2

1	2	3
	2,8	8,0
	2,3	6,0
	1,9	7,0
	3,6	6,1
	4,5	16,1
	2,9	9,0
	3,9	8,1

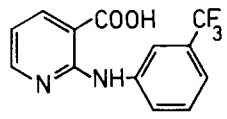
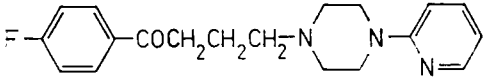
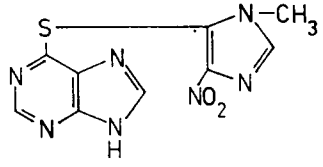
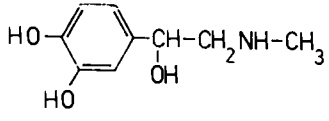
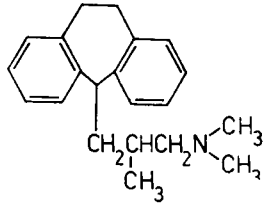
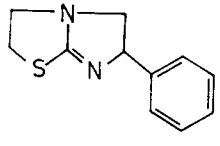
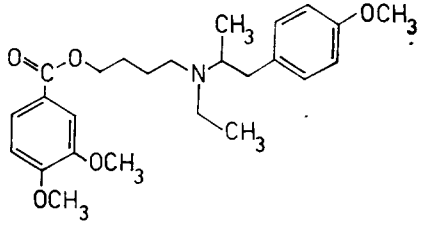
Продолжение таблицы 7.2

1	2	3
	2,3	6,1
	1,9	3,3
	3,1	12,1
	1,9	10,1
	4,7	15,3
	4,6	16,3
	3,6	13,0
	1,6	3,3

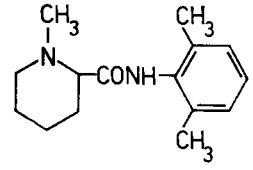
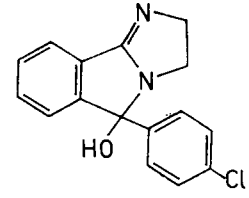
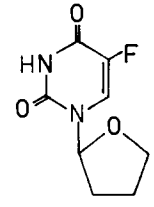
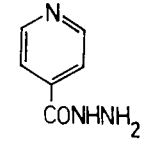
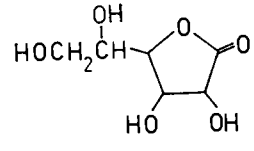
Продолжение таблицы 7.2

1	2	3
	7,0	18,0
	8,6	19,0
	2,6	7,3
	4,6	15,3
	−1,2	3,1
	6,0	16,0

Продолжение таблицы 7.2

1	2	3
	2,3	9,1
	4,2	12,0
	−2,1	−1,6
	−0,5	1,0
	5,7	17,0
	0,9	4,1
	6,8	16,1

Окончание таблицы 7.2

1	2	3
	3,3	9,4
	2,7	10,1
	−2,2	−2,1
	−1,3	−0,9
	−4,5	−3,8

Ниже показано, что уравнение (7.6) выполняется для разнообразных классов соединений.

Гомологические ряды. В рамках любого гомологического ряда постоянны как параметр n_f, так и число атомов галогенов. Значит, величина H линейно связана с числом атомов углерода, и ее подстановка в уравнение (7.6) приведет к уже рассмотренному уравнению (4.24).

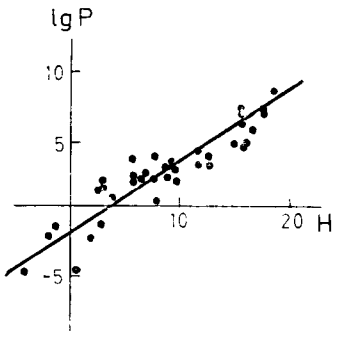


Рис. 7.1. Корреляция между расчетными значениями $\lg P$ и упрощенным критерием гидрофобности для соединений, представленных в табл. 7.2.

Соединения, различающиеся строением углеводородных радикалов. Молекулы многих классов родственных лекарственных веществ имеют фиксированный структурный фрагмент с определенным набором функциональных групп и углеводородные заместители, различающиеся по степени разветвленности, насыщенности, наличию и характеру циклов. В рамках таких множеств сорбатов n_f также постоянно. Обычно для них выполняется и уравнение (4.24), хотя, естественно, разброс экспериментальных точек относительно прямой регрессии больше, чем в случае гомологов. Хроматографическое поведение подобных групп веществ может быть описано с помощью уравнения (7.6). На рис. 7.2,*а* в координатах $\lg k'$ — H представлены величины удерживания барбитуратов, взятые нами из работы [434]. По аналогии с $\lg k'$ в уравнении (7.6) могут быть использованы индексы удерживания I. На рис. 7.2,*б* в координатах уравнения

$$I = a_0 + a_1 H \qquad (7.8)$$

представлены величины удерживания аналогов 3-пропананилидонортропана из работы [54]. Существование корреляции

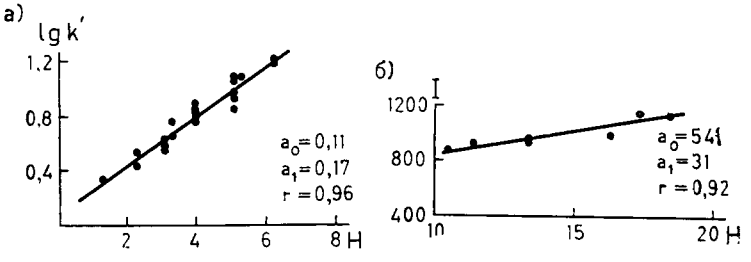


Рис. 7.2. Корреляция между параметрами удерживания барбитуратов (*а*), аналогов 3-пропананилидонортропана (*б*) и упрощенным критерием гидрофобности H. Данные работ [434] и [54] соответственно. Здесь и на рис. 7.3—7.6 a_0, a_1, r обозначают свободный член, угловой коэффициент и коэффициент корреляции обсуждаемой зависимости.

между величинами удерживания и параметром H в обоих случаях не вызывает никакого сомнения. Ясно, однако, что и в этом случае параметр H связан линейной функциональной зависимостью с n_c, потому уравнение (7.6) полностью эквивалентно уравнению (4.24).

Соединения, различающиеся строением углеводородных радикалов и числом функциональных групп. В таких массивах соединений общий структурный фрагмент составляет незначительную часть молекулы либо даже отсутствует совсем. Естественно, все сделанные выше допущения проявятся в полной мере именно в данном случае, и это не может не сказаться на точности модели (7.6). Однако корреляция между величинами удерживания и параметром H сохраняется. Для доказательства этого утверждения в координатах уравнения (7.6) изображены величины удерживания производных циклопентана — полупродуктов синтеза простагландинов, производных 1,4-дигидропиридина и 5-фторурацила. Строение, параметры H и $\lg k'$ изученных соединений, а также общая характеристика массивов веществ и условий эксперимента приведены в табл. 7.3—7.5. В случае производных циклопентана вместо $\lg k'$ в уравнении (7.6) использован параметр B'_1 — значение, экстраполированное к концентрации ацетонитрила 1 моль/л:

$$B'_1 = a_0 + a_1 H. \qquad (7.9)$$

Зависимость величин удерживания от H изображена на рис. 7.3. Разброс точек возрос, однако наличие корреляции и в этом случае не вызывает сомнений.

К аналогичным выводам приводит также анализ величин удерживания, взятых нами из литературы для других классов соединений. На рис. 7.4,*а,б* представлены коэффициенты емкости ряда полиядерных гетероциклов и ароматических систем на Нуклеосиле С18 [423].

В работе [172] приведены коэффициенты емкости свыше 30 соединений — ароматических кислот, обнаруживаемых в моче. В их число входили окси-, метоксибензойные и фенилуксусные кислоты, производные триптофана, индола, коричной, миндальной, гиппуровой кислот, пурины, пиримидины и пиридины. Член n_h принимал значения от 5 до 11, n_f — от 1 до 5. В качестве неподвижной фазы использован октадецилсиликагель Хромосорб LC 7, подвижная фаза состояла из ацетонитрила (30%) и 0,04 М фосфорной кислоты. Зависимость $\lg k'$ от H для этой группы соединений приведена на рис. 7.4,*в*.

Данные по удерживанию производных и аналогов морфина на Бондапаке С18 [54], полифункциональных ароматических аминов на Лихросорбе RP18 [90] и пиримидинов на Сепароне

Окончание таблицы 7.3

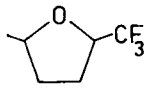
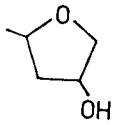
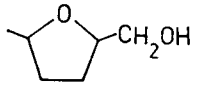
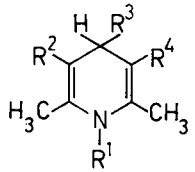
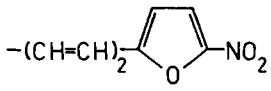
1	2	3	4
	6,1	1,29	2,8
	1,0	0,0	0,9
	2,0	0,14	1,1

Таблица 7.4

Величины удерживания и параметры гидрофобности производных 1,4-дигидропиридина



R^1	R^2=R^4	R^3	*H*	lg *k'* (50% MeCN)	Параметр *b* уравнения (4.52)
1	2	3	4	5	6
—H	$—COOC_2H_5$	—H	4,1	0,34	3,4
—H	$—COOC_2H_5$	$—CH_3$	5,1	0,41	3,6
—H	$—COOC_2H_5$	$—C_6H_5$	10,1	0,56	4,0
$—CH_3$	$—COOC_2H_5$	—H	5,1	0,59	4,1
$—CH_3$	$—COOC_2H_5$	$—C_6H_5$	11,1	0,79	4,7
—H	$—COOC_2H_5$		10,1	0,69	4,4

Окончание таблицы 7.4

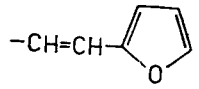
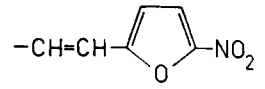
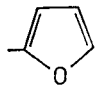
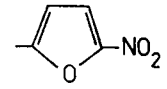
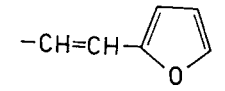
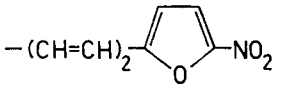
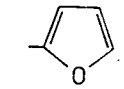
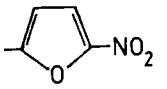
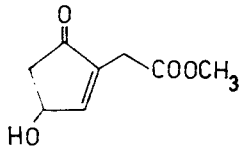
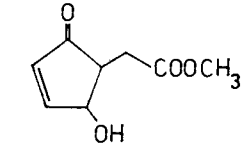
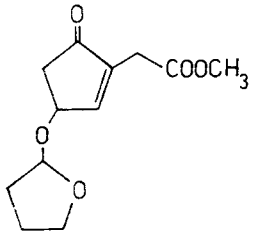
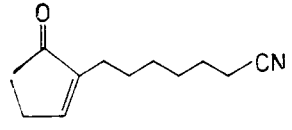
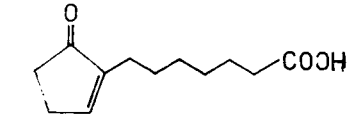
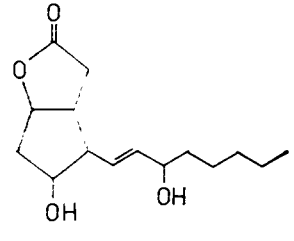
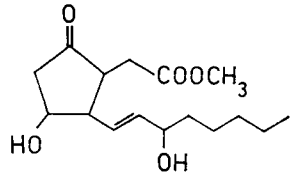
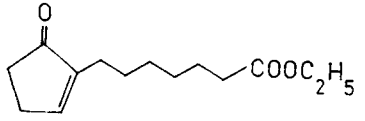
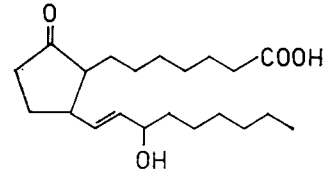
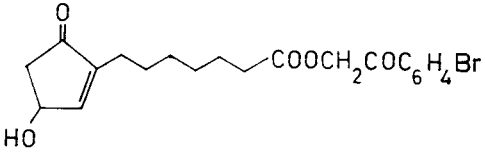
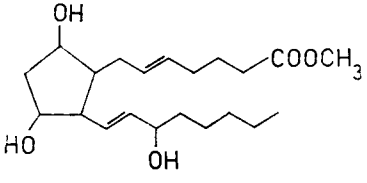
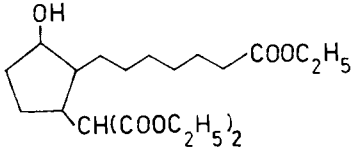
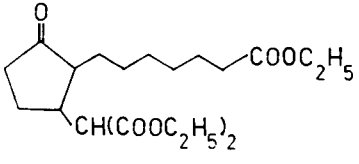
1	2	3	4	5	6
—H	$—COOC_2H_5$		9,0	0,58	4,1
—H	$—COOC_2H_5$		8,1	0,54	4,0
—H	$—COOC_2H_5$		7,0	0,35	3,5
—H	$—COOC_2H_5$		6,1	0,40	3,6
—H	$—COOCH_3$		7,0	0,28	3,3
—H	$—COOCH_3$		8,1	0,40	3,6
—H	$—COOCH_3$		5,0	0,05	2,6
—H	$—COOCH_3$		4,1	0,11	2,8
—H	$—COOCH_3$	$—C_6H_4OCHF_2$	10,0	0,33	3,4
—H	$—COOCH_3$	$—C_6H_4NO_2$	7,0	0,18	3,0
—H	$—COOC_2H_5$	$—C_6H_4CF_3$	14,1	0,77	4,6
—H	$—COOC_2H_5$	$—CH=CH—C_6H_5$	12,1	0,75	4,6
—H	$—COOCH_3$	$—C_6H_4SCHF_2$	11,1	0,55	4,0
—H	$—COSC_2H_5$	$—C_6H_4NO_2$	9,0	0,72	4,5

Таблица 7.5

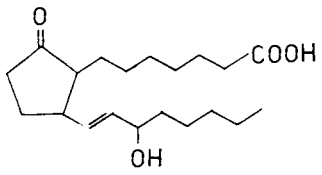
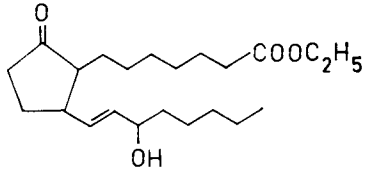
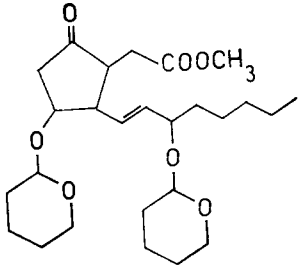
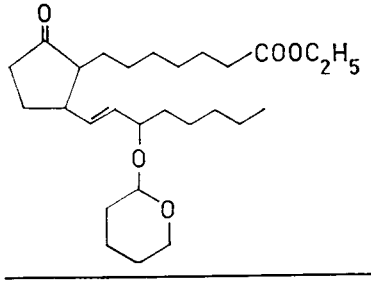
Строение, упрощенный индекс гидрофобности и удерживание производных циклопентана

Соединение	*H*	Параметр *b* уравнения (4.52)
1	2	3
	1,1	0,92
	1,1	0,85
	4,0	2,88
	6,4	4,60
	6,4	1,95
	8,0	2,60

Продолжение таблицы 7.5

1	2	3
	8,1	2,60
	8,4	4,70
	12,1	3,80
	13,0	5,46
	13,0	4,20
	13,0	4,40
	13,0	5,65

Окончание таблицы 7.5

1	2	3
	14,1	5,30
	15,1	6,66
	16,2	8,50
	19,0	9,0

С18 [126] представлены как функция упрощенного критерия гидрофобности (рис. 7.5).

Зависимость (7.6) позволяет описать удерживание различных классов соединений, изученных в различных по составу подвижных фазах, единой моделью. Для этого значения $\lg k'$ необходимо привести к общей концентрации органического растворителя с помощью тех или иных моделей, описанных в 4.1.2.4. Так, данные по удерживанию производных 5-фторурацила и 1,4-дигидропиридина приведены нами к концентрации органического растворителя 1 моль/л. В результате параметры этих столь различных по свойствам групп удалось вместе с производными циклопентана описать единой моделью (рис. 7.6).

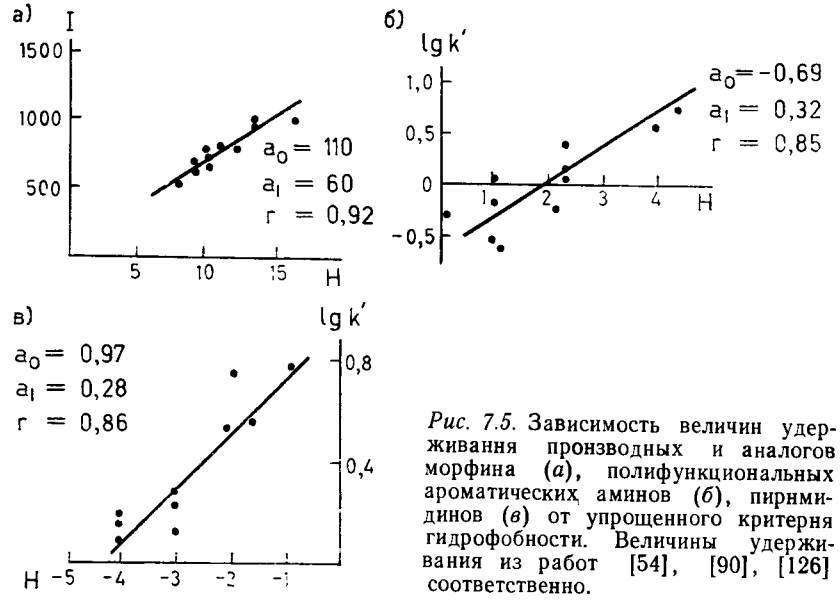


Рис. 7.5. Зависимость величин удерживания пронзводных и аналогов морфина (*а*), полифункциональных ароматических аминов (*б*), пирнмидинов (*в*) от упрощенного критерня гидрофобности. Величины удерживания из работ [54], [90], [126] соответственно.

Таким образом, параметр H действительно отражает влияние структуры сорбатов на их хроматографическое поведение. Существование связи между H и b, H и $\lg k'$ может служить основой априорных расчетов удерживания и концентрации органического модификатора, необходимой для хроматографирования.

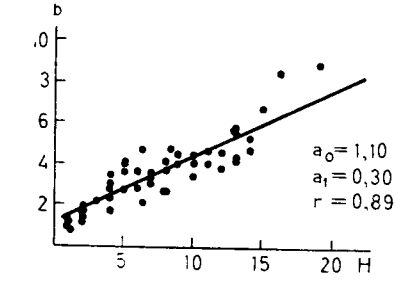


Рис. 7.6. Зависимость удерживания пронзводных 5-фторурацила (табл. 7.2), 1,4-дигндропиридннa (табл. 7.3) и циклопентана (табл. 7.4) от упрощенного критерия гндрофобностн H.

7.2.2. АПРИОРНЫЙ РАСЧЕТ КОНЦЕНТРАЦИИ ОРГАНИЧЕСКОГО РАСТВОРИТЕЛЯ

Приведенные выше сведения о связи между упрощенным критерием и другими параметрами гидрофобности позволяют использовать H для обобщения величин удерживаиия и оценки концентрации органического растворителя, обеспечивающей желаемую подвижность хроматографической зоны. Разумеется, будучи весьма грубой характеристикой, параметр H не может обеспечить относительно высокой точности, которую дают модели (4.78) и (4.79). С другой стороны, привлекательной чертой этого критерия является простота и универсальность. Оценивая возможности использования критерия H для выбора концентрации органического растворителя, следует иметь в виду, что в данном случае полное совпадение расчетных и экспериментально наблюдаемых величин k' не требуется; важно, чтобы в избранном режиме коэффициент емкости не оказался слишком большим или слишком малым; окончательный выбор концентрации органического растворителя можно осуществить с помощью моделей типа (4.64).

Критерий H может быть использован для статистического обобщения опыта по выбору концентраций органического растворителя в подвижной фазе, который накоплен в литературе. Данные по режимам разделения свыше 600 лекарственных веществ (см. табл. 7.7) были переработаны с помощью закономерности (4.64), чтобы выяснить, какая концентрация органического модификатора необходима для элюирования при $k'=2$. Зависимость найденной средней концентрации ацетонитрила от параметра H приведена на рис. 7.7. Среднеквадратичный разброс экспериментальных точек вокруг кривой составляет 10—12%, т. е. данная кривая может быть использована для априорной оценки концентрации органического растворителя. Задавшись желательным значением $k'=2$, с высокой степенью вероятности получим в эксперименте значение $0{,}7<k'<5{,}0$.

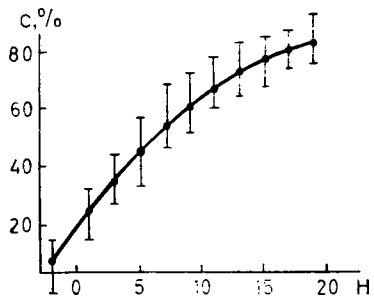


Рис. 7.7. Зависимость средней концентрации ацетоитрила c, прн которой коэффициент емкости равен 2, от упрощеиного критерия гидрофобности H.

7.3. УСЛОВИЯ ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОГО АНАЛИЗА ОСНОВНЫХ ГРУПП ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ И ОТДЕЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

В предшествующих главах данной книги внимание было сосредоточено в основном на общих концепциях, которыми может руководствоваться экспериментатор при разработке методик разделения органических соединений, ранее не хроматографировавшихся. Приведенный материал дает возможность ориентироваться во взаимодействии разнообразных факторов, которые определяют результаты хроматографического процесса. Он может оказаться полезным в таких ситуациях, когда поиск условий разделения в литературе нецелесообразен либо когда воспроизведение условий, опубликованных в литературе, затруднительно. Тем не менее хроматографисту немалую помощь могут оказать фактические справочные и библиографические данные по анализу определенных классов препаратов и отдельных лекарственных веществ, составляющие содержание данного раздела.

Публикации, посвященные хроматографии лекарственных веществ, можно условно отнести к одной из двух групп. В первую входят работы, в которых рассматриваются общие условия или особенности хроматографии той или иной группы веществ, сформированной по принципу химического родства или сходства биологической активности. Во вторую группу можно включить работы по анализу одного или нескольких веществ в конкретных объектах. В табл. 7.6 приведены сведения о работах первой группы, вышедших в 1980—1986 гг., т. е. в тот период, когда ВЭЖХ уже достигла своего методического совершенства.

Таблица 7.6

Работы по хроматографии отдельных групп лекарственных соединений

Класс соединений (число изученных веществ)	Предмет исследования	Литература
1	2	3
Алкалоиды	Обзор, 16 ссылок до 1975 г.	[51]
(8)	Условня нон-парной хроматографии в присутствии гидрофобных катионов и анионов	[415]
(19)	Оптимизацня разделеиия на силнкагеле	[151]
(6)	Использование органических моднфикаторов при ноиообменной хроматографии иа окисн алюминия	[272]

Продолжение таблицы 7.6

1	2	3
Алкалонды (14)	Влияние содержания метанола, pH и концентрации буферного раствора на величины удерживания. Механизм удерживания на октадецилсилнкагеле	[325]
барвинка (22)	Разделение энантиомеров в нормально-фазовой системе, диамнчески модифицнрованной оптнчески активной камфорсульфоиовой кислотой	[391]
(3)	Определение в плазме и моче. Исследованне стабильностн в различных системах	[110]
(17)	Условия хроматографии в системе, динамически модифицированной ионообменниками	[390]
(22)	Разделение в обращенно-фазовом режнме, роль ацетонитрнла в подвижной фазе	[388]
(21)	Разделение, величины удерживания в различных системах растворнтелей на силикагеле и нитрнлсиликагеле	[389]
опиума (6)	Оптимизация разделения	[314]
(4)	Условия разделения в ион-парном режнме. Детектирование	
(9)	Количественный анализ	[17]
(5)	Методика анализа экстрактов	[49]
(5)	Условня выделения н анализа на аминоснлнкагеле	[119]
спорынья (12)	Оптнмизацня разделения на силикагеле, разделенне изомеров	[392]
(7)	Условия анализа в ферментативных жндкостях	[41]
(22)	Методы разделения	[147]
(16)	Условия хроматографии в системе, динамнчески модифицированной ионообменниками	[390]
(14)	Групповое разделенне на силикагеле, методики анализа в режиме обращенно-фазовой хроматографии	[394]
хинные (6)	Метод анализа в лекарственных формах на октадецилсиликагеле	[250]
(9)	Условия разделения на силикагеле	[60]
Амфетамин и другие стимуляторы (20)	Обзор, 23 ссылкн	[160]
Анаболики (7)	Аиализ мнкроколичеств в плазме н сыворотке кровн, в моче и другнх биообъектах в виде дансилпронзводных	[446]
(15)	Методы разделения н детектирования	[235]
Анальгетики (40)	Анализ лекарственных препаратов	[383]
производные бензоморфана (9)	Сопоставление различных методов анализа в таблетках	[447]
наркотнческого действия (23)	Метод прогнозирования индекса удерживаиия по константам Ганча	[54]

Продолжение таблицы 7.6

1	2	3
производные фенцнклндина (4)	Оптимизация разделения в режиме ион-парной хроматографии	[251]
Анестетики местные (20)	Обзор, 22 ссылкн	[160]
(5)	Применение системы индексов удерживания. Влияние состава и pH растворителя, температуры и типа сорбента	[365]
Антнбиотикн	Обзор, 9 ссылок до 1975 г.	[51]
(9)	Методика определення в моче	[385]
(13)	Особенности поведения производных пенициллина, β-лактамных антибиотиков, тетрациклинов. Взаимодействие с силнкагелевой матрицей обращенно-фазового сорбента	[284]
(8)	Разделение сложиых смесей	[199]
(18)	Условия разделения в режиме ион-парной хроматографии	[442]
(23)	Методики разделения	[441]
Антибнотики-антимицины (10)	Условия разделения и количественного анализа. Флуориметрическое детектирование дансильных производных, электрохимическое детектирование	[38]
антрациклины (6)	Условия анализа в ферментативных жндкостях	[41]
β-лактамные (14)	Анализ в биологических объектах	[241]
лейкомицины (12)	Методика разделения	[61]
пенициллины	Обзор	[303]
тетрациклины (4)	Метод разделения на силикагеле	[11]
(11)	Оптимизацня разделения	[286]
(13)	ВЭЖХ на полимерных сорбентах, преимущества этого варианта при количественном анализе	[326]
(3)	Использованне силикагеля и окиси алюминия в качестве катионообменнпков	[281]
(15)	Влияние состава подвижной фазы на величнны удерживання. Обсуждение механизма удерживания	[313]
(9)	Исследование селективности разделения в зависимости от состава подвижной фазы	[48]
цефалоспорины (7)	Метод анализа в бнологическом материале	[81]
(7)	Методы обращенно-фазовой и нон-парной хроматографин для исследований плазмы и мочи	[275]
(11)	Удерживание как функция pH и нонной силы подвижной фазы, анализ в плазме крови	[332]
(5)	Исследование селективности разделения в режиме ион-парной хроматографии	[104]
эллорамицины (5)	Анализ культуральиой жидкостн, применение детектора с диодной матрицей	[132]

Продолжение таблицы 7.6

1	2	3
Антигистаминные препараты (10)	Оптимизация условий разделения	[289]
Антидепрессанты трициклнческне (7)	Оптимизацня режнма хроматографии на силикагеле	[113]
(10)	Методика определеиия в плазме крови	[157]
(3)	Влияние 15 разлнчных амиов — добавок к подвнжной фазе на величиы удерживания и снмметрию пиков	[257]
(12)	Роль состава неподвнжной и подвижной фаз в симметрии хроматографнческих пиков	[380]
(12)	Влияиие добавок амина в элюент при обращенно-фазовой хроматографии Механизм удерживания	[210]
(7)	Выбор подвижных фаз для разделения на снликагеле, способ экстракции из плазмы	[414]
(23)	Величины удержнвания, условия выделення нз мочи	[428]
Барбитураты (16)	Обзор, 17 ссылок	[160]
(6)	Выбор оптимальных условий разделения	[22]
(11)	Выделение в режиме ионообменной и обращенно-фазовой хроматографии	[229]
(4)	Повышение чувствнтельности анализа	[93[
(16)	Межлабораторная воспронзводнмость величин удержнвания. Способы представления даиных	[149]
(10)	Сравнительное исследование индексов удерживания н коэффициентов емкостн как параметров для качественного анализа. Влияние подвижной фазы	[364]
(29)	Использоваиие УФ-детектнрования на двух характеристнческих длинах волн для идентификации барбитуратов	[443]
(28)	Система идентификации для судебной медицины, основанная иа совместном применении ГЖХ, ВЭЖХ и ТСХ	[150]
и алкалоиды (15)	Удерживание сорбатов в режиме градиентного элюирования на октадецилсиликагеле	[228]
Бензодиазепиины (19)	Относительные величнны удерживаиия	[91]
(15)	Анализ в бнологическом материале после гидролиза препаратов и метаболитов в соответствующне бензофеноны	[419]
(9)	Количественный анализ в внде бензофеионов	[420]
(16)	Влияние состава подвнжиой фазы на удерживание и селективность разделения иа метилсилнкагеле. Условия аналнза в плазме крови и моче	[407]

Продолжение таблицы 7.6

1	2	3
Беизодиазепнны (24)	Величнны удерживання в четырех хроматографических системах разлнчного хнмнческого типа	[148]
и беизотиазепины (10)	Разделенне пространственных изомеров н изомеров положення на силнкагеле и октадецилсиликагеле	[242]
Бетаблокаторы (18)	Корреляцин удержнвания с коэффициеитами распределения	[417]
Витамины	Моиография	[109]
А (5)	Условия градиентного элюирования на октадецнлсиликагеле. Анализ в клнинке	[42]
водорастворнмые (5)	Условия аналнза совместно с коферментами	[265]
жнро- и водорастворимые (15)	Анализ в лекарственных препаратах	[317]
жирорастворимые (4)	Методика совместного изократического разделения	[302]
(3)	Методика количественнаго определення в таблетках	[118]
и аналоги (14)	Методнка разделения н анализ в пищевых продуктах	[454]
Е (4)	Метод анализа α-, β-, γ- и δ-изомеров в различных биологнческих объектах	[400]
Галлюциногены (16)	Обзор, 17 ссылок	[160]
Гликозиды наперстянки (23)	Разделение на силикагеле производных с 4-интробензоилхлоридом, количественный анализ инъекционного раствора	[309]
Имидазолина производные (3)	Использование силикагеля и окиси алюминия в качестве катионообменнков	[281]
Кетостероиды (13)	Методика получения н величины удерживания дансилгидразонов	[431]
Контрацептивы пероральные (10)	Зависимость удерживания от состава подвижиой фазы, метод количественного аиализа лекарственных форм	[249]
Кортикостероиды (24)	Системы нормально- н обращеино-фазовой хроматографии для качественного и количественного аналнза, анализ экстрактов надпочечников, величиины удерживання	[88]
(12)	Методы разделения иа силикагеле, динамическн модифицированном бромидом цетилтриметиламмония	[194]
Лекарственные вещества разных классов (108)	Характернстнкн удерживания на 23 сорбентах (силикагеле и модифнцированном снликагеле)	[439]
(30)	Завнсимость удержнвания на октадецилсиликагеле от кислотно-основных свойств, липофнльности сорбатов н состава подвижной фазы	[410]

Продолжение таблицы 7.6

1	2	3
основного характера (90)	Условия анализа на колонках с силикагелем. Подвижная фаза — метанол—гексан (85:15), модифицированная хлорной кислотой	[135]
рацематы (18)	Разделение оптических изомеров на оптически активном сорбенте	[338]
Наркотики (13)	Разделение и количественный анализ	[55]
(16)	Обзор, 31 ссылка	[160]
Нейролептические амины и антидепрессанты (8)	Механизм удерживания в обращенно-фазовых системах в присутствии гидрофобных катионов и аминов	[425]
Нитраты изосорбида (9)	Условия разделения на октадецилсиликагеле	[115]
полиолов (5)	Качественный и количественный анализ в лекарственных формах	[87]
Пиридинальдоксимы (6)	Условия разделения в ион-парном режиме	[62]
Простагландины (6)	Повышение чувствительности детектирования реакцией с дихроматом пиридиния	[116]
(13)	Условия разделения *цис-*, *транс*-изомеров простагландинов на силикагеле	[261]
(12)	Разделение в виде *п*-бромфенациловых эфиров по степени иенасыщенности	[22]
(11)	Разделение и количественный анализ. Приведены УФ-спектры соединений	[401]
(8)	Метод разделения на октадецилсилнкагеле	[215]
(11)	Методы разделения и повышение чувствительности анализа	[133]
(7)	Получение и анализ флуоресцирующих производных с 4-бромметил-7-ацетоксикумарином	[409]
и тромбоксаны (10)	Анализ в виде производных с 9-антрилдиазометаном	[449]
Противовоспалительные средства (4)	Разделение энантиомеров на хиральной неподвижной фазе	[426]
Противоопухолевые препараты- рацематы (13)	Разделение оптических изомеров	[71]
Противотуберкулезные средства — производные тиобензамида (25)	Разделение на различных сорбентах, величины удерживания, электрохимическое детектирование	[328]
Психотропные препараты (38)	Метод анализа и флуориметрического детектирования в судебно-медицинских исследованиях	[259]
производные дибензодиазепина и бензодиазепина (14)	Методика разделения на силикагеле	[418]
Сапонины женьшеня (8)	Методика анализа, гидролиз в желудочном соке	[32]
Симпатомиметики (8)	Природа аномалий формы пиков в ион-парной хроматографии	[284]

Продолженне таблицы 7.6

1	2	3
Симпатомиметики, β-блокаторы, антиаритмические агенты, содержащие вторичную аминогруппу (7)	Анализ с использованием электрохимического детектора	[278]
Стероиды	Обзор, 11 ссылок до 1975 г.	[51]
(43)	Закономерности удерживания, аддитивные расчеты для силикагеля и октадецилсиликагеля	[182]
(6)	Анализ в лекарственных препаратах	[86]
(11)	Условия быстрого разделения на динамически модифицированном силикагеле	[198]
(6)	Оптимизация условий анализа в таблетках	[83]
(24)	Условия разделения экстрогенов на силикагеле и октадецилсиликагеле	[279]
(11)	Условия разделения андрогенов на силикагеле, режим УФ-детектирования	[211]
(9)	Условия разделения, характеристики количественного анализа кортикостероидов, их определение в экстрактах медицинского назначения	[89]
(25)	Условия разделения производных прегнана на силикагеле и октадецилсиликагеле	[280]
(17)	Использование детектора по рассеванию света в анализе стероидных препаратов	[46]
надпочечников (25)	Условия разделения и величины удерживания при градиентном элюировании	[85]
Сульфаниламиды	Обзор, 8 ссылок до 1975 г.	[51]
(11)	Оптимизация подвижных фаз, состоящих из воды, ацетонитрила, метанола, тетрагидрофурана	[438]
(3)	Анализ в биологических объектах. Использование амперометрического детектирования	[40]
(11)	Теоретический анализ механизма нормально-фазовой ион-парной хроматографии, экспериментальное исследование влияния состава подвижной фазы	[386]
(5)	Разделение в режиме ионообменной и обращенно-фазовой хроматографии	[229]
Транквилизаторы	Обзор, 18 ссылок до 1975 г.	[51]
Триазолобензодиазепины (8)	Метод анализа в таблетках	[403]
Фенилэтиламина производные (31)	Влияние заместителей на величины удерживания	[145]

Окончание таблицы 7.6

1	2	3
Феноксипропаноламина пронзводные (10)	Условия разделения на диамически модифицированном силикагеле	[236]
Фторурацил и метаболиты (5)	Влияние температуры на разделение, разделение при пониженной температуре	[114]
Эндорфины (13)	Метод изократического элюирования. Использование электрохимического детектирования	[136]

Работы второй группы, а также некоторое количество данных из работ первой группы обобщены в табл. 7.7. При подборе материала для этой таблицы мы не преследовали цели процитировать все публикации, посвященные анализу того или иного препарата, так как во многих случаях одно и то же либо очень близкое решение хроматографической проблемы независимо найдено разными авторами или позаимствовано ими из одного и того же первоисточника. Скорее нами руководило желание отразить существование разнообразных подходов к анализу одних и тех же веществ — обстоятельство, которое зачастую недооценивается во всеобщем увлечении стандартной обращенно-фазовой хроматографией. Поэтому при отборе материала по конкретным веществам мы останавливались только на режимах разделения, существенно различающихся по характеру подвижной либо неподвижной фазы.

С целью обеспечения максимальной компактности таблицы при изложении материала приняты следующие правила.

Номенклатура. Лекарственные вещества расположены в таблице в алфавитном порядке. Для препаратов, описанных в [18], приняты наименования согласно этому справочнику, в остальных случаях оставлены наименования, использованные в оригинальной литературе, либо рекомендованные [312] международные наименования.

Упрощенный критерий гидрофобности *H*. Может использоваться совместно с приведенными режимами для выбора условий разделения веществ с близкими *H*, в литературе не описаных.

