

## Залежності утримування-гідрофобність для конденсованих ароматичних вуглеводнів та естерів *n*-гідроксибензойної кислоти за даними міцелярної рідинної хроматографії

О.П. Бойченко<sup>1</sup>, Л.П. Логінова<sup>1\*</sup>, А.Ю. Куліков<sup>1,2</sup>,

А.Л. Іващенко<sup>1,3</sup>, М.М. Галат<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Харківський національний університет ім. В.Н. Каразіна  
пл. Свободи, 4, Харків, 61077, Україна

<sup>2</sup> ДП «Науково-експертний фармакопейний центр»  
вул. Астрономічна, 33, Харків, 61085, Україна

<sup>3</sup> Випробувальна аналітична лабораторія АТ «Стома»  
вул. Ньютона, 3, Харків, 61105, Україна

**Резюме.** Розглянуто проблеми моделювання залежностей утримування-гідрофобність за даними міцелярної рідинної хроматографії. Підходи до моделювання протестовано на єдиному наборі експериментальних даних із розділення гомологічного ряду естерів *n*-гідроксибензойної кислоти й 11 конденсованих ароматичних вуглеводнів. Встановлено, що якість кореляцій утримування-гідрофобність істотно залежить від складу рухомої фази. Відхилення від лінійних залежностей, що спостерігаються для перших членів ряду гомологів чи конгенериків, інтерпретовано з погляду залежності констант розподілу вода — міцелярна псевдофаза від місця локалізації речовини в міцелі. Запропоновано новий підхід до опису і прогнозування гідрофобності, що базується на моделі зміни мікрооточення сполуки в умовах міцелярної рідинної хроматографії. Лінійні залежності, що пов'язують характеристики утримування в міцелярній рідинній хроматографії з характеристиками гідрофобності, найбільш придатні для прогнозування останніх, коли константа розподілу сполуки в системі 1-октанол-вода складає  $10^3$  і вище.

**Ключові слова:** константа розподілу, 1-октанол-вода, утримування-гідрофобність, естери *n*-гідроксибензойної кислоти, конденсовані ароматичні вуглеводні.

**Вступ.** Розвиток комбінаторного синтезу для потреб фармації та сільського господарства в останні роки значно змінив підходи до виявлення біологічно активних сполук. Усе більше уваги приділяється зменшенню часу й покращенню ефективності скринінгу, першим етапом якого є вибір потенційного кандидата в

лікарські засоби, здатного подолати декілька біологічних бар'єрів до взаємодії з цільовим об'єктом [1]. У класичних роботах Ганча [2], Фуджити [3] і Лео [4] встановлено кореляцію між пасивним транспортом речовин крізь біологічні мембрани й гідрофобністю (ліпофільністю), що кількісно характеризується логарифмом константи розподілу речовини в системі 1-октанол-вода. Значення константи розподілу в цій системі часто використовується як характеристика біодоступності, біотрансформації й можливості знешкодження лікар-

\*Corresponding author.

Tel./fax: +38057-7075367

E-mail address: loginova@univer.kharkov.ua

ських засобів, ксенобіотиків та індустріальних хімікатів [1, 5], що надає актуальності пошуку методів оцінки цього параметра.

Відомо багато методів визначення констант розподілу в системі 1-октанол-вода, які можна поділити на дві основні групи — прямі та непрямі [6]. Серед прямих найбільш відомим є так званий традиційний метод «shake-flask», який Американським агентством захисту навколишнього середовища [7] та Організацією економічного співробітництва й розвитку [8] визнаний стандартним для тестування хімікатів. Серед непрямих найбільшого поширення набули хроматографічні методи, які ґрунтуються на тому, що розподіл аналітів між стаціонарною та рухомою фазами відбувається за фундаментальними принципами розподілу між двома рідинними фазами [9]. Перевагами хроматографічних методів у порівнянні з традиційними є експресність і відтворюваність результатів, нечутливість до домішок або продуктів деградації, можливість одночасно досліджувати суміш речовин, розширений діапазон вимірюваних значень констант розподілу, дуже мала необхідна кількість речовини [10]. Більш детальний опис методів оцінки коефіцієнтів розподілу в системі 1-октанол-вода з аналізом недоліків та обмежень кожного можна знайти в літературі [1, 4, 6, 11-20].

У міцелярній рідинній хроматографії (МРХ) використовують стандартне хроматографічне обладнання для обернено-фазової високоефективної рідинної хроматографії (ОФ-ВЕРХ) і рухомі фази, що містять поверхнево-активну речовину (ПАР) із концентрацією вище критичної концентрації міцелоутворення (ККМ) і невеликі добавки органічних розчинників. Поверхня стаціонарної фази зазнає динамічної модифікації, сорбуючи компоненти міцелярної рухомої фази [21]. МРХ є цікавою альтернативою ОФ-ВЕРХ у хімічному аналізі. Ще більший інтерес становить застосування МРХ у дослідженнях залежностей утримування-гідрофобність, оскільки мікроагрегати ПАР вважаються кращими моделями біомембран, ніж система двох безперервних фаз [11, 21]. Перевагами МРХ є: 1) зменшення впливу силанофільних взаємодій на утримування речовин під час використання алкілприщеплених сорбентів на основі силікагелю;

2) незмінність структури динамічно-модифікованої поверхні стаціонарної фази при зміні концентрації ПАР у рухомій фазі [22]; 3) можливість одночасного розділення іонних і неіонних аналітів [23].

У цій роботі на основі даних розділення естерів *n*-гідроксibenзойної кислоти й конденсованих ароматичних вуглеводнів (КАВ) вивчено можливості МРХ у дослідженні залежностей утримування-гідрофобність. Проаналізовано різні підходи щодо побудови таких залежностей і сформульовано рекомендації з використання МРХ для передбачення гідрофобності нейтральних аналітів подібної будови (*congeneric substances*).

#### Термінологія, матеріали і методи.

**Термінологія і позначення.** У літературі, зокрема англомовній, константу розподілу в системі 1-октанол-вода по-різному називають (коефіцієнт/константа (*constant/coefficient*) розподілу (*distribution/partition*), *distribution ratio*, *extraction coefficient*) і позначають (*P*, *K*, *K<sub>p</sub>*, *K<sub>ow</sub>*, *P<sub>ow</sub>*, *D* та ін.). Згідно з рекомендаціями IUPAC [24] символом *K<sub>D</sub>* позначається константа розподілу (*partition ratio*), а символом *K<sub>ow</sub>* — константа розподілу в системі 1-октанол-вода. Константа розподілу (концентраційна) дорівнює відношенню концентрації певної хімічної форми в екстракті (октанолі) до її концентрації в іншій фазі (воді). Термодинамічна константа розподілу *K<sub>D</sub><sup>0</sup>* (*partition constant*) дорівнює відношенню активностей хімічної форми у двох фазах. Концентраційна константа наближається до термодинамічної при зменшенні концентрації аналіту й сольового фону в системах.

У текстах за традиціями англомовних джерел використовується символ *log* на позначення десяткового логарифма константи розподілу й усіх інших величин. Термін *логарифм* завжди уживають на позначення десяткового логарифма, символ % — на позначення одиниці об'ємної частки органічного модифікатора в міцелярному елюенті, якщо інше не оговорюється.

**Реагенти.** Для приготування рухомих фаз використовували додецилсульфат натрію (ДДС) із вмістом основного компонента не менше 98 %, спирти — етанол, 1-пентанол (1-PtOH), ізо-пентанол (3-метил-1-бутанол, *iso*-PtOH)

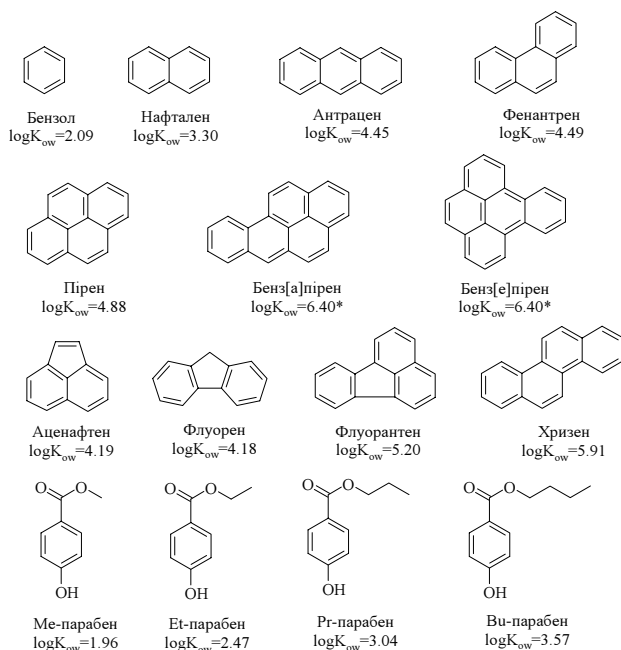


Рис. 1. Графічні формули й логарифми констант розподілу в системі 1-октанол-вода естерів *n*-гідроксibenзойної кислоти та конденсованих ароматичних вуглеводнів (\* — розраховані значення).