Неподвижная фаза. Согласно сложившейся практике, наименования сорбентов для ВЭЖХ состоят из двух частей: фирменного названия серии сорбентов и условной характеристики их химического типа, модификации, размера частиц и пр. В табл. 7.7 для серий сорбентов, получивших широкое распространение, наименование слагается из сокращенного обозначения серии и характеристики конкретного типа. Первая часть названия дается в соответствии с табл. 7.8, вторая — в оригинальной

Таблица 7.7

ВЭЖХ лекарственных веществ

Вещество	*H*	Сорбент	Подвижная фаза	Детектор	Литература
1	2	3	4	5	6
Адапромин	9,0	I-C18	0,01М НДС+УК+АН=70+2,5+30	Р	*
Адреналин (эпинефрин)	1,0	SU-LC-18	0,07М КДФ/0,001М ГСК/pH 3,0+ +МЕ=9+1	УФ-280	SU24,131
Адриамицин	13,2	RP-C18	АН+0,01М ФК=50+50	Ф	JCHR,1980,190,2,377
	13,2	SF-ODS-5	0,02М ФК/0,01М НДС+АН=52+48	Ф-480/580	JCHR,1986,374,2,415
	13,2	B-C18	0,005М ФК/pH3,2+МЕ+АН+ИПС= =62,5+12,5+12,5+12,5	Ф-480/560	JCHR,1984,311,1,125
(доксорубицин)	13,2	B-C18	0,05М НДФ+МЕ=35+65	УФ-254	JCHR,1980,221,1,139
Азаперон	13,2	Z-SIL	НА+ИПС=3,8+66,2	Ф-470/585	JCHR,1980,190,2,489
Азатиоприн	12,0	RP-C18	АН+В+ДЭА=50+50+0,1	УФ-247	JCHR,1980,193,2,255
Азидоциллин	−1,6	B-C18	0,01М КДФ+АН=91+9	УФ-280	JCHR,1982,231,2,393
	7,0	B-PHENYL	1М ФБ/pH7+В+МЕ=0,5+70+30	УФ-220	JCHR,1982,227,1,137
Азлоциллин	7,0	Z-C8	ФБ/pH7,0+МЕ=60+48	УФ-254	JCHR,1982,244,2,299
Азопропазон	10,2	B-C18	0,05М ФБ/pH7,0+АН=73+27	УФ-220	JCHR,1982,228,1,409
Азосемид		SF-S5W	ХК+МЕ+ГК=0,02+85+15	УФ-215	JCHR,1982,247,1,15
Аймалин		Z-ODS	АБ/pH4,05+АН=7+3	УФ-239	JCHR,1980,182,2,257
Акватензен	12,0	SF-S5W	ХК+МЕ+ГК=0,02+85+15	УФ-215	JCHR,1982,247,1,15
Аклавинон		B-C18	МЕ+В=35+65	УФ-225	JCHR,1981,226,2,510
Аклациномицин	11,4	B-C18	НГС+МЕ=4+6	УФ-430	JA,1981,34,5,608
АКТГ-1-24		B-C18	АН+МЕ+В+ФК=40+90+70+2,55	УФ-254	JCHR,1983,277,1,433
Актол		Z-ODS	0,1М АА/pH5+АН=83+17	УФ-215	*
Алверин	9,1	RP-C18	АН+0,05М АБ/pH4,5=5+5	УФ-254	JCHR,1985,345,1,77
Ализаприд	16,0	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
Алимемазин (триметразин)	6,2	L-RP-18	МЕ+0,05М КДФ+ТЭА=77+20+1	Ф-323/370	JCHR,1986,374,2,425
	12,3	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
	12,3	SF-S5W	МЕ+ПХК=99,98+0,02	Ф-200/-	JCHR,1985,345,1,187
	12,3	Z-CN	0,1М АА+АН=1+9	Э	JCHR,1982,233,1,417
	12,3	L-CN	ГП+МХ+АН+ПА=50+50+25+0,1	УФ-254	JCSC,1980,18,3,139
	12,3	L-CN	0,02М КДФ+АН=55+45	Э	ANCH,1981,53,7,960
	12,3	L-CN	0,2М АА/pH6,99+АН=1+9	УФ-254, Э	JCHR,1982,231,2,361

1	2	3	4	5	6
Алинидин	7,1	SF-S5W	ХК+МЕ+ГК=0,02+85+15	УФ-215	JCHR,1982,247,1,15
	7,1	B-C18	0,05М НФ/рН5,0+МЕ=1+1	УФ-210	JCHR,1981,223,1,238
Аллилпродин	12,3	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
Аллобарбитал	3,1	AS-HS-C18	МЕ+В=51+49		AA,269
Аллопуринол	−3,9	H-ODS	0,02М КГФ/рН3,65	УФ-254	JCHR,1984,307,2,469
Аллоферин		B-C18	0,25% УК/0,005М НДФ+МЕ=2+8	УФ-292	JCHR,1981,225,1,240
Алпразолам	10,0	B-C18	АН+ХЛ+БУ+В+УК=850+80+ +50+20+0,5	УФ-254	JCHR,1983,268,1,92
Алпренолол	8,1	L-RP-8	АН+0,008М НА/0,5М УК=75+25	Ф-225/320	JCHR,1984,305,2,411
	8,1	L-SI60	0,04М ТМОА/ФБ/рН2,0/0,01М НГС	УФ-270	JCHR,1982,245,1,45
Альфаметадол	15,3	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
Амдиноциллин	7,0	B-PHENYL	1М ФБ/рН7,0+В+МЕ=0,5+70+30	УФ-220	JCHR,1982,227,1,137
Амидопирин	6,1	SH-RSPAK	0,035М НГФ/0,3М КДФ+АН=65+35		AA,312
	6,1	M-CN-10	ГК+МХ+АН+ПА=50+50+25+0,1	УФ-254	JCHR,1984,309,2,329
	6,1	SF-S5W	ХК+МЕ+ГК=0,1+85+15	УФ-215	JCHR,1982,247,1,15
Амикацин		U-OCTYL	ФБ+АН=52+48	УФ-340	JCHR,1984,307,1,224
		RP-8	0,015М ФБ/рН7,5+АН+МЕ=400+ +320+106	УФ-350	JCHR,1985,348,229
Амилорид	−3,6	SF-ODS	АН+0,15М ХК/рН2,2=32+98	Ф-286/370	JCHR,1984,307,2,343
	−3,6	SU-LC18DB	В+МЕ+1М КДФ/рН3,0−71+25+4	УФ-286	SU24,132
	−3,6	L-RP18	АН+0,05М ФБ=4+6	УФ-275	JCHR,1985,325,2,395
Амназин (хлорпромазин)	12,3	L-CN	0,2М АА/рН6,99+АН=1+9	Э, УФ-254	JCHR,1982,231,2,361
	12,3	N-C18	ПР+ТГФ+АН+0,1М АБ/рН3,5= =0,1+1+68,9+30	Э	JCHR,1982,227,1,103
	12,3	S-SI	ХК+МЕ+ГК=0,1+85+15	УФ-215	JCHR,1982,247,1,15
	12,3	L-CN	0,02М КДФ+АН=55+45	Э	ANCH,1981,53,7,960
	12,3	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
	12,3	SF-CN	0,01М КДФ/рН7,0+АН+МЕ=40+ +48+12	УФ-229	JCHR,1984,311,2,424
	12,3	AL	ГП+АН		DS85,104
Аминептин	12,3	N-C18	0,12% ПСК/рН3,0+АН=62+38	УФ-220	JCHR,1984,306,279
Аминопрофен	7,3	B-C18	МЕ+В+УК=50+49+1	УФ-235	JCHR,1985,343,2,455
Амиодарон	19,0	RPK-C18	МЕ+АМ=99,3+0,7	УФ-242	JCHR,1983,273,2,379
	19,0	SF-S5W	0,01М АПХ/0,001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
	19,0	L-SI100	МЕ+ДЭ+ХК=70+30+0,02	УФ-242	JCHR,1983,277,1,401
	19,0	SF-S5W	ХК+МЕ+ГК=0,02+85+15	УФ-215	JCHR,1982,247,1,15
	19,0	L-NH2	МХ+ГК+МЕ+УК+0,117М ХК= =50+39+6+1+1	УФ-248	JCHR,1983,227,229
Амиридин	6,3	I-C18	0,1М ФБ/рН2,5+АН=7+3	УФ-254	*
Амоксапин	10,0	SF-CN	0,01М КДФ/рН7,0+АН+МЕ=40+ +48+12	УФ-229	JCHR,1984,311,2,424
Амоксициллин	7,1	Z-C8	Гр 5—65%Б за 40 мин; А=0,2М ФБ/рН7,0+В+МЕ=5+90+5; Б= =0,2М ФБ/рН7,0+В+МЕ=5+45+ +50	УФ-274	JCHR,1985,321,2,441
	7,1	Z-ODS	0,001М НДФ/0,001М НГФ+МЕ= =2+1	УФ-290 (пр)	ANCH,1985,57,8,1568
	7,1	RP	0,05М ФБ/рН5,0+МЕ=94+6	УФ-254	JCHR,1980,202,1,144
	7,1	Z-C8	ФБ/рН7,0+МЕ=9+1	УФ-254	JCHR,1982,244,2,299
Амотрифен	18,0	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
Ампициллин	8,0	N-5C18	0,05М ФБ/рН7,0+АН=75+25		AA,286
	8,0	N-5C18	МЕ+В=3+2	Ф-345/420	JCHR,1983,276,1,478
	8,0	ODS	0,001М НГФ/0,001М НДФ+МЕ= =2+1	УФ-290 (пр)	ANCH,1985,57,8,1568
	8,0	Z-C8	ФБ/рН7,0+МЕ=75+25	УФ-254	JCHR,1982,244,2,299
Амфотерицин В		U-ODS	0,01М ЭДТА+МЕ=5+5	УФ-388	JCHR,1983,274,1,271
		B-RP	0,01М НА/рН7,0+АН=6+4	УФ-405	JCHR,1983,278,2,387
Анаприлин (пропранолол)	9,1	SU-LC-8-DB	Гр 3—30%Б за 10 мин; А=0,02М ФК/рН3,0/0,02% ТЭА/рН3,3; Б=АН	УФ-254	SU24,136
	9,1	SF-S5W	МЕ+ХК=99,98+0,02	Ф 200/-	JCHR,1985,345,1,187
	9,1	P-10-SCX	ФК+ДЭА+В+АН=0,15+0,2+80+ +20	УФ, Ф	JCHR,1983,278,2,469
	9,1	L-SI60	0,04М ТМОА/ФБ/рН2,0/0,01М НГС	УФ-270	JCHR,1982,245,1,45
	9,1	SF-S5W	ХК+МЕ+ГК=0,02+85+15	УФ-215	JCHR,1982,247,1,15
	9,1	RPK-SI	0,004М АДФ/рН7,8+АН=4+6	УФ	ANCH,1982,54,3,442
Ангидротетрациклин	10,7	L-RP8	0,1М ЛК+АН=75+25	УФ-350	JCHR,1980,195,1,35
Ангиотензинамид		Z-C8, Z-ODS	0,1М АА/рН5+АН=85+15	УФ-215	*
Анестезин (бензокаин)	3,3	L-RP2	0,1М НТА/рН4,3+МЕ=6+4		JCSC,1983,21,4,145

1	2	3	4	5	6
Анестезин	3,3	B-C18	0,3М ЭДТА/1%УК+АН+МЕ=8+ +1+1		JCSC,1983,21,4,145
	3,3	RPK-SI	0,004М АДФ/pH7,8+АН=4+6	УФ	ANCH,1982,54,3,442
Антазолин	10,1	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
	10,1	L-CN	ГП+МХ+АН+ПА=50+50+25+0,1	УФ-254	JCSC,1980,18,3,139
Антипирин	5,3	B-C18	0,067М ФБ+МЕ=65+35	УФ-254, 225	JCHR,1983,278,2,337
	5,3	M-CN-10	ГК+МХ+АН+ПА=50+50+25+0,1	УФ-254	JCHR,1984,309,2,329
	5,3	SF	АН+В+АМ=95+5+0,2	УФ-228	JCHR,1985,345,1,192
	5,3	SH-RSPAK	0,035М НГФ/0,03М КДФ+АН=65+ +35		AA,312
(феназон)	5,3	SF-S5W	ХК+МЕ+ГК=0,1+85+15	УФ-215	JCHR,1982,247,1,15
	5,3	L-SI60	ХЛ+ЭТ+АМ=98,35+1,6+0,05	УФ-280	JCHR,1983,274,1,403
Антиффенн	0,0	L-SI100	ГП+МХ+МЕ+ТЭА=85+10+4,75+ +0,25	УФ-262	JCHR,1983,273,1,213
Антролин	7,1	B-C18	0,125%ГСН+АН+УК=39,5+60+ +0,5	УФ-365	JCHR,1985,328,1,317
Антрациклины		L-RP8, RP18	МЕ+АН+КФБ	УФ	CBM,134
Апалциллии	14,4	B-C18	В+АН+МЕ+ТЭА=600+340+150+ +4	УФ-258	JCHR,1985,342,1,234
Апоморфин	13,0	B-PHENYL	0,02М НА/0,03М УК/pH3,25+МЕ= =60+40	Ф-281/418	JCHR,1983,274,1,376
Апрессин (гидралазин)	2,3	H-ODS	МЕ+В=6+4	УФ-254	JCHR,1980,187,1,218
	2,3	H-ODS	МЕ+В=15+85	УФ-254	JCHR,1980,183,2,167
Априндин	16,3	B-C18	АН+0,1М КДФ/pH3,0=45+55	УФ-259	JCHR,1983,278,1,220
Апробарбитон	3,1	H-SIL	ИО+УК+ИПС=200+3+2	УФ-216	JCHR,1981,204,1,275
	3,1	H-ODS	0,1М НДФ/pH3,5+МЕ=6+4	УФ-216	JCHR,1981,204,1,275
Апрофен	15,3	B-C18	0,01М НГС+АН=25+75	УФ-254	JCHR,1980,195,1,146
Арг-вазопрессин		EC-C18	5%ФК/0,15%ТЭА+АН=8+2		AA,275
		Z-C8	0,2М АА/pH5+АН=88+12	УФ-215	*
L-аскорбиновая кислота	−3,8	RP-C-18	0,04М АБ/0,001М ДА+МЕ=85+15	Э	JCHR,1982,245,3,355
	−3,8	L-NH2	0,005М КДФ/pH4,5+АН=25+75	УФ-268	JCHR,1980,196,1,163
	−3,8	SU-LC-8-DB	МЕ+0,0043М ГСК/0,1 ТЭА/pH2,8= =15+85	УФ-200	SU24,137
Аскорбиновая кислота	−3,8	V-HS201	Гр 6 −100%Б за 30 мин; А=0,1М НА/pH4,4; Б=МЕ+АН+В−10+ +40+50		AA,289
	−3,8	SH-RSPAK	0,55М НГФ/0,045М КДФ	УФ-254	AA,312
	−3,8	RP	АН+0,003М ФБ/pH6,0=2+8	УФ-265	JCHR,1981,206,2,396
Астахантин	30,0	SM-OA-2000	ГК+МХ+ЭТ=48+16+0,6	УФ-470	JCHR,1985,318,1,122
Атенолол	6,0	L-C18	НОС/ФК+МЕ=40+60	Ф-280/300	JCHR,1982,228,1,223
	6,0	SF-S5W	ХК+МЕ+ГК=0,02+85+15	УФ-215	JCHR,1982,247,1,15
	6,0	Z-CN	АН+0,0125М АГФ+ТЭА=4+96+ +0,25	УФ-224	JCHR,1983,275,1,367
Атропин	10,1	SF-S5W	ХК+МЕ+ГК=0,1+85+15	УФ-215	JCHR,1982,247,1,15
Аурамицинон	10,4	B-C18	НГС+МЕ=4+6	УФ-430	JA,1981,34,5,608
Ауреофуигин		N-C18	0,05М АА/pH4,6+АН=625+375	УФ-254	JCHR,1980,189,2,249
Ацебутолол	9,1	L-SI60	0,04М ТМОА/ФБ/pH2,0/0,01М НГС	УФ-270	JCHR,1982,245,1,45
	9,1	SF-ODS	0,006М ФБ/pH4,0+АН=45+55	УФ-243	JCHR,1982,230,2,438
	9,1	SF-S5W	МЕ+ХК=99,98+0,02	Ф 200/-	JCHR,1985,345,1,187
	9,1	P-ODS2	В+МЕ+ТЭА=50+50+0,05	Ф 238/450	JCHR,1985,318,2,393
Ацепромазин	12,1	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
Ацетилкодеии	11,0	L-RP2	0,1М НТА/pH4,3+МЕ=6+4		JCSC,1983,21,4,145
Ацетилморфин	10,0	L-RP2	0,1М НТА/pH4,3+МЕ=6+4		JCSC,1983,21,4,145
Ацетилсалициловая кислота	3,3	EC-C18	МЕ+В+УК=38+61+1		AA,275
	3,3	RSIL-C18HL	0,05М АГФ/pH5,0+МЕ=5+5		AA,277
	3,3	SH-RSPAK	0,035М НГФ/0,03М КДФ+АН=65+ +35		AA,312
	3,3	N-C18	0,005М ФБ/pH2,5+МЕ+АН=68+ +16+16	УФ-237	JCHR,1984,311,2,301
	3,3	B-C18	АН+В=24+76	УФ-280	JCHR,1986,374,1,191
	3,3	L-RP18	0,005М ФБ+МЕ=6+4	УФ-280	JCHR,1983,272,2,325
	3,3	RP-18	АН+0,05М АБ/pH4,5=5+5	УФ-254	JCHR,1985,345,1,77
Ацетофеназин	14,1	L-CN	0,02М АА/pH6,99+АН=1+9	УФ-254, Э	JCHR,1982,231,2,361
	14,1	L-CN	0,02М КДФ+АН=55+45	Э	ANCH,1981,53,7,960
	14,1	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
Ацефеи (меклофен-оксат)	6,1	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ МЕ+0,1М СК+0,02М НГС+0,25М	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
Ацикловир	−2,6	PRP-1	НХ=1+1+2+6	УФ-254	JCHR,1985,343,1,203
	−2,6	Z-ODS	0,0025М ГСК/0,005М НА/pH6,5	УФ-254	JCHR,1981,224,1,51
	−2,6	I-C18	0,01М НДС+УК+ИПС=87,5+2,5+ +10	УФ-254	*

1	2	3	4	5	6
Барбамил (амилобарбитон)	4,1	H-SIL	ИО+УК+ИПС=200+3+2	УФ-216	JCHR,1981,204,1,275
	4,1	H-ODS	0,1М НДФ/рН3,5+МЕ=6+4	УФ-216	JCHR,1981,204,1,275
(амобарбитал)	4,1	P-ODS	АН+КДФ/рН3,2=45+55	УФ-210	SH-84,25
	4,1	AS-HS-C18	МЕ+В+51+49		AA,269
Барбитал	1,1	AS-HS-C18	МЕ+В+51+49		AA,269
(барбитон)	1,1	H-ODS	0,1М НДФ/рН3,5+МЕ=6+4	УФ-216	JCHR,1981,204,1,275
	1,1	H-SIL	ИО+УК+ИПС=200+3+2	УФ-216	JCHR,1981,204,1,275
(веронал)	1,1	N-10C18	В+МЕ=45+55		AA,286
Безафибрат	13,1	LS-RP18	0,01М ФБ/рН3,5+МЕ=40+60	УФ-230	JCHR,1985,344,1,259
Беметизид	8,0	B-C18	АН+0,1%КГФ=40+60	УФ-236	JCHR,1981,226,2,526
Бендрофлуазнд	10,0	H-ODS	В+МЕ=1+1	УФ-273	CHRA,1983,17,2,101
Бензбромарон	12,1	B-C18	МЕ+В+АН+ЭА+УК=72+23+3++1+1	УФ-254	JCHR,1980,183,3,383
Бензоилэкгонин	11,1	B-C18	0,3М ЭДТА/1%УК+АН+МЕ=8++1+1		JCSC,1983,21,4,145
	11,1	L-RP2	0,1М НТА/рН4,3+МЕ=6+4		JCSC,1983,21,4,145
Бензтропин	15,3	SF-CN	0,01М КДФ/рН7+АН+МЕ=40++48+12	УФ-229	JCHR,1984,311,2,424
	15,3	L-CN	0,2М АА/рН6,99+АН=10+90	УФ-254, Э	JCHR,1982,231,2,361
	15,3	U-C8	АН+ОА/ФБ=65+35	УФ-239	JCHR,1982,237,1,169
Беноксапрофен	10,1	SF-ODS	0,01М ФБ/рН6,5+АН=65+35	УФ-313	JCHR,1980,182,2,478
Бенперидол	15,0	L-RP18	0,02М НПС/0,2%ДА+МЕ=50+50	УФ-254	JCHR,1985,320,2,293
	15,0	RP-C18	АН+В+ДЭА=50+50+0,1	УФ-247	JCHR,1980,193,2,255
	15,0	N-C18	0,05М КДФ/рН2,8+АН=68+32	УФ-254	JCHR,1984,311,1,109
	15,0	Z-ODS, I-C18	0,1М КФБ/рН2,5+АН=7+3	УФ-254	*
Бетагистин	2,3	SF-S5W	0,01М АПХ/0,001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
Бетаксолол	9,0	SF-CN	АН+0,03М АБ/рН5,6=40+60	Ф-275/305	JCHR,1984,311,1,199
Бетаксолол (пр)	21,1	H-ODS	0,4% ТМДА/рН3,0+МЕ+ТГФ=34++52+14	Ф-285/330	JCHR,1986,374,2,321
Бетамепродин	11,3	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
Бетаметадол	15,3	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
Бетаметазон	14,1	RP-8	МЕ+В=6+4	УФ-254	JCHR,1980,183,2,131
Бетапродин	6,3	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
Бетацетилметадол	17,3	SF-5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
Бигуманъ (прогуанил)	5,1	H-ODS	0,175М ФБ/рН1,5/0,65 НДС+АН=+1+1	УФ-247	JCHR,1980,182,2,359
Бисантрен	12,2	B-C18	0,2М АА+АН=73+27	УФ-436	JCHR,1982,233,1,235
Бисакодил	15,1	I-C18	0,2М АА+АН=1+1	УФ-254	*
Блеомицин		B-C18	Гр 24—48%Б за 35 мин; А=0,005М НГС/0,5%УК/рН4,3; Б=0,005М НГС/0,5%УК/МЕ	УФ-280	JCHR,1985,337,1,182
Блеомицин и аналоги		B-C18	Гр 28—48% Б за 45 мин; А=0,005М НПС/0,5%УК Б=0,005М НПС/0,5%УК/МЕ	УФ-292	JCHR,1984,310,2,361
Бопиндолол	15,0	Z-CN	0,01М ХК+МЕ=11+9	Ф-220/320	JCHR,1983,273,2,469
Браллобарбитон	4,1	H-ODS	0,1М НДФ/рН3,5+МЕ=6+4	УФ-216	JCHR,1981,204,1,275
	4,1	H-SIL	ИО+УК+ИПС=200+3+2	УФ-216	JCHR,1981,204,1,275
Бромазепам	9,1	SU-C18	0,067М ФБ/рН7,5+МЕ=53+47	УФ-230	JCHR,1984,310,1,129
	9,1	B-C18	1%ТБАФ/рН7,5+МЕ+АН=700+20++300	УФ-230	JCHR,1983,277,1,414
	9,1	N-C18	МЕ	МС	JCHR,1985,323,1,81
Бромгексин	10,3	B-C18	0,005М НДС+МЕ+УК=25+75+0,1	УФ-245	JCHR,1982,249,2,373
Бромдифенгидрамин	12,3	L-CN	АН+В+ПА=90+10+0,1	УФ-254	JCSC,1980,18,3,139
Бромизовал (бромурал)	1,3	L-RP18	В+АН=3+1	УФ-210	JCHR,1981,223,2,473
Бромоприд	8,1	B-C18	ФБ/рН7,5+АН=60+40	УФ-275	JCHR,1984,310,2,353
Бромперидол	16,1	RP-C18	АН+В+ДЭА=50+50+0,1	УФ-247	JCHR,1980,193,2,255
Бромфенирамин	11,3	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
Бруцин	14,1	SF-A10Y	0,01М ТМАГ/ЛК/рН6+АН=25+75	Э	CHRA,1983,17,7,394
Буклизин	23,3	L-CN	ГП+МХ+АН+ПА=50+50+25+0,1	УФ-254	JCSC,1980,18,3,139
Буметанид	9,0	B-C18	МЕ+В+УК=70+30+1	Ф-340/425	JCHR,1980,183,1,118
Бупивакаин	12,3	B-C18	МЕ+0,05М НФ/рН5=60+40	УФ-254	JCHR,1984,311,1,218
	12,3	B-C18	0,3М ЭДТА/1%УК+АН+МЕ=8+1+1		JCSC,1983,21,4,145
Бупранолол	8,1	SD-CPS	АН+В+ФК=70+30+0,1	УФ-200	JCHR,1984,309,1,193
Бутадион (фенилбутазон)	13,3	M-CN10	ГК+МХ+АН+ПА=50+50+25+0,1	УФ-254	JCHR,1984,309,2,329
	13,3	L-RP18	МЕ+ФБ/рН4=63+37	УФ-254	JCHR,1983,275,1,201
	13,3	B-C18	0,01М НА/рН4+МЕ=30+70	УФ-254	JCHR,1980,183,3,331
Бутакаин	10,1	L-RP2	0,1М НТА/рН4+МЕ=6+4		JCSC,1983,21,4,145
Буталбитал	6,1	H-SIL	ИО+УК+ИПС=200+3+2	УФ-216	JCHR,1981,204,1,275
	6,1	H-ODS	0,1М НДФ/рН3,5+МЕ=6+4	УФ-216	JCHR,1981,204,1,275
Бутамид (толбутамид)	6,3	L-RP18	ФБ/рН6+АН=80+20	УФ-230	JCHR,1983,273,1,217

Продолжение таблицы 7.7

1	2	3	4	5	6
Бутамид	6,3	SIL	ГК+ТГФ+ЭТ+УК=95,5+2+1,5+ +0,9		AA,305
Бутаперазин	16,0	L-CN	0,2М АА/рН6,99+АН=10+90	УФ-254, Э	JCHR,1982,231,2,361
	16,0	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
Бутетамат	10,3	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
Бутобарбитон	3,1	H-SIL	ИО+УК+ИПС=200+3+2	УФ-216	JCHR,1981,204,1,275
	3,1	H-ODS	0,1М НДФ/рН3,5+МЕ=6+4	УФ-216	JCHR,1981,204,1,275
Бутофилолол	10,0	B-C18	МЕ+В=60+40	УФ-313	JCHR1983,278,2,301
Бутриптилин	17,0	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
	17,0	SF-S5W	ХК+МЕ+ГК=0,1+85+15	УФ-215	JCHR,1982,247,1,15
Буфломеднл	8,1	B-C18	0,008М НДС+АН+УК=52+48+ +0,1	УФ-275	JCHR,1982,228,1,387
Буфотенин	5,1	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
Буфуралол	9,1	S-ODS	0,02М АДФ/рН9,2+МЕ=1+3	Ф-250/300	JCHR,1980,221,2,327
Вазопрессии		N-C18	0,05М АА/рН6,5+МЕ=61+39	УФ-220	JCHR,1980,193,3,427
Ванкомицин		B-C18	0,01М ГСК+АН=88+12	УФ-280	JCHR,1982,231,2,463
Ванкомицин и аналоги		L-RP8	0,1М АФ/рН7,3+АН=9+1		SH-84,71
Варфарин		P-SI	ГК+ЭТ=93,5+6,5	УФ-280	JCHR,1982,228,1,346
Верапамил	16,2	SF-S5W	ХК+МЕ+ГК=0,02+85+15	УФ-215	JCHR,1982,247,1,15
	16,2	SF-S5W	МЕ+ХК=99,98+0,02	Ф-200/-	JCHR,1985,345,1,187
	16,2	L-DIOL	МЕ+АН+0,001М ДАГФ/рН6,6= =70+10+30	Ф-280/314	JCHR,1985,337,2,412
	16,2	P-SCX	АН+ДЭА+УК+В=200+0,86+ +0,57+798,6	Ф-206/-	JCHR,1983,275,1,195
	16,2	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
	16,2	U-ODS	АН+0,1М КФ/рН3=34+66	Ф-203/320	JCHR,1985,337,1,160
Видарабин	−2,6	L-RP8	0,005М НПС/рН7,2+АН=96+4	УФ-250	JCHR,1982,229,2,487
Влоксазин	5,0	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
Винбарбитон	2,1	H-SIL	ИО+УК+ИПС=200+3+2	УФ-216	JCHR,1981,204,1,275
	2,1	H-ODS	0,1М НДФ/рН3,5+МЕ=6+4	УФ-216	JCHR,1981,204,1,275
Виикамин	13,0	B-C18	0,01М АК+АН=4+6	УФ-280	JCHR,1981,204,1,341
	13,0	B-C18	НДФ/рН3,5+АН=65+35	УФ-232	JCHR,1982,228,1,413
Витамин В13	−3,9	SH-RSPAK	0,55М НГФ/0,045М КДФ	УФ-254	AA,312
Витамин К1	25,3	RSIL	МХ		AA,278
	25,3	A-C18	МЕ+В=97+3		AA,271
	25,3	SF-S5W	ГК+МХ=3+1	УФ-250	JCHR,1980,200,1,293
	25,3	Z-ODS	МХ+АН=3+7	УФ-250	JCHR,1980,200,1,293
(филлохинон)					
Галазолин (ксилометазолии)	10,4	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
Галламин	20,2	B-C18	0,05М ОСК/0,05М НГФ/рН6+АН= =98+2	УФ-230	JCHR,1985,345,1,184
Галопемид	15,0	L-RP18	0,02М МПС/0,2%ДА+МЕ=30+70	УФ-254	JCHR,1985,320,2,305
Галоперидол	16,1	RP-C18	АН+В+ДЭА=50+50+0,1	УФ-247	JCHR,1980,193,2,255
	16,1	SF-CN	0,01М КДФ/рН7+АН+МЕ=40+48+ +12	УФ-229	JCHR,1984,311,2,424
	16,1	RP-C18	АН+0,1М КДФ/рН3,8=55+45	УФ-196	JCHR,1986,374,2,405
	16,1	L-CN	0,2М АА/рН6,99+АН=10+90	УФ-254, Э	JCHR,1982,231,2,361
	16,1	L-RP18	0,02М МПС/0,2%ДА+МЕ=50+50	УФ-254	JCHR,1985,320,2,293
	16,1	*L-RP18*	*МЕ+ФБ/рН8,2*		DS85,104
	16,1	L-SI60	*МЕ+АН/0,002М КБ=10+90*	*УФ-244*	*JCHR,1984,308,387*
	16,1	RP-C18	АН+В=60+40	УФ-254	JCHR,1980,190,2,481
Галцинонид	6,3	SU-LC18	МЕ+0,1М КДФ+ТЭА=45+55+0,1	УФ-254	SU24,131
Гексамидин (примидон)	6,3	M-CN10	ГК+МХ+АН+ПА=50+50+25+0,1	УФ-254	JCHR,1984,309,2,329
	6,3	RP-C8	АН+0,05М НА/рН7,5=38+62	УФ-215	JCHR,1985,336,1,229
	6,3	EC-C8	0,1М КДФ/рН4,4+МЕ+ТЭА=61+ +38,99+0,01		AA,275
Гексенал (гексобарбитон)	5,1	H-ODS	0,1М НДФ/рН3,5+МЕ=6+4	УФ-216	JCHR,1981,204,1,275
	5,1	H-SIL	ИО+УК+ИПС=200+3+2	УФ-216	JCHR,1981,204,1,275
	5,1	N-C18	0,0035М НДФ/рН3,0+АН=67+33	УФ-238	JCHR,1982,228,1,350
Гексетал	5,1	H-ODS	0,1М НДФ/рН3,5+МЕ=6+4	УФ-216	JCHR,1981,204,1,275
	5,1	H-SIL	ИО+УК+ИПС=200+3+2	УФ-216	JCHR,1981,204,1,275
Гексилканн	10,3	B-CN	ОА/ФБ/рН2,9+АН=85+15	УФ-254	JCHR,1983,257,2,400
Гентамнцин (пр)		P-SCX	0,5% ФК+АН=3+7	Ф-275/418	JCHR,1981,223,1,131
		B-C18	0,005М НОС/рН2,5+АН=85+15	Ф-365/440	JCHR,1982,227,1,244
Гентамицин С		U-ODS	2,5%НГС/5%УК+МЕ=2+8	УФ-330	JCHR,1983,281,1,381
Гептабарбитон	6,1	H-ODS	0,1М НДФ/рН3,5+МЕ−6+4	УФ-216	JCHR,1981,204,1,275
	6,1	H-SIL	ИО+УК+ИПС=200+3+2	УФ-216	JCHR,1981,204,1,275
Гептаминол (пр)		Z-C8	0,05% НА/рН6,1+АН=55+45	Ф-338/445	JCHR,1983,274,1,179
		L-RP18	0,0125М ФБ/рН7,2+МЕ=30+70	УФ-330	JCHR,1982,244,1,148
Героин	11,0	L-RP2	0,1М НТА/рН4,3+МЕ=6+4		JCSC,1983,21,4,145
Гидрокортизон (кортизол)	12,1	A-C18	МЕ+В=70+30		AA,271
	12,1	B-C18	МЕ+В=45+55	УФ-254	JCHR,1982,227,1,11

1	2	3	4	5	6
Гидрокортизон	12,1	SIL	БХ+ТГФ+МЕ+УК=87+6,7+3,4+ +2,9		AA,305
Гидроксизин	14,0	B-C18	0,1%АК/pH7+АН=1+1	УФ-254	JCHR,1982,242,2,364
Гикантон	12,0	L-RP2	0,01М АБ/pH4+АН=1+1	УФ-257	JCHR,1980,183,3,372
Гимекромон	4,3	B-C18	0,01М ТБАБ/pH4,7+МЕ=6+4	УФ-254, 280	JCHR,1983,278,2,452
Гистапирродин	13,3	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
Глауцин	12,1	L-SI60	ГК+МЕ+ТГФ+ДЭА=88,5+7,5+ +4,0+0,15	Ф-310/340	JCHR,1984,308,1,273
Глафенин	11,1	SF-C18	МЕ+В+УК=67+23+10	УФ-360	JCHR,1981,224,2,348
Глибенкламид	16,0	L-RP18	ФБ/pH6+АН=80+20	УФ-230	JCHR,1983,273,1,217
	16,0	SF-ODS	0,07М ФБ/pH7+АН=5+2	УФ-200	JCHR,1982,227,1,93
Глибонурид	10,0	L-RP8	МЕ+В=7+3	УФ-230	JCHR,1980,183,1,115
Гликлазид	8,1	AE	1,2М АПХ+МЕ+АН=7+3+4	УФ-227	JCHR,1980,183,4,467
Глутетнмид	6,1	P-ODS	АН+КДФ/pH3,2=45+55	УФ-210	SH84,25
Госсипол	18,7	L-RP8	МЕ+0,1М ЦБ/pH3,2=80+20	Э	JCHR,1985,343,2,387
Грандаксин	12,2	L-RP8	1%АК+В+АН=10+50+40	УФ-231	JCHR,1981,210,1,159
	12,2	L-SI60	ГП+ИПС+МЕ=70+10+1	УФ-311	JCHR,1981,222,2,303
	12,2	SF-S10W	ГК+ДО+АН+МЕ+АМ=67+25+ +5+3+0,02	УФ-231	JCHR,1981,210,1,159
Гуайяфензин	2,0	B-C18	АФБ+МЕ=55+45	УФ-280	JPSC,1980,69,2,212
	2,0	L-RP8	0,01М ЦБ+МЕ=6+4	УФ-275	JCHR,1981,224,1,144
Дамилен (амитриптилин)	16,0	SF-S5W	ХК+МЕ+ГК=0,1+85+15	УФ-215	JCHR,1982,247,1,15
	16,0	RPK-SI	0,025М БУА+МЕ=20+80	УФ	ANCH,1982,54,3,447
	16,0	AS-C18	АН+АМ=99,3+0,7	УФ-218	AA,267
	16,0	SU-LC-PCN	АН+МЕ+0,01М КГФ/pH7=60+15+ +25	УФ-215	SU24,131
	16,0	M-CN10	ГК+МХ+АН+ПА=25+50+25+0,1	УФ-254	JCHR,1984,309,2,329
	16,0	SF-S5W	МЕ+ХК=99,98+0,02	Ф-200/-	JCHR,1985,345,1,187
	16,0	L-CN	0,2М АА/pH6,99+АН=10+90	УФ-254, Э	JCHR,1982,231,2,361
	16,0	SF-CN	0,01М КДФ/pH7+АН+МЕ=40+48+ +12	УФ-229	JCHR,1984,311,2,424
	16,0	L-SI60	МЕ+АН/0,002М КБ=10+90	УФ-244	JCHR,1984,308,1,387
	16,0	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
	16,0	EC-CN	МЕ+АН+0,012М КДФ/pH6,7=43+ +40+17		AA,275
Дантролен	5,1	L-RP18	0,1М АБ/pH7,4+МЕ=1+1	УФ-310	JCHR,1982,228,1,404
	5,1	RP-C8	ФБ/pH6,8+АН=2+1	УФ-375	JCHR,1982,231,2,401
Дезаминоокситоцин		Z-C8	0,2М АА/pH5+АН=8+2	УФ-215	*
Дезипрамин	12,3	SF-S5W	МЕ+ХК=99,98+0,02	Ф-200/-	JCHR,1985,345,1,187
	12,3	EC-CN	МЕ+АН+0,012М КДФ/pH6,7=43+ +40+17		AA,275
	12,3	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
	12,3	L-CN	0,02М КДФ+АН=55+45	Э	ANCH,1981,53,7,960
	12,3	AS-C18	АН+АМ=99,3+0,7	УФ-218	AA,267
	12,3	SU-LC-PCN	АН+МЕ+0,01М КГФ/PH7=60+15+ +25	УФ-215	SU24,131
	12,3	SF-S5W	ХК+МЕ+ГК=0,1+85+15	УФ-215	JCHR,1982,247,1,15
	12,3	SF-CN	0,01М КДФ/pH7+АН+МЕ=40+48+ +12	УФ-229	JCHR,1984,311,2,424
	12,3	RPK-SI	0,025М БУА+МЕ=20+80	УФ	ANCH,1982,54,3,447
Дезметилдоксепин	5,0	SU-LC-PCN	АН+МЕ+0,01М КГФ/pH7=60+15+ +25	УФ-215	SU24,131
Дезметилнапроксен		L-RP18	0,02М ФБ/pH3+МЕ=1+1	Ф-275/410	JCHR,1982,229,1,129
11-Дезоксипростаглан- дин E_1	13,1	Z-ODS	0,2%ФК+АН=65+35	Р, УФ-210	*
Декстрометорфан	12,3	B-C18	АФБ+МЕ=55+45	УФ-280	JPSC,1980,69,2,212
Декстропропоксифен	16,3	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,191
	16,3	SF-S5W	ХК+МЕ+ГК=0,02+85+15	УФ-215	JCHR,1982,247,1,15
Демекарий	22,0	B-CN	0,1М НА/pH4,5+АН=50+50	УФ-254	JCHR,1985,321,2,401
Демеклоциклин	11,0	SU-LC18-DB	ТГФ+АН+0,005М НГФ/pH2= =9+9+82	УФ-254	SU24,132
	11,0	VT-RP	0,001М ЭДТА/pH6,6+МЕ=82+18	УФ-380	CHRA,1982,15,6,367
	11,0	L-RP8	0,1М ЛК+АН=75+25	УФ-350	JCHR,1980,195,1,35
Демоксепам	10,3	SU-LC8	МЕ+АН+0,005М КДФ/pH6=26,5+ +16,5+57	УФ-245	SU24,131
Диакарб (ацетазоламид)	−4,0	U-ODS	0,05М АБ/pH4,5+АН=90+10	УФ-254	JCHR,1981,225,1,231
Диафенилсульфон	5,1	V-C18	АН+УК+В=22,6+1,9+75,5		AA,281
(дапсон)	5,1	B-C18	1,5%УК+АН=74+26	УФ-280	JCHR,1980,182,1,130
Дибензепин	11,1	SF-5SW	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
Дигидрокодеин	10,0	SF-A10Y	0,01М ТМАГ/ЛК/pH6+АН=25+75	Э	CHRA,1983,17,7,394
Дигидроморфин	9,0	SF-A10Y	0,01М ТМАГ/ЛК/pH6+АН=25+75	Э	CHRA,1983,17,7,394

1	2	3	4	5	6
Дигидрострептомицин		L-RP18	0,02М НГС/ФБ/рН6+АН=92+8	УФ-195	JCHR,1981,219,1,89
Дигидрохинин	12,0	B-C18	МЕ+В+УК=20+80+1	УФ-254	JCHR,1980,189,2,241
Дигидрохинидин	12,0	B-C18	МЕ+В+УК=20+80+1	УФ-254	JCHR,1980,189,2,241
Дигитоксин		V-C18	АН+В=37+63		AA,280
Дигоксин		V-C18	АН+В=37+63		AA,280
Дигоксин и аналоги (пр)		RP	АН+МЕ+В=3+1+1	УФ-230	JCSC,1983,21,11,495
Дизопирамид	14,1	U-ODS	0,05М УК+0,05М ФА+В+АН=9+ +13,5+22,5+55	УФ-254	JCHR,1983,274,1,219
	14,1	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
	14,1	B-CN	АН+МЕ+ФБ/рН7=625+155+220	УФ-254	JCHR,1984,309,1,81
Диканн (аметокаин)	8,1	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
	8,1	B-C18	0,3М ЭДТА/1%УК+АН+МЕ=8+ +1+1		JCSC,1983,21,4,145
(тетраканн)	8,1	RPK-SI	0,004М АДФ/рН7,8+АН=4+6	УФ	ANCH,1982,54,3,442
Диклоксациллин	12,1	L-RP8	0,02М НА/рН5,5+МЕ=10+8	УФ-220	JCHR,1980,183,3,339
	12,1	RP-2	0,05М КДФ/рН4,5+АН=75+25	УФ-337	JCHR,1984,283,1,449
	12,1	RP-2	0,05М ФБ/рН4,5+АН=80+20	УФ-254	JCHR,1982,246,1,157
	12,1	N-5C18	0,05М ФБ/рН7+АН=75+25		AA,286
Диклофенак	10,3	L-RP18	5%УК+МЕ=4+6	УФ-254	JCHR,1980,221,2,431
	10,3	RP-18	АН+0,05М АБ/рН4,5=50+50	УФ-254	JCHR,1985,345,1,77
Дилтназем	14,0	Z-CN	МЕ+0,05М АДФ+ТЭА=45+55+ +0,25	УФ-237	JCHR,1983,272,1,149
Димедрол (дифенгидрамин)	11,3	L-CN	АН+В+ПА=90+10+0,1	УФ-254	JCSC,1980,18,3,139
	11,3	L-CN	ГП+МХ+АН+ПА=50+50+25+0,1	УФ-254	JCSC,1980,18,3,139
	11,3	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
Диметизохин	10,1	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
Диметилтиамбутен	10,0	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
Диметинден	14,3	L-CN	ГП+МХ+АН+ПА=50+50+25+0,1	УФ-254	JCSC,1980,18,3,139
	14,3	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
Диметотиазин	12,1	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
Динезин (диэтазин)	12,3	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
Динпанон	18,3	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
Дипиридамол (персантии)	10,1	U-ODS	0,01М ТМД/0,02М ФБ/рН2,9+АН= =2+1	УФ-280	JCHR,1982,231,1,216
	10,1	A-C18	МЕ+В+АМ=70+30+0,2		AA,271
Дипироксим	6,0	L-RP18	0,046М НОС/рН4,8+МЕ=7+3	УФ-304	JCHR,1981,225,1,107
Дипразин (прометазин)	11,3	P-ODS	АН+КДФ/рН3,2=45+55	УФ-210	SH-84,25
	11,3	L-CN	0,2М АА/рН6,99+АН=10+90	УФ-254, Э	JCHR,1982,231,2,361
	11,3	RPK-SI	0,004М АДФ/рН7,8+АН=4+6	УФ	ANCH,1982,54,3,442
	11,3	B-CN	АН+МЕ+ФБ/рН7=625+155+220	УФ-254	JCHR,1984,309,1,81
	11,3	SF-S5W	ХК+МЕ+ГК=0,1+85+15	УФ-215	JCHR,1982,247,1,15
	11,3	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
	11,3	L-CN	0,02М КДФ+АН=55+45	Э	ANCH,1981,53,7,960
	11,3	L-CN	ГП+МХ+АН+ПА=50+50+25+0,1	УФ-254	JCSC,1980,18,3,139
	11,3	M-CN10	ГК+МХ+АН+ПА=25+50+25+0,1	УФ-254	JCHR,1984,309,2,329
Диприван	8,0	H-ODS	АН+В+ТФУК=80+20+0,1	УФ-276	JCHR,1981,223,1,232
Дистамицин А	10,7	SF-C18	ФБ/рН2,9+ЭТ=72+28	УФ-303	JCHR,1983,262,2,347
Дитиаден	14,0	I-SI600	ГК+МЕ+ПС+ХК=65+35+10+0,02	УФ-254	JCHR,1980,189,1,137
Дифенилпиралин	13,3	L-CN	АН+В+ПА=90+10+0,1	УФ-254	JCSC,1980,18,3,139
	13,3	L-CN	ГП+МХ+АН+ПА=50+50+25+0,1	УФ-254	JCSC,1980,18,3,139
Дифенин (фенитоин)	8,3	Z-CN	АН+МЕ+0,007М ФК=10+30+60	УФ-195	JCHR,1983,276,1,445
	8,3	Z-CN	АН+ИПС+ГК=5+10+85	УФ-200	JCHR,1983,276,1,445
	8,3	B-CN	АН+МЕ+ФБ/рН7=625+155+220	УФ-254	JCHR,1984,309,1,81
	8,3	RP-C18	В+АН=70+30	УФ-195	JCHR,1983,275,1,450
Дифиллин	−1,3	V-C18	АН+В=9+91		AA,281
	−1,3	SU-LC18	ТГФ+АН+0,00175М ФК=1+1+98	УФ-254	SU24,136
Дифлунизал	9,3	RP-18	АН+0,05М АБ/рН4,5=50+50	УФ-254	JCHR,1985,345,1,77
	9,3	S-ODS	0,1М ФК+МЕ+ТГФ=33,3+50+16,7	УФ-254	JCHR,1983,278,2,439
Дихлотиазид (гидрохлортиазид)	1,1	L-RP18	МЕ+В=45+55	УФ-275	JCHR,1985,325,2,395
Диэтилтиамбутен	12,0	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
Диэтон	6,1	I-C18	В+АН=1+1	УФ-254	*
	6,1	I-SI600	ГК+ИПС=85+15	УФ-254	*
Доксепин	13,3	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
	13,3	EC-CN	МЕ+АН+0,012М КДФ/рН6,7=43+ +40+17		AA,275
	13,3	SF-S5W	ХК+МЕ+ГК=0,1+85+15	УФ-215	JCHR,1982,247,1,15
	13,3	SF-CN	0,01М КДФ/рН7+АН+МЕ=40+ +48+12	УФ-229	JCHR,1984,311,2,424
	13,3	SU-LC-PCN	АН+МЕ+0,01М КГФ/рН7=60+15+ +25	УФ-215	SU24,131
Доксиламин	10,1	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191