кваліфікації «ч»; 1-бутанол (1-BuOH) із вмістом основного компонента не менше 99 % (LAB-SCAN, Ireland). Після приготування рухомі фази очищали крізь скляний фільтр ПОР16. У всіх експериментах використовували бідистильовану воду.

Для приготування стандартних розчинів застосовували естери *n*-гідроксibenзойної кислоти (парабени) — метиловий (Me-парабен), етиловий (Et-парабен), пропіловий (Pr-парабен), бутиловий (Bu-парабен); конденсовані ароматичні вуглеводні — нафтаден, антрацен, фенантрен, пірен, бенз(а)пірен, бенз(е)пірен, аценафтен, флуорен, флуорантен, хризен і бензол (КАВ) кваліфікації «х.ч.». Графічні формули і значення логарифмів констант розподілу в системі 1-октанол-вода для парабенів і КАВ наведено на рис. 1.

Стандартний розчин парабенів готували розведенням 10 мг кожного парабену в 10 мл етанолу, робочий розчин — десятикратним розведенням стандартного розчину, стандартний розчин КАВ — розчиненням наважок у 10 мл тетрагідрофурану. Робочий розчин готували 100-кратним розведенням стандартного розчину КАВ розчином 0,1 М ДДС.

### Апаратура й умови хроматографування.

У роботі використано дві хроматографічні системи.

**Хроматографічна система 1:** рідинний хроматограф Hewlett Packard 1050 (Agilent Technologies, Waldbronn, Germany) з автосамплером, спектрофотометричним детектором із можливістю регулювати довжину хвилі й інтегратором HP 3395; хроматографічна колонка Hypersil ODS (5 мкм, 125x4,6 мм). Ізократичне розділення проводили за швидкості рухомої фази 1,0 мл/хв. Парабени й КАВ детектували за 254 нм. Температура колонки  $40,0 \pm 0,1$  °C. Об'єм проби складав 20 мкл. Концентрацію ДДС при розділенні парабенів варіювали від 0,025 до 0,250 М, вміст 1-PtOH — від 0,50 до 3,00 %; для 1-BuOH та iso-PtOH отримали по дві серії вимірювань — відповідно за 3,00, 4,00 та 1,00, 1,50 %. При розділенні КАВ концентрацію ДДС змінювали від 0,050 до 0,250 М, а вміст 1-PtOH — від 1,00 до 8,00 %. Відомо, що зі збільшенням вмісту 1-PtOH у розчинах ДДС утворюються мікроемульсії [25], однак ніяких проявів утворення мікроемульсій не було зафіксовано, що підтверджує складність розмежування мицелярних розчинів на основі змішаних мицел і мікроемульсій [26]. Загалом для розділення парабенів було використано 44 різні рухомі фази, для розділення КАВ — 20 рухомих фаз.

**Хроматографічна система 2:** рідинний хроматограф Shimadzu LC 10 AVP (Shimadzu corp., Analytical instruments division, Japan, Kyoto) зі спектрофотометричним детектором (SPD-10A VP). Уведення проб проводили за допомогою шестиходового крана, петля-дозатор 5 мкл (Rheodyne, USA). Для всіх розділень використовували мікроколонку Kromasil C18 (5 мкм, 150x2,0 мм, Column Engineering Inc., USA), що була термостатована за  $40,0 \pm 0,1$  °C. Концентрацію ДДС при розділенні парабенів варіювали від 0,050 до 0,250 М, вміст 1-BuOH — від 0,05 до 7,00 %. Загалом для розділення парабенів було використано 9 рухомих фаз.

У роботі оброблено дані, одержані під час тестування нової моделі утримування у МРХ [27], створеної на основі квазіхімічної концепції мицелотворення, та під час вивчення невизначеності фактора утримування у МРХ [28, 29]. Дані щодо розділення парабенів на

хроматографічній системі 1 із використанням для модифікації рухомих фаз *iso*-PtOH та 1-BuOH, а також щодо розділення конденсованих ароматичних вуглеводнів публікуються вперше.

**Програмне забезпечення і бази даних.** Усі розрахунки виконано з використанням програм Statistica 6.0, data analysis software system (2004, www.statsoft.com) і Microsoft Excel (2002, Microsoft Corporation, www.office.microsoft.com). Для розрахунку значень  $\log K_{ow}$  використовували програму ACD/Log P (Advanced Chemistry Development, www.acdlabs.com). Пошук експериментально визначених значень  $\log K_{ow}$  проводили в базі даних ACD/Log P DB 4.03.

**Результати й обговорення.** Хроматографічне розділення КАВ і парабенів становить інтерес як для розвитку теорії хроматографічного аналізу, дослідження залежностей утримування-гідрофобність, утримування-біологічна активність, так і для практики кількісного аналізу. Перший аспект зумовлений тим, що парабени утворюють гомологічний ряд [27, 28], а КАВ — ряд конгенериків [30, 31-33]. Другий аспект проблеми полягає в поширеності речовин цих класів. Їх досить часто доводиться визначати, контролюючи якість продуктів споживання (парабенів) чи об'єктів довкілля (КАВ). До того ж на оцінках гідрофобності останніх базуються розробки методів їх знешкодження [32-35]. З огляду на це КАВ і парабени обрано нами для дослідження залежностей утримування-гідрофобність за даними МРХ як першого етапу пошуку підходів до використання МРХ з метою передбачення біологічної активності.

**Кореляція між утримуванням у МРХ і  $\log K_{ow}$ .** Залежності утримування-гідрофобність для гомологічного ряду естерів *n*-гідроксибензойної кислоти. В ОФ-ВЕРХ із водно-органічними рухомими фазами зв'язок між утримуванням і гідрофобністю звичайно виражають у логарифмічній формі:

$$\log k = \text{intercept} + \text{slope} \times \log K_{ow} \quad (1),$$

де  $k$  — фактор утримування.

Рівняння (1) є окремою формою рівняння Колландера:

$$\log K_1 = q + p \times \log K_2 \quad (2),$$

де  $K_1$  і  $K_2$  — константи розподілу аналіту відповідно у двофазних системах 1 і 2.

Лінійний зв'язок між логарифмами констант розподілу спостерігається для систем, у яких взаємодії речовина-розчинник відбуваються за схожими механізмами (Collander R. // Acta Chem. Scand. — 1951. — Vol. 5. — P. 774, посилання з роботи [4]).

Аналогічний підхід застосовується і в МРХ. Однак уже в першій роботі з вивчення поведінки гомологів в умовах МРХ встановлено, що з кількістю метиленових груп гомолога ( $n_C$ ) лінійно корелює не  $\log k$ , а сама величина  $k$  [36]:

$$k = \text{intercept} + \text{slope} \times n_C \quad (3).$$

Зауважимо, що між величинами  $\log K_{ow}$  і  $n_C$  у межах гомологічного ряду існує строго лінійна кореляція.

Утримування гомологів характеризують ще одним параметром — величиною метиленової селективності, що дорівнює відношенню факторів утримування сусідніх гомологів  $\alpha(\text{CH}_2) = \frac{k_{n+1}}{k_n}$ . В умовах ОФ-ВЕРХ метиленова селективність не залежить від  $\log K_{ow}$  чи  $n_C$  гомолога.

Отримані нами дані щодо МРХ-розділення парабенів використано для побудови залежностей  $\log k$  —  $\log K_{ow}$  (рис. 2) та оцінки метиленової селективності (дані в роботі не наведено). Для всіх складів рухомої фази спостерігалися систематичні відхилення від лінійної залежності (1). Значення метиленової селективності залежали від кількості карбонових атомів у молекулі, зменшуючись приблизно на 0,10-0,15 одиниць при переході від Bu- до Me-парабену. Аналогічні ефекти описано і в інших роботах із МРХ-розділення гомологів [36-39].

Таку поведінку пояснюють різною локалізацією окремих представників гомологічного ряду в мікроагрегатах мицелярної псевдофази, а отже, і різною полярністю мікрооточення: більші й гідрофобніші гомологи знаходяться ближче до вуглеводневого ядра мицели. Із цього слідує, що перехід гомологів із рухомої на стаціонарну фазу супроводжується різною енергією переносу [36, 37], що й проявляється як зменшення метиленової селективності при збільшенні кількості карбонових атомів у молекулі парабену. Інше пояснення відхилень від лінійної залежності (1) базується на теорії граничної розчинності (*solubility limit theory*) та уявленнях про трифазну модель розподілу

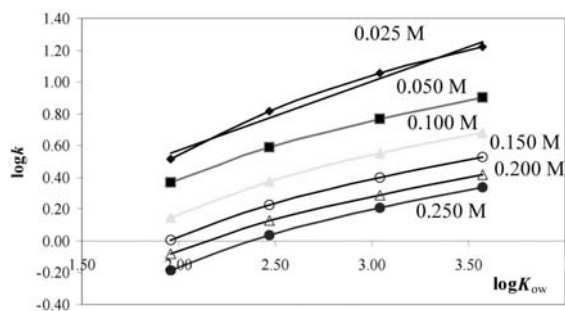


Рис. 2. Залежність  $\log k$  від  $\log K_{ow}$  парабенів (хроматографічна система 1; об'ємна частка 1-РtОН дорівнює 1,00 %; концентрація ДДС вказана на рисунку). Для рухомої фази 0,025 М ДДС, 1,00 % 1-РtОН:  $\log k = (0,30 \pm 0,11) + (0,44 \pm 0,04) \log K_{ow}$ ;  $R^2 = 0,982$ .