1	2	3	4	5	6
Доксициклин	10,3	VT-RP	0,001М ЭДТА/pH6,6+МЕ=82+18	УФ-380	CHRA,1982,15,6,367
	10,3	L-RP8	0,1М ЛК+АН=75+25	УФ-350	JCHR,1980,195,1,35
	10,3	SU-LC18-DB	ТГФ+АН+0,005М НГФ/pH2=9+9+82	УФ-254	SU24,132
Домперидон	14,1	L-RP18	0,02М МПС/0,2%ДА+МЕ=30+70	УФ-254	JCHR,1985,320,2,305
Допак	1,1	SU-LC18	МЕ+0,07М КДФ/0,001М ГСК/pH3=10+90	УФ-280	SU24,131
Досулепин	15,0	I-SI600	ГК+МЕ+ПС+ХК=65+35+10+0,02	УФ-254	JCHR,1980,189,1,137
Дотнепин	15,0	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
	15,0	SF-S5W	ХК+МЕ+ГК=0,1+85+15	УФ-215	JCHR,1982,247,1,15
Дофамин	1,1	B-C18	МЕ+0,05М ТМАГ/pH6,1=20+80	Э	JCHR,1980,188,2,420
	1,1	SU-LC18	МЕ+0,07М КДФ/0,001М ГСК/pH3=10+90	УФ-280	SU24,131
Дроперидол	15,0	RP-C18	АН+В+ДЭА=50+50+0,1	УФ-247	JCHR,1980,193,2,255
Зомакс	9,1	RP-18	АН+0,05М АБ/pH4,5=50+50	УФ-254	JCHR,1985,345,1,77
Зомепирак	10,4	P-ODS	0,01М АБ/pH4+МЕ=55+45	УФ-254	JCHR,1983,272,1,210
	10,4	U-ODS	МЕ+0,01М ТБАГС/0,05М НА/pH4,5=58+42	УФ-313	JCHR,1984,307,2,371
	10,4	B-C18	АН+ФК/В/pH2,8=50+75	УФ-254	JCHR,1983,275,1,217
Ибомал	4,1	H-ODS	0,1М НДФ/pH3,5+МЕ=6+4	УФ-216	JCHR,1981,204,1,275
	4,1	H-SIL	ИО+УК+ИПС=200+3+2	УФ-216	JCHR,1981,204,1,275
Ибупрофен	9,0	RP-C18	АН+В+МЕ+ФК=58+37+5+0,05	УФ-196	JCHR,1985,344,1,408
	9,0	RP	0,1М НА/pH6,4+АН=65+35	УФ-220	JCHR,1984,308,1,350
	9,0	RP-18	АН+0,05М АБ/pH4,5=50+50	УФ-254	JCHR,1985,345,1,77
	9,0	RPK-C18	ФК+В+АН=1+500+500	УФ-220	JCHR,1984,311,2,443
Идобутал	4,1	H-ODS	0,1М НДФ/pH3,5+МЕ=6+4	УФ-216	JCHR,1981,204,1,275
	4,1	H-SIL	ИО+УК+ИПС=200+3+2	УФ-216	JCHR,1981,204,1,275
Изадрин (изопротеренол)		CAT	0,25М НДФ/pH4,3	Ф	JCHR,1982,231,1,121
D-изоаскорбиновая кислота	−3,8	RPK-C18	0,04М АБ/0,001М ДА+МЕ=85+15	Э	JCHR,1982,245,3,355
Изоксепак	9,1	RPK-C18	МЕ+В+УК=55+45+2	УФ, Ф	JCHR,1981,225,2,482
	9,1	L-RP18	5%УК+МЕ=4+6	УФ-254	JCHR,1980,221,2,431
Изоксикам	4,2	B-C18	ТГФ+0,05М ГСК+УК=50+49+1	УФ-320	JCHR,1984,305,1,145
Изометадон	15,3	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
Изониазид	−0,9	Z-CN	МЕ+В+УК=40+59+1	УФ-330	JCHR,1984,307,1,137
	−0,9	B-C18	МЕ+0,005М ГСК=5+95	УФ-280	JCHR,1982,232,2,369
	−0,9	B-C18	МЕ+0,1М КДФ=5+95	УФ-254	JCHR,1981,226,2,250
Изотипендил	9,1	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
Имизин (имипрамин)	13,3	SF-CN	0,01М КДФ/pH7+АН+МЕ=40++48+12	УФ-229	JCHR,1984,311,2,424
	13,3	SU-LC-PCN	АН+МЕ+0,01М КГФ/pH7=60+15++25	УФ-215	SU24,131
	13,3	SF-S5W	МЕ+ХК=99,98+0,02	Ф-200/-	JCHR,1985,345,1,187
	13,3	M-CN10	ГК+МХ+АН+ПА=25+50+25+0,1	УФ-254	JCHR,1984,309,2,329
	13,3	AS-C18	АН+АМ=99,3+0,7	УФ-218	AA,267
	13,3	L-CN	0,02М КДФ+АН=55+45	Э	ANCH,1981,53,7,960
	13,3	EC-CN	МЕ+АН+0,012М КДФ/pH6,7=43++40+17		AA,275
	13,3	RPK-SI	0,025М БУА+МЕ=20+80	УФ	ANCH,1982,54,3,447
	13,3	SF-S5W	ХК+МЕ+ГК=0,1+85+15	УФ-215	JCHR,1982,247,1,15
	13,3	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
	13,3	L-CN	0,2М АА/pH6,99+АН=10+90	УФ-254, Э	JCHR,1982,231,2,361
Имипенем	1,4	H-ODS	0,2М ББ/pH7,2	УФ-313	JCHR,1984,310,1,71
Индапамид	4,0	Z-ODS, L-C18	0,1М НА/pH3,6+АН=65+35	УФ-241	JCHR,1982,230,1,181
	4,0	B-C18	АН+В/pH2,8=35+65	УФ-254	JCHR,1982,228,1,377
Индеканнид	13,3	Z-C8	0,25М АА/pH6+АН+МЕ+ТГФ=60+20+16+4	УФ-270	JCHR,1985,337,2,329
Индобуфен	12,4	RPK-ODS	0,01М ФБ/pH3+АН=45+55	УФ-280	JCHR,1980,182,2,262
Индометацин	12,0	RP-18	АН+0,05М АБ/pH4,5=50+50	УФ-254	JCHR,1985,345,1,77
	12,0	U-C8	АН+0,1М НА/pH5=30+70	Ф-305/370	JCHR,1984,306,1,315
	12,0	B-C18	АН+0,01М УК=70+30	УФ-250	JCHR,1986,375,1,101
Индопрофен	11,4	RPK-ODS	0,01М ФБ/pH3+АН=45+55	УФ-280	JCHR,1980,182,2,262
	11,4	RP-18	АН+0,05М АБ/pH4,5=50+50	УФ-254	JCHR,1985,345,1,77
Иодамид	8,1	L-RP8	0,01М ТБАГС/0,01М ТРИС+МЕ=+15+85	УФ-254	JCHR,1980,182,2,492
Иодпирацет	2,1	L-RP8	0,01М ТБАГС/0,01М ТРИС+МЕ=15+85	УФ-280	JCHR,1980,182,2,492
Иприндол	13,4	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
Камфора	6,0	Z-CN	ГП	Р	CBM,229
Каидицидии		N-C18	0,05М АА/pH4,6+АН=625+375	УФ-254	JCHR,1980,189,2,249
Каптоприл	3,4	P-ODS2	МЕ+В+85% ФК=50+50+0,05	УФ-220	JCHR,1981,206,2,311
Карбамазепин	9,4	SU-LC8	МЕ+0,1М КДФ+ТЭА=45+55+0,1	УФ-254	SU24,131

Продолжение таблицы 7.7

1	2	3	4	5	6
Карбамазепин	9,4	L-RP8	Гр 18%-23%Б за 6 мин; А=В; Б=АН	УФ-207	JCHR,1984,305,1,127
	9,4	M-CN10	ГК+МХ+АН+ПА=50+50+25+0,1	УФ-254	JCHR,1984,309,2,329
Карбенициллин	9,0	Z-C8	ФБ/рН7+МЕ=95+5	УФ-254	JCHR,1982,244,2,299
Карбомал	2,3	V-C18	АН+В=5+5		AA,281
Карминомицин	13,4	B-C18	0,1М АА/рН4+АН=6+4	Ф-470/550	JCHR,1981,223,1,155
Каротин	40,0	U-ODS	МЕ+ХЛ=10+3	УФ-465	LC-84,168
Карпипрамин	20,0	Z-SIL	МХ+МЕ+АМ=90+10+0,2	УФ-250	JCHR,1980,183,2,246
Карпрофен	10,3	L-SI60	МХ+МЕ+УК=98+1+1	Ф-305/375	JCHR,1983,276,1,230
	10,3	RP-18	АН+0,05М АБ/рН4,5=5+5	УФ-254	JCHR,1985,345,1,77
Карфеиазин	15,1	L-CN	0,2М АА/рН6,99+АН=1+9	УФ-254, Э	JCHR,1982,231,2,361
	15,1	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
Кетансерин	15,0	N-SIL	УК+0,17М АА+АН=5+1+4	Ф-310/370	JCHR,1985,341,1,208
	15,0	B-PHENYL	КДФ/рН2,3+АН=7+3	УФ-254	JCHR,1982,232,1,186
	15,0	CSP-C8	АН+В+УК+ДЭА=550+450+0,4++0,6	УФ-214	JCHR,1983,277,1,396
Кетоконазол	17,4	U-ODS	В+МЕ+ДЭА=25+75+0,1	УФ-240	JCHR,1984,306,1,436
	17,4	B-CN	0,05М ФБ/рН6+АН=65+35	УФ-205	JCHR,1980,221,2,337
Кетопрофен	10,3	RP-18	АН+0,05М АБ/рН4,5=5+5	УФ-254	JCHR,1985,345,1,77
	10,3	L-RP18	5%УК+МЕ=4+6	УФ-254	JCHR,1980,221,2,431
Клебоприд	13,0	L-RP18	0,02М МПС/0,2%ДА+МЕ=5+5	УФ-254	JCHR,1985,320,2,293
Клиндамицин		B-C18	0,035М УК/0,005М НКС+МЕ=4++6	Р	JCHR,1980,202,1,99
Клиохинол	5,4	SIL	0,1М ЛК+МЕ+ГК=8+86+6	УФ-254	JCHR,1982,229,1,159
Клобазам	10,4	B-C18	АН+В=47+53	УФ-230	JCHR,1985,343,2,369
Клозапин	11,0	SF-CN	0,01М КДФ/рН7+АН+МЕ=40++48+12	УФ-229	JCHR,1984,311,2,424
Клокапрамин	21,0	Z-SIL	МЕ+УК+НА=200+0,3+0,1	УФ-252	JCHR,1983,274,1,413
Клометоциллин	11,0	Z-C8	ФБ/рН7+МЕ=1+1	УФ-254	JCHR,1982,244,2,299
Кломипрамин	14,4	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
	14,4	SF-S5W	ХК+МЕ+ГК=0,1+85+15	УФ-215	JCHR,1982,247,1,15
Кломифен	21,4	Z-SIL	ХЛ+МЕ=8+2	Ф (пр)	JCHR,1981,225,1,131
Клоназепам	9,1	SF-S5W	ХК+МЕ+ГК=0,02+85+15	УФ-215	JCHR,1982,247,1,15
	9,1	L-CN	0,02М КДФ+АН=55+45	Э	ANCH,1981,53,7,960
Клопентиксол	15,1	B-CN	АН+МЕ+ФБ/рН7=625+155+220	УФ-254	JCHR,1984,309,1,81
	15,1	SF-S5W	ГП+ИПС+АМ+В=85+15+0,4+0,2	УФ-254	JCHR,1980,183,2,239
Клофазимин	21,0	B-C18	0,5%УК+ТГФ=6+4	УФ-287	JCHR,1981,223,2,379
	21,0	U-C8	0,0425М ФК/рН2,4+МЕ=19+81	УФ-285	JCHR,1982,229,2,503
Клофелии (клонидин)	4,1	S-ODS	0,02М КДФ+АН=37,5+62,5	УФ-210	JCHR,1982,231,1,210
Кодеии	10,0	B-C18	ФБ/рН2,35+МЕ=93+7	УФ-214	JCHR,1985,348,253
	10,0	AS-HSC18	0,02М КДФ/рН3+АН=76+24		AA,269
	10,0	PS-SIL	МХ+МЕ+АМ=90+10+0,1	УФ-254	JCHR,1983,274,1,372
	10,0	L-SI60	ДХЭ+МЕ+УК+ДЭА+В=80+20++1+0,5+1		JCSC,1983,21,4,145
	10,0	L-RP2	0,1М НТА/рН4,3+МЕ=6+4		JCSC,1983,21,4,145
	10,0	N-C18	1%АА/рН5,8+АН=65+35	УФ-254	JCHR,1980,190,1,251
	10,0	N-CN	1%АА/рН5,8+АН+ДО=8+1+1	УФ-254	JCHR,1980,190,1,251
Коканн	10,1	V-C18	0,25М КДФ/рН2,7+АН=83+17		AA,281
	10,1	AS-HSC18	0,02М КДФ/рН3+АН=76+24		AA,269
	10,1	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
	10,1	L-RP2	0,1М НТА/рН4,3+МЕ=6+4		JCSC,1983,21,4,145
	10,1	B-C18	0,3М ЭДТА/1% УК+АН+МЕ=8++1+1		JCSC,1983,21,4,145
	10,1	SF-A10Y	0,01М ТМАГ/ЛК/рН6+АН=25+75	Э	CHRA,1983,17,7,394
Келтерол	4,0	U-ODS	0,1М НС/0,01% ЭДТА/рН3+МЕ=88+12	Э	JCHR,1983,273,2,481
Колхицин	12,2	B-C18	АН+МЕ+ФБ/рН6=16+5+79	УФ-350	JCHR,1980,188,1,280
Кортексолон	13,0	B-C18	МЕ+В=45+55	УФ-254	JCHR,1982,227,1,11
Кортизон	12,1	B-C18	МЕ+В=45+55	УФ-254	JCHR,1982,227,1,11
	12,1	Z-SIL	ГК+МХ+ЭТ+УК=26+69+3,4+1	УФ	JCHR,1984,306,1,345
Кофеин	0,0	N-50-5	ЭТ+В+МХ=47+17+36		AA,286
	0,0	SH-RSPAK DM614	0,035М НГФ/0,03М КДФ/В+АН=65+35		AA,312
	0,0	SH-RSPAK DM614	0,55М НГФ/0,045М КДФ/В+МЕ=65+35	УФ-254	AA,312
	0,0	AS-HSC18	0,01М КДФ/рН4,8+АН+ТГФ=94++4+2		AA,269
	0,0	SU-LC18	ТГФ+АН+0,00175М ФК=1+1+98	УФ-254	SU24,136
	0,0	V-C18	АН+ИПС+УК+В=4+4+1+91		AA,281
	0,0	RSIL-C18 HL	0,05М АГФ/рН5+МЕ=5+5		AA,277
	0,0	EC-C18	МЕ+В+УК=38+61+1		AA,275
Криптопин	11,2	N-C18	1%АА/рН5,8+АН=65+35	УФ-254	JCHR,1980,190,1,251

Продолжение таблицы 7.7

1	2	3	4	5	6
Криптошш	11,2	N-CN	1%АА/рН5,8+АН+ДО=8+1+1	УФ-254	JCHR,1980,190,1,251
	11,2	B-C18	Гр 3—57%Б за 15 мин; А=ФБ/рН2,5+МЕ=93+7; Б=МЕ+АН=93+7	УФ-254	CHRA,1985,20,5,289
Ксилазин	6,3	B-C18	2%УК/0,2%НГС+МЕ=55+45	УФ-225	JCHR,1981,222,2,308
Лабеталол	11,0	SF-S5W	ХК+МЕ+ГК=0,02+85+15	УФ-215	JCHR,1982,247,1,15
Левамизол	4,1	RP-C18	МЕ+0,05М АК=65+35	УФ-220	JCHR,1985,337,1,151
	4,1	SU-LC8-DB	0,05М КДФ/рН3+АН=88+12	УФ-254	SU24,132
	4,1	B-C18	УК/ГСК+МЕ=55+45	УФ-225	JCHR,1981,223,2,445
Левомепразин	12,1	N-C18	ПР+ТГФ+АН+0,1М АБ/рН3,5=0,1+1+68,9+30	Э	JCHR,1982,227,1,103
(метотримепразин)	12,1	L-CN	0,02М КДФ+АН=55+45	Э	ANCH,1981,53,7,960
(левомепромазин)	12,1	B-CN	АН+МЕ+ФБ/рН7=625+155+220	УФ-254	JCHR,1984,309,1,81
	12,1	N-C18	0,12%ПСК/рН3+АН=62+38	УФ-220	JCHR,1984,306,1,279
Левомицетин (хлорамфеникол)	5,0	SU-LC8-DB	МЕ+АН+0,02М ФК/0,02% ТЭА/рН3=5+17+78	УФ-254	JCHR,1980,181,1,123
	5,0	V-C18	МЕ+В=40+60		AA,281
		N-C18	0,05М АА/рН4,6+АН=625+375	УФ-254	JCHR,1980,189,2,249
Леворин	8,4	Z-ODS	0,04М НФ/рН3+АН+ТЭА=87+12+1	УФ-200	JCHR,1984,311,2,291
Лидокаин (лигноканн)	8,4	RPK-SI	0,004АДФ/рН7,8+АН=40+60	УФ	ANCH,1982,54,3,442
	8,4	L-RP2	0,1М НТА/рН4,3+МЕ=6+4		JCSC,1983,21,4,145
	8,4	SF-S5W	ХК+МЕ+ГК=0,02+85+15	УФ-215	JCHR,1982,247,1,15
	8,4	B-C18	0,3М ЭДТА/1%УК+АН+МЕ=8+1+1		JCSC,1983,21,4,145
		L-RP8	0,1М ЛК+АН=75+25	УФ-350	JCHR,1980,195,1,35
Лимециклин		B-C18	0,035М УК/0,005М НКС+МЕ=4++6	Р	JCHR,1980,202,1,99
Линкомицин	11,0	SF-CN	0,01М КДФ/рН7+АН+МЕ=40++48+12	УФ-229	JCHR,1984,311,2,424
Локсапин	6,3	N-RP8	В/рН2,7+АН=42,5+57,5	Ф-282/389	CHRA,1982,16,1—6,233
Лоназолак	11,1	SF-ODS	АН+0,1М АБ/рН3,5=50+50	УФ-300	JCHR,1983,277,1,427
Лонидамии		B-C18	0,06М НГФ+АН=60+40	УФ-230	JCHR,1981,226,2,155
Лоразепам	17,4	B-C18	ФБ/рН2,3+АН=3+2	УФ-196	JCHR,1981,223,2,454
Лоркаинид					
	17,4	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
	17,4	SF-S5W	ХК+МЕ+ГК=0,1+85+15	УФ-215	JCHR,1982,247,1,15
Мазиндол	10,1	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
Мапротилин	16,0	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
	16,0	N-C18	0,12%ПСК/рН3+АН=62+38	УФ-220	JCHR,1984,306,1,279
	16,0	B-CN	АН+МЕ+ФБ/рН7=625+155+220	УФ-254	JCHR,1984,309,1,81
	16,0	N	ГК+ЭТ=95+5	Ф-365/420	JCHR,1984,309,1,107
(пр)		SF-S5W	ХК+МЕ+ГК=0,1+85+15	УФ-215	JCHR,1982,247,1,15
	16,0	SF-S5W	ХК+МЕ+ГК=0,02+85+15	УФ-215	JCHR,1982,247,1,15
	16,0	SF-CN	0,01М КДФ/рН7+АН+МЕ=40++48+12	УФ-229	JCHR,1984,311,2,424
Мебеверин	16,1	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
	16,1	LC-RP8	0,05%ГА/ФК/рН5+МЕ=25+75	УФ-263	CHRA,1985,20,3,185
Мебендазол	5,0	L-RP8	0,017М АФ/рН55+МЕ=45+55	УФ-254	JCHR,1980,183,3,311
	5,0	RSIL-C18HL	МЕ+УК=95+5		AA,278
Мебикар	0,0	I-C18	0,05М ФБ/рН3+АН=95+5	УФ-200	*
Медосулепин	15,0	I-SI600	ГК+МЕ+ПС+ХК=6+35+10+0,02	УФ-254	JCHR,1980,189,1,137
Мезапам (медазепам)	11,4	SF-S5W	ХК+МЕ+ГК=0,1+85+15	УФ-215	JCHR,1982,247,1,15
	11,4	B-C18	0,0075М АБ/рН3,5+МЕ+ИПС	УФ-254, Э	JCHR,1981,222,2,179
Мезиламин	3,1	L-RP18	0,02М МПС/0,2%ДА+МЕ=30+70	УФ-254	JCHR,1985,320,2,293
Мезлоциллин	10,4	B-C18	0,05М ФБ/рН7+АН=73+27	УФ-220	JCHR,1982,228,1,409
Мезоридазин	13,0	M-CN10	ГК+МХ+АН+ПА=50+50+25+0,1	УФ-254	JCHR,1984,309,2,329
	13,0	L-CN	0,2М АА/рН6,99+АН=10+90	УФ-254, Э	JCHR,1982,231,2,361
	13,0	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
	13,0	SF-CN	0,01М КДФ/рН7+АН+МЕ=40+48++12	УФ-229	JCHR,1984,311,2,424
	13,0	B-CN	АН+МЕ+ФБ/рН7=625+155+220	УФ-254	JCHR,1984,309,1,81
Мексамин	4,1	Z-ODS	0,1М ФБ/рН2,5+АН=90+10	УФ-215	*
Мексилетин	5,3	SF-S5W	ХК+МЕ+ГК=0,02+85+15	УФ-215	JCHR,1982,247,1,15
	5,3	S-ODS	0,005М ГСК+АН+ТГФ=42+48+10	УФ-352	JCHR,1982,230,1,97
Мелатонин	5,1	I-C18	0,2М АА/рН5,0+АН=75+25	УФ-254	*
Мелперон	9,1	RP-C18	АН+В+ДЭА=50+50+0,1	УФ-247	JCHR,1980,193,2,255
Мелфалан	8,1	SF-ODS	0,0025М НДС/ФК/рН3+МЕ=1+4	УФ-263	JCHR,1982,232,2,345
	8,1	S-ODS	МЕ+В=4+6	Ф-260/350	JCHR,1981,224,3,338
	8,1	RP-C18	0,0175М УК+АН=80+20	УФ-263	JCHR,1981,222,3,453
Менахиноны (витамины группы К2)		SF-S5W	МХ+ГК=25+75	УФ-250	JCHR,1981,206,2,333
		Z-ODS	МХ+МЕ=30+70	УФ-250	JCHR,1981,206,2,333

1	2	3	4	5	6
Ментол	6,0	Z-SIL	ГП+ИПС=99+1	Р	CBM,229
Мепиксантон	12,0	SIL	АН+ИПС+ДЭА=50+50+0,004	УФ-237	JCHR,1984,309,1,214
Мепивакаин	9,4	L-RP2	0,1М НТА/рН4,3+МЕ=6+4		JCSC,1983,21,4,145
Мепирамин	9,0	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
	9,0	L-CN	АН+В+ПА=90+10+0,1	УФ-254	JCSC,1980,18,3,139
Мептазинол	9,4	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
Меридил (метилфенидат)	8,3	N-C18	АК+В+МЕ+АН=3+75+100+100	УФ-254	JCSC,1983,21,4,145
	8,3	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
6-Меркаптопурин	−3,9	L-RP18	НДФ+ИПС=97+3	Ф (пр)	JCHR,1982,233,1,249
	−3,9	H-ODS	АТ+УК+В/рН4=20+1+79	УФ-254	JCHR,1984,309,2,329
Мескалин	3,0	N-C18	АК+В+МЕ+АН=3+75+100+100	УФ-254	JCSC,1983,21,4,145
Местранол	15,4	SF-ODS	АН+ТГФ+В=33,5+16,5+50	УФ-280	JCSC,1980,18,11,631
Метадон	15,3	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
	15,3	B-CN	АН+МЕ+ФБ/рН7=625+155+220	УФ-254	JCHR,1984,309,1,81
Метаквалон (ревонал)	10,4	N-10C18	В+МЕ=45+55		AA,286
	10,4	SF-S5W	ХК+МЕ+ГК=0,1+85+15	УФ-215	JCHR,1982,247,1,15
Метамид	0,4	L-SI100	АН+МЕ+В+АМ=250+30+10+0,4	УФ-228	JCHR,1983,273,1,223
Метапирилен	7,1	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
	7,1	L-CN	АН+В+ПА=90+10+0,1	УФ-254	JCSC,1980,18,3,139
Метарбитон	2,1	H-ODS	0,1М НДФ/рН3,5+МЕ=6+4	УФ-216	JCHR,1981,204,1,275
	2,1	H-SIL	ИО+УК+ИПС=200+3+2	УФ-216	JCHR,1981,204,1,275
Метациклин	10,0	SU-LC18-DB	ТГФ+АН+0,005М НГФ/рН2=9+9+82	УФ-254	SU24,132
	10,0	L-RP8	0,1М ЛК+АН=75+25	УФ-350	JCHR,1980,195,1,35
Метдилазин	12,4	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
Метиламфетамин	6,0	SF-S5W	ХК+МЕ+ГК=0,02+85+15	УФ-215	JCHR,1982,247,1,15
	6,0	N-C18	АК+В+МЕ+АН=3+75+100+100	УФ-254	JCSC,1983,21,4,145
Метилдофа	2,0	B-C18	АН+В=24+76	УФ-280	JCHR,1986,374,1,191
Метилтестостерон	14,3	S-ODS	АН+ТГФ+В=33,5+16,5+50	УФ-280	JCSC,1980,18,11,631
Метилфенобарбитон	6,1	H-ODS	0,1М НДФ/рН3,5+МЕ=6+4	УФ-216	JCHR,1981,204,1,275
	6,1	H-SIL	ИО+УК+ИПС=200+3+2	УФ-216	JCHR,1981,204,1,275
Метиприлон	4,3	P-SIL	ГК+ТГФ+МЕ=72+6+2	УФ-214	JCHR,1983,278,2,458
Метилциллин	8,0	B-C18	АН+В=24+76	УФ-280	JCHR,1986,374,1,191
Метогекситал	7,1	B-C18	АН+В+УК=32,5+67+0,5	УФ-254	JCHR,1984,307,2,481
Метогекситон	7,1	H-SIL	ИО+УК+ИПС=200+3+2	УФ-216	JCHR,1981,204,1,275
	7,1	H-ODS	0,1М НДФ/рН3,5+МЕ=6+4	УФ-216	JCHR,1981,204,1,275
Метоклопрамид	7,0	L-RP18	0,02М МПС/0,2%ДА+МЕ=80+20	УФ-254	JCHR,1985,320 2,293
	7,0	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
	7,0	B-C18	ФБ/рН7,5+АН=60+40	УФ-275	JCHR,1984,310,2,353
Метолазон	10,1	N-C8	МЕ+В=1+1	Ф-230/420	JCHR,1981,222,2,311
	10,1	B-C18	1% КГФ+АН=60+40	УФ-236	JCHR,1981,226,2,526
Метопролол	7,0	SF-S5W	МЕ+ХК=99,98+0,02	Ф-200/-	JCHR,1985,345,1,187
	7,0	L-C18	НОС/ФК+МЕ=40+60	Ф-280/300	JCHR,1982,228,1,223
	7,0	RP-C18	В+АН+ТЭА=88+12+1	УФ-193	JCHR,1985,342,1,199
	7,0	SF-S5W	ХК+МЕ+ГК=0,02+85+15	УФ-215	JCHR,1982,247,1,15
	7,0	L-RP8	АН+0,008М НА/0,5М УК=75+25	Ф-225/320	JCHR,1984,305,2,411
	7,0	L-RP8	АН+В=70+30	УФ-222	JCHR,1984,309,1,198
	7,0	L-SI60	0,04М ТМОА/ФБ/рН2/0,01М НГС	УФ-270	JCHR,1982,245,1,45
Меторин (флуанизол)	13,0	RP-C18	АН+В+ДЭА=50+50+0,1	УФ-247	JCHR,1980,193,2,255
Метотрексат	7,4	B-C18	0,01М АФ+АН=9+1	УФ-308	JCHR,1982,231,1,103
Мефенамовая кислота (паркемед)	9,3	RP-18	АН+0,05М АБ/рН4,5=50+50	УФ-254	JCHR,1985,345,1,77
Мефенезин	3,1	L-RP8	0,01М ЦБ+МЕ=6+4	УФ-275	JCHR,1981,224,1,144
Мефенитоин	5,3	L-RP8	Гр 18—23%Б за 6 мин; 23%Б за 9 мин; А=В; Б=АН	УФ-207	JCHR,1984,305,1,127
Мехилетин (пр)		Z-C8	Гр 72—85%Б за 18 мин; А=0,04М АА/рН=7; Б=МЕ	Ф	JCHR,1983,275,1,458
Мнансерин	12,3	B-C18	АН+0,05М КФ/рН3,5=26+74	УФ-205	JCHR,1983,275,1,85
	12,3	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
	12,3	SF-S5W	ХК+МЕ+ГК=0,1+85+15	УФ-215	JCHR,1982,247,1,15
Мидазолам	11,1	B-C18	МЕ+В=60+40	УФ-254/220	JCHR,1982,228,1,195
Миконазол	15,1	B-C18	0,0025М АБ/рН5+МЕ+ТГФ=32,5+62,5+5	УФ-254	JCHR,1982,227,1,223
	15,1	RPK-C8	0,01М ЭДТА/0,005М НА+МЕ=23+77	УФ-230	JCHR,1982,227,1,229
Миноциклин	11,0	V-RP	0,001М ЭДТА/рН6,6+МЕ=82+18	УФ-380	CHRA,1982,15,6,367
	11,0	L-RP8	0,1М ЛК+АН=75+25	УФ-350	JCHR,1980,195,1,35
Митоксантрон	10,7	B-C18	0,2М АА+АН=75+25	УФ-658	JCHR,1982,233,1,235
Митомицин	5,2	SIL	ЭА+МЕ+В+МХ=97+2+1+1	УФ-360	JCHR,1982,232,2,355
	5,2	B-C18	0,01М НФ/рН6,5+МЕ=70+30	УФ-365	JCHR,1985,345,1,197
Моксалактам	5,1	B-C18	ТБАФ/ФБ/рН7+АН=822+170	УФ-280	JCHR,1982,233,1,386
	5,1	N-C18	0,05М НФ/рН6,5+МЕ=95+5	УФ-254	JCHR,1981,225,1,169
	5,1	RP-18	0,01М АФТ/рН6,5+МЕ=96+4	УФ-230	JCHR,1982,228,1,418

1	2	3	4	5	6
Морферидин	12,0	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191 AA,269
Морфин	9,0	AS-HS-C18	0,02М КДФ/рН3+АН=76+24		
	9,0	N-C18	1%АА/рН5,8+АН=65+35	УФ-254	JCHR,1980,190,1,251
	9,0	L-RP2	0,1М НТА/рН4,3+МЕ=6+4		JCSC,1983,21,4,145
	9,0	L-SI60	ДХЭ+МЕ+УК+ДЭА+В=80+20+ +1+0,5+1		JCSC,1983,21,4,145
	9,0	SF-A10Y	0,01М ТМАГ/ЛК/рН6+АН=25+75	Э	CHRA,1983,17,7,394
	9,0	N-CN	1%АА/рН5,8+АН+ДО=8+1+1	УФ-254	JCHR,1980,190,1,251
	9,0	SF-S5W	ХК+МЕ+ГК=0,1+85+15	УФ-215	JCHR,1982,247,1,15
	9,0	B-C18	МЕ+В+АХ=50+50+0,1	Э	JCHR,1983,276,1,202
Набуметои	9,3	U-ODS	МЕ+0,05М НА/рН3=70+30	Ф-284/320	JCHR,1984,336,1,234
Надолол	8,1	P-10-SCX	ФК+ДЭА+В+АН=0,15+0,2+80+ +20	УФ, Ф	JCHR,1983,278,2,469
	8,1	SF-S5W	МЕ+ХК=99,98+0,02	Ф-200/-	JCHR,1985,345,1,187
	8,1	H-ODS	МЕ+В+ОСК=54+45,9+0,1	УФ-220	JCHR,1984,305,2,489
Налбуфин	14,0	RP	0,01М КДФ+МЕ=55+45	Э	JCHR,1982,233,1,410
Налидиксовая кислота	4,0	B-C18	0,12% ГДТАБ/ФБ/рН7,4+МЕ=1+1	УФ-313	JCHR,1980,221,1,129
Налоксон	10,1	B-PHENYL	0,06% ТЭАФ/рН5+АН=15+85	УФ-214	JCHR,1983,278,2,329
	10,1	B-C18	МЕ+0,05М ТМАГ/рН6,1=20+80	Э	JCHR,1980,188,2,420
Налтрексон	11,1	B-PHENYL	0,06% ТЭАФ/рН5+АН=15+85	УФ-214	JCHR,1983,278,2,329
Напроксен	8,3	RP-18	АН+0,05М АБ/рН4,5=50+50	УФ-254	JCHR,1985,345,1,77
	8,3	RPK-C18	0,02М ФБ/рН7+АН=74+26	УФ-254	JCHR,1984,310,2,438
Наркотин	11,4	N-C18	1% АА/РН5,8+АН=65+35	УФ-254	JCHR,1980,190,1,251
	11,4	N-CN	1%АА/рН5,8+АН+ДО=8+1+1	УФ-254	JCHR,1980,190,1,251
Нафтизин (нафазолин)	8,3	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
Неалбарбитон	5,1	H-SIL	ИО+УК+ИПС=200+3+2	УФ-216	JCHR,1981,204,1,275
	5,1	H-ODS	0,1М НДФ/рН3,5+МЕ=6+4	УФ-216	JCHR,1981,204,1,275 AA,305
Неомицин В		SIL	ХЛ+ТГФ+В+УК=59+40+0,8+0,2	УФ-230	JCHR,1985,337,1,187
		Z-SIL	ГК+ТГФ=50+50		AA,305
Неомицин С		SIL	ХЛ+ТГФ+В+УК=59+40+0,8+0,2		
Нефопам	11,3	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191 AA,269
Никотинамид (ниацинамид)	0,3	AS-HS-C18	0,055М КДФ/рН3+0,05М НДС+ +МЕ=60+12+28		
	0,3	VH-HS201	Гр 6—100%Б за 30 мин; А=0,1М НА/рН4,4 Б=МЕ+АН+В=10+40+ +50		AA,289
	0,3	SH-RSRAK	0,55М НГФ/0,045М КДФ	УФ-254	AA,312
Никотиновая кислота (ниацин)	0,3	CAT	0,02М ФБ/рН2,6	УФ	JCHR,1982,233,1,343
	0,3	V-HS201	Гр 6—100%Б за 30 мин; А=0,1М НА/рН4,4; Б=МЕ+АН+В=10+40+ +50		AA,289
	0,3	AS-HS-C18	0,055М КДФ/рН3+0,05М НДС+ +МЕ=60+12+28		AA,269
	0,3	RP	0,15М АБ/рН5/0,01М ГСН+МЕ= =91+9	УФ-254	JCHR,1982,232,2,261
Нитразепам	8,1	N-C18	МЕ+В=35+65	УФ-254	JCHR,1984,310,1,213
	8,1	SU-LC8	МЕ+АН+0,005М КДФ/рН6=26,5+ +16,5+57	УФ-245	SU24,131
	8,1	SF-S5W	ХК+МЕ+ГК=0,02+85+15	УФ-215	JCHR,1982,247,1,15
	8,1	B-CN	АН+МЕ+ФБ/рН7=625+155+220	УФ-254	JCHR,1984,309,1,81
	8,1	B-C18	АН+В=47+53	УФ-230	JCHR,1985,343,2,369
	8,1	M-CN10	ГК+МХ+АН+ПА=50+50+25+0,1	УФ-254	JCHR,1984,309,2,329
Нитросорбид (изосорбида динитрат)		Z-NH2	ГК+МЕ=95+5		JCHR,1983,272,1,129
Новобиоции		L-SI100	БХ+ТГФ+МЕ+УК=88+5+4+3	УФ-254	JCHR,1982,235,1,205
		Z-ODS	0,025М НГС+МЕ=2+8	УФ-254	JCHR,1982,236,2,481
Новокаин (прокаин)	6,1	M-CN10	ГК+МХ+АН+ПА=50+50+25+0,1	УФ-254	JCHR,1984,309,2,329
	6,1	L-RP2	0,1М НТА/рН4,3+МЕ=6+4		JCSC,1983,21,4,145
	6,1	B-C18	0,3М ЭДТА/1%УК+АН+МЕ=8+ +1+1		JCSC,1983,21,4,145
	6,1	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
Новокаинамид (прокаинамид)	6,1	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
Нозепам (оксазепам)	9,1	SF-S5W	ХК+МЕ+ГК=0,02+85+15	УФ-215	JCHR,1982,247,1,15
	9,1	N-C18	0,12%ПСК/рН3+АН=62+38	УФ-220	JCHR,1984,306,1,279
	9,1	SU-LC8	МЕ+АН+0,005М КДФ/рН6=26,5+ +16,5+57	УФ-245	SU24,131
Номифензин	10,3	B-C18	АН+0,05М КФ/рН3,5=26+74	УФ-205	JCHR,1983,275,1,85
Нонахлазин	16,1	P-10SCX	АН+В+ДЭА+УК=27+73+0,18+ +0,18	УФ-254	JCHR,1982,231,1,205

Продолжение таблицы 7.7

1	2	3	4	5	6
Норадреналин (норэпинефрин)	0,0	SU-LC18	МЕ+0,07М КДФ/0,001М ГСК/рН3=10+90	УФ-280	SU24,131
Норверапамил	15,2	SF-S5W	ХК+МЕ+ГК=0,02+85+15	УФ-215	JCHR,1982,247,1,15
Нордиазепам	10,3	V-C18	МЕ+В=65+35		AA,281
	10,3	SF-S5W	ХК+МЕ+ГК=0,1+85+15	УФ-215	JCHR,1982,247,1,15
	10,3	SF-S5W	ХК+МЕ+ГК=0,02+85+15	УФ-215	JCHR,1982,247,1,15
		SF-S5W	ХК+МЕ+ГК=0,02+85+15	УФ-215	JCHR,1982,247,1,15
Нордиоксепин					JCSC,1983,21,4,145
Норморфин	8,0	L-SI60	ДХЭ+МЕ+УК+ДЭА+В=80+20+1+0,5+1		
	8,3	SF-S5W	ХК+МЕ+ГК=0,1+85+15	УФ-215	JCHR,1982,247,1,15
Норпетидин				УФ-254	JCHR,1980,221,2,419
Норсульфазол (сульфатиазол)	2,1	L-RP8	ФБ/рН4+АН=92+8		
Нортриптилин	15,0	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
	15,0	SF-S5W	ХК+МЕ+ГК=0,1+85+15	УФ-215	JCHR,1982,247,1,15
	15,0	SU-LC-PCN	АН+МЕ+0,01М КГФ/рН7=60+15+25	УФ-215	SU24,131
	15,0	SF-S5W	МЕ+ХК=99,98+0,02	Ф-200/-	JCHR,1985,345,1,187
	15,0	M-CN10	ГК+МХ+АН+ПА=25+50+25+0,1	УФ-254	JCHR,1984,309,2,329
	15,0	AS-C18	АН+АМ=99,3+0,7	УФ-218	AA,267
	15,0	L-CN	0,2М АА/рН6,99+АН=10+90	УФ-254, Э	JCHR,1982,231,2,361
	15,0	EC-CN	МЕ+АН+0,012М КДФ/рН6,7=43+40+17		AA,275
	15,0	RPK-SI	0,025М БУА+МЕ=20+80	УФ	ANCH,1982,54,3,447
	8,1	VT-AE	АН+0,05М ФБ/рН7=20+80	УФ-280	JCHR,1984,309,1,177
Норфлохацин	14,3	SF-ODS	АН+ТГФ+В=33,5+16,5+50	УФ-280	JCSC,1980,18,11,631
Норэтистерон	11,2	L-CN	0,02М НГФ/0,1М НПХ+МЕ=75+25	УФ-220	JCHR,1985,337,2,429
Носкапин	11,2	SF-ODS	МЕ+0,005М ПСК+УК+ТЭА=40+53+6+1	УФ-310	JCHR,1983,275,1,355
	11,2	L-SI60	ГК+МЕ+ХЛ+ДЭА=86,5+10,1+3,4+0,034	УФ-310	JCHR,1983,275,1,355
		L-RP18	0,02М ФБ/рН2,2+МЕ=35+65	УФ-282	JCHR,1981,225,2,504
Озолиион	6,1	L-SI100	5%УК+МЕ+ГК+МХ=0,35+4+30+66	УФ-300	JCHR,1981,223,1,243
Оксафениамид (осалмид)					
Оксациллин	9,1	L-RP8	0,02М НА/рН5,5+МЕ=10+8	УФ-220	JCHR,1980,183,3,339
	9,1	N-5C18	0,05М ФБ/рН7+АН=75+25		AA,286
	9,1	RP-2	0,05М ФБ/рН4,5+АН=80+20	УФ-254	JCHR,1982,246,1,157
Оксикодои	9,1	RP-8	0,01М КДФ+МЕ+АН=20+30+50	Э	JCHR,1984,308,1,359
Окситетрациклии	9,4	SU-LC18-DB	ТГФ+АН+0,005М НГФ/рН2=9+9+82	УФ-254	SU24,132
	9,4	L-RP8	0,1М ЛК+АН=75+25	УФ-350	JCHR,1980,195,1,35
	9,4	VT-RP	0,001М ЭДТА/рН6,6+МЕ=82+18	УФ-380	CHRA,1982,15,6,367
Окснтоцин		L-RP18	0,05М ТЭАА/рН4+АН+ТГФ=82+17+1	УФ-254	JCSC,1983,21,11,490
		Z-C8	0,2М АА/рН5+АН=85+15	УФ-215	*
Оксифенциклимин	12,0	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
Окскарбазепин	8,1	L-RP8	Гр 18—23%Б за 6 мин; 23%Б за 9 мин, А=В; Б=АН	УФ-207	JCHR,1984,305,1,127
Оксметидин	8,4	U-ODS	0,02М КСК+АН=30+70	УФ-226	JCHR,1983,273,2,335
	8,4	U-SI	АН+МЕ+В+АМ=200+40+10+1,5	УФ-226	JCHR,1983,273,2,335
Окспренолол	7,0	SU-LC8-DB	АН+ФБ/ТЭА/рН3,15=30+70	УФ-220	SU24,132
	7,0	L-SI60	0,04М ТМОА/ФБ/рН2/0,01М НГС	УФ-270	JCHR,1982,245,1,45
	7,0	SF-S5W	ХК+МЕ+ГК=0,02+85+15	УФ-215	JCHR,1982,247,1,15
Олигомицииы		N-C18	МЕ+В=85+15; ФК до рН2	УФ-220, 260	SH-84,96
Опипрамол	15,0	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
	15,0	B-CN	АН+МЕ+ФБ/рН7=625+155+220	УФ-254	JCHR,1984,309,1,81
Орнидазол	0,0	B-C18	В+ЭТ=1+9	УФ-318	JCHR,1983,273,2,475
Орфеиадрин	12,3	L-CN	0,2М АА/рН6,99+АН=10+90	УФ-254, Э	JCHR,1982,231,2,361
	12,3	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
	12,3	B-CN	АН+МЕ+ФБ/рН7=625+155+220	УФ-254	JCHR,1984,309,1,81
	12,3	SF-S5W	ХК+МЕ+ГК=0,1+85+15	УФ-215	JCHR,1982,247,1,15
Папаверин	11,1	P-ODS	0,1%КДФ+МЕ=35+65	УФ-238	JCHR,1980,182,2,379
	11,1	B-C18	Гр 3—57%Б за 15 мин; А=ФБ/рН2,5+МЕ=93+7; Б=МЕ+АН=93+7	УФ-254	CHRA,1985,20,5,289
	11,1	RP-C8	0,015М НБ/рН8,5+МЕ=42+58	УФ-239	JCHR,1980,182,2,482
	11,1	L-SI60	ГК+МЕ+ХЛ+ДЭА=86,5+10,1+3,4+0,034	УФ-310	JCHR,1983,275,1,355
	11,1	SF-ODS	МЕ+0,005М ПСК+УК+ТЭА=40+53+6+1	УФ-310	JCHR,1983,275,1,355
	11,1	AS-HS C18	0,02М КДФ/рН3+АН=76+24		AA,269
	11,1	N-C18	1%АА/рН5,8+АН=65+35	УФ-254	JCHR,1980,190,1,251