в МРХ [38, 39]. Припускається, що малорозчинні у воді гомологи переходять на модифіковану стаціонарну фазу з міцелярної псевдофази елюенту, а більш розчинні — з водної фази (*bulk water*). На цій основі одержано рівняння нелінійної залежності  $\ln k$  від кількості метиленових груп у гомологічному ряді [38, 39]. Однак основні припущення теорії граничної розчинності суперечать загальним уявленням про механізми розподілу в МРХ, зокрема про роль розчинника-модифікатора [23]. До того ж одержане нелінійне рівняння не придатне для малих гомологічних рядів, оскільки містить чотири підгінних параметри.

Одержані нами експериментальні дані МРХ-розділення парабенів описано також рівнянням (4):

$$k = \text{intercept} + \text{slope} \times \log K_{ow} \quad (4)$$

Це призвело до більш високих значень коефіцієнта кореляції, ніж для рівняння (1), але і в цьому випадку спостерігалися систематичні відхилення від лінійності для всіх досліджених рухомих фаз незалежно від вибору хроматографічної системи (рис. 3). Такі відхилення спостерігаються і в раніше опублікованих залежностях, хоча й без авторської інтерпретації [36]. Для серії похідних бензолу й нафталену також виявлено неадекватність лінійних моделей (1) і (4) експериментальним даним МРХ [40].

Як правило, особливо істотні відхилення від лінійності спостерігаються для перших членів гомологічних рядів. Раніше нами досліджено

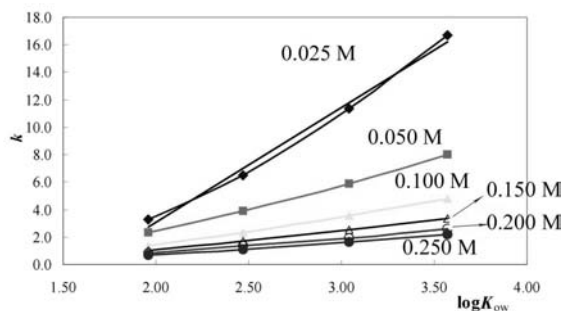


Рис. 3. Залежність  $k$  від  $\log K_{ow}$  парабенів (хроматографічна система 1; об'ємна частка 1-РtОН дорівнює 1,00 %; концентрація ДДС вказана на рисунку). Для рухомої фази 0,025 М ДДС, 1,00 % 1-РtОН:  $\log k = (-13,6 \pm 1,6) + (8,4 \pm 0,6) \log K_{ow}$ ;  $R^2 = 0,991$ .

невизначеність характеристик утримування в МРХ і виявлено, що для ряду парабенів при зменшенні фактора утримування його невизначеність різко зростає. Цей факт ураховано шляхом уведення статистичних ваг під час побудови залежності (1) за зваженим методом найменших квадратів [28]. Виявилось, що відхилення точки для Ме-парабену від прямої (1) практично не впливає на вигляд регресійного рівняння, коли її враховано з більш високою невизначеністю.

Збільшення невизначеності фактора утримування при зменшенні кількості метиленових атомів у гомолозі потребує подальшого вивчення. Однак систематичні відхилення від лінійності не можуть зводитися тільки до ефектів завищення невизначеності при малих значеннях фактора утримування. Залежності логарифма константи міцелярного зв'язування гомологів від кількості метиленових атомів, отримані нехроматографічними методами, також виявились нелінійними [41]. Подібність ефектів свідчить про домінуючу роль процесів за участі міцелярної псевдофази в МРХ-розділенні. У свою чергу, властивості міцел змінюються за різної концентрації ПАР і за зміни органічних розчинників-модифікаторів, що використовується для контролю сили рухомої фази й селективності розділення у МРХ [42]. Як наслідок, можна очікувати, що якість кореляції утримування-гідрофобність теж залежить від складу рухомої фази.

**Кореляція між  $k/\log k$  і  $\log K_{ow}$  для парабенів і КАВ у всьому факторному просторі**

**варіювання складу рухомих фаз.** Раніше повідомлялося, що зі збільшенням кількості 1-пропанолу (1-PrOH) у гібридному мицелярному елюенті для гомологічних рядів *n*-алкілбензолу та *n*-алкілфенолу кореляція між *k* та  $n_c$  наближається до лінійної, тоді як залежність  $\log k$  від  $n_c$  усе більше відхиляється від лінійної [36]. При МРХ-розділенні трьох КАВ і 13 похідних бензолу концентрації ДДС чи цетилтриметиламонію броміду (ЦТАБ) у мицелярному елюенті варіювали від 0,04 до 0,12 М, що супроводжувалося лише незначною зміною коефіцієнта кореляції для залежностей (1) і (2) [23]. Для груп похідних бензолу й нафталену кореляції між  $\log k$  і  $\log K_{ow}$  посилювалися під час уведення органічних добавок до мицелярних елюентів (1-PrOH, 1-BuOH) [43]. Автори роботи [40] указують на розширення діапазону лінійності залежностей  $k/\log k$  від  $\log K_{ow}$  при зменшенні концентрації ПАР (ДДС, ЦТАБ) у мицелярному елюенті.

Таким чином, розрізнені літературні дані свідчать про необхідність систематичного вивчення залежностей  $k/\log k$  від  $\log K_{ow}$  у широкому діапазоні зміни концентрації ПАР та органічного модифікатора й пошуку складу рухомої фази у МРХ, найбільш придатного для побудови залежностей утримування-гідрофобність. Для цього потрібні дані про утримування речовин у широкому факторному просторі складу рухомих фаз, який, як правило,

не вдається охопити в експерименті. (Деякі комбінації концентрацій ПАР і модифікатора дають рухомі фази із занадто малою чи великою елюючою силою). Тому для побудови залежностей у широкому факторному просторі ми скористалися інтерполяцією експериментальних даних за раніше отриманою моделлю утримування (5), що базується на квазіхімічній концепції мицелоутворення [27]:

$$\log k = a + b \log c_s + c \log c_R \quad (5)$$

де  $c_s$  — концентрація ДДС;  $c_R$  — концентрація органічного модифікатора;  $a$ ,  $b$ ,  $c$  — значення параметрів регресії, отримані під час обробки експериментальних даних.

За обчисленими значеннями  $k/\log k$  будували залежності (1) і (4) для 100 різних рухомих фаз із оцінкою коефіцієнтів кореляції. Поверхні залежностей квадрата коефіцієнтів кореляції від факторів складу рухомої фази будували апроксимацією розрахованих значень сплайнами на основі поліномів 3-го порядку.

На рис. 4 і 5 подано приклади залежностей квадрата коефіцієнта кореляції для моделей (1) і (4) від складу рухомої фази.

З отриманих поверхонь для парабенів можна зробити такі висновки, що не залежать від вибору хроматографічної системи: 1) кореляція  $k$  —  $\log K_{ow}$  посилюється зі збільшенням концентрації ДДС і збільшенням вмісту 1-BuOH чи 1-PtOH (рис. 4А); 2) кореляція  $\log k$  —  $\log K_{ow}$  посилюється зі збільшенням вмісту

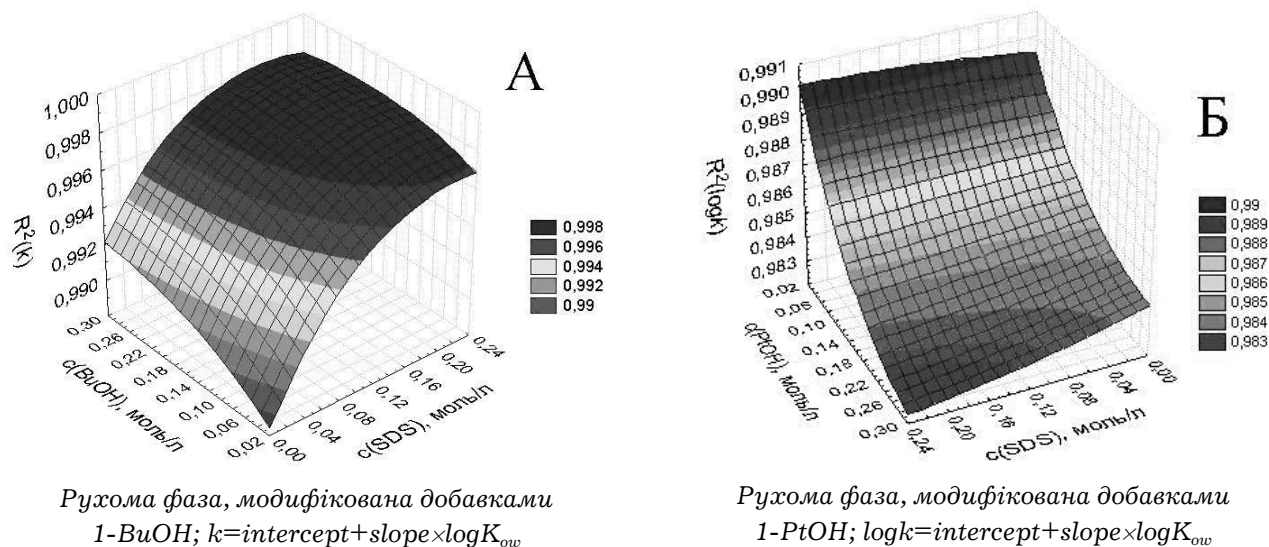


Рис. 4. Залежність квадрата коефіцієнта кореляції між  $k/\log k$  і  $\log K_{ow}$  для естерів *n*-гідроксibenзойної кислоти від складу рухомої фази. А — хроматографічна система 2. Б — хроматографічна система 1.

ДДС і зменшенням вмісту органічного модифікатора в міцелярному елюенті (рис. 4Б).

Цікаво, що аналогічні залежності, отримані для КАВ (рисунок не наведено), відповідають: 1) покращенню кореляції  $k = \log K_{ow}$  при збільшенні концентрації ДДС і зменшенні концентрації 1-РtОН; 2) покращенню кореляції  $\log k = \log K_{ow}$  при збільшенні концентрації ДДС і збільшенні концентрації 1-РtОН у рухомій фазі. (Курсивом виділено відмінності у залежностях якості кореляцій для двох класів досліджуваних речовин). Слід, однак, згадати, що лінійна залежність  $k = \log K_{ow}$  не має належного термодинамічного обґрунтування, тому її недоцільно використовувати навіть із міркувань більш високих значень коефіцієнта кореляції.

Здобуті результати свідчать про те, що описова здатність моделей утримування-гідрофобність залежить від складу міцелярного елюенту, тому необхідно поширити підхід до побудови таких кореляцій на інші класи речовин для стандартизації умов визначення гідрофобності нових сполук методом МРХ. На сьогодні лише в одній роботі з МРХ побудована аналогічна поверхня для ряду антигістамінних препаратів [44], якість кореляції  $\log k = \log K_{ow}$  покращувалась при збільшенні вмісту 1-РtОН і зменшенні концентрації ДДС у міцелярному елюенті. Про необхідність таких досліджень у МРХ свідчить також зростання інтересу до стандартизації умов визначення  $\log K_{ow}$  методами ОФ-ВЕРХ [9, 10].

**Кореляція між параметрами фізико-хімічних моделей утримування у МРХ і гідрофобністю.** Інший підхід до оцінювання гідрофобності на основі хроматографічних даних базується на залежностях, що пов'язують параметри фізико-хімічних моделей утримування в МРХ і  $\log K_{ow}$ . Можливість таких кореляцій зумовлена кореляцією між константою зв'язування речовин міцелярною псевдофазою і константою розподілу в системі 1-октанол-вода для речовин із подібною поведінкою в цих системах [45-47].

*Залежності, що базуються на трифазній моделі утримування.* Моделі утримування Армстронга й Нома [48], Аруннарта і Клін-Лави [49], Фолея [50] ґрунтуються на уявленнях про розподіл аналіту у трифазній системі

у процесі МРХ-розділення, звідки слідує лінійна залежність між зворотною величиною фактора утримування і концентрацією міцелізованої ПАР. Відомі різні варіанти основної залежності, які можна одержати шляхом нескладних перетворень [28]. У подальшій роботі використовується лише рівняння Аруннарта і Клін-Лави [49]:

$$\frac{1}{k} = \frac{1}{\phi[L_s]K_1} + \frac{K_2}{\phi[L_s]K_1} C_m \quad (6),$$

де  $\phi$  — відношення об'єму стаціонарної фази до об'єму рухомої;  $C_m$  — концентрація міцелізованої ПАР;  $K_1$  — константа рівноваги процесу переходу аналіту з водної фази на динамічно модифіковану стаціонарну ( $E_m + L_s \xrightleftharpoons{K_1} EL_s$ ,  $E_m$  — аналіт у водній фазі,  $L_s$  — місце локалізації аналіту на стаціонарній фазі);  $K_2$  характеризує розподіл аналіту між водною фазою та міцелами ПАР ( $E_m + M_m \xrightleftharpoons{K_2} EM_m$ , де  $M_m$  — міцела ПАР у рухомій фазі,  $EM_m$  — міцелярно зв'язаний аналіт). Модель запропоновано для міцелярних елюентів, що містять тільки ПАР, і для міцелярних елюентів з постійними добавками розчинника-модифікатора [21].

Константа  $K_2$  рівняння (6) характеризує ту ж рівновагу, що й константа зв'язування речовини міцелярною псевдофазою ( $K_b$ ), тому повинна існувати кореляція між логарифмом  $K_2$  і  $\log K_{ow}$ . За рівнянням (6) розраховано константи  $K_2$  для парабенів і КАВ для всіх досліджених рухомих фаз. У цій роботі не обговорюються абсолютні значення розрахованих констант, їх значимість і відтворюваність. Це стане предметом іншого повідомлення.

Для залежності

$$\log K_2 = \text{intercept} + \text{slope} \times \log K_{ow} \quad (7)$$

отримано параметри регресії та квадрати коефіцієнтів кореляції (табл. 1). Дані для парабенів описано загалом задовільно, за винятком рухомих фаз, модифікованих 1,50 % 1-РtОН (хроматографічна система 1) та 3,75 % 1-ВuОН (хроматографічна система 2). Дані для КАВ описано за цією моделлю значно гірше. В цілому апроксимуюча і прогностична здатність залежності (7) залишається під сумнівом, оскільки залежна величина  $K_2$  у більшості випадків характеризується високою невизначеністю. Причина цього — низька описова здатність рівняння (6) трифазної моделі [27, 28].

Таблиця 1  
Кореляція між логарифмами констант зв'язування й розподілу в системі 1-октанол-вода

Естери <i>n</i> -гідроксibenзойної кислоти			
Рухома фаза	slope	Intercept	R <sup>2</sup>
ДДС, 1,00 % 1-PtOH <sup>1</sup>	0,19 (0,02)	1,14 (0,04)	0,987
ДДС, 1,50 % 1-PtOH <sup>1</sup>	0,10 (0,10)	1,25 (0,29)	0,333
ДДС, 1,00 % iso-PtOH <sup>1</sup>	0,26 (0,04)	0,73 (0,12)	0,948
ДДС, 1,50 % iso-PtOH <sup>1</sup>	0,31 (0,05)	0,70 (0,14)	0,953
ДДС, 3,00 % 1-BuOH <sup>1</sup>	0,30 (0,02)	1,15 (0,06)	0,989
ДДС, 4,00 % 1-BuOH <sup>1</sup>	0,24 (0,016)	1,04 (0,05)	0,991
ДДС, 0,50 % 1-BuOH <sup>2</sup>	0,26 (0,05)	0,82 (0,15)	0,919
ДДС, 3,75 % 1-BuOH <sup>2</sup>	0,05 (0,04)	1,47 (0,11)	0,454
ДДС, 7,00 % 1-BuOH <sup>2</sup>	0,28 (0,03)	0,48 (0,07)	0,984
Конденсовані ароматичні вуглеводні			
ДДС, 2,00 % 1-PtOH <sup>1</sup>	0,18 (0,03)	1,08 (0,16)	0,784
ДДС, 3,00 % 1-PtOH <sup>1</sup>	0,16 (0,02)	1,00 (0,10)	0,849
ДДС, 4,00 % 1-PtOH <sup>1</sup>	0,11 (0,01)	1,04 (0,07)	0,870

Примітки. У дужках указано стандартну похибку параметрів. <sup>1</sup> — хроматографічна система 1. <sup>2</sup> — хроматографічна система 2.

**Залежності, що базуються на моделі зміни мікрооточення аналіту.** Нещодавно запропоновано модель утримування у МРХ, що базується на квазіхімічній концепції міцелування [27].