1	2	3	4	5	6
	11,1	N-CN	1%АА/рН5,8+АН+ДО=8+1+1	УФ-254	JCHR,1980,190,1,251
	11,1	M-CN	ГК+МХ+АН+ПА=50+25+25+0,1	УФ-254	JCHR,1981,226,2,423
Парааминосалициловая кислота	0,1	RP	0,1М ТБАФ/рН7,2+МЕ=85+15	УФ-254	JCSC,1981,19,3,146
Парацетамол (ацетаминофен)	2,3	B-C18	ФБ+МЕ=93+7	УФ-214	JCHR,1985,348,253
	2,3	B-C18	ФБ+МЕ=55+45	УФ-280	JPSC,1980,69,2,212
	2,3	L-CN	0,02М КДФ+АН=55+45	Э	ANCH,1981,53,7,960
	2,3	EC-C18	МЕ+В+УК=38+61+1		AA,275
	2,3	SF-S5W	ХЛ+ГП+ЭТ+УК=225+700+75+1	УФ-248	JCHR,1982,230,2,443
	2,3	P-ODS	АН+КДФ/рН3,2=40+60	УФ-200	SH-84,25
	2,3	RPK-C18	ТБАФ/В+АН=83+17	УФ-270	JCHR,1984,336,2,438
	2,3	M-CN-10	ГК+МХ+АН+ПА=50+50+25+0,1	УФ-254	JCHR,1984,309,2,329
Пафенолол		L-SI60	0,04М ТМОА/ФБ/рН2,0/0,01М НГС	УФ-270	JCHR,1982,245,1,45
Пеказин	13,3	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
Пексид	18,1	SF-ODS	Гр 5—40%Б за 20 мин; А=МЕ+ +В=85+15; Б=МЕ	УФ-360	JCHR,1984,305,2,401
Пемолин	3,3	L-RP8	В+МЕ=85+15	УФ-220	JCHR,1980,202,1,131
Пенбутолол	11,1	L-RP8	0,1М ЦБ/0,05%НГС/рН2,85+АН= =52+48	Ф-290/330	JCHR,1982,228,1,355
Пеницилламин	−0,7	B-C18	МЕ+ФК+0,01М НС=4+0,1+95,9	Э	JCHR,1986,374,2,251
	−0,7	Z-ODS	0,05М НГФ+0,001М ГСН/рН3,0	УФ-210	JCHR,1985,318,2,404
Пентагастрин		Z-C8	0,2М АА/рН5+АН=71+29	УФ-215	*
Пентазоцин	12,3	P-SI	ХЛ+МЕ+ПА=960+40+2	УФ-280	JCHR,1982,243,1,99
	12,3	B-C18	0,7% АХ/рН8+АН=20+80	УФ-280	JCHR,1982,227,1,239
	12,3	B-C18	0,005М НОС/ФК/рН2,4+МЕ=6+4	УФ-280	JCHR,1982,243,1,99
Пентиенат	7,1	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
Пентобарбитон	4,1	H-SIL	ИО+УК+ИПС=200+3+2	УФ-216	JCHR,1981,204,1,275
	4,1	H-ODS	0,1М НДФ/рН3,5+МЕ=6+4	УФ-216	JCHR,1981,204,1,275
	4,1	B-C18	0,01М ФБ/рН7,0+МЕ=62+38	УФ-275	JCHR,1981,225,1,261
Пентоксифиллин	4,1	B-C18	АН+В=24+76	УФ-280	JCHR,1986,374,1,191
Пенфлюридол	28,3	B-CN	АН+МЕ+ФБ/рН7,0=625+155+220	УФ-254	JCHR,1984,309,1,81
Петидин	9,3	SF-S5W	ХК+МЕ+ГК=0,1+85+15	УФ-215	JCHR,1982,247,1,15
Пибензимол	14,4	NP-C18	0,02М КФ/рН7,0+МЕ=32+62	УФ-340	JCHR,1985,341,1,89
Пизотифен	15,0	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
Пилокарпин	4,1	B-PHENYL	5%КДФ/рН2,5	УФ-215	JCHR,1983,264,2,264
	4,1	SIL	ГК+АГ+ИПС=68+2+30	УФ-220	JCHR,1983,264,2,264
	4,1	B-C18	5%КДФ/рН2,5	УФ-215	JCHR,1981,212,3,331
	4,1	B-C18	0,005М ГСК+МЕ=6+4	УФ-235	JCHR,1980,198,4,529
Пилокарпиновая кислота		B-C18	5%КДФ/рН2,5	УФ-215	JCHR,1981,212,3,331
Пиназепам	13,3	SF-S5W	ХК+МЕ+ГК=0,02+85+15	УФ-215	JCHR,1982,247,1,15
Пиндолол	7,1	LS-ODS	0,01М ХК+МЕ=4+1	Э	JCHR,1984,311,2,430
	7,1	RP-C18	0,01М ХК+АН=3+2	Ф-220/360	JCHR,1980,183,2,255
Пипазетат	13,0	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
Пипамперон	13,0	RP-C18	АН+В+ДЭА=50+50+0,1	УФ-247	JCHR,1980,193,2,255
	13,0	L-RP18	0,02М МПС/0,2%ДА+МЕ=50+50	УФ-254	JCHR,1985,320,2,293
Пиперацетазин	17,1	L-CN	0,2М АА/рН6,99+АН=10+90	УФ-254, Э	JCHR,1982,231,2,361
	17,1	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
Пиперидолат	11,3	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
Пипероканн	11,3	L-RP2	0,1М НТА/рН4,3+МЕ=6+4		JCSC,1983,21,4,145
Пипотиазин	16,0	SIL	ИЭ+МЕ+ИО+ТЭА+В=50+25+ +25+0,2+2,6	Ф-270/470	JCHR,1982,230,2,401
Пирацетам	0,3	L-RP18	МЕ	УФ-206	JCHR,1982,232,1,203
Пирензепин	10,1	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
Пиридоксин (витамин В6)	0,0	SH-RSPAK	0,55М НГФ/0,045М КДФ	УФ-254	AA,312
	0,0	SU-LC8-DB	МЕ+0,004М ГСК/0,1М ТЭА/рН2,8= =15+85	УФ-200	SU24,137
	0,0	VH-HS201	Гр 6—100%Б за 30 мин; А=0,1М НА/рН4,4; Б=МЕ+АН+В=10+40+ +50		AA,289
Пиридостигмин	3,3	L-RP8	0,01М НГС/0,01М НДФ+АН=85+15	УФ-214	JCHR,1980,183,2,193
	3,3	B-C18	0,005М ОСК/0,5%УК+АН=80+20	УФ-270	JCHR,1982,228,1,235
Пиркинозол	4,1	L-RP18	В+АН=80+20	УФ-254	JCHR,1980,200,1,282
Пирмендол	8,3	B-C18	АН+МЕ+0,05М ФК/рН3,5=40+1+ +60	Ф-295/340	JCHR,1984,309,1,115
Пироксикам	7,0	B-CN	АН+В+УК=25+70+5	УФ-365	JCHR,1980,1983,1,104
	7,0	L-RP18	0,1М ФБ/рН5,0+В+АН=4+3+3	УФ-361	JCHR,1984,310,2,455
Пирпрофен	7,3	RP-18	АН+0,05М АБ/рН4,5=50+50	УФ-254	JCHR,1985,345,1,77
Пирробутамин	16,0	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
Поеникохантин	32	SM-OA2000	ГК+МХ+ЭТ=48+16+0,6	УФ-470	JCHR,1985,318,1,122

1	2	3	4	5	6
Политиазид	8,1	B-CN	ХЛ+МЕ=97+3	УФ-264	JCHR,1981,224,1,33
	8,1	L-RP18	МЕ+В=45+55	УФ-275	JCHR,1985,325,2,395
Празепам	13,3	SF-S5W	ХК+МЕ+ГК=0,1+85+15	УФ-215	JCHR,1982,247,1,15
	13,3	SF-S5W	ХК+МЕ+ГК=0,02+85+15	УФ-215	JCHR,1982,247,1,15
Празиквантел	13,3	RP-18	АН+В=38+62	УФ-210	JCHR,1983,275,1,127
Празозин	7,0	SF-S5W	МЕ+ПХК=99,98+0,02	Ф-200/-	JCHR,1985,345,1,187
	7,0	B-CN	АН+В+УК=50+47+3	Ф-248/389	JCHR,1981,224,1,33
	7,0	P-10-SCX	ФК+ДЭА+В+АН=0,15+0,2+80+20	УФ, Ф	JCHR,1983,278,2,469
Преднизолон	12,1	PS-SIL	ЭТ+МХ+УК=30+500+1	УФ-254	JCHR,1982,232,2,406
	12,1	SIL	БХ+ТГФ+МЕ+УК=87+6,7+3,4+2,9		AA,305
	12,1	SF-ODS	АН+ТГФ+В=33,5+16,5+50	УФ-280	JCSC,1980,18,11,631
Преналтерол	4,0	SF-ODS	0,01М ХК+АН=4+1	Ф-220/360	JCHR,1982,231,2,473
	4,0	L-RP8	ЦБ/АБ/0,01М ПА+МЕ=85+15	Э	JCHR,1984,307,1,230
Примахин	7,0	B-C18	0,4%ДА/ФБ+МЕ=40+60	УФ-254, 280	JCHR,1982,230,1,69
	7,0	B-CN	АН+0,08М ЦБ/pH5,0=77+23	Э	JCHR,1984,307,2,451
Прифиниум	18,0	L-S160	1М АА/pH10+МЕ=10+90	УФ-254	JCHR,1982,231,1,129
Проадифен	17,3	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
Пробарбитон	2,1	H-ODS	0,1М НДФ/pH3,5+МЕ=6+4	УФ-216	JCHR,1981,204,1,275
	2,1	H-SIL	ИО+УК+ИПС=200+3+2	УФ-216	JCHR,1981,204,1,275
Пробенецид	7,3	B-C18	АН+В=24+76	УФ-280	JCHR,1986,374,1,191
	7,3	L-RP8	0,005М НДС+УК+МЕ=49,5+1+49,5	УФ-254	JCHR,1980,182,2,252
	7,3	RP-ODS	МЕ+В+УК+НОС=540+260+9+0,75	УФ-254	JCHR,1981,225,2,521
Прогабид	12,7	PS	МЕ+УК+В+МХ=2,6+0,3+0,15+96,95	УФ-340	JCHR,1985,344,1,231
	12,7	RP-C18	МЕ+0,033М ФБ/pH5,06=70+30	Э	JCHR,1983,276,1,103
Прогентазин	11,3	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
Прогестерон	15,3	A-C18	МЕ+В=70+30		AA,271
Прозерин (неостигмин)	5,1	L-RP8	0,01М НГС/0,01М НДФ+АН=85+15	УФ-214	JCHR,1980,183,2,193
Прокарбазин	5,3	B-C18	В+МЕ=20+80	УФ-254	JCHR,1982,229,2,397
Прокинетакант	8,0	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
	8,0	L-RP2	0,1М НТА/pH4,3+МЕ=6+4		JCSC,1983,21,4,145
Пролинтан	11,0	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
Промедол (триметиридин)	11,3	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
Промизол	2,1	B-C18	В+АН=80+20	УФ-334	JCHR,1981,223,2,379
Пронеталол	9,3	B-PHENYL	КДФ/pH2,3+АН=70+30	УФ-254	JCHR,1982,232,1,186
	9,3	SU-LC8-DB	0,02М ФК/ТЭА/pH3,3+АН=8+2	УФ-280	SU24,132
Пропазин (промазин)	11,3	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
	11,3	L-CN	0,02М КДФ+АН=55+45	Э	ANC11,1981,53,7,960
	11,3	L-CN	0,2М АА/pH6,99+АН=10+90	УФ-254, Э	JCHR,1982,231,2,361
	11,3	B-CN	АН+МЕ+ФБ/pH7,0=625+155+220	УФ-254	JCHR,1984,309,1,81
Пропанидид	8,1	U-ODS	АН+В=70+30	УФ-280	JCHR,1984,308,1,376
Пропантелин	15,1	B-C18	АН+0,1М КГФ/pH3,0=40+60	УФ-210	JCHR,1984,306,1,424
	15,1	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
Пропафенон	13,0	B-CN	0,005М КДФ/pH2,4/0,02М НЛ+АН=75+25	УФ-209	JCHR,1982,230,2,448
	13,0	SIL	0,02% ХК/МЕ+ДЭ=30+70	УФ-254	JCHR,1983,272,2,428
Проперидин	10,3	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
Пропилтиоурацил	1,3	RP	0,01М ПСК/0,1М НДФ+АН=97+3	УФ-272	JCHR,1983,278,2,464
	1,3	U-ODS	0,025М КДФ/pH4,6+АН=80+20	УФ-280	JCHR,1983,272,2,376
Пропициллин	10,0	B-PHENYL	1М ФБ/pH7+В+МЕ=0,5+70+30	УФ-220	JCHR,1982,227,1,137
	10,0	Z-C8	ФБ/pH7,0+МЕ=55+45	УФ-254	JCHR,1982,244,2,299
Пропоксифен	15,3	Z-SIL	ИПС+ГК+В=79+20+1	УФ-220	JCHR,1982,240,2,547
Простагландин A_2	13,1	SU-LC18	АН+0,0174М ФК/pH2,5=32,8+67,2	УФ-196	SU24,134
E_3	12,0	SU-LC18	АН+0,0174М ФК/pH2,5=32,8+67,2	УФ-196	SU24,134
F_2	12,0	SU-LC18	АН+0,0174М ФК/pH2,5=32,8+67,2	УФ-196	SU24,134
	12,0	Z-ODS	0,2%ФК+АН=75+25	УФ-210, Р	*
D_2	14,0	SU-LC18	АН+0,0174М ФК/pH2,5=32,8+67,2	УФ-196	SU24,134
B_2	13,1	SU-LC18	АН+0,0174М ФК/pH2,5=32,8+67,2	УФ-196	SU24,134
Простациклин (простагландин I_2)	12,0	PRP-1	АП+0,01М НГ/pH12,3=21+79	УФ-206	JCHR,1983,277,1,287
	12,0	U-ODS	ФК/pH2,95+АН=70+30	УФ-192	JCHR,1982,230,1,115
Протионамид	3,3	PS-SIL	ДЭ+МЕ=96+4	УФ-295	JCHR,1981,225,1,245
Протипендил	9,1	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
Протриптилин	15,0	EC-CN	МЕ+АН+0,012М КДФ/pH6,7=43+40+17		AA,275
	15,0	SU-LC-PCN	АН+МЕ+0,01М КГФ/pH7,0=60+15+25	УФ-215	SU24,131
	15,0	B-CN	АН+МЕ+ФБ/pH7,0=625+155+220	УФ-254	JCHR,1984,309,1,81

Продолжение таблицы 7.7

1	2	3	4	5	6
	15,0	SF-S5W	ХК+МЕ+ГК=0,1+85+15	УФ-215	JCHR,1982,247,1,15
	15,0	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
	15,0	SF-SN	0,01М КДФ/рН7+АН+МЕ=40+ +48+12	УФ-229	JCHR,1984,311,2,424
	15,0	RPK-SI	0,025М БУА+МЕ=20+80	УФ	ANCH,1982,54,3,447
Прохлорперазин	14,1	Z-CN	0,1М АА+АН=10+90	Э	JCHR,1982,233,1,417
	14,1	L-CN	0,02М КДФ+АН=55+45	Э	ANCH,1981,53,7,960
	14,1	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
Прогиклидин	13,3	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
Проэтил	6,0	B-C18	В+АН=80+20	УФ-306	JCHR,1981,223,2,379
Псевдоэфедрин	4,3	SU-LC8-DB	0,02М КДФ/ТЭА/рН3,0+АН=90+10	УФ-254	SU24,131
Разоксан	1,2	RP	0,01М ФБ/рН7,1+МЕ=80+20	УФ-206	JCHR,1983,274,1,434
Ранитидин	4,1	S-ODS	0,0005М НДФ/0,005М НДС+МЕ= =40+60	УФ-320	JCHR,1981,225,1,161
	4,1	L-CN	0,01М НДФ+АН=1+1	УФ-228	JCHR,1982,229,1,255
Резерпилин	13,2	RSIL-C18-HL	МЕ+В+Т=70+30+0,2		AA,278
Ремантадин	8,0	Z-ODS	0,0125М НДС+АН=64+36	Р	*
Ретиноиды		A-C18	Гр 0—50%Б за 15 мин; А=АА+МЕ= =0,5+99,5 Б=ИПС	УФ-325	JCHR,1985,348,1,241
Ретинол (витамин А)	16,0	U-ODS	АН+В=85+15	УФ-328	LC-84,168
	16,0	SIL	ГК+ЭТ=99+1	Ф-325/480	JCHR,1985,341,1,198
	16,0	V-HS201	АН+ИПС+В=90+8+2		AA,289
	16,0	U-ODS	МЕ+В=94+6	УФ-328	LC-84,168
Ретинола ацетат	18,0	N-10NH2	ГП+ХЛ=80+20		AA,286
	18,0	N-C8	МЕ+В=85+5	УФ-220/320	LC-84,49
Рибоксамид	−0,8	H-ODS	0,1М ФБ/рН7	УФ-254	JCHR,1984,307,1,216
Рибоксин	−1,3	I-C18	0,02М НДС+УК+АН=77,5+2,5+20	УФ-270	*
Рибофлавин (витамин B_2)	5,7	V-HS201	Гр 6—100%Б за 30 мин; А=0,1М НА/рН4,4; Б=МЕ+АН+В=10+ +40+50		AA,289
	5,7	SU-LC8-DB	МЕ+0,004М ГСК/0,1%ТЭА/рН2,8= =15+85	УФ-200	SU24,137
	5,7	AS-HS-C18	0,005М НДС/0,055М КДФ/рН3+МЕ= =72+28		AA,269
Рифампицин		RP-8	0,1М ФБ/рН3,5+АН=62+38	УФ-254	JCHR,1981,225,2,526
		B-C18	МЕ+0,05М АФ/рН7,3=65+35	УФ-254	JCHR,1982,232,2,369
Ролитетрациклин	14,3	L-RP8	0,1М ЛК+АН=75+25	УФ-350	JCHR,1980,195,1,35
Рубомицин (дауномицин)	11,7	B-C18	0,05М НДФ+МЕ=35+65	УФ-254	JCHR,1980,221,1,139
(даунорубицин)	11,7	RP-C18	АН+0,01М ФК=50+50	Ф	JCHR,1980,190,2,377
	11,7	B-C18	АН+В+УК/рН4=28+71+1	Ф-480/560	JCHR,1982,232,2,377
Салбутамол	6,1	Z-ODS	АН+ФК+В=8+0,15+92	Ф-230/309	JCHR,1983,277,1,419
	6,1	U-ODS	0,007М НДФ/рН6,8/0,002МГСН+МЕ= =75+25	Э	JCHR,1984,311,2,311
Салицилгидроксамовая кислота		RP-C22	0,043М АДФ+МЕ=70+30	УФ-300	JCHR,1981,225,1,236
Салициловая кислота	1,3	RPK-C18	0,005М ТБА/0,1М ЩК/рН4+АН= =75+25	УФ	JCHR,1983,274,1,366
	1,3	V-C18	МЕ+В+УК=18+77,9+4,1		AA,281
Салсалат	5,1	L-RP18	5%УК+МЕ=4+6	УФ-254	JCHR,1980,221,2,431
Секбутобарбитон	2,1	H-SIL	ИО+УК+ИПС=200+3+2	УФ-216	JCHR,1981,204,1,275
	2,1	H-ODS	0,1М НДФ/рН3,5+МЕ=6+4	УФ-216	JCHR,1981,204,1,275
Серотонин	3,1	SU-LC18	МЕ+0,07М КДФ/0,001М ГСК/рН3= =10+90	УФ-280	SU24,131
Сибазон (диазепам)	11,3	SU-LC8	МЕ+АН+0,005М КДФ/рН6=26,5+ +16,5+57	УФ-245	SU24,131
	11,3	M-CN10	ГК+МХ+АН+ПА=25+50+25+0,1	УФ-254	JCHR,1984,309,2,329
	11,3	SF-SN	0,01М КДФ/рН7+АН+МЕ=40+ +48+12	УФ-229	JCHR,1984,311,2,424
	11,3	V-C18	МЕ+В=65+35		AA,281
	11,3	SF-S5W	ХК+МЕ+ГК=0,02+85+15	УФ-215	JCHR,1982,247,1,15
	11,3	SF-S5W	ХК+МЕ+ГК=0,1+85+15	УФ-215	JCHR,1982,247,1,15
	11,3	RP-C18	В+МЕ=40+60	УФ-254, 220	JCHR,1981,225,1,266
	11,3	B-CN	АН+МЕ+ФБ/рН7=625+155+220	УФ-254	JCHR,1984,309,1,81
Сигмодал	6,1	H-ODS	0,1М НДФ/рН3,5+МЕ=6+4	УФ-216	JCHR,1981,204,1,275
	6,1	H-SIL	ИО+УК+ИПС=200+3+2	УФ-216	JCHR,1981,204,1,275
Соталол	5,1	ODS	МЕ+0,005М НДС+АН+УК=55+ +44+20+1	УФ-227	JCHR,1984,309,1,183
	5,1	B-PHENYL	0,01М ФБ/рН3,2/0,003М НОС+АН= =80+20	УФ-226	JCHR,1984,336,2,313
	5,1	SF-S5W	ХК+МЕ+ГК=0,02+85+15	УФ-215	JCHR,1982,247,1,15
Спазмолитин (адифенин)	14,3	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
	14,3	B-C18	0,01М ГСК/рН3,4+АН=1+1	УФ-254	JCHR,1980,200,1,267

1	2	3	4	5	6
Спарсомицин	3,1	RP-C8	МЕ+В=15+85	УФ-300	JCHR,1983,275,1,145
Спинерон	16,0	L-RP18	0,02М МПС/0,2 ДА+МЕ=50+50	УФ-254	JCHR,1985,320,2,293
Спиронолактон	17,1	RPK-C18	Гр 65—100%Б за 30 мин; А=В; Б=МЕ	УФ-254	JCHR,1986,374,1,183
Спироплатин		SF-S5-ODS2	МЕ+0,05М НС=20+80	Э	JCHR,1985,320,2,379
Стрептомицин		L-RP18	0,02М НГС/ФБ/рН6+АН=92+8	УФ-195	JCHR,1981,219,1,89
Стрептоцид	0,3	PRP-1	0,1М НФ+АН/рН12=28,6+71,4		AA,313
Стрихнин	14,1	SIL	АМ+МЕ=0,75+99,25	УФ-254	JCHR,1982,232,2,440
	14,1	AS-HS C18	0,02М КДФ/рН3+АН=76+24		AA,269
Строфантин К		L-RP8	ЭТ+В=9+41	УФ-220	CBM,225
Сукциннлсульфатиазол	5,0	N-RP18	УК+В+МЕ=1+79+20	УФ	JCSC,1984,22,1,31
Сулиндак	15,3	S-ODS	0,4М НА/рН4+МЕ=37+63	УФ-254	JCHR,1981,225,1,123
Сулпирид	7,0	B-CN	АН+МЕ+ФБ/рН7=625+155+220	УФ-254	JCHR,1984,309,1,81
Сульфадимезин (сульфаметазин)	4,0	SF-ODS	АН+0,05М ФК=2+78	УФ-254	JCHR,1985,323,2,447
	4,0	PRP-1	0,1М НФ+АН/рН12=28,6+71,4		AA,313
(сульфадимидин)	4,0	N-RP18	УК+В+МЕ=1+79+20	УФ	JCSC,1984,22,1,31
Сульфадиметоксин	2,2	B-C18	В+АН=80+20	УФ-306	JCHR,1981,223,2,379
Сульфазин (сульфадиазин)	2,0	N-RP8	УК+В+МЕ=1+79+20	УФ	JCSC,1984,22,1,31
	2,0	RP-18	0,05М НДФ/0,01М ГСН/0,0072М ТЭА/рН3+МЕ=85+15	Ф (пр)	JCHR,1983,273,2,464
	2,0	PRP-1	0,1М НФ+АН/рН12=28,6+71,4		AA,313
Сульфамеразин	3,0	PRP-1	0,1М НФ+АН/рН12=28,6+71,4		AA,313
	3,0	N-RP18	УК+В+МЕ=1+79+20	УФ	JCSC,1984,22,1,31
Сульфаметоксазол	4,1	B-C18	1% УК+МЕ=8+2	УФ-230	JCHR,1981,223,1,139
Сульфаметоксндиазин	2,1	N-RP18	УК+В+МЕ=1+79+20	УФ	JCSC,1984,22,1,31
Сульфамоксол (юстамил)	3,0	N-RP18	УК+В+МЕ=1+79+20	УФ	JCSC,1984,22,1,31
	3,0	L-SI60	ХЛ+МЕ+В+АМ	УФ-280	JCHR,1983,274,1,187
Сульфапиридазин (сульфаметоксипиридазин)	2,1	SF-ODS	АН+0,05М ФК=22+78	УФ-254	JCHR,1985,323,2,447
Сульфапиридин	4,1	RP-18	0,05М НДФ/0,01М ГСН/0,0072М ТЭА/рН3,0+МЕ=85+15	Ф (пр)	JCHR,1983,273,2,464
	4,1	N-RP18	УК+В+МЕ=1+79+20	УФ	JCSC,1984,22,1,31
Сульфафуразол	3,0	N-RP8	УК+В+МЕ=1+79+20	УФ	JCSC,1984,22,1,31
Сульфизоксазол	3,0	B-C18	В+АН=80+20	УФ-255	JCHR,1981,223,2,379
Сульфинпиразон	16,1	B-C18	Гр 0—100%Б за 15 мин; А=0,1М АА+АН=78+22; Б=АН	УФ-254	JCHR,1983,277,1,408
	16,1	S-ODS	0,02М ФБ/рН7,0+МЕ=6+4	УФ-254	JCHR,1981,223,2,460
	16,1	RPK-C18	0,02М ФБ/рН7,0+АН=74+26	УФ-254	JCHR,1984,310,2,438
	16,1	L-RP-8	0,0022М ФК+АН+ЭТ=50+35+15	УФ-254	JCHR,1982,227,2,516
Сульфоридазин	14,3	B-CN	АН+МЕ+ФБ/рН7,0=625+155+220	УФ-254	JCHR,1984,309,1,81
Сульфурмицинон	11,7	B-C18	НГС+МЕ=40+60	УФ-430	JA,1981,34,5,608
Супрастин	10,1	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
Тавегил (клемастин)	16,3	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
Талбутал	4,1	H-SIL	ИО+УК+ИПС=200+3+2	УФ-216	JCHR,1981,204,1,275
	4,1	H-ODS	0,1М НДФ/рН3,5+МЕ=6+4	УФ-216	JCHR,1981,204,1,275
Таллисомицин и аналоги		B-C18	НГС+АН=70+30	УФ-254	JA,1981,34,6,658
Тамоксифен	20,3	P-ODS2	0,04% ДЭАА/МЕ	УФ, Ф	JCHR,1983,272,2,351
	20,3	SIL	МЕ+В+ТЭА+УК=98+2+0,03+0,3	УФ, Ф	JCHR,1983,272,2,351
Тебаин	11,0	B-C18	Гр 3—57%Б за 15 мин; А=ФБ/рН2,5+ +МЕ=93+7; Б=МЕ+АН=93+7	УФ-254	CHRA,1985,20,5,289
	11,0	N-C18	1%АА/рН5,8+АН=65+35	УФ-254	JCHR,1980,190,1,251
	11,0	L-SI60	ДХЭ+МЕ+УК+ДЭА+В=80+20+ +1+0,5+1		JCSC,1983,21,4,145
	11,0	N-CN	1%АА/рН5,8+АН+ДО=8+1+1	УФ-254	JCHR,1980,190,1,251
Темазепам	10,1	SU-LC-8	МЕ+АН+0,005М КДФ/рН6,0=26,5+ +16,5+57	УФ-245	SU24,131
	10,1	SF-S5W	ХК+МЕ+ГК=0,02+85+15	УФ-215	JCHR,1982,247,1,15
Теналидин	11,3	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
Тенилдиамин	7,1	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
	7,1	L-CN	АН+В+ПА=90+10+0,1	УФ-254	JCSC,1980,18,3,139
Тенипозид	18,1	B-C18	МЕ+В=6+4	Ф	JCHR,1981,224,1,168
Теноксикам	4,0	B-C18	МЕ+0,1М ФБ/рН5,6=50+50	УФ-371	JCHR,1986,374,1,95
Теобромин	−1,0	V-C18	АН+ИПС+УК+В=4+4+1+91		AA,281
	−1,0	N-50-5	ЭТ+В+МХ=47+17+36		AA,286
	−1,0	P-ODS	ЭТ+В+УК=70+29,7+0,3		CBM,227
	−1,0	RP-18	0,01М НА/рН4,4+МЕ=82+18		AA,305
	−1,0	B-C18	АН+В=24+76	УФ-280	JCHR,1986,374,1,191
	−1,0	SU-LC-18	ТГФ+АН+0,0018М ФК=1+1+98	УФ-254	SU24,136
Теофиллин	−1,0	V-C18	АН+ИПС+УК+В=4+4+1+91		AA,281
	−1,0	B-C18	АН+В=24+76	УФ-280	JCHR,1986,374,1,191
	−1,0	RP-18	0,01М НА/рН4,4+МЕ=82+18		AA,305

Продолжение таблицы 7.7

	5	6
+36		AA,286
5+69,5		AA,281
Н+ТГФ=94+		AA,269
9+1	УФ-254	JCHR,1980,189,2,241
НФ=25+4,5+70,5	Ф-250/370	JCHR,1984,311,1,206
=90+10	Э	CHRA,1982,16,1-6,341
		AA,271
15+55	УФ-280	JCSC,1980,18,11,631
	УФ	CBM,127
	УФ	CBM,127
50+50	УФ-310	JCHR,1981,226,1,175
НГФ/рН2=9+9+	УФ-254	SU24,132
40+60	УФ-280	JCHR,1985,321,2,462
+МЕ=82+18	УФ-380	CHRA,1982,15,6,367
25	УФ-350	JCHR,1980,195,1,35
А/АФТ/ФК/	УФ	CHRA,1985,20,5,313
+60		
-84	УФ-357	JCHR,1982,232,2,385
	УФ-280	JCHR,1980,224,3,457
МЕ=59+41	УФ-313	JCHR,1982,238,2,506
1	Ф-305/370	JCHR,1982,230,1,79
НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
КДФ	УФ-254	AA,312
1% ТЭА/рН2,8=	УФ-200	SU24,137
-МЕ+0,05М		AA,269
мин; А=0,1М		AA,289
АН+В=10+		
		AA,281

	5	6
+35+1	УФ-278	JCHR,1984,310,1,119
А+МЕ=40+60	УФ-254	JCHR,1985,320,2,305
5	УФ-254	JCHR,1982,244,2,299
НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
		AA,286
=90+10	УФ-340	JCHR,1982,227,1,83
+40	Ф-330/389	JCHR,1985,337,2,321
Ф=78+22+4	УФ-254	JCHR,1982,227,1,207
Н=70+30	УФ-280	JCHR,1983,276,2,451
Н+МЕ=40+48+	УФ-229	JCHR,1984,311,2,424
НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
Н=10+90	УФ-254, Э	JCHR,1982,231,2,361
5+45	Э	ANCH,1981,53,7,960
+50+50+25+0,1	УФ-254	JCHR,1984,309,2,329
НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
625+155+220	УФ-254	JCHR,1984,309,1,81
Н+МЕ=40+48+	УФ-229	JCHR,1984,311,2,424
Н=10+90	УФ-254, Э	JCHR,1982,231,2,361
Н+МЕ=40+48+	УФ-229	JCHR,1984,311,2,424
Ф+ТЭА=400+	УФ-254	JCHR,1982,233,1,257
НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
=425+575	Ф-395/485	JCHR,1982,232,2,315
+85+15	УФ-215	JCHR,1982,247,1,15
	УФ-292	LC-84,168
	УФ-275	JCHR,1982,227,1,174
	Ф-295/390	JCHR,1985,341,1,198
		AA,286
+2		AA,289
95,5+2+15+0,9		AA,305
,5+62,5	УФ-210	JCHR,1982,231,1,210
НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
	УФ-254	JCHR,1980,221,2,431
НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191

1	2	3	4
Теофиллин	−1,0	N-50-5	ЭТ+В+МХ=47+17
	−1,0	V-C18	МЕ+УК+В=30+0,
	−1,0	AS-HC-C18	0,01М КДФ/рН4,4+ +4+2
	−1,0	B-C18	МЕ+В+УК=20+80
Теразосин	7,7	SF-ODS	АН+ТГФ+0,004М
Тербуталин	4,0	N-SA	ЦБ/НА/рН6,0+АН=
Тестостерон	13,3	A-C18	МЕ+В=70+30
	13,3	Z-ODS	АН+ТГФ+В=30+
Тестостерон-пропионат	16,3	L-SI100	ХЛ+МЕ=95+5
	16,3	L-RP8	МЕ+В=7+3
Тетрабеназин	11,0	B-C18	АН+1%АБ/рН4,5=
Тетрациклин	10,0	SU-LC18-DB	ТГФ+АН+0,005М +82
	10,0	B-PHENYL	МЕ+0,1% ТФУК=
	10,0	V-RP	0,001М ЭДТА/рН6,6
	10,0	L-RP8	0,1М ЛК+АН=75+
и аналоги	10,0	B-C18	АН+В+ЭТА+ДМФ рН2,5=240+760+5
	10,0	B-C18	АН+ФБ/рН2,2=16
Тетурам (дисульфирам)	4,3	B-PHENYL	В+АН=52+48
Тиабензазол	3,1	VT-C18	0,005М ГСК/рН3,5+
	3,1	B-C18	ФБ/рН7,0+МЕ=1+
Тиамин	2,2	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М
	2,2	SH-RS PAK	0,55М НГФ/0,045М
	2,2	SU-LC-8DB	МЕ+0,004М ГСК/0, =15+85
	2,2	AS-HS C18	0,055М КДФ/рН3,0+ НДС=60+28+12
	2,2	VH-HS-201	Гр 6—100%Б за 30 НА/рН4,4; Б=МЕ+ +40+50
Тиамфеникол	6,0	V-C18	МЕ+В=40+60

1	2	3	4
Тиапамил	15,4	L-SI60	ХЛ+МЕ+АН=964
Тиган	11,2	L-RP18	0,02М МПС/0,2% Д
Тикарциллин	6,1	Z-C8	ФБ/рН7+МЕ=95+5
Тимоксамин	9,1	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М
Тиогенал	6,3	N-10C18	В+МЕ=45+55
Тиогуаиин	−3,9	B-C18	0,01М НА/рН3,5+М
	−3,9	SF-ODS	УК+В+МЕ=3+57
Тиопентал	5,3	B-C18	0,01М ФБ+АН+ТГ
	5,3	SF-C6	0,01М НА/рН3,6+А
Тиопроперазин	14,0	SF-CN	0,01М КДФ/рН7+А +12
	14,0	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М
Тиоридазин	15,3	L-CN	0,2М АА/рН6,99+А
	15,3	L-CN	0,02М КДФ+АН=5
	15,3	M-CN10	ГК+МХ+АН+ПА=
	15,3	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М
	15,3	B-CN	АН+МЕ+ФБ/рН7=
	15,3	SF-CN	0,01М КДФ/рН7+А +12
Тиотиксен	16,1	L-CN	0,2М АА/рН6,99+АН
	16,1	SF-CN	0,01М КДФ/рН7+А +12
	16,1	RPK-CN	МЕ+АН+0,03М НД +50+50+1
	16,1	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М
Тиэтилперазин	15,1	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М
Токаинид	5,3	U-ODS	0,067М ФБ/рН7+МЕ
	5,3	SF-S5W	ХК+МЕ+ГК=0,02+
Токоферол (витамин Е)	23,3	U-ODS	МЕ
	23,3	S-ODS	В+МЕ=13+87
	23,3	SIL	ГК+ЭТ=99+1
	23,3	N-10NH2	ГП+ХЛ=80+20
Токоферола ацетат	25,3	VH-HS201	АН+ИПС+В=90+8
Толазамид	7,1	SIL	ГК+ТГФ+ЭТ+УК=
Толазолин	4,3	SF-ODS	0,02М КДФ+АН=37
	4,3	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М
Толметии	8,1	L-RP18	5% УК+МЕ=4+6
Толпропамнн	14,0	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М