Основне рівняння моделі описує залежність фактора утримування неіонного аналіту від складу рухомої фази й характеристик міцелування:

$$\log k = \text{const} - x \log c_R + y \beta \log c_s + x \log(1 + (P-1) v_s \times (c_s - \text{СМС})) + y \beta \log(1 - \beta) \quad (8),$$

де  $\text{const} = y \log K' + \log K + \log K\phi$  ( $K'$  — константа закону діючих мас для реакції міцелування;  $K$  — константа закону діючих мас для реакції переходу аналіту з рухомої у стаціонарну фазу (рівняння (9));  $\beta$  — ступінь зв'язування протиіонів;  $c_s$  — концентрація ПАР; СМС — критична концентрація міцелування;  $v_s$  — молярний об'єм ПАР;  $x$  та  $y$  — коефіцієнти, що характеризують зміну кількості мономерів ПАР ( $x$ ) і молекул органічного модифікатора ( $y$ ) в мікрооточенні аналіту при його переході з рухомої на стаціонарну фазу.

Під час апробації моделі в попередніх дослідженнях із розділення парабенів та антибіотиків рубоміцинового ряду виявлено її високу описову здатність, незважаючи на відсутність чи малу точність допоміжних даних [27, 28]. Крім того, у роботі [27] виявлено високу кореляцію між розрахованими параметрами  $\text{const}$ ,  $x$ ,  $y$  моделі (8) і  $\log K_{ow}$ .

Згідно з квазіхімічною концепцією [27] вільний член моделі (8) включає константу рівноваги при переході аналіту з рухомої на стаціонарну фазу  $\langle \langle \text{AR}_l \text{S}_n \rangle \rangle_m \rightleftharpoons \langle \langle \text{AR}_p \text{S}_q \rangle \rangle_s + xR + yS$ :

$$K = \frac{[\text{AR}_p \text{S}_q]_s [\text{R}]^x [\text{S}]^y}{[\text{AR}_l \text{S}_n]_m} \quad (9),$$

де  $A$  — аналіт;  $R$  і  $S$  — молекули відповідно органічного модифікатора й мономера ПАР;  $x = l - p$ ;  $y = n - q$ .

Використовуючи відоме рівняння ізотерми хімічної реакції Вант-Гоффа [51], енергію Гіббса переносу аналіту з рухомої на стаціонарну фазу можна представити у вигляді суми:

$$\Delta G_{\text{transf}}^0 = -RT \ln K = \Delta G_{\text{transf}}^{0, \text{func}} + n_c \Delta G_{\text{transf}}^{0, \text{methyl}} \quad (10),$$

де  $\Delta G_{\text{transf}}^{0, \text{func}}$  — енергія переносу функціональної групи, що спільна для всіх членів гомоло-

Таблиця 2  
Параметри  $\text{const}$ ,  $y$  моделі (8) та залежність  $\text{const} - \log K_{ow}$  за рівнянням (11)

Аналіт	Хроматографічна система 1, рухомі фази: ДДС, 1-PtOH				Хроматографічна система 2, рухомі фази: ДДС, 1-BuOH			
	$\text{const}$	$y$	$\text{const}$	$y$				
Me-парабен	0,49	-0,79	-0,19	-1,07				
Et-парабен	0,80	-0,82	0,04	-1,15				
Pr-парабен	1,03	-0,84	0,21	-1,22				
Bu-парабен	1,20	-0,89	0,33	-1,26				
$\text{const} = a + by + c \log K_{ow}$	$a$	$b$	$c$	$R^2$	$a$	$b$	$c$	$R^2$
	1,59 (3,11)	2,85 (4,62)	0,61 (0,28)	0,985	-3,48 (0,19)	-3,21 (0,22)	-0,07 (0,03)	0,9999

Параметри рівняння (12) для конденсованих ароматичних вуглеводнів і рухомих фаз із концентрацією ДДС 0,150 М, модифікованих 1-РtОН

Конденсовані ароматичні вуглеводні					
	$\log k = A_0 + A_1 \log K_{ow} - \log(1 + C_m 10^{(B_0 + B_1 \log K_{ow})})$				
	$A_0$	$A_1$	$B_0$	$B_1$	$R^2$
ДДС, 2,00 % 1-РtОН <sup>1</sup>	-1,0 (3)	1,8 (1,5)	1,2 (1,2)	0,7 (0,6)	0,992
ДДС, 3,00 % 1-РtОН <sup>1</sup>	-1,5 (4)	2 (2)	-0,04 (1,7)	0,84 (0,87)	0,992
ДДС, 4,00 % 1-РtОН <sup>1</sup>	-1,7 (5)	2,1 (2,3)	-0,11 (2)	0,90 (1,0)	0,990

Примітки. Стандартну похибку параметрів подано в дужках. <sup>1</sup> — хроматографічна система 1.

гічного ряду;  $\Delta G_{transf}^{0, methyl}$  — енергія переносу метилової групи.

Беручи до уваги це співвідношення, рівняння Колландера (п. 3.1.1) і вираз для *const* з рівняння (8), можна передбачити таку функціональну залежність між параметрами *const*, *y* та  $\log K_{ow}$ :

$$const = a + by + c \log K_{ow} \quad (11),$$

де *a*, *b* і *c* — параметри регресії, *const*, *y* — коефіцієнти моделі (8) для кожної речовини.

У табл. 2 наведено коефіцієнти моделі (8) і параметри рівняння (11) для парабенів за даними, що отримані на двох хроматографічних системах із використанням 1-РtОН та 1-ВuОН як модифікаторів рухомих фаз. Дані для хроматографічної системи 1 не вдалося задовільно описати за рівнянням (11), оскільки невизначеність параметрів регресії виявилася надто високою. У той же час дані для хроматографічної системи 2 і модифікатора 1-ВuОН описано рівнянням (11) значно краще, ніж попередніми рівняннями (1), (4), (7).

Висновок про апроксимуючу і прогностичну здатність рівняння (11) може бути зроблений тільки при поширенні підходу на інші класи сполук. Дані про МРХ-розділення КАВ для цього використати не вдалося. Розділення КАВ досягалось за високих концентрацій 1-РtОН у міцелярному елюенті. Для таких систем відсутні дані про критичну концентрацію міцелоутворення ДДС і ступінь зв'язування протиіонів, що не дало змогу отримати параметри моделі (8). До того ж залишаються сумніви щодо характеру елюенту — це міцелярний розчин чи мікроемульсія?

**Механістичні й емпіричні залежності утримування-гідрофобність у МРХ.** Для опису залежностей утримування-гідрофобність запропоновано також інші підходи, що

базуються на аналогії з моделями в ОФ-ВЕРХ або мають механістичні пояснення.

Положення трифазної моделі (рівняння (6)) доповнено припущенням про наявність лінійної кореляції параметрів  $K_2$ ,  $K_1$  із  $\log K_{ow}$ , що привело до такої залежності [40]:

$$\log k = A_0 + A_1 \log K_{ow} - \log(1 + C_m 10^{(B_0 + B_1 \log K_{ow})}) \quad (12),$$

де  $A_0$ ,  $A_1$ ,  $B_0$ ,  $B_1$  — емпіричні параметри,  $C_m$  — концентрація міцелізованої ПАР.

Оскільки рівняння включає чотири параметри регресії, воно не придатне для малих гомологічних рядів. У нашій роботі рівняння (12) вдалося застосувати тільки для опису даних щодо розподілу КАВ (табл. 3). Параметри регресії знаходили за нелінійним методом найменших квадратів за допомогою алгоритму Гауса-Ньютона. Хоча рівняння (12) виявило добру описову здатність, однак жоден із його параметрів статистично не відрізняється від нуля, що свідчить про невисоку прогностичну здатність [28].

Кращі кореляції утримування-гідрофобність в ОФ-ВЕРХ отримано за використання даних, що відносяться до водного елюенту, одержаних, як правило, екстраполяцією на нульовий вміст органічного розчинника. Поширюючи цей прийом на дані МРХ, було запропоновано кілька рівнянь:

$$k_m = \text{intercept} + \text{slope} \times \log K_{ow} \quad (13),$$

$$\log k_m = \text{intercept} + \text{slope} \times \log K_{ow} \quad (14),$$

$$\log k_{mw} = \text{intercept} + \text{slope} \times \log K_{ow} \quad (15),$$

де  $k_m$  — значення фактора утримування за нульової концентрації міцел, тобто за концентрації ПАР, що дорівнює критичній концентрації міцелоутворення. Як слідує з рівняння (6),  $k_m = 1/\phi[L_s]K_1$  [11, 40];  $k_{mw}$  — значення фактора утримування за нульової концентрації ПАР і модифікатора, одержане екстраполяцією за рівнянням  $\log k = \log k_{mw} + bc_s + c\phi$ , де  $\phi$  — об'ємна частка органічного модифікатора [53].