1	2	3	4	5	6
Тонзиламин		L-CN	АН+В+ПА=90+10+0,1	УФ-254	JCSC,1980,18,3,139
Тофенацин	11,3	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
Тразодон	11,1	RP	0,02М ГСК/0,04М ТЭА/ФБ/рН3+ +АН=73+27	УФ-214	JCHR,1986,374,2,388
	11,1	SF-CN	0,01М КДФ/рН7+АН+МЕ=40+ +48+12	УФ-229	JCHR,1984,311,2,424
	11,1	SF-S5W	МЕ+ХК=99,98+0,02	Ф-200/-	JCHR,1985,345,1,187
Трамазолин	6,1	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
Триазолам	11,0	B-C18	АН+ХЛ+БУ+В+УК=850+80+ +50+20+0,5	УФ-254	JCHR,1983,268,1,92
Триазофурин	−1,8	RPK-C18	0,04М УК+АН=98,5+15	УФ-254	JCHR,1984,307,2,361
Триамтерен	1,4	L-RP-18	АН+0,05М ФБ=40+60	УФ-278	JCHR,1985,325,2,395
	1,4	SF-S5W	МЕ+ХК=99,98+0,02	Ф-200/-	JCHR,1985,345,1,187
	1,4	SF-ODS	АН+0,15М ХК/рН2,2=32+98	Ф-286/370	JCHR,1984,307,2,343
Триамцинолон	16,2	B-C18	МЕ+В=45+55	УФ-254	JCHR,1982,227,1,11
	16,2	N-10NH2	ТГФ		AA,286
Триамцинолон ацетонид	14,2	N-10NH2	ТГФ		AA,286
гексацетонид	21,2	N-10NH2	ТГФ		AA,286
Триаприд	3,3	RP-18	АН+0,01М КДФ/рН3=10+90	УФ-214	JCHR,1986,375,1,197
Триклабендазол	10,1	P-SIL	ГК+ЭТ+УК=500+50+0,6	УФ-215	JCHR,1986,374,2,409
Тримебутин	13,0	P-ODS2	0,005М НГС+МЕ=15+85	УФ-265	JCHR,1981,224,1,149
Триметазидин (пр)	5,1	L-SI60	ИО+ИЭ+МЕ+В=47,5+50+2,5+0,2	Ф-252/370	JCHR,1981,224,1,162
Триметобензамид	11,2	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
Триметоприм	2,4	L-RP-18	0,1М КГФ/0,007М ТБАГС/рН7,5+ +АН=85+15	УФ-254, Э	JCHR,1984,305,2,391
	2,4	B-C18	0,067М ФБ+МЕ=65+35	УФ-254, 225	JCHR,1983,278,2,337
	2,4	N-C18	0,07М КДФ/рН4,75+МЕ=3+1	Э	JCHR,1982,233,1,427
	2,4	L-SI60	ХЛ+МЕ+В+АМ=85+14+0,5+0,5	УФ-280	JCHR,1983,274,1,187
	2,4	B-C18	1%УК+МЕ=8+2	УФ-230	JCHR,1981,223,1,139
Тримипрамин	14,3	SU-LC-PCN	АН+МЕ+0,01М КГФ/рН7=60+15+ +25	УФ-215	SU24,131
	14,3	S-SI	ХК+МЕ+ГК=0,1+85+15	УФ-215	JCHR,1982,247,1,15
	14,3	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
	14,3	SF-CN	0,01М КДФ/рН7+АН+МЕ=40+48+ +12	УФ-229	JCHR,1984,311,2,424
	14,3	N-5-C8	0,2% АМ/0,1% ЛСК+МЕ=85+15		AA,286
	14,3	EC-CN	МЕ+АН+0,012М КДФ/рН6,7=43+ +40+17		AA,275
	14,3	SF-S5W	МЕ+ХК=99,08+0,02	Ф-200/-	JCHR,1985,345,1,187
Трипелленамин	9,1	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
	9,1	L-CN	ГП+МХ+АН+ПА=50+50+25+0,1	УФ-254	JCSC,1980,18,3,139
	9,1	L-CN	АН+В+ПА=90+10+0,1	УФ-254	JCSC,1980,18,3,139
Трипролидин	13,3	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
	13,3	L-CN	ГП+МХ+АН+ПА=50+50+25+0,1	УФ-254	JCSC,1980,18,3,139
	13,3	L-CN	АН+В+ПА=90+10+0,1	УФ-254	JCSC,1980,18,3,139
	13,3	SU-LC-8DB	АН+0,02М КДФ/рН2+ТЭА=10+ +89,8+0,2	УФ-254	SU24,131
Тритиозин	5,1	L-RP8	МЕ+В=1+1	УФ-254	JCHR,1981,222,2,257
Трифлуперидол	19,1	RP-C18	АН+В+ДЭА=50+50+0,1	УФ-247	JCHR,1980,193,2,255
Трифлупромазин	15,3	M-CN-10	ГК+МХ+АН+ПА=25+50+25+0,1	УФ-254	JCHR,1984,309,2,329
	15,3	L-CN	0,2М АА/рН6,99+АН=10+90	УФ-254, Э	JCHR,1982,231,2,361
Трифтазин (трифлуперазин)	17,0	L-CN	0,2М АА/рН6,99+АН=10+90	УФ-254, Э	JCHR,1982,231,2,361
	17,0	L-CN	0,02М КДФ+АН=55+45	Э	ANCH,1981,53,7,960
Трихлорметилтназид	4,1	L-RP-18	МЕ+В=45+55	УФ-275	JCHR,1985,325,2,395
	4,1	B-C18	УК+В+МЕ+АН=1+60+35+5	УФ-269	JCHR,1981,223,2,466
Тубокурарин		B-C18	0,25%УК/0,005М НДФ+МЕ=20+80	УФ-292	JCHR,1981,225,1,240
Тусупрекс (окселадин)	13,1	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
Фенамин (амфетамин)	5,0	SF-S5W	ХК+МЕ+ГК=0,02+85+15	УФ-215	JCHR,1982,247,1,15
	5,0	N-C18	АК+В+МЕ+АН=3+75+100+100	УФ-254	JCSC,1983,21,4,145
Фенацетин	4,3	R-SIL	0,05М АГФ/рН5+МЕ=1+1		AA,277
	4,3	RP-C22	0,043М АДФ+МЕ=70+30	УФ-300	JCHR,1981,225,1,236
	4,3	SH-RS PAK	0,035М НГФ/0,03М КДФ+АН=65+35		AA,312
	4,3	N-C8	0,05М НГС/КДФ/рН2,5+МЕ		DS85,256
Фенбуфен	10,3	L-CN	В+ИПС+АН+ФК=84,5+10+5+0,5	УФ-265	JCHR,1982,228,1,372
	10,3	RP-18	АН+0,05М АБ/рН4,5=50+50	УФ-254	JCHR,1985,345,1,77
Фенглутаримид	10,3	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
Фенетазин	10,3	L-SI60	МЕ+АН/0,002М КБ=10+90	УФ-244	JCHR,1984,308,1,387
	10,3	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
	10,3	SF-S5W	ХК+МЕ+ГК=0,1+85+15	УФ-215	JCHR,1982,247,1,15
Фенетициллин	9,0	Z-C8	ФБ/рН7+МЕ=62,5+37,5	УФ-254	JCHR,1982,244,2,299

1	2	3	4	5	6
Фенетурид	5,3	L-RP-8	Гр 18—23%Б за 6 мин; 23%Б — 9 мин; А=В; Б=АН	УФ-207	JCHR,1984,305,1,127
Фенигидин (нифедипин)	9,0	SU-LC8-DB	АН+0,02М КДФ/рН3/ТЭА=1+1	УФ-220	SU24,132
	9,0	C18	МЕ+ТГФ+0,05М ФБ/рН3=66+1+ +33	Э	JCHR,1985,341,2,341
	9,0	Z-ODS	0,01М НГФ+МЕ=45+55	УФ-280	JCHR,1984,310,1,219
	9,0	H-MOS	0,05М АБ/рН4+АН=7+5	УФ-238	JCHR,1984,308,1,209
	9,0	B-C18	АН+В=24+76	УФ-280	JCHR,1986,374,1,191
	9,0	B-C18	0,01М ФБ/рН6,1+МЕ=45+55	УФ-254	JCHR,1981,210,3,516
Фенилметилбарбитуровая кислота	4,1	H-SIL	ИО+УК+ИПС=200+3+2	УФ-216	JCHR,1981,204,1,275
	4,1	H-ODS	0,01М НДФ/рН3,5+МЕ=6+4	УФ-216	JCHR,1981,204,1,275
Фенилпропаноламин	3,3	SU-LC8-DB	АН+0,02М КДФ/рН2+ТЭА=10+ +89,8+0,2	УФ-254	SU24,131
	3,3	RPK-SI	0,004М АДФ/рН7,8+АН=4+6	УФ	ANCH,182,54,3,442
Фенилтолоксамин	11,3	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
Фенирамин	10,3	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
Фенклофенак	10,3	L-RP18	5% УК+МЕ=4+6	УФ-254	JCHR,1980,221,2,431
Фенметразин	5,3	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
	5,3	N-C18	АК+В+МЕ+АН=3+75+100+100	УФ-254	JCHR,1983,21,4,145
Фенобарбитал (промминал)	5,1	Z-CN	АН+МЕ+0,07М ФК=10+30+60	УФ-195	JCHR,1983,276,1,445
	5,1	Z-CN	АН+ИПС+ГК=5+10+85	УФ-200	JCHR,1983,276,1,445
	5,1	AS-HS C18	МЕ+В=51+49		AA,269
	5,1	N-10C18	В+МЕ=45+55		AA,286
	5,1	M-CN10	ГК+МХ+АН+ПА=50+50+25+0,1	УФ-254	JCHR,1984,309,2,329
	5,1	SU-LC8	МЕ+0,1М КДФ+ТЭА=45+55+0,1	УФ-254	SU24,131
	5,1	EC-C8	0,1М КДФ/рН4,4+МЕ+ТЭА=61+ +39+0,01		AA,275
	5,1	B-CN	АН+МЕ+ФБ/рН7=625+155+220	УФ-254	JCHR,198,309,1,81
(люминал)	5,1	N-10C18	В+МЕ=45+55		AA,286
	5,1	L-RP8	Гр 18—23%Б за 6 мин; 23%Б — 9 мин; А=В; Б=АН	УФ-207	JCHR,1984,305,1,127
	5,1	H-SIL	ИО+УК+ИПС=200+3+2	УФ-216	JCHR,1981,204,1,275
	5,1	H-ODS	0,1М НДФ/рН3,5+МЕ=6+4	УФ-216	JCHR,1981,204,1,275
Феноксиметилпенициллии	8,0	B-PHENYL	1М ФБ/рН7+В+МЕ=0,5+70+30	УФ-220	JCHR,1982,227,1,137
	8,0	U-ODS	АФБ/рН3+АН=70+30	Э, УФ-220	JCHR,1983,268,1,120
Фенопрофен	9,3	RP	АН+В+УК=50+50+2	УФ-272	JCHR,1980,183,2,250
	9,3	L-RP18	5%УК+МЕ=4+6	УФ-254	JCHR,1980,221,2,431
	9,3	RP-18	АН+0,05М АБ/рН4,5=50+50	УФ-254	JCHR,1985,345,1,77
Фенотиазин	8,0	L-CN	0,02М КДФ+АН=55+45	Э	ANCH,1981,53,7,960
Фенпрокумон	11,3	L-RP18	АН+В+УК=600+400+5	УФ-313	JCHR,1982,231,1,83
Фенретинид	20,3	Z-ODS	АН+В/УК/рН2=75+25	УФ-254	JCHR,1985,322,2,380
Фентоламин	9,0	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
Фепразон		L-RP18	5% УК+МЕ=4+6	УФ-254	JCHR,1980,221,2,431
Флаводат		L-RP18	0,1% ФК+МЕ=40+60	УФ-268	JCHR,1982,230,1,168
Флавоксат	17,1	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
Флекаинид	15,0	B-C18	0,05М АДФ/рН3+МЕ=6+4	Ф-300/370, УФ-280	JCHR,1982,229,2,498
Флубеприд	13,0	L-RP18	0,02М МПС/0,2% ДА+МЕ=60+40	УФ-254	JCHR,1985,320,2,293
Флубипрофен		L-RP18	5% УК+МЕ=4+6	УФ-254	JCHR,1980,221,2,431
Флузиниамид	8,1	B-C18	АН+ТГФ+0,025М ФБ/рН4,2=30+ +5+65	УФ	JCHR,1984,336,2,329
Флуклоксациллин	12,1	L-RP8	0,2М НА/рН5,5+МЕ=10+8	УФ-220	JCHR,1980,183,3,339
	12,1	N-5C18	0,05М ФБ/рН7+АН=75+25		AA,286
Флуиаризин (дигидрохлорид)	22,3	SU-LC8-DB	АН+0,02М КДФ/ТЭА/рН3,15=1+1	УФ-220	SU24,132
Флупентихол	16,1	B-CN	АН+МЕ+ФБ/рН7=625+155+220	УФ-254	JCHR,1984,309,1,81
Флупиртин	7,1	U-ODS	МЕ+АН+0,005М ФБ/рН6,7=32+ +32+36	Ф-323/370	JCHR,1984,305,1,135
Флуразепам	16,1	SF-CN	0,01М КДФ/рН7+АН+МЕ=40+ +48+12	УФ-229	JCHR,1984,311,2,424
	16,1	RP-C18	В+МЕ=4+6	УФ-254/220	JCHR,1981,225,1,266
Флурбипрофен	12,0	RP-18	АН+0,05М АБ/рН4,5=1+1	УФ-254	JCHR,1985,345,1,77
Фолиевая кислота	1,4	VH-HS201	Гр 6—100%В за 30 мин; А=0,1М НА/рН4,4; Б=МЕ+АН+В=10+ +40+50		AA,289
Форидон	12,0	I-C18	АН+В=1+1	УФ-254	*
	12,0	I-SI600	ГК+ИПС=85+15	УФ-254	*
Фостедил	9,3	A-OCTYL	АН+В=3+2	Ф-290/370	JCHR,1984,305,1,233
Фторафур	2,1	P-PXS-ODS2	АН+0,01М АДФ/рН5=7+93	УФ-254	LC-84,173
	2,1	Z-ODS, I-C18	АН+В=8+92	УФ-254	*
(пр)	11,1	N-C18	МЕ+В=7+3	Ф-346/395	JCHR,1984,310,1,151

1	2	3	4	5	6
5-Фторурацил	−0,7	Z-C8	0,05М АФТ/pH6,8+МЕ=98+2	УФ-254	JCHR,1985,344,385
	−0,7	P-PXS-ODS2	АН+0,01М АДФ/pH5=7+93	УФ-254	LC-84,173
	−0,7	Z-ODS, I-C18	АН+В=2+98	УФ-254	*
(пр)	10,0	N-C18	МЕ+В=7+3	Ф-346/395	JCHR,1984,310,1,151
Фторфеназин (флуфеназин)	17,0	B-CN	АН+МЕ+ФБ/pH7=625+155+220	УФ-254	JCHR,1984,309,1,81
	17,0	SF-CN	0,01М КДФ/pH7+АН+МЕ=40+48++12	УФ-229	JCHR,1984,311,2,424
	17,0	L-CN	0,02М КДФ+АН=55+45	Э	ANCH,1981,53,7,960
	17,0	L-RP18	МЕ+ФБ/pH8,2		DS85,104
Фурагии	2,0	Z-ODS	АН+В=3+7	УФ-278	*
Фурадоиин	0,0	Z-ODS	АН+В=2+8	УФ-278	*
Фуразолидон	1,0	H-SAS	В+АН=75+25	УФ-360	JCHR,1980,198,4,526
Фурацилии	−2,0	Z-ODS	АН+В=2+8	УФ-278	*
Фуросемид	6,0	L-RP18	0,02М ФБ/pH3+МЕ=1+1	Ф-275/410	JCHR,1982,229,1,129
	6,0	HG-3011	0,02М ХК/НПХ/pH2+ЭТ=35+65	Ф-268/410	JCHR,1984,308,1,241
	6,0	B-C18	АН+0,08М ФК=37,5+62,5	Ф-233/389	JCHR,1981,227,2,463
Хамицин		N-C18	0,05М АА/pH4,6+АН=625+375	УФ-254	JCHR,1980,189,2,249
Хашимицин		N-C18	0,05М АА/pH4,6+АН=625+375	УФ-254	JCHR,1980,189,2,249
Хиналбарбитон	5,1	H-SIL	ИО+УК+ИПС=200+3+2	УФ-216	JCHR,1981,204,1,275
	5,1	H-ODS	0,1М НДФ/pH3,5+МЕ=6+4	УФ-216	JCHR,1981,204,1,275
Хинидин	12,0	B-C18	АН+УК+В=10+4+86	Ф-340/418	JCHR,1982,228,1,366
	12,0	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
	12,0	SU-LC8-DB	Гр 3—30%Б за 10 мин, 30% Б — 3 мин; А=0,02М ФК/pH3/0,02% ТЭА, Б=АН	УФ-254	SU24,136
	12,0	B-C18	МЕ+В+УК=20+8+1	УФ-254	JCHR,1980,189,2,241
	12,0	RPK-SI	0,004М АДФ/pH7,8+АН=4+6	УФ	ANCH,1982,54,3,442
Хинидин-ретард		EC-C18	ФБ+МЕ=70+30	Ф-340/418	DS85,87
Хиини	12,0	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
	12,0	L-RP18	0,005М ПСК+МЕ+АН=40+30+30	Ф-350/450	JCHR,1983,278,2,445
Хлозепид (хлордиазепоксид)	10,1	L-RP8	0,01М НА+МЕ+АН=6+2+2	УФ-240	JCHR,1981,224,3,519
	10,1	B-C18	0,0075М АБ/pH3,5+МЕ+ИПС	Э, УФ-254	JCHR,1981,222,2,179
	10,1	SF-S5W	ХК+МЕ+ГК=0,02+85+15	УФ-215	JCHR,1982,247,1,15
Хлорбутин (хлорамбуцил)	10,3	P-ODS	0,02М КДФ+МЕ=1+1	Ф-285/320	JCHR,1982,230,2,381
	10,3	RPK-C18	АБ+АН=35+65	УФ-263	JCHR,1982,233,1,392
Хлорндин (пиримстамин)	5,0	P-ODS	0,025М ОСК+АН+МЕ=55+35+10	УФ-254	JCHR,1984,308,1,363
	5,0	L-SI60	МЕ+АН+АМ+ИЭ=6+25+0,1+71	Ф-290/345	JCHR,1982,230,1,107
Хлоримипрамии	14,3	M-CN10	ГК+МХ+АН+ПА=25+50+25+0,1	УФ-254	JCHR,1984,309,2,329
	14,3	SF-S5W	0,002% ХК/МЕ	Ф-200/-	JCHR,1985,345,1,187
Хлорметиазол	3,0	B-C18	МЕ+В=45+55	УФ-254	JCHR,1983,276,1,471
	3,0	SF-S5W	ХК+МЕ+ГК=0,1+85+15	УФ-215	JCHR,1982,247,1,15
Хлоропирилен	8,1	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
Хлорпротиксен	15,1	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
	15,1	L-CN	0,02М КДФ+АН=55+45	Э	ANCH,1981,53,7,960
	15,1	S-PCN	АН+0,02М КДФ/pH4,5=60+40	УФ-229	JCHR,1985,337,2,351
	15,1	I-SI600	ГК+МЕ+ПС+ХК=65+35+10+0,02	УФ-254	JCHR,1980,189,1,137
Хлорпроэтазии	14,5	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
Хлортетрациклин	10,0	SU-LC18-DB	ТГФ+АН+0,005М НГФ/pH2=9++9+82	УФ-254	SU24,132
	10,0	V-RP	0,001М ЭДТА/pH6,6+МЕ=82+18	УФ-380	CHRA,1982,15,6,367
	10,0	L-RP8	0,1М ЛК+АН=75+25	УФ-350	JCHR,1980,195,1,35,
Хлорфенирамин	11,3	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
	11,3	L-CN	ГП+МХ+АН+ПА=50+50+25+0,1	УФ-254	JCHR,1980,18,3,139
	11,3	L-CN	АН+В+ПА=90+1+0,1	УФ-254	JCHR,1980,18,3,139
	11,3	SU-LC8-DB	АН+0,02М КДФ/pH2+ТЭА=10++89,8+0,2	УФ-254	SU24,131
	11,3	RPK-SI	0,004М АДФ/pH7,8+АН=4+6	УФ	ANCH,1982,54,3,442
Хлорфеноксамин	13,3	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
Хлорциклизии	13,3	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
	13,3	L-CN	ГП+МХ+АН+ПА=50+50+25+0,1	УФ-254	JCHR,1980,18,3,139
Холекальциферол (витамин D_3)	23,0	RSIL	МХ		AA,278
	23,0	A-C18	МЕ+В=97+3		AA,271
Целипролол	10,2	S-ODS	0,006М ФБ/pH4+АН=45+55	УФ-237	JCHR,1982,230,2,454
Цефазолин	2,0	B-C18	0,01М АБ/pH4,8+МЕ=85+15	УФ-275	JCHR,1981,223,2,393
Цефалексин	8,0	L-RP18	0,1М ТБАГС/0,09М КФ+МЕ=85+15	УФ-254	JCHR,1982,228,1,257
	8,0	N-C18	МЕ+В=3+2	Ф-345/420	JCHR,1983,276,1,478
	8,0	RPK-C18	ТБАФ/В+АН=83+17	УФ-270	JCHR,1984,336,2,438
	8,0	Z-ODS	0,1М ФБ/pH2,5+АН=90+10	УФ-215	*
Цефалоглицин	9,1	B-C18	МЕ+В+УК=20+80+0,5	УФ-254	JCHR,1982,228,1,429
Цефалотии	8,0	B-C18	В+АН+УК=70+29+1	УФ-254	JCHR,1984,311,1,135
	8,0	B-C18	0,01М АБ/pH4,8+МЕ=85+15	УФ-270	JCHR,1981,223,2,393

Продолжение таблицы 7.7

1	2	3	4	5	6
Цефамаидол	5,7	B-C18	0,01М АБ/рН4,8+МЕ=85+15	УФ-270	JCHR,1981,223,2,393
Цефахлор	8,0	B-C18	МЕ+В+УК=20+80+0,5	УФ-254	JCHR,1982,228,1,429
Цефмеиоксим	2,7	B-PHENYL	АН+0,2%ФК	УФ-254	JCHR,1983,273,2,458
Цефокситин	7,1	B-C18	0,01М АБ/рН4,8+МЕ=85+15	УФ-245	JCHR,1981,223,2,393
	7,1	B-C18	В+АН+УК=70+29+1	УФ-254	JCHR,1984,311,1,135
Цефоницид	5,0	B-PHENYL	АН+0,1%ФК/0,3%ТБАГС=25+75	УФ-254	JCHR,1986,375,1,111
Цефоперазон	11,7	B-C18	0,0012М ТЭА/0,042М УК+АН=76+24	УФ-254	JCHR,1983,276,1,129
	11,7	B-C18	0,01М АБ/рН4,8+МЕ=85+15	УФ-240	JCHR,1981,223,2,393
Цефотаксим	5,4	L-RP18	0,01М ТБАГС/ФБ+МЕ=80+20	УФ-254	JCHR,1982,228,1,257
	5,4	RPK-C18	ТБАФ/В+АН=83+17	УФ-270	JCHR,1984,336,2,438
	5,4	B-C18	0,01М АБ/рН4,8+МЕ=85+15	УФ-234	JCHR,1981,223,2,393
	5,4	SF-ODS	МЕ+В+УК=12+87+1	УФ-262	JCHR,1981,226,2,431
Цефотиам	5,0	L-RP18	0,1М ТБАГС/0,09М КФ+МЕ=85+15	УФ-254	JCHR,1982,228,1,257
Цефроксадин	7,1	L-RP18	0,002М ФК+МЕ=72+28	УФ-254	JCHR,1982,228,1,257
Цефсулодин	12,2	L-RP8	0,1М ТБАГС/0,09М КФ+МЕ=85+15	УФ-254	JCHR,1982,228,1,257
	12,2	Z-C8	0,02М АА+МЕ+АН=950+35+15	УФ-280	JCHR,1982,237,3,515
Цефтриаксон	5,4	L-NH2	АН+1,33%АК=70+30	УФ-274	JCHR,1983,273,2,357
Цефуроксим	6,2	L-RP18	0,02М ТБАГС/ФБ+МЕ=77+23	УФ-254	JCHR,1982,228,1,257
	6,2	B-C18	0,01М АБ/рН4,8+МЕ=85+15	УФ-254	JCHR,1981,223,2,393
Цианокобаламин (витамин B_{12})		VH-HS201	Гр 6—100%Б за 30 мин; А=0,1М НА/рН4,4; Б=МЕ+АН+В=10+40+50		AA,289
Цибензолин	12,4	Z-SCX	0,015М ФБ/рН6+АН=20+80	УФ-214	JCHR,1983,273,2,347
Циклизин	12,4	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
Циклобарбитал	5,1	SU-LC8	МЕ+0,1М КДФ+ТЭА=45+55+0,1	УФ-254	SU24,131
	5,1	H-SIL	ИО+УК+ИПС=200+3+2	УФ-216	JCHR,1981,204,1,275
	5,1	H-ODS	0,1М НДФ/рН3,5+МЕ=6+4	УФ-216	JCHR,1981,204,1,275
Циклогептадин		L-CN	ГП+МХ+АН+ПА=50+50+25+0,1	УФ-254	JCSC,1980,18,3,139
Циклогуаиил	3,0	H-ODS	0,175М ФБ/рН1,5/0,65%НДС+АН=1+1	УФ-247	JCHR,1980,182,2,359
Циклодол (бензгексол) (тригексилфендил)	10,3	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
	10,3	L-CN	0,2М АА/рН6,99+АН=10+90	УФ-254, Э	JCHR,1982,231,2,361
Циклометикаин	15,1	L-RP2	0,1М НТА/рН4,3+МЕ=6+4		JCSC,1983,21,4,145
Циклопентобарбитон	5,1	H-ODS	0,1М НДФ/рН3,5+МЕ=6+4	УФ-216	JCHR,1981,204,1,275
	5,1	H-SIL	ИО+УК+ИПС=200+3+2	УФ-216	JCHR,1981,204,1,275
Циклоспорины A, C, D		SU-LC8	АН+0,1%ФК/рН2,8=75+25	УФ-210	SU24,131
Циметидин	1,1	L-RP18	0,01М АК+МЕ=60+40	УФ	JCHR,1983,273,2,449
	1,1	L-SI100	АН+МЕ+В+АМ=250+30+10+0,4	УФ-228	JCHR,1983,273,1,223
Циннамоилкокаин		L-RP2	0,1М НТА/рН4,3+МЕ=6+4		JCSC,1983,21,4,145
Цинхокаин	12,0	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
	12,0	L-RP2	0,1М НТА/рН4,3+МЕ=6+4		JCSC,1983,21,4,145
Цинхонидин	12,0	B-C18	МЕ+В+УК=20+80+1	УФ-254	JCHR,1980,189,2,241
Цинхонин	12,0	B-C18	МЕ+В+УК=20+80+1	УФ-254	JCHR,1980,189,2,241
Цисплатин		RP-C8	0,01М ЦБ/рН7,3	УФ-301, Э	JCHR,1983,273,2,301
Циталопам	14,1	SF-ODS	АН+ФБ=55+45	Ф-240/300	JCHR,1984,308,1,199
	14,1	SF-ODS	АН+ФБ/рН3,0=55+45	УФ-240, Ф-240/296	JCHR,1982,227,1,129
Цитарабин	−1,6	N-C18	0,2М КДФ/рН2	УФ-280	JCHR,1981,223,2,371
	−1,6	SF-ODS	0,05М ФБ/рН7	УФ-270	JCHR,1981,225,1,99
	−1,6	U-ODS+P-SCX	0,0025М КДФ/рН3,2+МЕ=97,5+2,5	УФ-280	JCHR,1983,274,1,87
	−1,6	L-NH2	АН+В=75+25	УФ	DS85,71
Эдрофоний	4,4	U-C8	0,01М НГС/0,01М НДФ+АН=85+15	УФ-214	JCHR,1980,183,2,193
Эллиптицин	11,4	B-C18	0,01М НДФ/рН3,5+АН=64+36	УФ-300, Ф-360/455	JCHR,1982,231,1,137
Элуфеназин		L-CN	0,2М АА/рН6,99+АН=10+90	УФ-254,.Э	JCHR,1982,231,2,361
Эмбрамин	12,1	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
Эмепроний	14,4	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
Эналлилпропимал		H-SIL	ИО+УК+ИПС=200+3+2	УФ-216	JCHR,1981,204,1,275
		H-ODS	0,1М НДФ/рН3,5+МЕ=6+4	УФ-216	JCHR,1981,204,1,275
Эндралазин	5,1	RP-8	0,015М ФК+АН=82+18	Ф-230/389	JCHR,1981,225,1,151
Эпитазид	5,0	B-CN	ХЛ+МЕ=97+3	УФ-264	JCHR,1981,224,1,33
Эргокальциферол (витамин D_2)	24,0	N-NH2	ГП+ХЛ=80+20		AA,286
	24,0	Z-SIL	ГК+ИПС=95+5	УФ-290	JCHR,1981,226,2,351
и аналоги	24,0	VH-HS201	АН+ИПС+В=90+8+2		AA,289
Эргокристин		L-SI60	ГК+ХЛ+АН	УФ-320	JCSC,1983,21,4,145
Эргокристинин		L-SI60	ГК+ХЛ+АН	УФ-320	JCSC,1983,21,4,145
Эргометрин	11,0	L-SI60	ГК+ХЛ+АН	УФ-320	JCSC,1983,21,4,145
Эрготамин	22,0	B-C18	0,05М НГС/1%УК+МЕ=1+1	УФ-254	JCHR,1983,261,3,345

1	2	3	4	5	6
Эрготамин	22,0	L-SI60	ГК+ХЛ+АН	УФ-320	JCSC,1983,21,4,145
Эсмолол		B-PHENYL	0,01М НА+АН+УК=87+12+1	УФ-280	JCHR,1984,309,1,203
Эстазолам	8,0	B-C18	АН+ХЛ+БУ+В+УК=850+80+50+ +20+0,5	УФ-254	JCHR,1983,268,1,92
Эстрамустин	18,1	P-PXS	ГК+ЭТ=92,5+7,5	Ф-195/250	JCHR,1980,182,3—4,387
Этаверин	15,1	P-ODS	0,1%КДФ+МЕ=35+65	УФ-238	JCHR,1980,182,2,379
Этазол	2,0	I-C18	0,1%ФК+АН=7+3	УФ-254	*
Этаминал (пентобарбитал)	4,1	P-ODS2	ТГФ+В=5+95	УФ-215	JCHR,1983,275,1,107
Этаперазин (перфеназин)	14,0	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
	14,0	L-CN	0,02М КДФ+АН=55+45	Э	ANCH,1981,53,7,960
Этафедрин	2,3	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
Этацизин	15,1	PG-CN	0,05М НА/рН4,05+АН+УК=71+ +27+2	УФ-268	LC-84,170
	15,1	Z-ODS	0,1М ФБ/рН2,5+АН=6+4	УФ-254	*
Этидокаин		RPK-SI	0,004М АДФ/рН7,8+АН=40+60	УФ	ANCH,1982,54,3,442
Этилбискумацетат	13,1	B-C18	МЕ+В+УК=56+40+4	УФ-254	JCHR,1983,272,2,406
Этиловый эфир аповинкаминовой кислоты	15,7	B-C18	0,01М АК+АН=4+6	УФ-280	JCHR,1981,204,1,341
Этимизол	1,0	L-SI100	ГП+МХ+МЕ+ТЭА=85+10+4,75+ +0,25	УФ-262	JCHR,1983,273,1,213
Этинилэстрадиол	14,4	S-ODS	АН+ТГФ+В=33,5+16,5+50	УФ-280	JCSC,1980,18,11,631
Этионамид	2,3	PG-S1	ДЭ+МЕ=96+4	УФ-295	JCHR,1981,225,1,245
Этмозин	13,1	P-SCX	АН+В+ДЭА+УК=27+73+0,18+ +0,18	УФ-254	JCHR,1982,231,1,205
	13,1	L-RP18	АН+В+ДЭА=50+50+0,3	УФ-254	JCHR,1982,231,1,205
	13,1	Z-ODS	0,1М ФБ/рН2,5+АН=55+45	УФ-254	*
Этогептазин	6,3	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
Этозолин	6,1	L-RP18	0,02М ФБ/рН2,2+МЕ=35+65	УФ-282	JCHR,1981,225,2,504
Этомидат	7,1	RP-C8	АН+МЕ+В=35+32,5+32,5	УФ-248	JCHR,1982,232,1,207
Этопозид		B-C18	МЕ+В=6+4	Ф	JCHR,1981,224,1,168
Этопропазин	9,3	SF-S5W	0,01М АПХ/0,0001М НГ/МЕ	УФ, Э	JCHR,1985,323,1,191
Этосукцимид	1,4	SU-LC8	МЕ+0,1М КДФ+ТЭА=45+55+0,1	УФ-254	SU24,131
Эфедрин	4,3	SF-A10Y	0,01М ТМАГ/ЛК/рН6+АН=25+75	Э	CHRA,1983,17,7,394

Примечания: * — данные авторов; (пр) — препарат хроматографировали в виде производных.

Таблица 7.8

Обозначение сорбентов в табл. 7.7

Сокращенное обозначение	Серия сорбентов	Сокращенное обозначение	Серия сорбентов
A	Alltech	PG	Polygosil
AS	Adsorbosphere	PS	Porasil
B	Bondapak	RPK	Radial Pak
C	Chromosorb	RSil	RSil
CS	Chromsil	SD	Shandon
EC	Econosphere	SH	Shodex
H	Hypersil	SF	Spherisorb
HG	Hitachi gel	SM	Sumipax
I	Silasorb	SU	Supelcosil
L	Lichrosorb	U	Ultrasphere
LS	Lichrospher	V	Versapak
M	MicroPak	VT	Vydac TP
N	Nucleosil	VH	Vydac HS
P	Partisil	Z	Zorbax

Примечание: Обозначения химических типов сорбентов: АЕ — анионообменник; AL — окись алюминия; РВ — полярная химически связанная неподвижная фаза; PRP — полимерная обращенная фаза; RP-(n) — углеводородная обращенная фаза (с алкильными радикалами C_nH_{2n+1}); SIL — силикагель; САТ — катионообменник; SP — специфически селективная модификация.

транскрипции. Для малораспространенных сорбентов и материалов лабораторного изготовления, а также в тех случаях, когда первоисточник не содержал сведений о конкретной марке сорбента, приводится общее обозначение его химического типа (см. табл. 7.8).

Подвижная фаза. Для сокращенного обозначения состава подвижных фаз в табл. 7.7 приняты следующие правила:

— растворители и модифицирующие добавки обозначаются сокращенно (табл. 7.9);

— отдельные компоненты или их группы, которые при смешении образуют подвижную фазу, разделяются знаком «+», а количественное соотношение их объемов отделяется от части, описывающей качественный состав, знаком равенства. Например, сокращение МЕ+В+УК=50+48+2 обозначает смесь метанола, воды и уксусной кислоты в объемном отношении 50:48:2;

— концентрация модифицирующих добавок в подвижной фазе выражается в процентах (%) или молях на литр (М). Если растворителем добавки является вода, она не указывается. Отдельные модификаторы, а также значения pH в данной

Таблица 7.9

Растворители и модифицирующие добавки

Обозначение в табл. 7.7	Наименование	Обозначение в табл. 7.7	Наименование
1	2	3	4
АА	Ацетат аммония	МПС	3-Морфолинопропансульфоиат
АБ	Ацетатный буфер	МХ	Метилеихлорид
АГ	Гидроксид аммоиия	МЦ	Метилцеллозольв
АГК	Гидрокарбоиат аммония	МЭК	Метилэтилкетои
АГФ	Гидрофосфат аммония	НА	Ниниламии
АДФ	Дигидрофосфат аммоиия	НБ	Борат иатрия
АК	Карбонат аммоиия	НГ	Гидроксид натрия
АМ	Аммиак, 25%-ный раствор	НГС	Гептансульфонат натрия
АН	Ацетоинтрил	НГФ	Гидрофосфат иатрия
АПХ	Перхлорат аммония	НДС	Додецилсульфоиат иатрия
АТ	Ацетон	НДФ	Дигидрофосфат иатрия
АФ	Формиат аммоиия	НКС	Камфорсульфонат иатрия
АФТ	Фосфат аммоиия	НОС	Октансульфоиат натрия
АХ	Хлорид аммоиия	НПС	Пентансульфоиат натрия
АЦ	Цитрат аммоиия	НС	Сульфат иатрия
ББ	Боратиый буфер	НТА	Нитрат аммоиия
БЗ	Беизол	НФ	Фосфат иатрия
БУ	Бутанол	НХ	Хлорид иатрия
БУА	Бутиламии	ОА	Октиламии
БХ	Бутилхлорид	ОК	Октаи
В	Вода	ОСК	Октаисульфокислота
ГА	Гексиламии	ПА	Пропиламии
ГДТАБ	Бромид гексадецилтриметиламмоиия	ПР	Пиридии
ГК	Гексаи	ПС	Пропиловый спирт
ГП	Гептаи	ПСК	Пеитаисульфокислота
ГСК	Гептаисульфокислота	СК	Соляиая кислота
ГСН	Гексаисульфонат иатрия	Т	Типол (детергеит)
ДА	Дециламин	ТБАБ	Бромид тетрабутиламмония
ДМФА	Диметилформамид	ТБАГС	Гидросульфат тетрабутиламмоиия
ДО	Диоксаи	ТБАФ	Фосфат тетрабутиламмоиия
ДХЭ	Дихлорэтаи	ТГФ	Тетрагидрофураи
ДЭ	Диэтиловый эфир	ТМАГ	Гидроокись тетраметиламмония
ДЭА	Диэтиламии	ТМД	Тетраметилэтилеидиамин
ДЭАА	Ацетат диэтиламмоиия	ТМДА	Тетраметилендиамин
ИО	Изооктаи	ТМОА	Гидроокись триметилоктиламмоиия
ИПС	Пропанол-2	ТРИС	*Трис*-(оксиметиламиометаи)
ИЭ	Диизопропиловый эфир	ТФУК	Трифторуксусная кислота
КБ	Бромид калия	ТЭА	Триэтиламии
КГФ	Гидрофосфат калия	ТЭАА	Ацетат триэтиламмония
КДФ	Дигидрофосфат калия	ТЭАФ	Фосфат триэтиламмония
КСК	Камфорсульфоновая кислота	УК	Уксусиая кислота
КФ	Фосфат калия	ФБ	Фосфатиый буфер
КФБ	Калиевый фосфатиый буфер	ФК	Фосфориая кислота
КХ	Хлорид калия	ХЛ	Хлороформ
ЛК	Лимоиная кислота	ХК	Хлориая кислота
ЛСК	Лаурилсульфоиовая кислота	ЦБ	Цитратиый буфер
МЕ	Метанол	ЦГ	Циклогексан
		ЧУ	Четыреххлористый углерод
		ЩК	Щавелевая кислота
		ЭА	Этилацетат
		ЭДТА	Этилеидиамиитетраацетат иатрия
		ЭТ	Этаиол
		ЭТА	Этаиоламии

Окоичание таблицы 7.9

группе компонентов подвижной фазы отделяются знаком «/». Например, сокращение 0,1%НДС/0,01М ФБ/рН3,0+МЕ=7+3 означает, что в объемном отношении 3:7 смешан метанол и 0,01 М фосфатный буфер, содержащий 0,1% додецилсульфата натрия и имеющий рН 3,0;

— градиентное элюирование изображается согласно следующей схеме:

ГР a—b%Б за t мин; А=[состав]; Б=[состав].

Это означает, что состав подвижной фазы изменяется за t мин от a% компонента Б до b% данного компонента. Состав компонентов А и Б изображается после знака равенства в

Таблица 7.10

Литературные источники, цитированные в табл. 7.7

Нанменование	
сокращенное в табл. 7.7	полное
AA	Alltech Associates — Applied Science Chromatography Catalog N 70
ANCH	Analytical Chemistry
CBM	Хроматография в биологии и медициие. Тезисы докладов I Всесоюзиой конфереиции. М, 1983
CHRA	Chromatographia
DS85	V Danube Symposium on Chromatography. Abstracts. M., Nauka, 1985
JA	Journal of Antibiotics
JCHR	Journal of Chromatography
JCSC	Journal of Chromatographic Science
JPSC	Journal of Pharmaceutical Sciences
LC-84	III Всесоюзный симпозиум по молекулярной жидкостной хроматографии. Тезисы докладов. Рига, Зииатие, 1984
SH-84	Advances in Liquid Chromatography. Abstracts of Presentations of the 4th Annual American-Eastern Europeaп Symposium on Liquid Chromatography. Szeged (Hungary), 1984
SU24	Supelco Chromatography Supplies. International Catalog 24, 1986

соответствии с вышеприведенными правилами для подвижных фаз в изократическом режиме.

Детектор. Обозначение детектора состоит из букв и цифр, уточняющих условия работы:

Р — рефрактометр; Э — электрохимический; УФ — детекторы по поглощению ультрафиолетового либо видимого света (например, УФ-254 — при длине волны 254 нм); Ф-250/320 — флуориметрический детектор, в данном случае с длиной волны возбуждения 250 и эмиссии — 320 нм; МС — масс-спектрометрический.

Литературные источники. В табл. 7.7 принят сокращенный способ цитирования. Для журнальных статей отделенные запятыми указаны следующие сведения: сокращенное название журнала, год, том, номер выпуска, страница. Для книг приведены сокращенное наименование, номер страницы. Расшифровка сокращенных наименований дана в табл. 7.10.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Завершая обсуждение современного состояния жидкостной хроматографии низкомолекулярных органических соединений, ее применения в анализе лекарственных средств, авторы считают необходимым остановиться вкратце на тех направлениях, которые, вероятно, будут определять развитие этой области науки и практики в ближайшие годы.

Жидкостная хроматография как наука сравнительно далеко продвинулась в изучении кинетико-динамических аспектов процесса. Это позволило создать современные высокоэффективные сорбенты и колонки. Однако резервы дальнейшего совершенствования за счет повышения эффективности уже почти исчерпаны. Намного скромнее успехи теории удерживания, которой пока не удается выйти из рамок полуэмпирического моделирования. Страницы этой книги, посвященные данному вопросу, свидетельствуют о том, что, несмотря на определенные успехи, возможно лишь очень грубое априорное предсказание величин удерживания, пригодное для предварительной оценки требуемой элюирующей силы подвижной фазы. Хотя сведения такого рода весьма полезны на первоначальном этапе разработки методики разделения, их недостаточно для корректного прогноза относительных величин удерживания конкретных пар соединений. Исследователи по-прежнему не в состоянии предвидеть в общем случае, исходя из химико-структурных соображений, как изменится селективность хроматографической системы по отношению к данной паре веществ при тех или иных изменениях состава подвижной фазы. В связи с этим изучение природы селективности, по существу проблемы межмолекулярных взаимодействий в жидкостной хроматографии, продолжает оставаться актуальной задачей.

В настоящее время становится все яснее, что основная модель адсорбционной хроматографии, предполагающая протекание сорбции непосредственно на поверхности необработанного

либо химически модифицированного силикагеля, требует существенного уточнения. Так, во многих системах вблизи поверхности адсорбента за счет сорбционных явлений и межмолекулярных взаимодействий из компонентов элюента образуются слои «квазинеподвижной фазы». Явления такого рода полностью определяют поведение сорбатов в системах с явным динамическим модифицированием сорбента, однако немалую роль играют и в системах, которые по традиции относят к адсорбционным. Экспериментальное и теоретическое изучение этих процессов представляется нам важной и увлекательной задачей будущего.

Практические успехи ВЭЖХ как метода разделения и анализа смесей уже не требуют специальных комментариев. Но нельзя утверждать, что ее возможности полностью отвечают наиболее типичным аналитическим и препаративным задачам. Чаще всего при анализе или препаративном выделении необходимо не полное разделение всех компонентов объекта, а получение индивидуальных зон лишь некоторых соединений, интересующих исследователя. Решаются такого типа задачи главным образом за счет высокой эффективности колонок, что неоптимально с точки зрения продолжительности разделения. Более широкое использование факторов селективности позволило бы сократить расход растворителей, что особенно важно в препаративной хроматографии, при разработке хроматографических технологий. Поэтому создание новых, более селективных систем представляется нам актуальной практической задачей. Помимо упомянутого выигрыша экономического характера сверхселективные системы обеспечат также качественно новый уровень решения ряда задач (например, позволят создавать лекарственные препараты новых поколений на основе индивидуальных оптических изомеров). Разработка подобных систем на основе химической модификации силикагеля ведется почти повсеместно в мире.