Таблиця 4

Значення розрахованого фактора утримування за концентрації ПАР, що дорівнює ККМ ( $k_m$ ), для естерів *n*-гідроксибензойної кислоти та квадрати коефіцієнтів кореляції за рівняннями (13), (14)

Аналіт	1,00 % 1-PtOH <sup>1</sup>	1,50 % 1-PtOH <sup>1</sup>	1,00 % iso-PtOH <sup>1</sup>	1,50 % iso-PtOH <sup>1</sup>	3,00 % 1-BuOH <sup>1</sup>	4,00 % 1-BuOH <sup>1</sup>	0,50 % 1-BuOH <sup>2</sup>	3,75 % 1-BuOH <sup>2</sup>	7,00 % 1-BuOH <sup>2</sup>
Me-парабен	5,8 (0,6)	4,1 (0,3)	3,8 (1,0)	3,8 (0,4)	7 (2)	4 (2)	9 (11)	10 (6)	3 (2)
Et-парабен	12 (1,1)	11 (5)	8 (3)	8,8 (1,2)	18 (9)	9 (3)	25 (32)	16 (0,9)	7 (5)
Pr-парабен	23 (4)	13 (1,0)	15 (8)	14 (4)	39 (29)	19 (7)	48 (73)	30 (4)	13 (9)
Bu-парабен	35 (9)	21 (3)	23 (14)	27 (7)	68 (68)	32 (12)	80 (137)	44 (16)	21 (14)
R <sup>2</sup> , рів. (13)	0,984	0,949	0,990	0,987	0,982	0,977	0,980	0,976	0,978
R <sup>2</sup> , рів. (14)	0,987	0,915	0,980	0,980	0,982	0,987	0,971	0,995	0,985

Примітки. Стандартну похибку параметрів подано в дужках. <sup>1</sup> – хроматографічна система 1. <sup>2</sup> – хроматографічна система 2.

Результати екстраполяції (значення  $k_m$  і  $\log k_{mv}$ ) для парабенів і КАВ і квадрати коефіцієнтів кореляції за рівняннями (13)–(15) наведено в табл. 4–6.

Хоча в деяких випадках невизначеність екстраполяції досягала високих значень (див. стандартне відхилення параметрів у табл. 4 і 5), рівняння (13)–(15) забезпечили задовільний опис даних для парабенів і КАВ.

Цікаво проаналізувати залежності (14), (15) (рис. 5, 6), що у випадку КАВ забезпечили кра-

щий опис даних, ніж рівняння (13). У трьох серіях вимірювань при значеннях об'ємної частки 1-PtOH 2, 3 і 4 % від лінійних залежностей (14), (15) відхиляються точки для бензолу (рис. 5, 6), що має найменший серед усіх КАВ  $\log K_{ow}$  (рис. 1). Невипадковість відхилень під-

Таблиця 6

Параметри  $\log k_{mv}$  для естерів *n*-гідроксибензойної кислоти й конденсованих ароматичних вуглеводнів і квадрати коефіцієнтів кореляції за рівнянням (15)

$\log k = \log k_{mv} + bc_s + c\varphi$		
Естери <i>n</i> -гідроксибензойної кислоти		
	$\log k_{mv}^1$ [27]	$\log k_{mv}^2$ [28]
Me-парабен	0,64	0,83
Et-парабен	0,89	1,12
Pr-парабен	1,08	1,35
Bu-парабен	1,24	1,52
R <sup>2</sup> , рів. (15)	0,987	0,984
Конденсовані ароматичні вуглеводні		
	$\log k_{mv}^1$	
Бензол	1,03	
Нафтаген	1,41	
Антрацен	1,61	
Фенантрен	1,58	
Пірен	1,61	
Бенз[а]пірен	1,82	
Бенз[е]пірен	1,77	
Аценафтен	1,54	
Флуорен	1,56	
Флуорантен	1,64	
Хризен	1,76	
R <sup>2</sup> , рів. (15)	0,921	
	без бензолу	
R <sup>2</sup> , рів. (15)	0,973	
F-тест F <sub>(0,05,9,8)</sub> = 3,39	8,78	
F <sub>(0,10,9,8)</sub> = 2,56		

Примітки. <sup>1</sup> – хроматографічна система 1. <sup>2</sup> – хроматографічна система 2.

Таблиця 5

Значення розрахованого фактора утримування за концентрації ПАР, що дорівнює ККМ ( $k_m$ ), для конденсованих ароматичних вуглеводнів і квадрати коефіцієнтів кореляції за рівняннями (13), (14)

Аналіт	2,00 % 1-PtOH <sup>1</sup>	3,00 % 1-PtOH <sup>1</sup>	4,00 % 1-PtOH <sup>1</sup>
Бензол	14 (3)	10,6 (0,2)	10,0 (0,2)
Нафтаген	74 (38)	41 (2)	29 (2)
Антрацен	170 (138)	75 (2)	46 (5)
Фенантрен	141 (95)	74 (6)	38 (2)
Пірен	133 (99)	81 (5)	43 (3)
Бенз[а]пірен	370 (493)	201 (55)	95 (19)
Бенз[е]пірен	248 (235)	148 (17)	73 (10)
Аценафтен	115 (76)	64 (3)	35 (2)
Флуорен	135 (92)	68 (7)	39 (3)
Флуорантен	155 (120)	83 (8)	50 (6)
Хризен	335 (400)	119 (5)	70 (12)
R <sup>2</sup> , рів. (13)	0,818	0,852	0,895
R <sup>2</sup> , рів. (14)	0,875	0,922	0,936
	без бензолу		
R <sup>2</sup> , рів. (14)	0,875	0,948	0,946
F-тест F <sub>(0,05,9,8)</sub> = 3,39	3,14	4,18	2,95
F <sub>(0,10,9,8)</sub> = 2,56			

Примітки. Стандартну похибку параметрів подано в дужках. <sup>1</sup> – хроматографічна система 1.

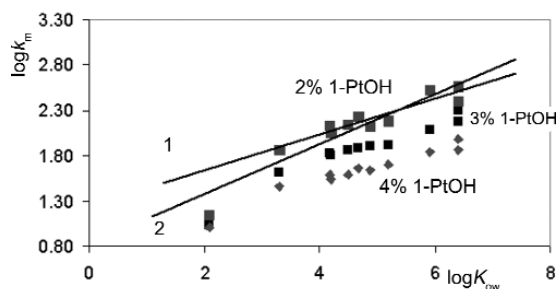


Рис. 5. Залежність  $\log k_m$  від  $\log K_{ow}$  для конденсованих ароматичних вуглеводнів (квадратами і ромбами позначено значення  $\log k_m$ , отримані за постійного вмісту 1-PtOH; хроматографічна система 1). Лінія 1: (ДДС; 2 % 1-PtOH)  $\log k = 0,83(0,17) + 0,28(0,03)\log K_{ow}$ ;  $R^2 = 0,875$ . Лінія 2: (ДДС; 2 % 1-PtOH, із виключенням бензолу)  $\log k = 1,24(0,13) + 0,20(0,03)\log K_{ow}$ ;  $R^2 = 0,875$ .

тверджено за тестом Фішера (F-тест). Виключення бензолу у процесі побудови залежностей (14), (15) не призвело до істотних змін коефіцієнта кореляції, однак залишкова сума квадратів відхилень, як свідчить F-тест, значно зменшилася (табл. 5 і 6). Непридатність коефіцієнта кореляції для оцінки якості моделей у МРХ із різною кількістю параметрів або експериментальних даних показана нами в попередній роботі [28].

Значення  $\log k_m$  бензолу практично не змінюється зі збільшенням сили рухомої фази за рахунок додаткового введення спирту (рис. 5).

Вивченню розподілу бензолу в системі вода — міцелярна псевдофаза й інтерпретації його локалізації в міцелах присвячено багато робіт, посилення на які можна знайти у статті [54]. Експериментальні дані не дають змоги однозначно вказати місце локалізації бензолу в міцелах ДДС, стверджується, що принаймні частина молекул бензолу може знаходитися на поверхні міцел, тоді як інші молекули занурені у внутрішнє неполярне ядро [54]. Звичайно, така біваріантна поведінка буде менш характерною для більш гідрофобних молекул КАВ (рис. 1). Цим фактом якісно може пояснюватися відхилення даних для бензолу від лінійної залежності для КАВ.

**Висновки.** З переходом від ОФ-ВЕРХ до МРХ зростає число факторів складу рухомої фази, якими контролюється утримування, зростає і кількість можливих різновидів рів-

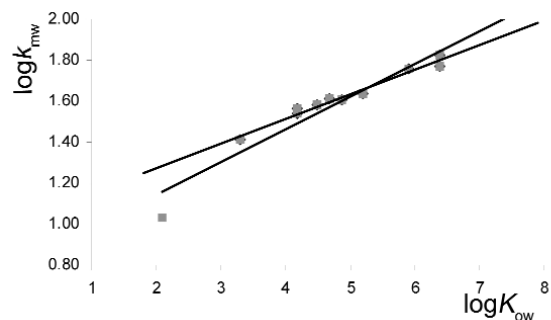


Рис. 6. Залежність  $\log k_{mv}$  від  $\log K_{ow}$  для конденсованих ароматичних вуглеводнів (хроматографічна система 1). Лінія 1: (ДДС; 1-PtOH)  $\log k = 0,83(0,08) + 0,16(0,016)\log K_{ow}$ ;  $R^2 = 0,921$ . Лінія 2: (ДДС; 1-PtOH, із виключенням бензолу)  $\log k = 1,04(0,04) + 0,12(0,007)\log K_{ow}$ ;  $R^2 = 0,973$ .

нянь, які пов'язують хроматографічні дані з гідрофобністю сполук, що розділяються.

Використання єдиного набору експериментальних даних дало змогу зіставити різні підходи до моделювання залежностей хроматографічних параметрів від гідрофобності як на основі фізико-хімічних моделей, так і з допомогою емпіричних рівнянь.

Установлено, що склад рухомої фази у МРХ суттєво впливає на якість залежностей утримування-гідрофобність. Як наслідок, перспективним є пошук уніфікованих умов для оцінювання параметрів гідрофобності за даними МРХ.

Із гідрофобністю речовин, які розділяють, корелюють також окремі параметри фізико-хімічних моделей утримування у МРХ. Але якість моделювання параметр-гідрофобність залежить від невизначеності параметра, а отже, і від апроксимуючої та прогностичної здатностей вихідних фізико-хімічних моделей утримування у МРХ.

На сьогодні більш універсальним є підхід, що базується на лінійних залежностях  $\log k_{mv}$  —  $\log K_{ow}$ , де значення  $\log k_{mv}$  отримано екстраполяцією логарифма фактора утримування на нульову концентрацію компонентів елюенту. Доведено не випадковість відхилень від лінійності для перших представників рядів чи конгенериків. На цій основі доцільно рекомендувати МРХ для оцінки гідрофобності сполук зі значеннями  $\log K_{ow}$  не менше 3.

**Подяка.** Автори висловлюють подяку Міністерству освіти і науки України за фінансу-

вання НДР № ДР 0104U000662 і № ДР 0106U003109, Фонду фундаментальних, прикладних і пошукових науково-дослідних робіт Харківського національного університету ім. В.Н. Каразіна за фінансування НДР № 17-

05, керівництву АТ «Стома» і ДП «НЕФЦ» за надання можливості проведення експериментальних досліджень.

Надійшла в редакцію 18.12.2006 р.

**Retention-hydrophobicity relationships for polyaromatic hydrocarbons and 4-hydroxybenzoic acid esters by micellar liquid chromatography data**

A.P. Boichenko<sup>1</sup>, L.P. Loginova<sup>1</sup>, A.U. Kulikov<sup>1,2</sup>, A.L. Iwashchenko<sup>1,3</sup>, M.M. Galat<sup>1</sup>

<sup>1</sup> V.N. Karazin Kharkiv National University  
4 Svobody sq., Kharkiv, 61077, Ukraine

<sup>2</sup> Scientific and Expert Pharmacopoeial Centre  
33 Astronomicheskaya Str., Kharkiv, 61085, Ukraine

<sup>3</sup> Testing Analytical Laboratory of Joint-Stock Company «Stoma»  
3 Newton Str., Kharkiv, 61105, Ukraine

**Summary.** Owing to lack of generally accepted methodology, the retention-hydrophobicity relationships in liquid chromatography are constructed on the basis of physical-chemical models as well as by using of empirical equations. Number of equations increased terrifically for micellar liquid chromatography in consequence of increasing of factors influencing on selectivity and elution strength by comparison with reversed-phase liquid chromatography. However disembodied data do not allow recognizing clearly the advantages of one of the approaches.

In this work the quality of modeling of retention-hydrophobicity relationships was tested on the unified experimental data. It was observed that composition of mobile phase influence considerably on quality of retention-hydrophobicity relationships. As a result it is perspective to search unified method for estimation of hydrophobicity by micellar liquid chromatography.

Systematic investigation of influence of mobile phase composition on quality of relationships between  $k/\log k$  and  $\log K_{ow}$  for parabens ( $\log K_{ow}$  from 1.96 to 3.57) leads to consequence of inadequacy of both models. Thus, it is inexpedient to use of relationship  $k - \log K_{ow}$  because of absence of thermodynamic explanation even if it could provide more high correlation coefficients.

Parameters of Arunyanart and Cline-Love model (binding constants of analytes by micelles in mobile phase) are calculated with high uncertainty and as sequence could not provide high quality of modeling. Parameters of another physical-chemical model that based on quasi-chemical model of micelle formation have been used for derivation of new model for hydrophobicity estimation. However quality of new model could not be evaluated on the basis of available data.

At present time more universal and adequate is a methodology of hydrophobicity evaluation that based on the using of relationships between  $\log k_{mw}$  and  $\log K_{ow}$ , where  $\log k_{mw}$  is obtained by extrapolation of logarithm of retention factor on zero concentrations of surfactant and organic modifier in micellar eluent.

It was demonstrated that the deviations from linearity for first members of homologous series or congeneric substances is nonrandom. Thus, it is appropriate using of micellar liquid chromatography for estimation of hydrophobicity of compounds with  $\log K_{ow}$  not less than 3.

**Keywords:** partition constant; 1-octanol-water; retention-hydrophobicity; esters of 4-hydroxybenzoic acid; polyaromatic hydrocarbons.

**Перелік літератури**

1. Poole S.K., Poole C.F. Separation methods for estimating octanol-water partitioning coefficients (Review) // J. Chromatogr. B. — 2003. — Vol. 797. — P. 3-19.
2. Hansch C., Leo A. Substituent constants for correlation analysis in chemistry and biology. — New York: Wiley-Interscience, 1979.
3. Fujita T., Iwasa J., Hansch C. A new substituent constant,  $\pi$ , derived from partition coefficients // J. Am. Chem. Soc. — 1964. — Vol. 56. — P. 5175-5180.
4. Leo A., Hansch C., Elkins D. Partition coefficients and their uses // Chem. Rev. — 1971. — Vol. 71. — P. 525-616.
5. Tetko I.V., Tanchuk V.Yu., Kasheva T.N., Villa A.E.P. Internet software for the calculation of the lipophilicity and aqueous solubility of chemical compounds // J. Chem. Inf. Comput. Sci. — 2001. — Vol. 41. — P. 246-252.
6. Danielson L-G., Zhang Y-H. Methods for determining *n*-octanol-water partition constants // Trends. Anal. Chem. — 1996. — Vol. 15. — P. 188-196.
7. United States Environmental Protection Agency (EPA), Product Properties Test Guidelines, OPPTS 830.7550, Partition Coefficient (n-Octanol/Water), Shake Flask Method.
8. Organization for Economic Cooperation and Development, Guidelines for The Testing of Chemicals, OECD 107, Partition Coefficient (n-octanol/water) (Flask-shaking Method), OECD, Paris, France.
9. Berthod A., Carda-Broch S. Determination of liquid-liquid partition coefficients by separation methods // J. Chromatogr. A. — 2004. — Vol. 1037. — P. 3-14.
10. Giagins C., Theocharis S., Tsantili-Kakoulidou A. Contribution to the standardization of the chromatographic conditions for the lipophilicity assessment of

neutral and basic drugs // *Anal. Chim. Acta.* — 2006. — Vol. 573-574. — P. 311-318.

11. *Garcia-Alvarez-Coque M.C., Torres-Lapasio J.R.* Quantitation of hydrophobicity in micellar liquid chromatography // *Trends. Anal. Chem.* — 1999. — Vol. 18. — P. 533-543.

12. *Kaliskan R.* Quantitative structure-retention relationships applied to reversed-phase high-performance liquid chromatography // *J. Chromatogr. A* — 1993. — Vol. 656. — P. 417-435.

13. *Dorsey J.G., Khaledi M.G.* Hydrophobicity estimations by reversed-phase liquid chromatography. Implications for biological partitioning processes // *J. Chromatogr. A* — 1993. — Vol. 656. — P. 485-499.

14. *Kaliskan R., Nasal A., Markuszewski M.J.* New approaches to chromatographic determination of lipophilicity of xenobiotics // *Anal. Bioanal. Chem.* — 2003. — Vol. 377. — P. 803-811.

15. *Коренман Я.И.* Коэффициенты распределения органических соединений. — Воронеж: ВГУ, 1992.

16. *Valko K.* Separation Methods in Drug Synthesis and Purification. — Amsterdam: Elsevier, 2000.

17. *Hansch C., Leo A.* Exploring QSAR. Fundamentals and Application in Chemistry and Biology. — Washington: American Chemical Society, 1995.

18. *Sangster J.* Octanol-Water Partition Coefficients: Fundamentals and Physical Chemistry. — New York: Wiley, 1997.

19. *Kaliskan R.* Structure and Retention in Chromatography. A Chemometric Approach. — Amsterdam: Harwood Academic, 1997.