Наряду с этим направлением многого можно ожидать от более широкого использования динамического модифицирования обычных сорбентов — силикагеля или его химических производных. Выбор динамических модификаторов среди известных веществ довольно широк и по мере развития исследований в этой области может обогатиться за счет целенаправленного синтеза. Хроматографист при минимальном наборе готовых сорбентов с помощью динамического модифицирования сможет получить широкий спектр неподвижных фаз разной селективности. Принципиальное отличие этого режима хроматографии от традиционных в том, что состав неподвижной фазы очень сильно зависит от состава подвижной. Следовательно, появляется возможность в условиях градиентного элюирования не только изменять элюирующую силу подвижной фазы, но и химическую природу неподвижной.

Перечисленные направления в значительной степени отражают вкусы и интересы авторов. Но существует множество других важных областей прикладных и теоретических исследований. Высокоэффективная жидкостная хроматография продолжает развиваться, работы впереди немало. И если предлагаемая читателю книга в чем-то ему поможет, авторы могут считать свою цель достигнутой.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Андерсон А.А. Жидкостная хроматография аминосоединений. — Рига: Зинатие, 1984. — 295 с.
2. Весновский Б. П., Мерлис Г. Н., Яшни Я. И. Определение барбитуратов методом жидкостной хроматографии // Журн. аналит. химии. — 1985. — Т. 40, вып. 5. — С. 939—940.
3. Гордон А., Форд Р. Спутник химика. — М.: Мир, 1976. — 542 с.
4. Григорьева В.Д., Бривкалие Л.А., Шатц В. Д. Высокоэффективная жидкостная хроматография пептидных биорегуляторов, их фрагментов и производных. II. Сорбция пептидов из водно-органических элюентов октадецилсиликагелем и немодифицированным силикагелем // Биоорган. химия. — 1985. — Т. 11, № 4. — С. 447—454.
5. Григорьева В. Д., Шатц В. Д., Бривкалие Л. А., Чипенис Г. И. Высокоэффективная жидкостная хроматография пептидных биорегуляторов, их фрагментов и производных. I. Хроматографическое поведение фрагментов кортикотропина на сорбенте *Zorbax ODS* // Биоорган. химия. — 1983. — Т.9, № 7. — С. 869—877.
6. Гуревич А. Л., Русинов Л. А., Сягаев Н. А. Автоматический хроматографический анализ. — Л.: Химия, 1980. — 192 с.
7. Даванков В. А. Хроматография и оптическая изомерия // Прикладная хроматография / Под ред. К. И. Сакодынского. — М.: Наука, 1984. — С. 24—32.
8. Жидкостная хроматография / Под ред. З. Дейла, К. Мацека, Я. Янака. — М.: Мир, 1978. — Ч. 1. — 544 с.; Ч. 2. — 462 с.; Ч. 3. — 422 с.
9. Измайлов Н. А., Шрайбер М. С. Капельно-хроматографический метод анализа и его применение в фармации // Фармация. — 1938. — № 3. — С. 1—17.
10. Канев А. С., Катыхин Г. С., Лезин А. А., Кротова Н. Б. Современное состояние и тенденции развития жидкостной хроматографии. — М.: ЦНИИТЭИ приборостроения, 1985. — Сер. ТС-4, вып. 4. — 103 с.
11. Катруха С. П., Гиеушев Е. Т., Кукес В. Г. Определение тетрациклинов в плазме методом высокоэффективной жидкостной хроматографии // Химия природ. соед. — 1981. — № 3. — С. 376—379.
12. Киселев А. В., Пошкус Д. П.,Яшин Я. И. Молекулярные основы адсорбционной хроматографии. — М.: Химия, 1986. — 269 с.
13. Киселев А. В., Яшин Я. И. Адсорбционная газовая и жидкостная хроматография. — М.: Химия, 1979. — 287 с.
14. Когаи Л. А. Количественная газовая хроматография. — М.: Химия, 1975. — 184 с.
15. Козлова Л. М., Клявиия З. Р., Медие Р. С., Шатц В. Д. Сорбция некоторых производных полиядерных ароматических углеводородов на Силасорбе 600 // Изв. АН ЛатвССР. Сер. хим. — 1985. — № 4. — С. 412—429.
16. Луговик Б. А. Жидкостная хроматография под высоким давлением. — Томск: Изд-во Томск. ун-та, 1978. — 142 с.
17. Матаицева Е. Ф., Гладышев П. П., Горяев М. И., Бектенова Г. А. Количественное определение опийных алкалоидов методом жидкостной хроматографии // Химия природ. соед. — 1980. — № 5. — С. 730—731.
18. Машковский М. Д. Лекарственные средства. — М.: Медицина, 1984. — Ч. 1. — 624 с.; Ч. 2. — 575 с.
19. Перри С., Амос Р., Брюер П. Практическое руководство по жидкостной хроматографии / Пер. с англ. — М.: Мир, 1974. — 260 с.
20. Рачинский Ф. Ю., Рачинская М. Ф. Техника лабораторных работ. — М.: Химия, 1982. — 431 с.
21. Рогожин С. В., Даванков В. А. Хроматография лигандов на дисимметрических комплексообразующих сорбентах — новый принцип расщепления рацематов // ДАН СССР. — 1970. — Т. 192, № 6. — С. 1288—1300.
22. Самель Н., Лыхмус Т., Алисте Р. и др. Анализ простагландинов при помощи газожидкостной, тонкослойной и высокоэффективной хроматографии // Изв. АН ЭССР. Сер. хим. — 1981. — Т. 30, № 3. — С. 199—207.
23. Сахартова О. В., Шатц В. Д. Выбор условий элюирования в обращенно-фазовой хроматографии. Приближенная оценка удерживания полифункциональных кислородсодержащих соединений // Журн. аналит. химии. — 1984. — Т. 39, № 8. — С. 1496—1503.
24. Сахартова О. В., Шатц В. Д. Сравнительные расчеты удерживания в хроматографии производных циклопентана на силикагеле // Журн. аналит. химии. — 1985. — Т. 40, вып. 5. — С. 872—880.
25. Силис Я. Я., Кофман А. М., Розенблит А. Б. Первичная обработка хроматограмм и спектров на ЭВМ. — Рига: Зинатие, 1980. — 127 с.
26. Современное состояние жидкостной хроматографии / Под ред. Дж. Киркленда. — М.: Мир, 1974. — 325 с.
27. Стыскин Е. Л.,Ициксон Л. Б., Брауде Е. В. Практическая высокоэффективная жидкостная хроматография. — М.: Химия, 1986. — 288 с.
28. Титова Е. В., Членов М. А., Кудряшов Л. И. Анализ защищенных пептидов — фрагментов АСТН (1-24) методом высокоэффективной жидкостной хроматографии // Биоорган. химия. — 1984. — Т. 10, № 11. — С. 1448—1452.
29. Тихвинская Т. И., Сахартова О. В., Беликов В. А. и др. Определение константы диссоциации 11-дезоксипростагландина E_1 // Синтез и исследование простагландинов. — Рига: Зинатие, 1982. — С. 24.
30. Хроматография: Практическое приложение метода. В 2 ч. / Пер. с англ.; Под ред. Э. Хефтмана. — М.: Мир, 1986. — Ч. 1. — 366 с.; Ч. 2. — 422 с.
31. Цвет М. С. Хроматографический адсорбционный анализ. Избранные работы. — М.; Л: Изд-во АН СССР, 1946. — 273 с.
32. Цветковский И. Б. Влияние размеров молекулярных функциональных молекул на их удерживание в жидкостной адсорбционной хроматографии // Журн. аналит. химии. — 1981. — Т. 36, № 4. — С. 709—714.
33. Шатц В. Д., Коробкова Т. И. Закономерности сорбции монозамещенных производных адамантана на октадецилсиликагеле // Изв. АН ЛатвССР. Сер. хим. — 1985. — № 6. — С. 683—686.
34. Шатц В. Д., Мухаметшина В. Г., Тирзите Д. Я. и др. Закономерности удерживания производных 1,4-дигидропиридина и выбор

условий хроматографического анализа на их основе // Хим.-фарм. журн. — 1985. — № 4. — С. 482—486.
35. Шатц В. Д., Сахартова О. В., Беликов В. А и др. Выбор условий элюирования в обращенио-фазовой хроматографии. Зависимость коэффициентов емкости от концентрации органического компоиента подвижиой фазы // Журн. аналит. химии. — 1984. — Т. 39, № 2. — С. 331—340.
36. Шатц В. Д., Сахартова О. В., Бривкалне Л. А., Беликов В. А. Выбор условий элюирования в обращенно-фазовой хроматографии. Индекс связываемости и удерживание углеводородов и простейших кислородсодержащих соединиений // Журн. аналит. химии. — 1984. — Т. 39, № 5. — С. 894—902.
37. Энгельгардт Х. Жидкостная хроматография при высоких давлениях. — М.: Мир, 1980. — 245 с.
38. Abidi S. L. HPLC resolution and quantification of a dilactonic mixture (Antimycin A) // J. Chromatogr. — 1982. — Vol. 234, N 1. — P. 187—200.
39. Ageev A. N., Kiselev A. V., Yashin Ya. I. Regularities in the retention of isomeric aromatic hydrocarbons in liquid chromatography. II. Analysis of polymethyl- and monoalkyl-benzenes on silanised silica gel // Chromatographia. — 1981. — Vol. 14, N 11. — P. 638—640.
40. Alawi M. A., Püssel H. A. A simple, sensitive, and specific HPLC amperometric screening method for trace levels of sulphonamides in liver, kidney, and muscle tissues // Chromatographia. — 1981. — Vol. 14, N 12. — P. 704—706.
41. Alemanni A., Riedmann M. HPLC routine analysis of biosynthetic active components in fermentation media // Chromatographia. — 1979. — Vol. 12, N 6. — P. 396—398.
42. Annesley Th., Giacherio D., Wilkerson K. Analysis of retinoids by high performance liquid chromatography using programmed gradient separation // J. Chromatogr. — 1984. — Vol. 305, N 1. — P. 199—203.
43. Armstrong D. W., Stine G. Y. Selectivity in pseudophase liquid chromatography // Anal. Chem. — 1983. — Vol. 55, N 14. — P. 2917—2920.
44. Arunyanart M., Cline Love L. J. Model of micellar effects on liquid chromatography capacity factors and for determination of micelle-solute equilibrium // Anal. Chem. — 1984. — Vol. 56, N 9. — P. 1557—1561.
45. Arunyanart M., Zibas S., Cline Love L. J. Model for micellar effects on liquid chromatographic separation of organic acids and bases // Conf. and exbition on analytical chemistry and applied spectroscopy. — Pittsburgh, 1985. — Abstr. 803.
46. Asmus P. A., Landis B. Analysis of steroids in bulk pharmaceuticals by liquid chromatography with light-scattering detection // J. Chromatogr. — 1984. — Vol. 316, N 1. — P. 461—472.
47. Assenza S. P., Brown P. R. Quantitative structure-retention relationships for purine compounds on reversed phase packings // J. Chromatogr. — 1983. — Vol. 282, N 1. — P. 477—486.
48. Aszalos A. Fast determination of tetracycline antibiotics in different media by HPLC // Chromatographia. — 1985. — Vol. 20, N 5. — P. 313—321.
49. Ayyangar N. R., Bhide S. R. Simultaneous separation of the principal alkaloids in gum opium by isocratic, reversed phase high performance liquid chromatography // J. Chromatogr. — 1986. — Vol. 366, N 1. — P. 435—438.
50. Ayyangar N. R., Srinivasan K. V. Correlation of pK_{BH^+} of acetanilides with liquid chromatographic behaviour // J. Chromatogr. — 1983. — Vol. 267, N 2. — P. 399—402.

51. Bailey F. Applications of high performance liquid chromatography in the pharmaceutical industry // J. Chromatogr. — 1976. — Vol. 122, N 1. — P. 73—84.
52. Bakalyar S. R., McIlwrick R., Roggendorf E. Solvent selectivity in reversed phase high pressure liquid chromatography // J. Chromatogr. — 1977. — Vol. 142, N 1. — P. 353—365.
53. Baker J. K., Ma C.-Yu. Retention index scale for liquid-liquid chromatography // J. Chromatogr. — 1979. — Vol. 179, N 1. — P. 107—115.
54. Baker J. K., Skelton R. E., Riley T. N., Bagley J. R. Estimation of high pressure liquid chromatographic retention indices of narcotic analgetics and related drugs // J. Chromatogr. Sci. — 1980. — Vol. 18, N 4. — P. 153—158.
55. Baker J. B., Gough T. A. The separation and quantitation of the narcotic components of illicit heroin using reversed phase high performance liquid chromatography // J. Chromatogr. Sci. — 1981. — Vol. 19, N 10. — P. 483—489.
56. Balke S. T. Quantitative column liquid chromatography. — Amsterdam: Elsevier, 1984. — 300 p.
57. Bartha A., Vigh Gy. Studies in ion-pair chromatography. II. Retention of positive and negative ions and neutral solutes in tetrabutylammonium bromide-containing methanol-water eluents on Lichrosorb RP-18 // J. Chromatogr. — 1983. — Vol. 265, N 2. — P. 171—182.
58. Bartha A., Vigh Gy., Billiet H. A., De Galan L. Studies in reversed phase ion-pair chromatography. IV. The role of the chain length of the pairing ion // J. Chromatogr. — 1984. — Vol. 303, N 1. — P. 29—38.
59. Bartha A., Vigh Gy., Billiet H., De Galan L. Effect of the type of ion-pairing reagent in reversed-phase ion-pair chromatography // Chromatographia. — 1985. — Vol. 20, N 10. — P. 587—590.
60. Bauer M., Untz G. Analyze des alcaloides du quinquina par chromatographie liquide haute performance // J. Chromatogr. — 1980. — Vol. 192, N 2. — P. 479—484.
61. Bens G. A., Van Den Bossche W., Van Den Weken G., De Moerboose P. Analysis of the macrolide antibiotics propionylmaridomycins and related compounds by RP HPLC // J. Chromatogr. — 1982. — Vol. 248, N 2. — P. 312—317.
62. Benshop H. P., Konings A. G., Kossen S. P., Ligtenstein D. A. Determination of some pyridinium aldoxime compounds by means of ion-pair reversed phase liquid chromatography. Application to biological material // J. Chromatogr. — 1981. — Vol. 225, N 1. — P. 107—114.
63. Berendsen G. E., De Galan L. Role of the chain length of chemically bonded phases and the retention mechanism in reversed-phase liquid chromatography // J. Chromatogr. — 1980. — Vol. 196, N 1. — P. 21—37.
64. Berridge J. C. Optimisation of RP HPLC separations with the aid of a programmable calculator // J. Chromatogr. — 1980. — Vol 202, N 3. — P. 469—472.
65. Bidlingmeyer B. A. Separation of ionic compounds by reversed-phase liquid chromatography: An update of ion-pairing technique // J. Chromatogr. Sci. — 1980. — Vol. 18, N 10. — P. 525—539.
66. Bidlingmeyer B. A., Del Rios J. K., Korpl J. Separation of organic amine compounds on silica gel with reversed-phase eluents // Anal. Chem. — 1982. — Vol. 54, N 3. — P. 442—447.
67. Bidlingmeyer B. A., Deming S. N., Price W. P., jun. et. al. Retention mechanism for reversed-phase ion pair liquid chromatography // J. Chromatogr. — 1979. — Vol. 186, N 1. — P. 419—434.

68. Bieganowska M., Soczewinski E. Retention parameters and eluent composition in TL and HPLC of aromatic nitro compounds in RP systems // J. Chromatogr. — 1981. — Vol. 205, N 2. — P. 451—456.
69. Bieganowska M., Soczewinski E., Janowska M. Structural effects and retention in reversed-phase ion-pair chromatography of 2-benzoylbenzoic acid derivatives // Chromatographia. — 1984. — Vol. 18, N 2. — P. 99—102.
70. Billiet H. A. H., Drouen A. C. J. H., De Galan L. Rapid optimization of the concentration of the ion-pairing agent in ion-pairing reversed-phase liquid chromatography // J. Chromatogr. — 1984. — Vol. 316, N 1. — P. 231—240.
71. Blaschke G., Maibaum J. Chromatographic resolutions. XIV. Optical resolution of the racemic anticancer drug Ifosfamide and other chiral oxazaphosphorines // J. Chromatogr. — 1986. — Vol. 366, N 1. — P. 329—334.
72. Blau K., King G. S. Handbook of derivatives for chromatography. — New York: Heyden, 1977.
73. Boehm R. E., Martire D. E. A unified theory of retention and selectivity in liquid chromatography. I. Liquid-solid (adsorption) chromatography // J. Phys. Chem. — 1980. — Vol. 84, N 26. — P. 3620—3630.
74. Bojarski J., Ekiert L. Relationship between molecular connectivity indices of barbiturates and chromatographic parameters // Chromatographia. — 1982. — Vol. 15, N 3. — P. 172—174.
75. Borgerding M. F., Hinze W. L. Characterization and evaluation of the use of nonionic polyoxyethylene(23)dodecanol micellar phases in reversed phase high performance liquid chromatography // Anal. Chem. — 1985. — Vol. 57, N 12. — P. 2183—2190.
76. Borowko M., Jaroniec M. Dependence of the distribution coefficient on the mobile phase composition in liquid adsorption chromatography. II. Analytical equations for the distribution coefficient involving non-ideality of the mobile phase and heterogeneity of the adsorbent surface // Chromatographia. — 1979. — Vol. 12, N 10. — P. 672—678.
77. Borowko M., Jaroniec M., Narkiewicz J., Patrykiejew A. Gradient optimization in elution liquid chromatography. II. Theory of multi-step elution with a mobile phase of constant composition in each step // J. Chromatogr. — 1978. — Vol. 153, N 2. — P. 321—328.
78. Borowko M., Jaroniec M., Narkiewicz J. et al. Gradient optimization in elution liquid chromatography. I. Theoretical considerations connected with evaluation of the concentration — time function for stepwise elution // J. Chromatogr. — 1978. — Vol. 153, N 2. — P. 309—319.
79. Boumahraz M., Davydov V. Ya., Kiselev A. V. Separation of carbohydrates by liquid chromatography on silica gel adding adsorption modificators to the eluent // Chromatographia. — 1982. — Vol. 15, N 11—12. — P. 751—756.
80. Braumann T., Grimme L. H. Determination of hydrophobic parameters for pyridazinone herbicides by liquid-liquid partition and reversed-phase high performance liquid chromatography // J. Chromatogr. — 1981. — Vol. 206, N 1. — P. 7—16.
81. Brisson A. M., Fourtillan J. B. Determination of cephalosporins in biological material by reversed-phase liquid column chromatography // J. Chromatogr. — 1981. — Vol. 223, N 2. — P. 393—399.
82. Budahegyi M. V., Lombosi E. R., Lombosi T. S. et al. Twenty-fifth anniversary of the retention index system in gas-liquid chromatography // J. Chromatogr. — 1983. — Vol. 271, N 3. — P. 213—307.
83. Burgess C. Rapid RP HPLC analysis of steroid products // J. Chromatogr. — 1975. — Vol. 149, N 1. — P. 233—240.

84. Bylina A., Gluzinski L., Lesniak K. et al. Numerical representation of the structural pattern as a way to predict HPLC retention // Chromatographia. — 1983. — Vol. 17, N 3. — P. 132—138.
85. Capp M. W., Simonian M. H. Separation of major adrenal steroids by reversed phase HPLC // Anal. Biochem. — 1985. — Vol. 147, N 2. — P. 274—381.
86. Carignan G., Lodge B. A., Skakum W. General RP HPLC procedure for the analysis of oral contraceptive formulations // J. Chromatogr. — 1984. — Vol. 315, N 1. — P. 470—477.
87. Cavazzutti C., Gagliardi L., Amato A. et al. Separation and quantitation of polynitrate esters in pharmaceutical preparations by reversed-phase HPLC // J. Chromatogr. — 1982. — Vol. 244, N 2. — P. 391—395.
88. Cavina G., Gallinella B., Porra R., Valvo L. Identification and determination of corticosteroids in adrenal gland extracts for pharmaceutical use by HPLC // Chromatographia. — 1984. — Vol. 19, N 1. — P. 206—215.
89. Cavina G., Moretti G., Alimenti R., Gallinella B. Analysis of natural corticosteroids in adrenal extracts and in biological fluids by high performance liquid chromatography // J. Chromatogr. — 1979. — Vol. 175, N 1. — P. 125—140.
90. Chen B. K., Horwath Cs. Evaluation of substituent contributions to chromatographic retention: quantitative structure-retention relationships // J. Chromatogr. — 1979. — Vol. 171, N 1. — P. 15—28.
91. Chiariotti M., de Giovanni N., Fiori A. Analysis of benzodiazepines. I. Chromatographic identification // J. Chromatogr. — 1986. — Vol. 358, N 1. — P. 169—178.
92. Chromatography. Fundamentals and applications of chromatographic and electrophoretic methods / Ed. by E. Heftmann. — Amsterdam: Elsevier, 1983. — Pt A. — 388 p.; Pt B. — 564 p.
93. Clark C. R., Chan J.-L. Improved detectability of barbiturates in high performance liquid chromatography by post-column ionization // Anal. Chem. — 1978. — Vol. 50, N 4. — P. 635—637.
94. Colin H., Eon C., Guiochon G. Reversed-phase liquid-solid chromatography on modified carbon black // J. Chromatogr. — 1976. — Vol. 122, N 1. — P. 223—242.
95. Colin H., Guiochon G. Selectivity for homologous series in reversed-phase liquid chromatography. I. Theory // J. Chromatogr. Sci. — 1980. — Vol. 18, N 2. — P. 54—63.
96. Colin H., Krstulović A. M., Connord M.-F. et al. Investigation of selectivity in reversed-phase liquid chromatography — effects of stationary and mobile phases on retention of homologous series // Chromatographia. — 1983. — Vol. 17, N 1. — P. 9—15.
97. Cooke N. H. C., Olsen K. Chemically bonded alkyl reversed-phase columns: Properties and use // Amer. Lab. — 1979. — Vol. 8. — P. 45—60.
98. Cooke N. H. C., Olsen K. Some modern concepts in reversed-phase liquid chromatography on chemically bonded alkyl stationary phases // J. Chomatogr. Sci. — 1980. — Vol. 18, N 10. — P. 512—524.
99. Cooper H. A., Hurtubise R. J. Prediction of retention of hydroxyl aromatics in reversed-phase liquid chromatography with slope-intercept relationships // J. Chromatogr. — 1986. — Vol. 360, N 1. — P. 313—325.
100. Cooper H. A., Hurtubise R. J. Prediction of retention of hydroxyl aromatics in normal-phase liquid chromatography with slope-intercept relationships // J. Chromatogr. — 1986. — Vol. 360, N 2. — P. 327—341.
101. Cooper W. T., Li-Ying Lin. Effects of stationary phase polarity on retention in reversed-phase bonded phase HPLC columns // Chromatographia. — 1986. — Vol. 21, N 6. — P. 335—341.

102. Cooper W. T., Smith P. L. Retention mechanism in cyanopropyl normal bonded phase high performance liquid chromatographic columns // J. Chromatogr. — 1986. — Vol. 355, N 1. — P. 57—74.
103. Crombeen J. P., Heemstra S., Kraak J. C. Solvent generated liquid-liquid systems on unmodified silica // Chromatographia. — 1984. — Vol. 19, N 1. — P. 219—224.
104. Crombez E., Van den Brossche W., De Moerloose P. Separation of some cephalosporin derivatives by ion-pair RP HPLC // J. Chromatogr. — 1979. — Vol. 169, N 1. — P. 343—350.
105. Davankov V. A. Resolution of racemates by high performance liquid chromatography // Advances in chromatography / Ed. by J. C. Giddings et al. — New York : Marcel Dekker, 1980. — Vol. 18. — P. 139—195.
106. Davankov V. A., Kurganov A. A., Bochkov A. S. Resolution of racemates by high performance liquid chromatography // Advances in chromatography // Ed. by J. C. Giddings et al. — New York : Marcel Dekker, 1983. — Vol. 22. — P. 71—116.
107. Davankov V. A., Semechkin A. V. Ligand-exchange chromatography // J. Chromatogr. — 1977. — Vol. 141, N 3. — P. 313—353.
108. Davydov V. Ya. Intermolecular interaction of cardiac glycosides, steroid hormones and carbohydrates in liquid chromatography // Chromatography-1984. — Budapest : Akad. Kiado, 1986. — P. 351—373.
109. De Leenheer A. P., Lambert W. E., de Ruyter M. G. M. Modern chromatographic analysis of the vitamins. Chromatographic science series. — New York : Marcel Dekker, 1985. — Vol. 30. — 576 p.
110. De Smet M., Van Belle S. J. P., Storme G. A. HPLC determination of *Vinca* alcaloids in plasma and urine // J. Chromatogr. — 1985. — Vol. 345, N 2. — P. 309—321.
111. Debets H. J. G. Optimization methods for HPLC // J. Liquid Chromatogr. — 1985. — Vol. 8, N 15. — P. 2725—2780.
112. Deelder R. S., Linssen H. A. J., Konijnendijk A. P., Van de Venne J. L. M. Retention mechanism in reversed-phase ion-pair chromatography of amines and amino acids on bonded phases // J. Chromatogr. — 1979. — Vol. 185, N 1. — P. 241—257.
113. Detaevernier M. R., Dryon L., Massart D. L. The separation of some trycyclic antidepressants by high performance liquid chromatography // J. Chromatogr. — 1976. — Vol. 128, N 1. — P. 204—207.
114. Diasio R. B., Wilburn M. E. Effect of subambient column temperature on resolution of fluorouracil metabolites in reversed-phase high performance liquid chromatography // J. Chromatogr. Sci. — 1979. — Vol. 17, N 10. — P. 565—567.
115. Dimov N., Agapova N., Levy Sh., Yanachkov Iv. Separation of nitrate esters and nitrate-acetate esters of izosorbide // J. Chromatogr. — 1984. — Vol. 285, N 3. — P. 515—517.
116. Dohl J., Greibnokk T. HPLC separation and ultraviolet detection of prostaglandins, oxidized by pyridinium dichromate // J. Chromatogr. — 1983. — Vol. 282, N 1. — P. 435—442.
117. Dolan J. W., Gant J. R., Snyder L. R. Gradient elution in HPLC. II. Practical applications to RP systems // J. Chromatogr. — 1979. — Vol. 165, N 1. — P. 31—58.
118. Dolan J. W., Gant J. R., Tanaka N. et al. Continuous-flow automated HPLC analysis of fat-soluble vitamins in tablets // J. Chromatogr., Sci. — 1978. — Vol. 16, N 12. — P. 616—622.
119. Doner L. W., Hsu A.-F. High-performance liquid chromatographic separation of alkaloids from *Papaver somniferum* on a Zorbax NH_2 analytical column // J. Chromatogr. — 1982. — Vol. 253, N 1. — P. 120—123.

120. Dorsey Y. G. Micellar liquid chromatography // Conference and exposition on analytical chemistry and applied spectroscopy. — Pittsburgh, 1985. — Abstr. 1007.
121. Dufek P. High-performance liquid chromatographic studies on N-alkylphtalimides. II. A method for calculating capacity factors for members of a homologous series at different mobile phase compositions // J. Chromatogr. — 1983. — Vol. 281, N 1. — P. 49—58.
122. Dufek P., Smolkova E. High-performance liquid chromatographic behaviour of N-substituted phtalimides. Calculation of capacity factors for members of the homologous series // J. Chromatogr. — 1983. — Vol. 257, N 2. — P. 247—254.
123. Eksborg S., Lagerström P.-O., Modin R., Schill G. Ion-pair chromatography of organic compounds // J. Chromatogr. — 1973. — Vol. 83, N 1. — P. 99—110.
124. El Tayar N., De Waterbeemd H. V., Testa B. Lipophilicity measurement of protonated basic compounds by reversed-phase high performance liquid chromatography. II. Procedure for the determination of a lipophilic index measured by reversed phase high performance liquid chromatography // J. Chromatogr. — 1985. — Vol. 320, N 2. — P. 305—312.
125. Eltekov Yu. A., Kazakevitch Yu. V. Relationship between retention and molecular structure of pyrimidine bases // Chromatographia. — 1986. — Vol. 22, N 1—6. — P. 73—76.
126. Eltekov Yu. A., Kazakevitch Yu. V., Kiselev A. V. Liquid chromatographic behaviour of pyrimidine bases on various bonded phases // Chromatographia. — 1985. — Vol. 20, N 9. — P. 529—532.
127. Engelhardt H., Ahr G. Properties of chemically bonded phases // Chromatographia. — 1981. — Vol. 14, N 4. — P. 227—243.
128. Engelhardt H., Müller H. Chromatographic characterization of silica surfaces // J. Chromatogr. — 1981. — Vol. 218, N 1. — P. 395—407.
129. Engelhardt H., Müller H., Dreyer B. Is there a "true" dead volume for HPLC columns? // Chromatographia. — 1985. — Vol. 19. — P. 240—245.
130. Ettre L. S. The nomenclature of chromatography. I. Gas chromatography // J. Chromatogr. — 1979. — Vol. 165, N 3. — P. 235—256.
131. Ettre L. S. The nomenclature of chromatography. II. Liquid chromatography // J. Chromatogr. — 1981. — Vol. 220, N 1. — P. 29—63.
132. Fiedler H.-P. Identification of new elloramycins, anthracycline-like antibiotics in biological cultures by HPLC and diode array detection // J. Chromatogr. — 1986. — Vol. 361, N 1. — P. 432—436.
133. Fitzpatrick F. A., Wynalda M. A., Kaiser D. G. Oximes for high performance liquid and electron capture gas chromatography of prostaglandins and thromboxanes // Anal. Chem. — 1977. — Vol. 49, N 7. — P. 1032—1035.
134. Flanagan R. J., Jane I. High performance liquid chromatographic analysis of basic drugs on silica columns using non-aqueous ionic eluents. I. Factors influencing retention, peak shape and detector response // J. Chromatogr. — 1985. — Vol. 323, N 2. — P. 173—189.
135. Flanagan R. J., Storey G. C. A., Bhamra R. K., Jane I. HPLC analysis of basic drugs on silica columns using non-aqueous ionic eluents // J. Chromatogr. — 1982. — Vol. 242, N 1. — P. 15—37.
136. Fleming L., Reynolds N. C. Separation and detection of closely related endorphins by liquid chromatography-electrochemistry // J. Chromatogr. — 1986. — Vol. 375, N 1. — P. 65—73.
137. Funasaki N., Hada S., Neya S. Prediction of retention times in reversed-phase high performance liquid chromatography from the chemical structure // J. Chromatogr. — 1986. — Vol. 361, N 1. — P. 33—45.

138. Galewsky S., Nessler C. L. Rapid analysis of opium alcaloids by ion-pair high performance liquid chromatography // Chromatographia. — 1984. — Vol. 18, N 2. — P. 87—90.
139. Gant J. E., Dolan J. W., Snyder L. R. Systematic approach to optimizing resolution in reversed phase liquid chromatography, with emphasis on the role of temperature // J. Chromatogr. — 1979. — Vol. 185, N 1. — P. 153—177.
140. Ghaemi Y., Knox J. H., Wall R. A. Hydrophobic chromatography with dynamically coated stationary phases. IV. Anionic surfactant effects on alumina // J. Chromatogr. — 1981. — Vol. 209, N 2. — P. 191—201.
141. Ghaemi Y., Wall R. A. Hydrophobic chromatography with dynamically coated stationary phases // J. Chromatogr. — 1979. — Vol. 174, N 1. — P. 51—59.
142. Ghaemi Y., Wall R. A. Hydrophobic chromatography with dynamically coated stationary phases. III. Non-ionic surfactant effects. // J. Chromatogr. — 1980. — Vol. 198, N 4. — P. 397—405.
143. Giddings J. C. The role of lateral diffusion as a rate-controlling mechanism in chromatography // J. Chromatogr. — 1961. — Vol. 5, N 1. — P. 46—60.
144. Giddings J. C. Dynamics of chromatography. — New York : Marcel Dekker, 1965. — 336 p.
145. Gill R., Alexander S. P., Moffat A. C. Group contribution approach to the behaviour of 2-phenylethylamines in reversed-phase high performance liquid chromatography // J. Chromatogr. — 1981. — Vol. 218, N 1. — P. 639—646.
146. Gill R., Gibbs J. P. HPLC systems for the separation of benzodiazepines and their metabolites // J. Chromatogr. — 1986. — Vol. 356, N 1. — P. 37—46.
147. Gill R., Key J. A. HPLC system for separation of ergot alcaloids with applicability to the analysis of illicit lysergide (LSD) // J. Chromatogr. — 1985. — Vol. 346, N 1. — P. 423—437.
148. Gill R., Law B., Gibbs J. P. High performance liquid chromatography systems for the separation of benzodiazepines and their metabolites // J. Chromatogr. — 1986. — Vol. 356, N 1. — P. 37—46.
149. Gill R., Moffat A., Smith R. M., Hurdley T. G. A collaborative study to investigate the retention reproducibility of barbiturates in HPLC with a wiew to establishing retention databases for drug identification // J. Chromatogr. Sci. — 1986. — Vol. 24, N 4. — P. 153—159.
150. Gill R., Stead A. H, Moffat A. C. Analytical aspects of barbiturate abuse. Identification of drugs by the effective combination of gas-liquid, high performance liquid and thin layer chromatographic techniques. — J. Chromatogr. — 1981. — Vol. 204, N 1. — P. 275—284.
151. Gimet R., Filloux A. Identification et dosage d'alcaloides en melange dans une forme pharmaceutique par chromatographie liquid haute performance // J. Chromatogr. — 1979. — Vol. 177, N 2. — P. 333—342.
152. Glajch J. L., Kirkland J. J. Optimization selectivity in liquid chromatography. Mobile phase, stationary phase, and pH and other effects are most useful in optimizing an LC separation // Anal. Chem. — 1983. — Vol. 55, N 2. — P. 319A—336A.
153. Glajch J. L., Kirkland J. J., Snyder L. R. Practical optimization of solvent selectivity in liquid-solid chromatography using a mixture-design statistical technique // J. Chromatogr. — 1982. — Vol. 238, N 2. — P. 269—280.
154. Glajch J. L., Kirkland J. J., Squire K. M., Minor J. M. Optimization of solvent strength and selectivity for reversed-phase liquid chromatography using an interactive mixture-design statistical technique // J. Chromatogr. — 1980. — Vol. 199, N 1. — P. 57—79.

155. Glajch J. L., Snyder L. R. Solvent strength of multicomponent mobile phases in liquid-solid chromatography. Mixtures of three or more solvents // J. Chromatogr. — 1981. — Vol. 214, N 1. — P. 21—34.
156. Gloor R., Johansson E. L. Practical aspects of reverse-phase ion-pair chromatography // J. Chromatogr. Sci. — 1977. — Vol. 15, N 9 — P. 413—423.
157. Godbillon J., Gauron S. Determination of clomipramine or imipramine and their mono-demethylated metabolites in human blood or plasma by high performance liquid chromatography // J. Chromatogr. — 1981. — Vol. 204, N 1. — P. 303—311.
158. Goldberg A. P., Nowakowska E., Antle P. E., Snyder L. R. Retention optimization strategy for HPLC ion-pair separation of samples containing basic compounds // J. Chromatogr. — 1984. — Vol. 316, N 1. — P. 241—260.
159. Gorbachevski A. Ya., Kiselev A. V., Nikitin Yu. S., Pyatygin A. A. Regularities in the retention of nonsubstituted polynuclear aromatic hydrocarbons in liquid chromatography on polar adsorbents // Chromatographia. — 1985. — Vol. 20, N 9. — P. 533—537.
160. Gough T. A., Baker P. B. Identification of major drugs of abuse using chromatography // J. Chromatogr. Sci. — 1982. — Vol. 20, N 7. — P. 289—329.
161. Graham J. A., Rogers L. B. Effects of surfactants on capacity factors of nonionic solutes in reversed-phase liquid chromatography // J. Chromatogr. Sci. — 1980. — Vol. 18, N 11. — P. 614—621.
162. Green J. B. Liquid chromatography on silica using mobile phases containing aliphatic carboxylic acids. I. Effects of carboxylic acid chain length on separation efficiency and selectivity // J. Chromatogr. — 1981. — Vol. 209, N 2. — P. 211—229.
163. Green J. B. Liquid chromatography on silica using mobile phases containing tetraalkylammonium hydroxides. I. General separation selectivity and behavior of typical polar compounds in fuels // J. Chromatogr. — 1986. — Vol. 358, N 1. — P. 53—75.
164. Grego B., Hearn M. T. W. Role of the organic solvent modifier in the reversed-phase high performance liquid chromatography of polypeptides // Chromatographia. — 1981. — Vol. 14, N 10. — P. 589—592.
165. Hall L. H., Kier L. B., Murray W. J. Molecular connectivity. II. Relationship to water solubility and boiling point // J. Pharmaceutical Sci. — 1975. — Vol. 64, N 12. — P. 1974—1977.
166. Hammers W. E., Janssen R. H. A. M., Baars A. G., De Ligny C. L. Standardization and determination of the selectivity of octadecylsilica in HPLC // J. Chromatogr. — 1978. — Vol. 167, N 1. — P. 273—289.
167. Hammers W. E., Janssen R. H. A. M., De Ligny C. L. The retention mechanism of some alkane and benzene derivatives on octadecylsilyl and trimethylsilyl silica in gas chromatographic columns // J. Chromatogr. — 1979. — Vol. 166, N 1. — P. 9—20.
168. Hammers W. E., Kos C. H., Brederode W. K., De Ligny C. L. Adsorptive properties of N-2-cyanoethyl-N-metylaminosilica in HPLC // J. Chromatogr. — 1978. — Vol. 168, N 1. — P. 9—25.
169. Hammers W. E., Meurs G. J., De Ligny C. L. Correlations between liquid chromatographic capacity ratio data on Lichrosorb RP-18 and partition coefficients in octanol-water system // J. Chromatogr. — 1982. — Vol. 247, N 1. — P. 1—13.
170. Hammers W. E., Spanjer M. C., De Ligny C. L. Selectivity of Nucleosil 10 NH_2 as an adsorbent in high performance liquid chromatography // J. Chromatogr. — 1979. — Vol. 174, N 2. — P. 291—305.

171. Hanai T. Energy effects in the retention of aromatic acids in liquid chromatography // J. Chromatogr. — 1985. — Vol. 332, N 1. — P. 189—194.
172. Hanai T., Hubert J. Hydrophobicity and chromatographic behaviour of aromatic acids found in urine // J. Chromatogr. — 1982. — Vol. 239, N 1. — P. 527—536.
173. Hanai T., Jukurogi A., Hubert J. Retention as Van der Waals volume, pi-energy and hydrogen-bonding energy effects and enthalpy in liquid chromatography // Chromatographia. — 1984. — Vol. 19, N 1. — P. 266—268.
174. Hanai T., Tran K. C., Hubert J. Prediction of retention times for aromatic acids in liquid chromatography // J. Chromatogr. — 1982. — Vol. 239, N 1. — P. 385—395.
175. Hancock W. S., Bishop C. A., Meyer L. J., Harding D. R. K. High pressure liquid chromatography of peptides and proteins. VI. Rapid analysis of peptides by high-pressure liquid chromatography with hydrophobic ion-pairing of amino groups // J. Chromatogr. — 1978. — Vol. 161, N 1. — P. 291—298.
176. Hansch C., Leo A. Substituent constants for correlation analysis in chemistry and biology. — New York : Wiley, 1979. — 352 p.
177. Hanssen S. H. Column liquid chromatography on dynamically modified silica, I // J. Chromatogr. — 1984. — Vol. 209, N 2. — P. 203—210.
178. Hanssen S. H., Helboe P. High performance liquid chromatography on dynamically modified silica. V. Influence of nature and concentration of organic modifier in eluents containing cetyltrimethylammonium bromide // J. Chromatogr. — 1984. — Vol. 285, N 1. — P. 53—61.
179. Hanssen S. H., Helboe P., Lund U. High performance liquid chromatography on dynamically modified silica. IV. Effects of variations of pH, ionic strength, and buffer composition in eluents containing cetyltrimethylammonium bromide // J. Chromatogr. — 1983. — Vol. 270, N 1. — P. 77—85.
180. Hara S. Use of thin layer chromatographic separations. Procedure for systematization and design of the separation process in synthetic chemistry // J. Chromatogr. — 1977. — Vol. 137, N 1. — P. 41—52.
181. Hara S., Fujii Y., Hirasawa M., Miyamoto S. Systematic design of binary systems for liquid chromatography via retention behaviour of mono- and difunctional steroids on silica gel columns // J. Chromatogr. — 1978. — Vol. 149, N 1. — P. 143—159.
182. Hara S., Hayashi S. Correlation of retention behaviour of steroidal pharmaceuticals in polar and bonded reversed phase liquid chromatography // J. Chromatogr. — 1977. — Vol. 142, N 1. — P. 689—703.
183. Hara S., Hirasawa M., Miyamoto S., Ohsawa A. Design of equieluotropic binary solvent systems for silica gel liquid chromatography // J. Chromatogr. — 1979. — Vol. 169, N 1. — P. 117—127.
184. Hara S., Kunihiro K., Yamaguchi H., Soczewinski E. Ternary solvent system design for liquid-solid chromatography // J. Chromatogr. — 1982. — Vol. 239, N 1. — P. 687—694.
185. Hara S., Miyamoto S. Correlation between the retention behaviour of mono- and difunctional solutes in binary solvent — silica gel liquid chromatography // Anal. Chem. — 1981. — Vol. 53, N 9. — P. 1365—1369.
186. Hara S., Ohkuma T. Role of mobile phase components for multifunctional solutes in silica gel liquid-solid chromatography. Resolution of protected deoxyribonucleotide derivatives for oligomer synthesis // J. Chromatogr. — 1984. — Vol. 316, N 1. — P. 389—396.
187. Hara S., Ohsawa A. Design of binary solvent systems for liquid-solid chromatography on silica gel columns using mono- and difunctional steroidal solutes // J. Chromatogr. — 1980. — Vol. 200, N 1. — P. 85—94.