20. *Lambert W.J.* Modeling oil-water partitioning and membrane permeation using reversed-phase chromatography // *J. Chromatogr. A*. — 1993. — Vol. 656. — P. 469-484.

21. *Berthod A., Garcia-Alvarez-Coque C.* Micellar Liquid Chromatography. — Dekker, 2000.

22. *Berthod A., Hirard I., Gonnet C.* Micellar liquid chromatography. Adsorption isotherms of two ionic surfactants on five stationary phases // *Anal. Chem.* — 1986. — Vol. 58. — P. 1356-1358.

23. *Khaledi M.G., Breyer E.D.* Quantification of hydrophobicity with micellar liquid chromatography // *Anal. Chem.* — 1989. — Vol. 61. — P. 1040-1047.

24. *McNaught A.D., Wilkinson A.* Compendium of Chemical Terminology. The Gold book (2<sup>nd</sup> edition). — Blackwell Science, 1997. ([www.iupac.org/publications/books](http://www.iupac.org/publications/books))

25. *Torres-Cartas S., Garcia-Alvarez-Coque M.C., Villanueva Camanas R.M.* Determination of anabolic steroids in pharmaceuticals by liquid chromatography with a microemulsion of sodium dodecyl sulfate and pentanol as mobile phase // *Anal. Chim. Acta.* — 1995. — Vol. 302. — P. 163-172.

26. *Prince L.M.* Microemulsions versus micelles // *J. Colloid. Inter. Sci.* — 1975. — Vol. 52. — P. 182-188.

27. *Loginova L.P., Samokhina L.V., Boichenko A.P., Kulikov A.U.* Micellar liquid chromatography retention model based on mass-action concept of micelle formation // *J. Chromatogr. A*. — 2006. — Vol. 1104. — P. 190-197.

28. *Boichenko A.P., Iwashchenko A.L., Loginova L.P., Kulikov A.U.* Heteroscedasticity of retention factor and adequate modeling in micellar liquid chromatography // *Anal. Chim. Acta.* — 2006. — Vol. 576. — P. 229-238.

29. *Бойченко А.П., Иващенко А.Л.* Воспроизводи-

мость фактора удерживания в мицеллярной жидкостной хроматографии // *Вісник Харк. нац. універ. Серія «Хімія».* — 2005. — Т. 13 (36). — С. 107-118.

30. *Kayillo S., Dennis G.R., Shalliker R.A.* An assessment of the retention behavior of polycyclic aromatic hydrocarbons on reversed phase stationary phases: Selectivity and retention on C18 and phenyl-type surface // *J. Chromatogr. A*. — 2006. — Vol. 1126. — P. 283-297.

31. *Sahu S.K., Pandit G.G.* Estimation of octanol-water partition coefficients for polycyclic aromatic hydrocarbons using reversed-phase HPLC // *J. Liq. Chromatogr. Rel. Technol.* — 2004. — Vol. 26. — P. 135-146.

32. *Edwards D.A., Luthy R.G., Liu Z.* Solubilization of polycyclic aromatic hydrocarbons in micellar non-ionic surfactant solutions // *Environ. Sci. Technol.* — 1991. — Vol. 25. — P. 127-133.

33. *Leticia A., Ghoshal B., Ghoshal S.* Selective solubilization of polycyclic aromatic hydrocarbons from multicomponent nonaqueous-phase liquids into nonionic surfactant micelles // *Environ. Sci. Technol.* — 2004. — Vol. 38. — P. 5878-5887.

34. *Liguori L., Heggstad K., Hove H.T., Julshamn K.* An automated extraction approach for isolation of 24 polyaromatic hydrocarbons (PAHs) from various marine matrixes // *Anal. Chim. Acta.* — 2006. — Vol. 573-574. — P. 181-188.

35. *Wang L., Zhang X., Wang Y., Wang W.* Simultaneous determination of preservatives in soft drinks, yogurts and sauces by novel solid-phase extraction element and thermal desorption-gas chromatography // *Anal. Chim. Acta.* — 2006. — Vol. 577. — P. 62-67.

36. *Khaledi M.G., Peuler E., Ngeh-Ngwainbi J.* Retention behavior of homologous series in reversed-phase liquid chromatography using micellar, hydro-organic, and hybrid mobile phases // *Anal. Chem.* — 1987. — Vol. 59. — P. 2738-2747.

37. *Khaledi M.G.* Hydrophobic selectivity in micellar and hydro-organic reversed-phase liquid chromatography // *Anal. Chem.* — 1988. — Vol. 60. — P. 876-887.

38. *Borgerding M.F., Quina F.H., Hinze W.L., Bowermaster J., McNair H.M.* Investigation of the retention mechanism in nonionic micellar liquid chromatography using alkylbenzene homologous series // *Anal. Chem.* — 1988. — Vol. 60. — P. 2520-2527.

39. *Hinze W.L., Weber S.G.* Why the relationship between the logarithm of *k* and homologue number in micellar liquid chromatography is not linear // *Anal. Chem.* — 1991. — Vol. 63. — P. 1808-1811.

40. *Medina-Hernandez M.J., Sagrado S.* Chromatographic quantification of hydrophobicity using micellar mobile phases // *J. Chromatogr. A*. — 1995. — Vol. 718. — P. 273-282.

41. *Kawamura H., Manabe M., Miyamoto Y., Fujita Y., Tokunaga S.* Partition coefficients of homologous  $\omega$ -phenylalkanols between water and sodium dodecyl sulfate micelles // *J. Phys. Chem.* — 1989. — Vol. 93. — P. 5536-5540.

42. *Kord A., Khaledi M.G.* Controlling solvent strength and selectivity in micellar liquid chromatography: role of organic modifiers and micelles // *Anal. Chem.* — 1990. — Vol. 64. — P. 1894-1900.

43. *Marina M.L., Garcia M.A., Pastor M., Vera S.* A statistical study of the correlation between *k* or log*k* and log*P*<sub>ow</sub> for a group of Benzene and Naphthalene derivatives in micellar liquid chromatography using a C-18 column // *Chromatographia*. — 1995. — Vol. 40. — P. 185-192.

44. *Gil-Agusti M., Garcia-Alvarez-Coque M.C., Esteve-Romero J.* Correlation between hydrophobicity and retention data of several antihistamines in reversed-phase liquid chromatography with aqueous-organic and micellar-organic mobile phases // *Anal. Chim. Acta.* — 2000. — Vol. 421. — P. 45-55.
45. *Treiner C., Chattopadhyay A.C.* Correlation of partitioning coefficients for polar aromatics and aliphatic molecules between trimethyldodecylammonium bromide micelles + water and octanol + water systems at 298.15 K // *J. Colloid Interface. Sci.* — 1986. — Vol. 109. — P. 101-108.
46. *Jafvert C.T., Hoof P.L.V., Heath J.K.* Solubilization of non-polar compounds by non-ionic surfactant micelles // *Wat. Res.* — 1994. — Vol. 28. — P. 1009-1017.
47. *Valsaraj K.T., Thibodeaux L.J.* Relationship between micelle-water and octanol-water and octanol-water partition constants for hydrophobic organics of environmental interest // *Wat. Res.* — 1989. — Vol. 23. — P. 183-189.
48. *Armstrong D.W., Nome F.* Partitioning behaviour of solutes eluted with micellar mobile phase in liquid chromatography // *Anal. Chem.* — 1981. — Vol. 53. — P. 1662-1666.
49. *Arunyanart M., Cline Love L.J.* Model of micellar effects on liquid chromatography capacity factors and for determination of micelle solute equilibrium constants // *Anal. Chem.* — 1984. — Vol. 56. — P. 1557-1561.
50. *Foley J.P.* Critical Compilation of Solute-Micelle binding constants and related parameters from MLC measurements // *Anal. Chim. Acta.* — 1990. — Vol. 231. — P. 237.
51. *Салем Р.Р.* Физическая химия. Термодинамика. — М.: ФИЗМАТЛИТ, 2004.
52. *Rodriguez-Delgado M.A., Sanchez M.J., Gonzalez V., Garcia-Montelongo F.* Solute-micelle association constants of some Polynuclear Aromatic Hydrocarbons by micellar liquid chromatography with alcohol additives to mobile phase // *Chromatographia.* — 1994. — Vol. 38. — P. 342-348.
53. *Ruiz-Angel M.J., Carda-Broch S., Garcia-Alvarez-Coque M.C., Berthod A.* Micellar versus hydroorganic mobile phases for retention-hydrophobicity relationships with ionizable diuretics and an anionic surfactant // *J. Chromatogr. A.* — 2004. — Vol. 1030. — P. 279-288.
54. *Nagaraajan R., Chaiko M.A., Ruckenstein E.* Locus of solubilization of benzene in surfactant micelles // *J. Phys. Chem.* — 1984. — Vol. 88. — P. 2916-2922.