188. Hara S., Ohsawa A., Endo J. et al. Liquid chromatographic resolution of the unsaturated sesquiterpene alcohol isomers using silica gel — binary solvent systems // Anal. Chem. — 1980. — Vol. 52, N 3. — P. 428—430.
189. Hara S., Yamauchi N., Nakae C., Sakai S. Solvent system optimization in the separation of indole alcaloids by silica gel liquid chromatography // Anal. Chem. — 1980. — Vol. 52, N 1. — P. 33—38.
190. Harnisch M., Möckel H. J., Schultze G. Relationship between log P_{ow} shake-flask values and capacity factors derived from reversed-phase high performance liquid chromatography for *n*-alkylbenzenes and some OECD reference substances // J. Chromatogr. — 1983. — Vol. 282, N 1. — P. 315—332.
191. Hasan M. N., Jurs P. C. Computer-assisted prediction of liquid chromatographic retention indexes of polycyclic aromatic hydrocarbons // Anal. Chem. — 1983. — Vol. 55, N 2. — P. 263—269.
192. Hearn M. T. W., Grego B. High performance liquid chromatography of amino acids, peptides and proteins. LIII. Evaluation of the effects of several stationary phase parameters on the chromatographic separation of polypeptides on alkylsilicas // J. Chromatogr. — 1983. — Vol. 282, N 1. — P. 541—560.
193. Hearn M. T. W., Hancock W. S. Hydrophobicity parameter—capacity factor relationships of iodoamino-acids // J. Chromatogr. Sci. — 1980. — Vol. 18, N 6. — P. 288—292.
194. Helboe P. Separation of corticosteroids by high performance liquid chromatography on dynamically modified silica // J. Chromatogr. — 1986. — Vol. 366, N 1. — P. 191—196.
195. Hemetsberger H., Behrensmeyer P., Henning J., Ricken H. Reversed-phase, high performance liquid chromatography : Effect of the structure of the chemically bonded hydrocarbon ligand on retention and selectivity // Chromatographia. — 1979. — Vol. 12, N 2. — P. 71—76.
196. Hemetsberger H., Kellerman M., Ricken H. Behaviour of chemically bonded alkylmethyl dichlorosilanes to silica gel in reversed-phase high-performance liquid chromatography // Chromatographia. — 1977. — Vol. 10, N 12. — P. 726—730.
197. Hennion M. C., Picard C., Combellas C. et al. Simple relationships concerning mobile and stationary phase in normal and reverse-phase chromatography // J. Chromatogr. — 1981. — Vol. 210, N 2. — P. 211—228.
198. Hesse Chr., Hövermann W. Ein Dreikomponenten-Zweiphasensystem für die schnelle Flüssigkeits-Chromatographie // Chromatographia. — 1973. — Vol. 6, N 8/9. — P. 345—348.
199. Hildebrand J. H., Prausnitz J. M., Scott R. L. Regular and related solutions. — New York : Van-Nostrand-Reinhold, 1970. — 228 p.
200. Hildebrand J. H., Scott R. L. The solubility of non-electrolytes. — New York : Dover, 1964. — 488 p.
201. Horvath Cs., Melander W. Liquid chromatography with hydrocarbonaceous bonded phases; theory and practice of reversed-phase chromatography // J. Chromatogr. Sci. — 1977. — Vol. 15, N 9. — P. 393—404.
202. Horvath Cs., Melander W., Molnar J. Solvophobic interactions in liquid chromatography with nonpolar stationary phases // J. Chromatogr. — 1976. — Vol. 125, N 1. — P. 129—156.
203. Horvath Cs., Melander W., Molnar J. Liquid chromatography of ionogenic substances with nonpolar stationary phases // Anal. Chem. — 1977. — Vol. 49, N 1. — P. 142—154.
204. Horvath Cs., Melander W., Molnar J., Molnar P. Enhancement of retention by ion-pair formation in liquid chromatography with

nonpolar stationary phases // Anal. Chem. — 1977. — Vol. 49, N 14. — P. 2295—2305.
205. Howard G. A., Martin A. J. P. The separation of the C_{12}-C_{18} fatty acids by reversed-phase partition chromatography // Biochem. J. — 1950. — Vol. 46, N 5. — P. 532—538.
206. Hsueh W., Li R., Pei Y. Separation of 1,2,4-triazole derivatives by high performance liquid chromatography // J. Chromatogr. — 1986. — Vol. 356, N 3. — P. 433—437.
207. Huber J. F. K., Pawlowska M., Markl P. Solvent generated liquid-liquid chromatography with nonaqueous ternary systems // Chromatographia. — 1983. — Vol. 17, N 12. — P. 653—663.
208. Huber J. F. K., Pawlowska M., Markl P. Solvent-generated liquid-liquid chromatography with aqueous ternary systems // Chromatographia. — 1984. — Vol. 19, N 1. — P. 19—28.
209. Hung C. T., Taylor R. B. Mechanism of retention of acidic solutes by octadecyl silica using quaternary ammonium pairing ions as ion exchangers // J. Chromatogr. — 1980. — Vol. 202, N 3. — P. 333—345.
210. Hung C. T., Taylor R. B., Paterson N. Investigation of the effect of added organic amine on the chromatography of tricyclic antidepressant drugs using reversed phase chromatography on octadecylsilica with sodium lauryl sulphate as pairing ion // J. Chromatogr. — 1982. — Vol. 240, N 1. — P. 61—73.
211. Hunter J. R., Walden M. K., Heftmann E. High pressure liquid chromatography of androgens // J. Chromatogr. — 1979. — Vol. 176, N 3. — P. 421—426.
212. Hurtubise R. J., Allen T. W., Silver H. F. Comparison of molecular connectivity and a chromatographic correlation factor in reversed-phase high performance liquid chromatography of polycyclic aromatic hydrocarbons // J. Chromatogr. — 1982. — Vol. 235, N 2. — P. 517—522.
213. Hurtubise R. J., Hussain A., Silver H. F. Effects of solvent composition in the normal-phase liquid chromatography of alkylphenols and naphtols // Anal. Chem. — 1981. — Vol. 53, N 13. — P. 1993—1997.
214. Hussain A., Hurtubise R. J., Silver H. F. Solvent composition effects with a cyano and a silica gel stationary phase in normal phase liquid chromatography of alkylphenols and naphtols // J. Chromatogr. — 1982. — Vol. 232, N 1. — P. 21—32.
215. Inayama S., Hori H., Shibata T. et al. Simple and rapid separation of certain prostaglandins by reversed phase HPLC // J. Chromatogr. — 1980. — Vol. 194, N 1. — P. 85—88.
216. James A. T., Martin A. J. P. Gas-liquid partition chromatography : the separation and microestimation of volatile fatty acids from formic acid to dodecanoic acid // Biochem. J. — 1952. — Vol. 50. — P. 679—690.
217. Jandera P. Method for characterization of selectivity in reversed-phase liquid chromatography. I. Derivation of the method and verification of the assumptions // J. Chromatogr. — 1986. — Vol. 352, N 1. — P. 91—110.
218. Jandera P. Reversed-phase liquid chromatography of homologous series. A general method for prediction of retention // J. Chromatogr. — 1984. — Vol. 314, N 1. — P. 13—36.
219. Jandera P., Churacek J. Gradient elution in liquid chromatography. I. Influence of the composition of the mobile phase on the capacity ratio (retention volume, band width, and resolution) in isocratic elution. Theoretical consideration // J. Chromatogr. — 1974. — Vol. 91. — P. 207—221.
220. Jandera P., Churacek J. Gradient elution in liquid chromatography. III. Verification of the theoretical relationships for elution characteristics (retention volume, band width, and resolution) in isocratic and gradient elution chromatography on silica // J. Chromatogr. — 1974. — Vol. 93, N 1. — P. 17—39.

221. Jandera P., Churacek J. Gradient elution in liquid chromatography. IV. Verification of the theoretical relationships for elution characteristics (retention volume, band width, resolution, plate number) in adsorption chromatography on silica using stepwise and combined (stepwise-gradient) elution and some considerations concerning solvent-programmed and isocratic elution chromatography // J. Chromatogr. — 1975. — Vol. 104, N 1. — P. 9—21.
222. Jandera P., Churacek J. Gradient elution in liquid chromatography. V. Cation-exchange chromatography of N,N-dimethyl-*p*-aminobenzeneazobenzoyl esters and amines in mixed aqueous-organic solutions — influence of the nature of the exchanger on separation // J. Chromatogr. — 1975. — Vol. 104, N 1. — P. 23—37.
223. Jandera P., Churacek J. Gradient elution in liquid chromatography. VI. Cation-exchange chromatography of N,N-dimethyl-*p*-aminobenzeneazobenzoyl esters and amides in mixed aqueous-organic solutions-influence of the composition of the mobile phase on the retention characteristics and practical examples of separation // J. Chromatogr. — 1975. — Vol. 104, N 2. — P. 257—269.
224. Jandera P., Churacek J. Gradient elution in liquid chromatography. IX. Selection of optimal conditions in stepwise-elution liquid chromatography // J. Chromatogr. — 1979. — Vol. 170, N 1. — P. 1—10.
225. Jandera P., Churacek J. Gradient elution in liquid chromatography. XI. Influence of the adjustable gradient parameters on the chromatographic behaviour of sample compounds // J. Chromatogr. — 1980. — Vol. 192, N 1. — P. 1—18.
226. Jandera P., Churacek J. Gradient elution in column liquid chromatography. — Amsterdam : Elsevier, 1985. — 510 p.
227. Jandera P., Churacek J., Colin H. Gradient elution in liquid chromatography. XIV. Theory of ternary gradient in RPLC // J. Chromatogr. — 1981. — Vol. 214, N 1. — P. 35—46.
228. Jandera P., Churacek J., Svoboda L. Gradient elution in liquid chromatography. X. Retention characteristics in reversed-phase gradient elution chromatography // J. Chromatogr. — 1979. — Vol. 174, N 1. — P. 35—50.
229. Jandera P., Churacek J., Szabo D. Liquid chromatography on unmodified and modified spheron gels. II. Barbiturates and sulfonamides // Chromatographia. — 1981. — Vol. 14, N 1. — P. 1—12.
230. Jandera P., Colin H., Guiochon G. Interaction indexes for prediction of retention in RPLC // Anal. Chem. — 1982. — Vol. 54, N 3. — P. 435—441.
231. Jandera P., Janderova M., Churacek J. Gradient elution in liquid chromatography. VII. Comparison of different mobile phases in adsorption chromatography // J. Chromatogr. — 1975. — Vol. 115, N 1. — P. 9—32.
232. Jandera P., Janderova M., Churacek J. Gradient elution in liquid chromatography. VIII. Selection of the optimal composition of the mobile phase in liquid chromatography under isocratic conditions // J. Chromatogr. — 1978. — Vol. 148, N 1. — P. 79—97.
233. Jandera P., Spacek M. Method for characterization of selectivity in reversed-phase liquid chromatography. III. Retention behaviour in gradient-elution chromatography : application to the chromatography of pesticide compounds // J. Chromatogr. — 1986. — Vol. 366, N 1. — P. 107—126.
234. Jane I., McKinnon A., Flanagan R. J. High performance liquid chromatographic analysis of basic drugs on silica columns using non-aqueous ionic eluents. II. Application of UV, fluorescence and electrochemical oxidation detection // J. Chromatogr. — 1985. — Vol. 323, N 2. — P. 191—225.

235. Jansen E. H. J. M., Blitterswijk H. V., Zoontjes P. W. et al. Selectivity of diol phase HPLC system in trace analysis of anabolic compounds // J. Chromatogr. — 1985. — Vol. 347, N 3. — P. 375—378.
236. Jansson S.-O., Andersson J., Johansson H.-L. Liquid chromatography of substituted phenoxypropanol-amines on dynamically coated silica using aqueous mobile phases // J. Chromatogr. — 1982. —Vol. 245, N 1. — P. 45—56.
237. Jansson S.-O., Andersson I., Persson B. A. Solute-solvent interactions in ion-pair liquid chromatography of amines on non-polar bonded phases using 1-pentanol and N,N-dimethyl-octylamine as organic modifiers // J. Chromatogr. — 1981. — Vol. 203, N 1. — P. 93—105.
238. Jaroniec M., Borowko M., Narkiewicz J. et al. Determination of the capacity ratio and concentration-time function for stepwise elution with binary mobile phase with help of liquid chromatography data obtained from isocratic elution // Chromatographia. — 1979. — Vol. 12, N 1. — P. 29—32.
239. Jaroniec M., Jaroniec J. A. Theoretical description of association effects in liquid adsorption chromatography with a mixed mobile phase // J. Chromatogr. — 1984. — Vol. 295, N 2. — P. 377—386.
240. Jaroniec M., Martire D. E. A general model of liquid-solid chromatography with mixed mobile phases involving concurrent adsorption and partition effects // J. Chromatogr. — 1986. — Vol. 351, N 1. — P. 1—16.
241. Jehl F., Birckel P., Monteil H. Hospital routine analysis of penicillins, third-generation cephalosporins and aztreonam by conventional and high-speed high-performance liquid chromatography // J. Chromatogr. — 1987. — Vol. 413, N 1. — P. 109—119.
242. Jin H.-L., Zhang Y.-L., Guo Y., Jin S. HPLC separation of isomers of tetrahydro-1,5-benzothiazepines and tetrahydro-1,5-benzodiazepines // Chromatographia. — 1986. — Vol. 22, N 1—6. — P. 153—156.
243. Jinno K., Kawasaki K. Correlation between the retention data of polycyclic aromatic hydrocarbons and several desciptors in reversed-phase HPLC // Chromatographia. — 1983. — Vol. 17, N 8. — P. 445—449.
244. Jinno K., Kawasaki K. Retention prediction of substituted benzenes in RP-HPLC // Chromatographia. — 1984. — Vol. 18, N 2. — P. 90—95.
245. Jinno K., Kawasaki K. The correlation between molecular polarizability of PAHs and their retention data on various stationary phases in reversed-phase HPLC // Chromatographia. — 1984. — Vol. 18, N 2. — P. 103—105.
246. Jinno K., Kawasaki K. Effect of the chain length of chemically bonded phases on the retention of substituted benzene derivatives in reversed-phase liquid chromatography // Chromatographia. — 1984. — Vol. 18, N 9. — P. 499—502.
247. Jinno K., Kuwajima M. Retention prediction of polycyclic aromatic hydrocarbons in reversed-phase liquid chromatography with various mobile phase compositions and column temperature // Chromatographia. — 1986. — Vol. 22, N 1—6. — P. 13—18.
248. Jinno K., Saigusa Y., Kuwajima M., Atomura M. Compatibility and universality of the retention prediction system for polycyclic aromatic hydrocarbons in reversed-phase liquid chromatography // Chromatographia. — 1986. — Vol. 21, N 1. — P. 24—28.
249. Johnston M. A. General method for the assay of oral contraceptives by HPLC // J. Chromatogr. — 1981. — Vol. 216, N 1. — P. 269—278.
250. Johnston M. A., Smith W. J., Kennedy J. M. et al. Reversed-phase high performance liquid chromatographic analysis of cinchona alkaloids in pharmaceuticals // J. Chromatogr. — 1980. — Vol. 189, N 2. — P. 241—247.

251. Jones L. A., Beaner R. W., Schmoeger T. L. Optimization of a paired-ion reversed-phase liquid chromatographic separation of synthetic phencyclidine mixtures // Anal. Chem. — 1982. — Vol. 54, N 2. — P. 182—186.
252. Kaiser R. E., Rackshaw A. J. Computer chromatography. — Heidelberg etc. : Hüthig, 1983. — Vol. 1. — 171 p.
253. Kaliszan R., Osmialowski K., Tomellini S. A. et al. Non-empirical description of sub-molecular polarity and dispersive interactions in reversed phase HPLC // Chromatographia. — 1985. — Vol. 20, N 12. — P. 705—708.
254. Karch K., Sebestian I., Halasz I. Preparation and properties of reversed phases // J. Chromatogr. — 1976. — Vol. 122, N 1. — P. 3—16.
255. Karger B. L., Gant J. R., Hartkopf A., Weiner P. Hydrophobic effects in reversed-phase liquid chromatography // J. Cromatogr. — 1976. — Vol. 128, N 1. — P. 65—78.
256. Karger B. L., Snyder L. R., Eon C. An expanded solubility parameter treatment for classification and use of chromatographic solvents and adsorbents. Parameters for dispersion, dipole and hydrogen bonding interactions // J. Chromatogr. — 1976. — Vol. 125, N 1. — P. 71—88.
257. Kiel J. S., Morgan S. L., Abramson R. K. Effects of amine modifiers on retention and peak shape in reversed-phase high-performance liquid chromatography // J. Chromatogr. — 1985. — Vol. 320, N 2. — P. 313—323.
258. Kier L. B., Hall L. H., Murray W. J., Randič M. Molecular connectivity. I : relationship to nonspecific local anestesia // J. Pharm. Sci. — 1975. — Vol. 64, N 12. — P. 1971—1974.
259. King L. A. Analysis of drugs encountered in fatal poisonings using HPLC and fluorescence detection // J. Chromatogr. — 1981. — Vol. 208, N 1. — P. 113—117.
260. Kirkman C. M., Charvat S. B., Elliot W. C. et al. Inorganic liquid chomatographic applications of micellar solvent systems // Conference and exhibition on analytical chemistry and applied spectroscopy. — Pittsburgh, 1985. — Abstr. 1008.
261. Kissinger L. D., Robins R. H. Silver-modified mobile phase for normal-phase liquid chromatographic determination of prostaglandins and their 5,6-*trans* isomers in prostaglandin bulk drugs and triacetin solutions // J. Chromatogr. — 1985. — Vol. 321, N 2. — P. 353—362.
262. Knox J. H., Laird G. R. Soap chromatography — a new high performance liquid chromatographic technique for separation of ionizable materials. Dyestuff intermediates // J. Chromatogr. — 1976. — Vol. 122, N 1. — P. 17—34.
263. Kong R. C., Sachok B., Deming S. N. Combined effects of pH and surface-active ion concentration in reversed-phase liquid chromatography // J. Chromatogr. — 1980. — Vol. 199, N 1. — P. 307—316.
264. Koopmans R. E., Rekker R. F. High performance liquid chromatography of alkylbenzenes. Relationship with lipophilicities as determined from octanol-water partition coefficient or calculated from hydrophobic fragmental data and connectivity indices. Lipophilicity prediction for polyaromatics // J. Chromatogr. — 1984. — Vol. 285, N 2. — P. 267—279.
265. Kothari R. M., Taylor M. W. Simultaneous separation of water-soluble vitamins and coenzymes by reversed phase HPLC // J. Chromatogr. — 1982. — Vol. 247, N 1. — P. 187—192.
266. Kovats E. Gas-chromatographische Characterisierung organisher Verbindungen. I. Retentionsindices aliphatischer Halogenide, Alkohole, Aldehyde und Ketone // Helv. Chim. Acta. — 1958. — Vol. 41, fasc. 7. — P. 1915—1932.

267. Křiž J., Vodička L., Punčocharova J., Kuraš M. High performance liquid chromatography of alkylbenzenes on silica // J. Chromatogr. — 1981. — Vol. 219, N 1. — P. 53—60.
268. Krull I. S., Selavka C. M., Duda C., Jacobs E. Derivatization and post-column reactions for improved detection in liquid chromatography/electrochemistry // J. Liquid Chromatorg. — 1985. — Vol. 8. — P. 2845—2870.
269. Kubiak E. J., Munson J. W. High performance liquid chromatographic analysis of codeine in syrups using ion-pair formation // J. Pharmaceutical Sci. — 1980. — Vol. 69, N 2. — P. 152—155.
270. Lai S.-T., Sangermano L., Locke D. C. Phenyl-bonded phase liquid chromatography of styrene oligomers // J. Chromatogr. — 1984. — Vol. 132, N 1. — P. 313—326.
271. Landy J. S., Dorsey Y. G. Rapid gradient capabilities of micellar liquid chromatography // J. Chomatogr. Sci. — 1984. — Vol. 22, N 2. — P. 68—70.
272. Laurent C. J. C. M., Billiet H. A. H., De Galan L. The use of organic modifiers in ion-exchange chromatography on alumina. The separation of basic drugs // Chromatographia. — 1983. — Vol. 17, N 7. — P. 394—399.
273. Lawrence J. F. Advantages and limitations of chemical derivatization for trace analysis by liquid chromatography // J. Chromatogr. Sci. — 1985. — Vol. 23, N 11. — P. 484—487.
274. Lawrence J. F., Frei R. W. Chemical derivatization in liquid chromatography. — Amsterdam : Elsevier, 1976. — 214 p.
275. Lecaillon J. B., Rouan M. C., Souppart C. et al. Determination of cefsulodin, cefotiam, cephalexin, cefotaxime, cefroxadin in plasma and urine by high performance liquid chromatography // J. Chromatogr. — 1982. — Vol. 228, N 1. — P. 257—267.
276. Lehtonen P. RPLC elution characteristics of substituted N-ethylbenzamides // J. Chromatogr. — 1983. — Vol. 267, N 2. — P. 247—284.
277. Lehtonen P. Use of molecular connectivity indices to predict LC retention of dansylamides in six different eluent systems // Chromatographia. — 1984. — Vol. 19, N 1. — P. 316—321.
278. Leroy P., Nicolas A. Determination of secondary amine drugs as their metal dithiocarbamate complexes by RP HPLC with electrochemical detection // J. Chromatogr. — 1984. — Vol. 317, N 1. — P. 513—521.
279. Lin J.-T., Heftman E. High performance liquid chromatography of naturally occurring estrogens // J. Chromatogr. — 1981. — Vol. 212, N 2. — P. 239—244.
280. Lin J.-T., Heftmann E., Hunter I. R. High performance liquid chromatography of the reduction products of progesterone // J. Chromatogr. — 1980. — Vol. 190, N 1. — P. 169—174.
281. Lingeman H., Van Munster H. A., Beynen J. H. et al. High performance liquid chromatographic analysis of basic compounds on non-modified silica gel and aluminium oxide with aqueous solvent mixtures // J. Chromatogr. — 1986. — Vol. 352, N 1. — P. 261—274.
282. Lochmüller C. H., Hangac H. H., Wilder D. R. The effect of bonded ligand structure on solute retention in reversed-phase high performance liquid chromatography // J. Chromatogr. Sci. — 1981. — Vol. 19, N 3. — P. 130—136.
283. Lochmüller C. H., Wilder D. R. The sorption behaviour of alkyl bonded phases in reversed-phase high performance liquid chromatography // J. Chromatogr. Sci. — 1979. — Vol. 17, N 10. — P. 574—579.
284. Low G. K. C., Duffield A. M., Haddad P. R. Peak-splitting in reversed-phase ion-pair high performance liquid chromatography of sympatomimetic drugs and its probable mechanism // Chromatographia. — 1982. — Vol. 15, N 5. — P. 289—296.

285. Lu D. S., Vialle J., Tralongo H., Longeray R. Retention behavior of bile acids in ion suppression and ion-pair chromatography on bonded phases // J. Chromatogr. — 1983. — Vol. 268, N 1. — P. 1—18.
286. Mack G. D., Ashworth R. B. A high performance liquid chromatographic system for the analysis of tetracycline drug standards, analogs, degradation products and other impurities // J. Chromatogr. Sci. — 1978. — Vol. 16, N 3. — P. 93—101.
287. Markl P. Organophosphorous compounds and sulphoxides as column activators in adsorption chromatography // Chromatographia. — 1981. — Vol. 14, N 6. — P. 355—358.
288. Martin A. J. P., Synge R. L. M. A new form of chromatography employing two liquid phases. 1. A theory of chromatography. 2. Application to the microdetermination of the higher monoamino acids in proteins // Biochem. J. — 1941. — Vol. 35. — P. 1358—1368.
289. Massart D. L., Dataevernier M. R. The selection of preferred systems for the HPLC of basic drugs. Application to the separation of antihistamine drugs // J. Chromatogr. Sci. — 1980. — Vol. 18, N 3. — P. 139—143.
290. McCormick R. M., Karger B. L. Distribution phenomena of mobile-phase components and determination of dead volume in reversed-phase liquid chromatography // Anal. Chem. — 1980. — Vol. 52, N 14. — P. 2249—2257.
291. McCormick R. M., Karger B. L. Role of organic modifier sorption on retention phenomena in reversed-phase liquid chromatography // J. Chromatogr. — 1980. — Vol. 199, N 1. — P. 259—273.
292. Melander W., Campbell D. E., Horvath Cs. Enthalpy-entropy compensation in reversed-phase chromatography // J. Chromatogr. — 1978. — Vol. 158, N 1. — P. 215—225.
293. Melander W. R., Chen B.-K., Horvath Cs. Mobile-phase effects in reversed-phase chromatography. I. Concommitant dependence of retention on column temperature and eluent composition // J. Chromatogr. — 1979. — Vol. 185, N 1. — P. 99—109.
294. Melander W. R., Erard J. F., Horvath Cs. Movement of components in reversed-phase chromatography. I. Mobile-phase space with multi-component eluents // J. Chromatogr. — 1982. — Vol. 282, N 1. — P. 211—228.
295. Melander W. R., Horvath Cs. Mechanistic study of ion-pair reversed-phase chromatography // J. Chromatogr. — 1980. — Vol. 201, N 1. — P. 211—224.
296. Melander W. R., Horvath Cs. Stationary-phase efects in reversed-phase chromatography. II. Substituent selectivities for retention on various hydrocarbonaceous bonded phases // Chromatographia. — 1982. — Vol. 15, N 2. — P. 86—90.
297. Melander W., Horvath Cs. Mobile-phase effects in reversed-phase chromatography. IV. Thermodynamic models for retention and its dependence on mobile-phase composition and temperature // Chromatographia. — 1984. — Vol. 18, N 7. — P. 353—361.
298. Melander W. R., Huang J. X., Horvath Cs. et al. Comparative evaluation of aromatic bonded phases for reversed-phase chromatography // Chromatographia. — 1985. — Vol. 20, N 11. — P. 641—651.
299. Melander W. R., Kalghatgi K., Horvath Cs. Formation of ion-pairs under conditions employed in reversed-phase chromatography // J. Chromatogr. — 1980. — Vol. 201, N 1. — P. 201—209.
300. Melander W. R., Mannan C. A., Horvath Cs. Mobile-phase effects in reversed-phase chromatography. IV. Retention by *n*-alkyl-benzenes as a function of column temperature and the nature and concentration

of organic co-solvent // Chromatographia. — 1982. — Vol. 15, N 9. — P. 611—615.
301. Melander W., Stoveken J., Horvath Cs. Stationary-phase effects in reversed-phase chromatography. I. Comparison of energetics of retention on alkyl-silica bonded phases // J. Chromatogr. — 1980. — Vol. 199, N 1. — P. 35—56.
302. Miller K. W., Yang C. S. An isocratic high performance liquid chromatography method for the simultaneous analysis of plasma retinol, α-tocopherol and various carotenoids // Anal. Biochem. — 1985. — Vol. 145, N 1. — P. 21—26.
303. Miners J. O. The analysis of penicillins in biological fluids and pharmaceutical preparations by high performance liquid chromatography // J. Liquid Chromatogr. — 1985. — Vol. 8, N 12. — P. 2827—2843.
304. Moats W. A. Effects of the silica support of bonded reversed-phase columns on chromatography of some antibiotic compounds // J. Chromatogr. — 1986. — Vol. 366, N 1. — P. 69—78.
305. Möckel H. J. Retention of sulphur and sulphur organics in reversed-phase liquid chromatography // J. Chromatogr. — 1984. — Vol. 317, N 1. — P. 589—614.
306. Möckel H. J., Höfler F., Melzer H. The retention of selenium chains in reversed-phase liquid chromatography // Chromatographia. — 1985. — Vol. 20, N 8. — P. 471—476.
307. Murakami F. Retention behaviour of benzene derivatives in bonded reversed-phase columns // J. Chromatogr. — 1979. — Vol. 178, N 2. — P. 393—399.
308. Murray W. J., Hall L. H., Kier L. B. Molecular connectivity. III. Relationship to partition coefficients // J. Pharmaceutical Sci. — 1975. — Vol. 64, N 12. — P. 1978—1981.
309. Nachtmann F., Spitzy H., Frei R. W. Rapid and sensitive high-resolution procedure for digitalis glycoside analysis by derivatization liquid chromatography // J. Chromatogr. — 1976. — Vol. 122, N 1. — P. 293.
310. Nakae A., Kunihiro K. Separation of homologous fatty acid alkanolamides by high performance liquid chromatography // J. Chromatogr. — 1978. — Vol. 156, N 1. — P. 167—172.
311. Nakagawa T., Mizinuma H., Shibukawa A., Uno T. Liquid chromatography with crown ether-containing mobile phases. I. Capacity factors of amino compounds on a hydrophobic stationary phase // J. Chromatogr. — 1981. — Vol. 211, N 1. — P. 1—13.
312. Negwer M. Organic-chemical drugs and their synonims. — Berlin : Akad.-Verl., 1978. — Vol. 1—3. — 1863 p.
313. Nelis H. J. C. F, De Leenheer A. P. Retention mechanisms of teracyclines on a C_8 reversed-phase material // J. Chromatogr. — 1980. — Vol. 195, N 1. — P. 35—42.
314. Nobuhara Y., Hirano S., Namba K., Hashimoto M. Separation and determination of opium alkaloids by HPLC // J. Chromatogr. — 1980. — Vol. 190, N 1. — P. 251—255.
315. Papp E., Vigh Gy. Role of buffer cations in the reversed-phase high performance liquid chromatography of aromatic amines. I. Methanol-rich eluents // J. Chromatogr. — 1983. — Vol. 259, N 1. — P. 49—58.
316. Parris N. A. Instrumental liquid chromatography. — Amsterdam : Elsevier, 1984. — 432 p.
317. Pellerin F., Dumitrescu D. Dosage des vitamines lipo- et hydrosolubles dans les preparations polyvitamines par chromatographie liquide haute performance // Talanta. — 1980. — N 3. — P. 243—251.
318. Petrovič S. M., Kolarov L. A., Trajlič E. S., Petrovič J. A. Steroid structure and solvent composition in thin-layer chromatography // Anal. Chem. — 1982. — Vol. 54, N 6. — P. 934—938.

319. Petrovič S. M., Lomič S., Šefer I. Utilization of the functional group contribution concept in liquid chromatography on chemically bonded reversed phases // J. Chromatogr. — 1985. — Vol. 348, N 1. — P. 49—65.
320. Petterson C. Chiral resolution by ion-pair chromatography // 7th Intern. symposium on column liquid chromatography. — Baden-Baden, 1983. — P. 46.
321. Pietta P., Mauri P., Rava A. Hydrolysis of ginsenosides in artificial gastric fluid monitored by high performance liquid chromatography // J. Chromatogr. — 1986. — Vol. 362, N 2. — P. 291.
322. Pimenov A. M., Tikhonov Yu. V., Meisner I. S., Toguzov R. T. Simultaneous separation of ribonucleotides, nucleosides and nitrogen bases by ion-pair reversed-phase high performance liquid chromatography on columns with radial compression // J. Chromatogr. — 1986. — Vol. 365, N 1. — P. 221—227.
323. Pimenov A. M., Tikhonov Yu. V., Toguzov R. T. The separation of the major ribonucleotides, nucleosides and bases in reverse-phase ion-pair chromatography // J. Liquid Chromatogr. — 1986. — Vol. 9, N 5. — P. 1003—1019.
324. Podcasy J. A., Weber S. G. Selectivity in micellar chromatography using a zwitter-ionic surfactant // Conference and exposition on analytical chemistry and applied spectroscopy. — Pittsburgh, 1985. — Abstr. 799.
325. Popl M., Ky L. D., Strnadova J. Reversed-phase liquid chromatography of some alcaloids // J. Chromatogr. Sci. — 1985. — Vol. 23, N 3. — P. 95—100.
326. Reenwijk H. J. E. M., Tjaden U. R. High performance liquid chromatography of tetracyclines // J. Chromatogr. — 1986. — Vol. 353, N 1. — P. 339—350.
327. Rekker R. F. The hydrophobic fragmental constant. — Amsterdam etc.: Elsevier, 1977. — 350 p.
328. Rihova M., Pacakova V., Stulik K., Waisser K. High performance liquid chromatography of thiobenzamide derivatives with ultraviolet and electrochemical detectors // J. Chromatogr. — 1986. — Vol. 361, N 1. — P. 347—354.
329. Riley C. M., Tomlinson E., Hafkenscheid T. L. Structural effects in enthalpy-entropy compensated and non-compensated behaviour in ion-pair reversed-phase high performance liquid-solid chromatography // J. Chromatogr. — 1981. — Vol. 218, N 1. — P. 427—442.
330 Riley C. M., Tomlinson E., Jefferies T. M. Functional group behaviour in ion-pair chromatography using surface-active pairing ions // J. Chromatogr. — 1979. — Vol. 185, N 1. — P. 197—224.
331 Rohrschneider L. Solvent characterization by gas-liquid partition coefficients of selected solutes // Anal. Chem. — 1973. — Vol. 45, N 7. — P. 1241—1247.
332. Rouan M. C., Abadie F., Leclerc A., Juge F. Systematic approach to the determination of cephalosporins in biological fluids by reversed-phase liquid chromatography // J. Chromatogr. — 1983. — Vol. 275, N 1. — P. 133—144.
333. Ruckmick S. C., Hurtubise R. J. Solvent composition effects on polar solutes with a silica-dimethyl sulfoxide-carbon tetrachloride chromatographic system // J. Chromatogr. — 1986. — Vol. 360, N 2. — P. 343—352.
334. Ruckmick S. C., Hurtubise R. J. Solvent composition effects in the normal phase liquid chromatography of nitrogen heterocycles and hydroxyl aromatics on a nitrophenyl stationary phase // J. Chromatogr. — 1986. — Vol. 361, N 1. — P. 47—55.

335. Sadek P. C., Cart P. W. Study of solute retention in reversed-phase high performance liquid chromatography on hydrocarbonaceous and three fluorinated bonded phases // J. Chromatogr. — 1984. — Vol. 288, N 1. — P. 25—41.
336. Sander L. C., Field L. R. Effect of eluent composition on thermodynamic properties in high performance liquid chromatography // Anal. Chem. — 1980. — Vol. 52, N 13. — P. 2009—2013.
337. Schabron J. F., Hurtubise R. J., Silver H. F. Separation of hydroaromatic and polycyclic aromatics and determination of tetralin and naphtalene in coal-derived solvents // Anal. Chem. — 1977. — Vol. 49, N 14. — P. 2253—2260.
338. Schill G., Wainer I. W., Barkan S. A. Chiral separation of cationic and anionic drugs on an α_1-acid glycoprotein-bonded stationary phase (enantiopac). II. Influence of mobile-phase additives and pH on chiral resolution and retention // J. Chromatogr. — 1986. — Vol. 365, N 1. — P. 73—88.
339. Schoenmakers P. J., Billiet H. A. H., de Galan L. Influence of organic modifiers on the retention behaviour in reversed-phase liquid chromatography and its consequences for gradient elution // J. Chromatogr. — 1979. — Vol. 185, N 1. — P. 179—195.
340. Schoenmakers P. J., Billiet H. A. H., de Galan L. Use of gradient elution for rapid selection of isocratic conditions in reversed-phase HPLC // J. Chromatogr. — 1981. — Vol. 205, N 1. — P. 13—30.
341. Schoenmakers P. J., Billiet H. A. H., Tijssen R., de Galan L. Gradient selection in reversed-phase liquid chromatography // J. Chromatogr. — 1978. — Vol. 149, N 1. — P. 519—537.
342. Schronk L. R., Grisby R. D., Hanks A. R. Reversed-phase HPLC retention behavior of coal-related nitrogen heterocyclic compounds // J. Chromatogr. Sci. — 1981. — Vol. 19, N 10. — P. 490—495.
343. Schwarzenbach R. High performance liquid chromatography of polar compounds on buffered silica gel // J. Chromatogr. — 1980. — Vol. 202, N 2. — P. 397—404.
344. Schwarzenbach R. Adsorption chromatographic separations on buffered silica gel // J. Chromatogr. — 1985. — Vol. 334, N 1. — P. 35—48.
345. Scolla P. L., Hurtubise R. J. Separation of aromatic nitrogen compounds into compound-class types using normal-phase high performance liquid chromatography // J. Chromatogr. — 1986. — Vol. 357, N 1. — P. 127—138.
346. Scott R. P. W. The role of molecular interactions in chromatography // J. Chromatogr. — 1976. — Vol. 122, N 1. — P. 35—53.
347. Scott R. P. W. The silica gel surface and its interactions with solvent and solute in liquid chromatography // J. Chromatogr. Sci. — 1980. — Vol. 18, N 7. — P. 297—306.
348. Scott R. P. W., Kucera P. Solute interactions with the mobile and stationary phases in liquid-solid chromatography // J. Chromatogr. — 1975. — Vol. 112, N 1. — P. 425—442.
349. Scott R. P. W., Kucera P. Examination of five commercially available liquid chromatographic reversed phases (including the nature of the solute-solvent-stationary phase interactions associated with them) // J. Chromatogr. — 1977. — Vol. 142, N 1. — P. 213—232.
350. Scott R. P. W., Kucera P. Solute-solvent interactions on the surface of silica gel // J. Chromatogr. — 1978. — Vol. 149, N 1. — P. 93—110.
351. Scott R. P. W., Kucera P. Solute-solvent interactions on the surface of silica gel, II // J. Chromatogr. — 1979. — Vol. 171, N 1. — P. 37—48.

352. Scott R. P. W., Kucera P. Some aspects of ion exchange chromatography employing adsorbed ion exchangers on reversed-phase columns // J. Chromatogr. — 1979. — Vol. 175, N 1. — P. 51—63.
353. Sekulič S., Haddad P. R., Lamberton C. J. Computer-assisted selection of mobile-phase composition in reversed phase liquid chromatography. Definition of optimization area // J. Chromatogr. — 1986. — Vol. 363, N 1. — P. 125—138.
354. Shaikh B., Tomaszewski J. E. A comparison of eight commercial reversed-phase (ODS) columns for the separation of hydroxylated derivatives of 7,12-dimethylbenz(*a*)anthracene // Chromatographia. — 1983. — Vol. 17, N 12. — P. 675—678.
355. Shaw R., Rivetna M., Elliott H. Bile acids. Relationships between the mobility on reversed-phase high performance liquid chromatography and the structure of bile acids // J. Chromatogr. — 1980. — Vol. 202, N 3. — P. 347—361.
356. Shih-Tse Lai, Sangermano L. Phenyl-bonded phase liquid chromatography of poly(propylene glycol) oligomers using low wavelength UV-detection at 190 nm // Conference and exposition on analytical chemistry and applied spectroscopy. — Pittsburgh, 1985. — Abstr. 901.
357. Sinanoglu O. Molecular associations in biology. — New York : Acad. Press, 1968. — P. 427—445.
358. Sinanoglu O., Abdulnur S. Effect of water and other solvents on the structure of biopolymers // Fed. Proc. — 1965. — Vol. 24, N 2. — P. 12—23.
359. Slaats E. H., Kraak J. C., Brugman W. J. T., Poppe H. Study of the influence of competition and solvent interaction on retention in liquid-liquid chromatography by measurement of activity coefficients in the mobile phase // J. Chromatogr. — 1978. — Vol. 149, N 1. — P. 255—270.
360. Slaats E. H., Markowski W., Fekete J., Poppe H. Distribution equilibria of solvent components in reversed-phase liquid chromatography columns and relationship with mobile phase volume // J. Chromatogr. — 1981. — Vol. 207, N 3. — P. 299—344.
361. Smith R. M. Reversed-phase liquid chromatography of isomeric alkylbenzenes // J. Chromatogr. — 1981. — Vol. 209, N 1. — P. 1—6.
362. Smith R. M. Alkylarylketones as a retention index scale in liquid chromatography // J. Chromatogr. — 1982. — Vol. 236, N 2. — P. 313—320.
363. Smith R. M. Comparison of reversed phase liquid chromatography columns using "Rohrschneider" type constants // J. Chromatogr. — 1982. — Vol. 236, N 2. — P. 321—328.
364. Smith R. M., Hurdley T. G., Gill R., Moffat A. C. The application of retention indices using the alkylarylketone scale to the separation of the barbiturates by HPLC. I. Effect of the eluent // Chromatographia. — 1984. — Vol. 19, N 1. — P. 401—406.
365. Smith R. M., Hurdley T. G., Gill R., Moffat A. C. Application of retention indices based on the alkylarylketone scale to the separation of the local anaesthetics by high performance liquid chromatography // J. Chromatogr. — 1986. — Vol. 355, N 1. — P. 75—85.
366. Smolkova E., jun., Pacàkova V. Liquid chromatographic separation of some substituted 5-triazines on a CN-bonded stationary phase // Chromatographia. — 1978. — Vol. 11, N 12. — P. 698—702.
367. Snyder L. R. Principles of adsorption chromatography. — New York: Dekker, 1968. — 413 p.
368. Snyder L. R. Classification of the solvent properties of common liquids // J. Chromatogr. — 1974. — Vol. 92, N 2. — P. 223—230.
369. Snyder L. R. Classification of the solvent properties of common liquids // J. Chromatogr. Sci. — 1978. — Vol. 16, N 6. — P. 223—234.

370. Snyder L. R. Mobile phase effects in liquid-solid chromatography. Importance of adsorption-site geometry, adsorbate delocalization and hydrogen bonding // J. Chromatogr. — 1983. — Vol. 255, N 1. — P. 3—26.
371. Snyder L. R., Dolan J. W., Gant J. R. Gradient elution in high-performance liquid chromatography. I. Theoretical basis for reversed-phase systems // J. Chromatogr. -- 1979. — Vol. 165, N 1. — P. 3—30.
372. Snyder L. R., Glajch J. L. Solvent strength of multicomponent mobile phases in liquid-solid chromatography. Binary solvent localization // J. Chromatogr. — 1981. — Vol. 214, N 1. — P. 1—19.
373. Snyder L. R., Glajch J. L. Solvent strength of multicomponent mobile-phases in liquid-solid chromatography. Further study of different mobile phases and silica as adsorbent // J. Chromatogr. — 1982. — Vol. 248, N 2. — P. 165—182.
374. Snyder L. R., Glajch J. L., Kirkland J. J. Theoretical basis for systematic optimization of mobile-phase selectivity in liquid-solid chromatography. Solvent-solute localization effects // J. Chromatogr. — 1981. — Vol. 218, N 1. — P. 299—326.
375. Snyder L. R., Kirkland J. J. Introduction to modern liquid chromatography. 2nd ed. New York : Wiley-Intersci., 1979. — 863 p.
376. Snyder L. R., Poppe H. Mechanism of solute retention in liquid-solid chromatography and the role of the mobile phase in affecting separation. Competition versus "sorption" // J. Chromatogr. — 1980. — Vol. 184, N 4. — P. 363—413.
377. Snyder L. R., Schunk T. C. Retention mechanism and the role of the mobile-phase in normal-phase separation on amino-bonded phase columns // Anal. Chem. — 1982. — Vol. 54, N 11. — P. 1764—1772.
378. Soczewinski E. Solvent composition effects in thin-layer chromatography systems of the type silica gel-electron donor solvent // Anal. Chem. — 1969. — Vol. 41, N 1. — P. 179—182.
379. Soczewinski E., Golkiewicz W. Simple molecular model for adsorption chromatography. VII. Relationship between the R_M value and composition for phenols in systems of the type (cyclohexane+polar solvent)/silica // Chromatographia. — 1973. — Vol. 6, N 6. — P. 269—272.
380. Sokolowski A., Wahlund K.-G. Peak tailing and retention behaviour of tricyclic antidepressant amines and related hydrophobic ammonium compounds in RP ion-pair chromatography on alkyl-bonded phases // J. Chromatogr. — 1980. — Vol. 189, N 3. — P. 299—316.
381. Souteyrand C., Thibert M., Caude M., Rosset R. Influence of water in liquid-solid chromatographic systems on retention data. II. Fixation of monolocalized solutes with class N solvents and silica gel // J. Chromatogr. — 1984. — Vol. 316, N 1. — P. 373—388.
382. Stahlberg J. The Gouy-Chapman theory in combination with a modified Langmuir isotherm as a theoretical model for ion-pair chromatography // J. Chromatogr. — 1986. — Vol. 356, N 2. — P. 231—245.
383. Stevens H. M., Gill R. HPLC systems for the analysis of analgesive and non-steroidal anti-inflammatory drugs in forensic toxicology // J. Chromatogr. — 1986. — Vol. 370, N 1. — P. 39—47.
384. Stranahan J. J., Deming S. N. Thermodynamic model for reversed-phase ion-pair liquid chromatography // Anal. Chem. — 1982. — Vol. 54, N 13. — P. 2251—2256.
385. Strojny N., DeSilva J. A. F. Determination of mecillinam in urine by reversed-phase liquid chromatography // J. Chromatogr. — 1980. — Vol. 181, N 2. — P. 272—281.
386. Su S. C., Hartkopf A. V., Karger B. L. High performance ion-pair chromatography of sulfa drugs. Study and optimization of chemical parameters // J. Chromatogr. — 1976. — Vol. 119, N 1. — P. 523—538.
387. Sugden K., Cox G. B., Loscombe C. R. Chromatographic behaviour of basic amino compounds on silica and ODS-silica using aqueous methanol mobile phases // J. Chromatogr. — 1978. — Vol. 149, N 1. — P. 377—390.
388. Szepesi G., Gazdag M. High performance liquid chromatography of eburnane alkaloids. I. Separation on reversed-phases // J. Chromatogr. — 1981. — Vol. 204, N 1. — P. 341—348.
389. Szepesi G., Gazdag M. High performance liquid chromatography of eburnane alkaloids. II. Separations on silica // J. Chromatogr. — 1981. — Vol. 205, N 1. — P. 57—64.
390. Szepesi G., Gazdag M., Ivancsics R. Normal phase dynamic (solvent-generated) molecular complexation chromatography using anionic ion exchanger. I. Characterization of the separation system // J. Chromatogr. — 1982. — Vol. 241, N 1. — P. 153—167.
391. Szepesi G., Gazdag M., Ivancsics R. Normal phase dynamic (solvent-generated) molecular complexation chromatography using anionic ion exchangers. II. Separation of optical isomers // J. Chromatogr. — 1982. — Vol. 244, N 1. — P. 33—48.
392. Szepesi G., Gazdag M., Terdy L. Separation of ergotoxine alkaloids by HPLC on silica // J. Chromatogr. — 1980. — Vol. 191, N 1. — P. 101—108.
393. Szepesy L., Combellas C., Caude M., Rosset R. Influence of water content of the mobile phase on chromatographic performance in adsorption chromatography // J. Chromatogr. — 1982. — Vol. 237, N 1. — P. 65—78.
394. Szepesy L., Feher I., Szepesi G., Gazdag M. HPLC of ergot alkaloids // J. Chromatogr. — 1978. — Vol. 149, N 1. — P. 271—280.
395. Szumilo H., Przyborowska M. Thin layer chromatography of 1,4-benzodiazepines on polyamide and silica gel impregnated with formamide // Chem. Anal. — 1985. — T. 30, N 2. — S. 267—273.
396. Tanaka N., Goodell H., Karger B. L. The role of organic modifiers on polar group selectivity in RP HLPC // J. Chromatogr. — 1978. — Vol. 158, N 1. — P. 233—248.
397. Tanaka N., Sakagami K., Araki M. Effect of alkyl chain length of the stationary phase on retention and selectivity in reversed-phase liquid chromatography. Participation of solvent molecules in the stationary phase // J. Chromatogr. — 1980. — Vol. 199, N 1. — P. 327—337.
398. Tanaka N., Thornton E. R. Structural and isotopic effects in hydrophobic binding measured by high-pressure liquid chromatography. A stable and highly precise model for hydrophobic interactions in biomembranes // J. Amer. Chem. Soc. — 1977. — N 10. — P. 7300—7307.
399. Tanaka N., Tokuda Y., Iwaguchi K., Araki M. Effect of stationary phase structure on retention and selectivity in reversed-phase liquid chromatography // J. Chromatogr. — 1982. — Vol. 239, N 2. — P. 761—772.
400. Tangney C., McNair H., Driskell J. A. Quantitation of individual tocopherols in plasma, platelets, lipids and livers by HPLC // J. Chromatogr. — 1981. — Vol. 224, N 3. — P. 389—397.
401. Terragno A., Rydzik R., Terragno N. A. High performance liquid chromatography and UV detection for the separation and quantitation of prostaglandins // Prostaglandins. — 1981. — Vol. 21, N 1. — P. 101—112.
402. Terweij-Groen C. P., Heemstra S., Kraak J. C. Distribution mechanism of ionizable substances in dynamic anion-exchange systems using cationic surfactants in high performance liquid chromatography // J. Chromatogr. — 1978. — Vol. 161, N 1. — P. 69—82.
403. Theis D. L., Bowman P. B. Development of a liquid chromatographic method for the determination of triazolo-benzodiazepines // J. Chromatogr. — 1983. — Vol. 268, N 1. — P. 92—98.

404. Thomas A. H., Newland P. Separation of aromatic heptaene antibiotics by HPLC // J. Chromatogr. — 1986. — Vol. 354, N 1. — P. 317—324.

405. Tijssen R., Billiet H. A. H., Schoenmakers P. J. Use of the solubility parameter for predicting selectivity and retention in chromatography // J. Chromatogr. — 1976. — Vol. 122, N 1. — P. 185—203.

406. Tilly Melin A., Ljungcrantz M., Schill G. Reversed-phase ion-pair chromatography with an adsorbing stationary phase and hydrophobic quaternary ammonium ion in the mobile phase. I. Retention studies with tetrabutylammonium as cationic component // J. Chromatogr. — 1979. — Vol. 185, N 1. — P. 225—239.

407. Tjaden U. R., Meeles M. T. H. A., Thys C. P., Van der Kaay M. Determination of some benzodiazepines and metabolites in serum, urine and saliva by high performance liquid chromatography // J. Chromatogr. — 1980. — Vol. 181, N 2. — P. 227—241.

408. Tomlinson E., Jefferies T. M., Riley C. M. Ion-pair high performance liquid chromatography // J. Chromatogr. — 1978. — Vol. 159, N 3. — P. 315—358.

409. Tsuchija H., Hayashi T., Naruse H., Takagi N. Sensitive HPLC method for prostaglandins using a fluorescence reagent, 4-bromomethyl-7-acetoxycoumarin // J. Chromatogr. — 1982. — Vol. 231, N 2. — P. 247—254.

410. Twitchett P. J., Moffat A. C. High-pressure liquid chromatography of drugs. An evaluation of an octadecylsilane stationary phase // J. Chromatogr. — 1975. — Vol. 111, N 1. — P. 149—157.

411. Valko K. General approach for the estimation of octanol/water partition coefficients by reversed-phase high performance liquid chromatography // J. Liquid Chromatogr. — 1984. — Vol. 7, N 7. — P. 1405—1424.

412. Valko K. Microcomputer analysis of HPLC reversed-phase retention behaviour of several pharmaceutical agents depending on the composition of the eluent // Chromatography, the state of the art / Ed. by H. Kalasz, L. S. Ettre. — Budapest : Akad. Kiado, 1985. — P. 739—750.

413. Van Deemter J. J., Zuiderweg F. J., Klinkenberg A. Longitudinal diffusion and resistance to mass transfer as causes of nonideality in chromatography // Chem. Eng. Sci. — 1956. — Vol. 5. — P. 271—289.

414. Van den Berg J. H. M., De Ruwe H. J. J. M., Deelder R. S., Plomp Th. A. Column liquid chromatography of tricyclic antidepressants // J. Chromatogr. — 1977. — Vol. 138, N 2. — P. 431—436.

415. Verpoorte R., Verzijl J. M., Svendsen A. B. Reversed-phase ion-pair chromatography of alcaloids on dodecylsulphonic acid and cetrimide impregnated C_{18}-columns // J. Chromatogr. — 1984. — Vol. 283, N 1. — P. 401—405.

416. Verzele M., Dewaele C. The evaluation of reversed-phase high performance liquid chromatography packing materials // Chromatographia. — 1984. — Vol. 18, N 2. — P. 84—88.

417. Vila J. I., Obach R., Prieto R., Moreno J. Liquid chromatographic capacity factor as an indicator of lipophilicity in series of beta-blocker drugs // Chromatographia. — 1986. — Vol. 22, N 1—6. — P. 48—50.

418. Villet A., Alary J., Coeur A. Separation chromatographique des azepines, nanochromatographic sur couche mince et chromatographic en phase liquid sous pression // Talanta. — 1980. — Vol. 27, N 8. — P. 659—663.

419. Violon C., Pessemier L., Vercruysse A. High performance liquid chromatography of benzophenone derivatives for the determination of benzodiazepines in clinical emergencies // J. Chromatogr. — 1982. — Vol. 236, N 1. — P. 157—168.

420. Violon C., Vercruysse A. Screening procedure for therapeutic benzodiazepines HPLC of their benzophenones // J. Chromatogr. — 1980. — Vol. 189, N 1. — P. 94—97.

421. Vodička L., Kříž J., Prusova D., Burkhard J. High performance liquid chromatography of adamantanols and other cyclic alcohols // J. Chromatogr. — 1980. — Vol. 198, N 4. — P. 457—469.

422. Vodička L., Prusova D., Kříž J., Burkhard J. High performance liquid chromatography of adamantanones and other cyclic ketones // J. Chromatogr. — 1980. — Vol. 200, N 1. — P. 238—244.

423. Vonach B., Schomburg G. HPLC with Ag^+ complexation in the mobile phase // J. Chromatogr. — 1978. — Vol. 149, N 1. — P. 417—430.

424. Wahlund K.-G., Beijersten J. Stationary phase effects in reversed-phase liquid chromatography of acids and ion-pairs // J. Chromatogr. — 1978. — Vol. 149, N 1. — P. 313—329.

425. Wahlund K.-G., Sokolowski A. Reversed-phase ion-pair chromatography of antidepressive and neuroleptic amines and related quaternary ammonium compounds // J. Chromatogr. — 1978. — Vol. 151, N 3. — P. 299—310.

426. Wainer I., Doyle T. D. Application of HPLC chiral stationary phases to pharmaceutical analysis: Structural and conformational effects in the direct enantiomeric resolution of α-methylarylacetic acid antiinflammatory agents // J. Chromatogr. — 1984. — Vol. 284, N 1. — P. 117—124.

427. Walczak B., Dreux M., Chrettien J. R. et al. Factor analysis and experiment design in high performance liquid chromatography. I. Trends in selectivity of 53 chalkones in reversed-phase high performance liquid chromatography on alkyl- or phenyl-bonded stationary phases // J. Chromatogr. — 1986. — Vol. 353, N 1. — P. 109—121.

428. Watson I. D., Stewart M. J. Assay of trycyclic structured drugs and their metabolites in urine by high performance liquid chromatography // J. Chromatogr. — 1977. — Vol. 134, N 1. — P.182—186.

429. Wawrzynovicz T., Kuczmierczyk J. A comparison of adsorption of organic compounds on silica and alumina from nonaqueous solvent // Chem. Anal. — 1985. — T. 30, N 1. — S. 63—75.

430. Wehr C. T., Correia L., Abbott S. R. Evaluation of stationary and mobile phases for reversed-phase high performance liquid chromatography of peptides // J. Chromatogr. Sci. — 1982. — Vol. 20, N 3. — P. 114—119.

431. Weinberger R., Koziol T., Millington G. Improved dansylation procedure for the determination of ketosteroids by liquid chromatography // Chromatographia. — 1984. — Vol. 19, N 1. — P. 452—456.

432. Weiser E. L., Salotto A. W., Flach S. M., Snyder L. R. Basis of retention in normal-phase high performance liquid chromatography with cyano-propyl columns // J. Chromatogr. — 1984. — Vol. 303, N 1. — P. 1—12.

433. Wells M. J. M., Clark C. R Investigation of N-alkylbenzamides by reversed phase liquid chromatography. V. Characteristics of some tertiary alkylbenzamides // J. Chromatogr. — 1982. — Vol. 240, N 1. — P. 231—244.

434. Wells M. J. M., Clark C. R., Patterson R. M. Correlation of reversed phase capacity factors for barbiturates with biological activities, partition coefficients, and molecular connectivity indices // J. Chromatogr. Sci. — 1981. — Vol. 19, N 11. — P. 573—582.

435. Wells M. J. M., Clark C. R., Patterson R. M. Investigation of N-alkylbenzamides by reversed-phase liquid chromatography. II. Application of the solvophobic theory to the prediction of retention data for the C_1-C_5 N-alkylbenzamides // J. Chromatogr. — 1982. — Vol. 235, N 1. — P. 43—59.

436. Wells M. J. M., Clark C. R., Patterson R. M. Investigation of N-alkylbenzamides by reversed-phase liquid chromatography. III. Correlation of chromatographic parameters with molecular connectivity indices for the C_1-C_5 alkylbenzamides // J. Chromatogr. — 1982. — Vol. 235, N 1. — P. 61—74.

437. Westerlund D., Theodorssen A. Reversed-phase ion-pair chromatography of naphtaleneacetic acid derivatives and an organic modifier as the mobile phase // J. Chromatogr. — 1977. — Vol. 144, N 1. — P. 27—37.

438. Weyland J. W., Bruiks C. H. P., Doornbos D. A. Use of three-dimensional minimum α-plots for optimization of mobile-phase composition for RP-HPLC separation of sulfonamides // J. Chromatogr. Sci. — 1984. — Vol. 22, N 1. — P. 31—39.

439. Wheals B. B. Isocratic multi-column HPLC as a technique for qualitative analysis and its application to the characterization of basic drugs using an aqueous methanol solvent // J. Chromatogr. — 1980. — Vol. 187, N 1. — P. 65—85.

440. Wheals B. B., White P. C. *In situ* modification of silica with amines and its use in separation of sugars by high performance liquid chromatography // J. Chromatogr. — 1979. — Vol. 176, N 3. — P. 421—426.

441. White E. R., Carroll A., Zarembo J. E. Reverse-phase high-speed liquid chromatography of antibiotics II. Use of high efficiency small particle columns // J. Antibiotics. — 1977. — Vol. 30, N 10. — P. 811—818.

442. White E. R., Zarembo J. E. Reverse-phase high-speed liquid chromatography of antibiotics. II. Use of ultra high performance columns and ion-pairing techniques // J. Antibiotics. — 1981. — Vol. 34, N 7. — P. 836—844.

443. White P. C. Use of dual-wavelength UV detection in HPLC for identification of barbiturates // J. Chromatogr. — 1980. — Vol. 200, N 1. — P. 271.

444. White P. C. Recent developments in detection techniques for high-performance liquid chromatography. I. Spectroscopic and electrochemical detectors. A review // Analyst. — 1984. — Vol. 109, N 6. — P. 677—697.

445. White P. C. Recent developments in detection techniques for high performance liquid chromatography. II. Other Detectors. A review // Analyst. — 1984. — Vol. 109, N 8. — P. 973—987.

446. Williams A. T. R., Winfield S. A. Dns derivatization of anabolic agents with HPLC separation and fluorescence detection // J. Chromatogr. — 1982. — Vol. 240, N 1. — P. 224—229.

447. Wilson T. D. Pentazocine tablet analysis using HPLC // J. Chromatogr. — 1982. — Vol. 243, N 1. — P. 99—109.

448. Wise A. S., Bonnett W. J., Guenther F. R., May W. E. A relationship between reversed-phase C_{18} liquid chromatographic retention and the shape of polycyclic aromatic hydrocarbons // J. Chromatogr. Sci. — 1981. — Vol. 19, N 9. — P. 457—465.

449. Yamauchi Y., Tsuromu T., Senda M. et al. High performance liquid chromatographic analysis of arachidonic acid metabolites by pre-column derivatization using 9-anthryldiazomethane // J. Chromatogr. — 1986. — Vol. 357, N 1. — P. 199—205.

450. Yarmuchuk P., Weinberger R., Hirsch R. F., Cline Love L. J. Effects of restricted mass transfer on the efficiency of micellar chromatography // J. Chromatogr. — 1984. — Vol. 283, N 1. — P. 47—60.

451. Yi C., Fasching J. L., Brown P. R. Mobile-phase and temperature studies in the reversed-phase liquid chromatography of inosine and guanosine compounds // J. Chromatogr. — 1985. — Vol. 339, N 1. — P. 75—86.

452. Zhu P. L. Adsorption isotherms of organic modifiers and the determination of the dead volume in RPLC // Chromatographia. — 1985. — Vol. 20, N 7. — P. 425—433.

453. Zhu P. L. On the chromatography mechanism of reversed-phase liquid chromatography // Chromatographia. — 1986. — Vol. 21, N 4. — P. 229.

454. Zonta F., Stanchek B., Biclawny J. HPLC of fat-soluble vitamins. Separation and identification of vitamins D_2 and D_3 and their isomers in food samples in the presence of vitamin A, vitamin E and carotene // J. Chromatogr. — 1982. — Vol. 246, N 1. — P. 105—112.

ПРЕДМЕТНЫЙ УКАЗАТЕЛЬ

Адамантана производные 74, 94, 147
Аддитивность 66, 146—149
— отклонения 73, 148
— — учет 73, 147
Адсорбенты 11, 29
— динамическн модифнцированные 71, 131, 168—180
— химнчески связанные 31, 160
— — неполяриые 15, 31, 58
— — полярные 15, 161, 167
— — способы получення 31, 32
см. также Сорбенты
Адсорбционная хроматографня 14, 126
Адсорбцнонные слои 52, 90, 126—130
Азотсодержащие гетероцнклы 71, 75, 78, 94, 96, 108, 133, 285, 293
Активные центры 127, 129, 161
Алкалоиды 119, 295, 296, 298
— барвннка 141, 296
— опия 296
— спорыньн 296
— хнинные 296
Алкаиы
— удержнванне и строение 80
— удерживанне и состав элюента 94, 108
N-алкилбензамнды 80, 83, 84, 108
Алкилбензолы 72, 80, 83, 94, 108, 111
Альдегнды
— полученне пронзводных 217
Амиокнслоты 71, 216
Аминосиликагели 32, 161
— механизм сорбцин 161
Амины
— полученне пронзводных 215
— добавки к подвижной фазе 49, 169
Анаболнческие средства 296
Анализ 248
— воспроизводнмость 244
— колнчественное определение 253, 268
— лекарственных форм 263—272
— однородность дознрования 269
— подлинности 244, 263
— прнмесей 265, 267
— реакционных смесей 259
— технических продуктов 261
— фармакопейный 243
Анальгетнкн 296
Анестетики местные 297
Антиаритмики 301
Антибиотнкн 297
— антимицины 297
— антрациклины 297
— β-лактамные 297
— пенницллнны 297
— тетрациклины 297
— цефалоспорины 297
— эллорамнцины 297
Антигистаминные препараты 298
Антидепрессанты 298
— трнцнклическне 298
Аппаратура 181—204
Ароматнческие углеводороды 67, 83, 84, 108
Асимметрия пнков 169, 231, 239

Базовая линня 16
— всплескн 234
— дрейф 234, 235
— шум 233
Барбитураты 73, 83, 108, 119, 178, 284, 298
Бензодназепина производные 298, 301
Бензоморфана производные 296
Бензотиазепина производные 141
Бетаблокаторы 299

Ван-дер-Ваальса объемы 85
Взаимодействия межмолекулярные в хроматографин 11, 48

— на неполярных неподвижных фазах 52—55
— на полярных хнмически связанных неподвижных фазах 161, 162
— на снликагеле 127—129
Витамины 299
— А и аналоги 299
— водорастворнмые 299
— Е 299
— жирорастворнмые 299
Влажиость
— силикагеля 130, 131
— подвнжной фазы 130, 131
— — влнянне на эффективность 131
Внеколоночные эффекты 239
Внутримолекулярные взанмодействия 148
Вода
— роль в обращенно-фазовой хроматографнн 53, 54
— — в хроматографни на снлнкагеле 130, 131
Воспроизводимость 60—68, 132, 244—249
Время удержнвання 17, 223, 226, 227
— воспронзводнмость 132, 245, 249
— измереине 226, 227
— несорбирующегося вещества 17, 223, 224
Высота, эквивалентная теоретнческой тарелке (ВЭТТ) 19—25
— вклады 22—25
— вычнсление 20
— завнснмость от условнй процесса 25
— — от линейной скоростн подвижиой фазы 24
— — от размера частнц 22
— уравнения 21—24
Вычислительные интеграторы 204
Галлюциногены 299
Гаммета—Тафта уравнения 149
Гидантонны 87
Гидрофобность 74—78, 276
Глнкознды наперстянкн 80, 299
Гомологи, закономерностн удержнвания 79, 146, 166, 283
Градиентное элюированне 117, 221
— аппаратура 187, 188
— выбор условий 121
— преимущества 120
— форма граднента 118

Давление подвижной фазы
— неустойчнвое 237
— повышенное 224, 237
— пониженное 237
Данные, системы для обработкн 202—204
Данспламнды 83
Дегазация подвижной фазы 185, 186, 233
Демпферы пульсацнй 193
Дескрипторы структурные 79—85
Детектнрование
— лннейность 225, 231, 253
— селектнвность 202
— чувствнтельиость 201, 220
Детекторы 201
— лннейность 225, 231
— перегрузка 225, 241, 245, 253, 254
— прнцнпы работы 202
— сравненне 202
— типы 202
1,4-Дигндропирндина пронзводные 78, 94, 96, 285—289
Дибензодиазепнны 300
Диналический модифнкатор 168—180
2,4-Диннтрофенилгидразоны 217
Дноль-дипольные взаимодействия 48, 115
Дипольные моменты 53
Дисперсионные взанмодействня 48, 115
Диффузня
— в неподвнжной фазе 23
— в подвижной фазе 22
— вихревая 22
— продольная 23
Длнна колонкн 182, 219
Дозаторы пробы 194
— петлевые 196
— с мембраной 194
— с остановкой потока 195
Дрейф базовой линин 234, 235

Емкость хроматограммы 120

Женьшеня сапоннны 300

Зоны хроматографические 11
— асимметрия 169, 231, 239
— размыванне 11, 21
— — вклады 21—25
— скорость перемещения 11, 27

Изократическое элюирование 221
Имндазолины 299
Индекс
— взанмодействня 92
— связуемости 80
— удержнвання 18

Инкременты величин удерживания 66—71
Интеграторы 204—254
Ионная сила, влияние на удерживание 58
Ион-парная хроматография 175
— влияние pH 174
— — динамических модификаторов 172—174
— — органических растворителей 172—174
— механизмы 170—172
— сорбенты 170
Искаженные пики 209, 240, 241
Испытание сорбентов 63

Калибровка
— абсолютная 256
— выбор метода 257—259
— график 254, 256
— условная 262
Калибровочный коэффициент 253—256
Карбоильная группа, получение производных 213, 217
Качественный анализ 248
— безэталонный 250
— по величинам удерживания 248—250
— по спектральным характеристикам 250
Кетоны, получение производных 213, 217
Кинетика массопередачи 23—25
Кислоты
— ароматические 73, 87, 108, 285
— желчные 71, 73, 108
— карбоновые 80, 213, 214, 273
— — метиловые эфиры 80, 108
— — алканоламиды 80
— — добавки в подвижную фазу 169, 274
— — получение производных 213, 214
— — разделение 273, 274
Количественный анализ 245—248, 253—259, 268, 269
— метод абсолютной калибровки 256
— — внутреннего стандарта 256
— — нормализации площадей 255
— — условной калибровки 262
— по высотам пиков 245, 254, 255
— по площадям пиков 245, 254, 255
— точность 245, 246, 268
Коллекторы фракций 183, 184
Колонки
— дефекты 209, 210, 234
— для углеводов 161
— конструкция 197
— концевые уплотнения 197, 208
— материалы 197
— наконечники 197
— перегрузка 231, 232, 239, 254
— приемы работы 208
— промывка 210, 234, 235
— размеры 182, 219, 220
— регенерация 210
— с радиальным сжатием 198
— сменные патроны 197
— стабильность 209
— термостатирование 85, 223
— типы 182, 198
— упаковка 198—201
— уравновешивание 132
— фильтры 197
— эффективность 20, 182, 219, 220
Компенсационный эффект 86—87, 106—113, 163, 164
Компьютер 203
Константы кислотности pK_a 56
Контрацептивы пероральные 299
Корреляционный фактор 84
Кортикостероиды 299
Кортикотропина фрагменты 75
Коэффициенты емкости 18, 72
— влияние
— — на критерий разделения 21, 222
— — состава элюента 90—115, 133—145, 163—165, 294
— — специфических модификаторов 130, 172, 207
— — строения сорбатов 65—85, 145—156, 165, 166, 276—293
— — температуры 85, 125, 166, 223, 224
— измерение 223
— оптимальное значение 222
— приемлемые значения 36, 222, 223
— связь с параметрами распределения 27, 72
Коэффициенты распределения 18, 72, 78, 111
Краун-эфиры 179
Критерий
— гидрофобности упрощенный 276—293
— разделения 20, 221
— — при градиентном элюировании 120

Лейкомицины 297
Лео-Ганча метод 72, 73
Лигандообменная хроматография 176
Линейная скорость подвижной фазы 22—25, 224
Линейность детектора 225, 231
Ложные пики 222, 235
Локализация 129, 142

Массопередача 23—25, 239
Метод
— абсолютной калибровки 256
— внутреннего стандарта 256
— сравнительных расчетов 149—156
— условной калибровки 262
Методики, принципы описания 228
— принципы выбора параметров 218—225
Микроколоночная хроматография 182
Мицеллярная хроматография 175, 176
Модели удерживания 65, 127
— аддитивные 66—85, 146—156
— «удерживание—свойство» 66, 72—79
— «удерживание—структура» 66, 79—85
Модификаторы
— динамические 168
— специфические 44, 169—175

Наркотики 300
Насосы 188
— плунжерные 190
— пневмоусилительные 189
— постоянного давления 188
— постоянного расхода 188
— пульсация подачи 191—194
— шприцевые 189
Нейролептики 300
Неподвижная фаза, см. Сорбент
Неполадки и устранение 232
Нитраты изосорбида 300
— полиолов 300
Нитросоединения 108

Обращенно-фазовая хроматография 51—126
— механизм удерживания 52—58
— на полярных сорбентах 167
— подвижная фаза 90
— — ионная сила 57
— — органический компонент 90
— — селективность 115
— — элюирующая сила 47
— сорбент 34
— — синтез 31, 32
— — строение 31, 32
— — свойства 62
— — смачиваемость 90
— удерживание
— — зависимость от ионной силы 57
— — — от состава подвижной фазы 91
— — — от строения сорбатов 65—85
— — — от температуры 85
— — прогнозирование 70, 84, 97, 123
Объем
— свободный системы 17
— удерживания 18
Оптимизация состава подвижной фазы 115, 145, 222
Оптическая плотность 235, 254
Органический растворитель в обращенно-фазовой хроматографии
— сорбция 90
— влияние на удерживание 73, 91—115
— компенсационный эффект 106
Основания
— выбор подвижных фаз 274
— особенности поведения 65, 114
Относительное удерживание 19, 221, 245
Отрицательные пики 235

Пептиды 74, 94, 114, 158
Перегрузка
— детектора 225, 241, 245, 253, 254
— колонки 226, 231, 253, 254
Пики хроматографические
— асимметрия 239
— вакансионные 236
— высота 227
— измерение 227
— искаженные 226, 235, 240
— ложные 222, 235
— отрицательные 235
— площадь 227
— размывание 21—25
— сдвоенные 240
Пиридазиноны 108
Пиримидины 293
Поверхностное натяжение 53, 57
Погрешности анализа 246, 256
Подвижная фаза 11, 36—50, 273—276
— в нормально-фазовой хроматографии 126—145
— в обращенно-фазовой хроматографии 90—117

— влажность 130
— влияние на удерживание 125, 129, 133
— выбор элюирующей силы 41, 145, 154, 274, 294
— дегазация 185, 186, 233
— диффузия 22
— добавки специфических модификаторов 44, 169
— линейная скорость 22—24, 224
— массопередача 24
— неодиородность потока 22
— оптимизация селективности 115, 150
— повторное использование 206
— расход 18, 221, 224
— свойства компонентов 38—50
— селективность 42, 43
— фильтрование 37, 204
— элюирующая сила 40—42, 127
Подлинность лекарственных веществ 244, 263
Показатель преломления 202, 236
Полиолы, нитраты 300
Полиядерные ароматические углеводороды 71, 72, 79, 80, 83, 135, 147, 148, 177
Полиядерные гетероциклы 285
Поляризуемость молекулярная 79
Полярность растворителей 46
Полярные химически связанные неподвижные фазы 160—168
— механизм удерживания 161, 162
— область применения 160, 161
— роль подвижной фазы 162—165
— способы получения 31, 32
— удерживание и строение сорбатов 165—168
Предколонки 198
Препаративная хроматография 229
Примеси, анализ 222, 265—268
Приповерхностные слои
— в нормально-фазовой хроматографии 126—131
— в обращено-фазовой хроматографии 90, 91
— при динамическом модифицировании 170—180
Проба
— ввод 194
— — устройства 194
— концентрация 226
— объем 225
— перегрузка 225
— подготовка 211—218
— получение производных 212—218
— растворение 211, 212
Прогнозирование удерживания 70, 72, 84, 97, 123, 155, 165
Производные
— для УФ-детектирования 212—218
— для флуоресцентного детектирования 212—218
Простагландины 166, 300
— полупродукты синтеза 84, 147, 150—156, 259, 262, 285
Противовоспалительные средства 300
Протонодонорные и акцепторные свойства 48
Психотропные препараты 300
Пульсации подвижной фазы, гашение 191—194, 233
Пурины 71
pH, влияние
— в ион-парной хроматографии 173, 174
— в обращено-фазовой хроматографии 55—57

Распределение жидкость—жидкость 27, 72, 111, 116
Растворимость
— взаимная компонентов подвижной фазы 205
— образца 231
— параметр Хильдебранда 46, 92, 165
— — парциальный 49
Растворители 36—50, 184—188, 204—208
— классификация 44—50
— полярность 45, 48
— свойства 38
— селективность 42—50, 115—117
— — группы 48—50
— фильтрование 37, 184, 185, 204
— элюирующая сила 40—50, 154
Расход подвижной фазы 18, 221, 224
Реккера метод 72—79, 129

Свободная энергия сорбции 18, 86
Селективность 19, 129
— оптимизация 145
— растворителей 42—50, 115—117
— — группы 48—50
— — парциальные параметры 49
— системы 161, 220—223
— — критерий 19, 221, 245
— — треугольник 115—117
Силанольные группы 31, 128
— остаточные 163
— степень модификации 59
— химическая модификация 31

Силаиофильное удерживание 59, 64, 158
Силатраны 163
Силикагель
— буферированный 157
— динамически модифицированный 71, 131, 168—180
— строение адсорбированных слоев 127, 130
— уравновешивание 131, 132
— химическая модификация 31—33
— pH 157
Симпатомиметики 300, 301
Системы обработки данных 204, 254
Скотта—Кучеры модель 128—130
Слои адсорбционные 126—130
— приповерхностные 16, 90, 91, 126—130, 170—180
Смешанные механизмы удерживания 44, 114, 169, 170
Снайдера теория 127, 163
Сольватация 53, 93
Сольвофобная теория 52, 107
Сорбаты 11
Сорбенты 11, 29
— алкилсиликагели 31—35, 51—126
— воспроизводимость свойств 132, 244, 245
— выбор 33, 34
— диффузия 23
— массопередача 23
— объемно-пористые 30
— пелликулярные 29
— поверхностно-пористые 29
— размер частиц 29, 30
— силикагель 31—35, 126—160
— уравновешивание 132
— форма частиц 29
— характеристики 62—65
— химически связанные 31—33
— — методы получения 31—33
— — неполярные 32
— — полярные 32
Сочевиньского модель 127, 163
Спирты 73, 79, 83, 84, 94
— получение производных 213, 214, 216
Сравнительные расчеты 149—156
Стероиды 133, 141, 178, 301
Сульфаниламиды 301
Суспензионная упаковка колонок 198—200

Температура 85, 223
— влияние на селективность 88, 223, 224
— влияние на удерживание 85, 125, 166, 223, 224
— компенсации 86, 125
— кипения растворителей 38
Теоретическая тарелка
— высота эквивалентная 19, 20
— число 20
Тетраалкиламмония соли 170, 274
Точность
— анализа 245, 246
— измерения высоты пика 245, 255
— измерения площади пика 245, 255
Транквилизаторы 301
Тромбоксаны 300
Треугольник селективности 115, 116
симм-Триазина производные 166
1,2,4-Триазола производные 133, 301
Триазолобензодиазепины 301
Трициклические антидепрессанты 178, 179, 298

Углеводороды ароматические полиядерные 71, 72, 79, 80, 83, 126, 147, 148, 177
Углеводы 161
Удерживание 11
— время 17
— удерживания несорбирующегося вещества 17, 223, 224
— прогнозирование 65, 70, 72, 84, 97, 123, 155, 165
Упаковка колонок 198—201
Уравнение Ван-Деемтера 24
Условно несорбирующиеся вещества 223, 224

Фазовое отношение 17
Фенилэтиламина производные 301
Феноксипропаноламина производные 302
Фенолы 108
Фильтры
— в колонках 197, 209
— для подвижной фазы 185, 204
— проточные 185, 204
Форколонки 198
Фталимиды 80, 108
Фторурацил
— метаболиты 302
— производные 75, 94, 96, 285
Функциональные группы, вклады в удерживание 68—84, 149—153
Функция градиента 118

Халконы 73
Хорвата теория 52
Хроматограмма 16
— масштаб записи 227

Хроматография
— адсорбционная 14
— в системах с динамическим модифицированием 15, 16, 168—180
— — жидкость—жидкость 176
— высокого давления 14
— вытеснительная 13
— газовая 13
— ионообменная 14, 16
— ион-парная 16, 170
— колоночная 13
— лигандообменная 14, 16
— мицеллярная 175, 176
— нормально-фазовая 15
— — на силикагеле 126—160
— — на полярных химически связанных неподвижных фазах 160—168
— обращенно-фазовая 15, 16, 51—126
— планарная 13
— препаративная 229
— проявительная 13
— распределительная 14
— фронтальная 13
— эксклюзионная 16
— элютивная 13
Хроматография на силикагеле 126—160
— в водных элюентах 158
— динамическое модифицирование 168—180
— закономерности удерживания 133—160
— механизм 126—130
— на буферированном силикагеле 157
— оптимизация подвижных фаз 145
— растворители 204—208
— — роль воды 130, 131
— — селективность 144, 145, 150—153
— — сорбция 126—130
— — элюирующая сила 44—46, 154

Цианэтилсиликагели 32, 165—168
Циклопентаноиа производные 94, 135, 163

Число атомов углерода 79, 146, 166, 276
Число теоретических тарелок 20
— влияние на разделение 20, 221
— измерение 20
Чувствительность 246

Шум детектора 191, 233

Эквиэлюотропные смеси 133, 154
Элюент 11
Элюирующая сила 41, 47, 127, 133, 154
Элюотропные ряды 44, 47
Эндорфины 302
Энтальпия 107
Энтропия 107
Эффективность 19—24, 219, 220

ОГЛАВЛЕНИЕ

Предисловие 5

Введение 7

1. Принципы и основы теории хроматографии 11

1.1. Хроматографический процесс: удерживание, размывание, разделение 11
1.2. Классификация видов хроматографии 13
1.3. Некоторые основные термины и определения 16
1.4. Размывание хроматографических зон 21
1.5. Удерживание 26

2. Сорбенты 29

3. Растворители 36

3.1. Общая характеристика 36
3.2. Физические свойства 37
3.3. Элюирующая сила и селективность 40
3.4. Классификация растворителей 44

4. Основные варианты ВЭЖХ 51

4.1. Обращенно-фазовая хроматография 51
4.1.1. Механизм удерживания 51
4.1.2. Закономерности сорбции 58
4.1.2.1. Удерживание и структура сорбента 58
4.1.2.2. Удерживание и строение молекул сорбатов . . . 65
4.1.2.2.1. Аддитивные модели удерживания . . . 66
4.1.2.2.2. Модели «удерживание—свойство» . . . 72
4.1.2.2.3. Модели «удерживание—структура» . . . 79
4.1.2.3. Удерживание и температура колонки 85
4.1.2.4. Удерживание и состав подвижной фазы 90
4.1.2.5. Оптимизация качественного состава подвижной фазы 115
4.1.2.6. Градиентное элюирование 117
4.1.2.7. Совместное влияние строения сорбатов и концентрации органического модификатора на удерживание . . . 122
4.1.2.8. Совместное влияние состава подвижной фазы и температуры на удерживание 125
4.2. Хроматография на силикагеле 126
4.2.1. Механизм удерживания 126
4.2.2. Состав подвижной фазы и удерживание 133

4.2.3. Строение сорбатов и удерживание 145
4.2.4. Нетрадиционные режимы хроматографии на силикагеле 157
4.3. Хроматография на полярных химически связанных неподвижных фазах 160
4.4. Хроматография в системах с динамическим модифицированием 168

5. Методические основы ВЭЖХ 181

5.1. Аппаратура 181
5.1.1. Устройства для подготовки растворителей 184
5.1.2. Насосы 188
5.1.3. Дозаторы 194
5.1.4. Колонки 196
5.1.5. Детекторы 201
5.1.6. Системы регистрации сигнала и обработки данных . . . 202
5.2. Работа с растворителями 204
5.3. Работа с колонками 208
5.4. Подготовка проб 211
5.5. Выбор условий эксперимента 218
5.5.1. Использование литературных данных 218
5.5.2. Условия разделения 219
5.5.3. Регистрация и обработка данных 226
5.6. Описание методик анализа 228
5.7. Препаративная хроматография 229
5.8. Неполадки в хроматографических системах и их устранение . . 232

6. ВЭЖХ в контроле производства и фармакопейном анализе . . . 243

6.1. Характеристика ВЭЖХ как метода анализа 243
6.2. Принципы качественного анализа 248
6.2.1. Анализ по величинам удерживания 248
6.2.2. Качественный анализ по спектральным характеристикам . . 250
6.3. Принципы количественного анализа 253
6.4. Анализ реакционных смесей 259
6.5. Анализ технических продуктов 261
6.6. Доказательство подлинности 263
6.7. Определение примесей 265
6.8. Количественное определение 268
6.9. Другие типы анализов 269

7. ВЭЖХ лекарственных веществ 273

7.1. Выбор типа хроматографической системы 273
7.2. Выбор элюирующей силы подвижной фазы в обращенно-фазовой хроматографии 274
7.2.1. Упрощенный критерий гидрофобности 276
7.2.2. Априорный расчет концентрации органического растворителя 294
7.3. Условия хроматографического анализа основных групп лекарственных веществ и отдельных соединений 295

Заключение 351

Список литературы 354

Предметный указатель 381

Виктор Давидович Шатц
Ольга Вячеславовна Сахартова
ВЫСОКОЭФФЕКТИВНАЯ ЖИДКОСТНАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ

Редактор *А. Пугачева*
Художники *Л. Путныня, В. Беликов*
Художественный редактор *В. Пугачева*
Технический редактор *Э. Высоцка*
Корректор *Ж. Деркачева*

ИБ № 2760

Сдано в набор 23.01.87. Подписано в печать 03.08.88. ЯТ 09328. Формат 60×90/16. Бумага типогр. № 1. Гарнитура литературная. Печать высокая. 24,5 физ. печ. л.; 24,5 усл. печ. л.; 24,5 усл. кр.-отт.; 22,52 уч.-изд. л. Тираж 1400 экз. Заказ № 137. Цена 1 р. 70 к. Издательство «Зинатне», 226530 ГСП Рига, ул. Тургенева, 19. Отпечатано в типографии «Циня» Государственного комитета Латвийской ССР по делам издательств, полиграфии и книжной торговли, 226011 Рига, ул. Блауманя, 38/40.