

ТОМСКИЙ
ПОЛИТЕХНИЧЕСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ



На правах рукописи

ЖАЕ

Каличкина Людмила Евгеньевна

**РАЗРАБОТКА МЕТОДИК АНАЛИТИЧЕСКОГО КОНТРОЛЯ ЦЕЛЕВЫХ
И ПОБОЧНЫХ ПРОДУКТОВ В СИНТЕЗЕ
4,5-ДИГИДРОКСИИМИДАЗОЛИДИН-2-ТИОНА**

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук

1.4.2 – Аналитическая химия

Томск – 2023

Работа выполнена в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет»

Научный руководитель:

Мальков Виктор Сергеевич

кандидат химических наук, доцент кафедры органической химии, Томский государственный университет, заведующий лабораторией органического синтеза

Официальные оппоненты:

Владимир Николаевич Лосев

доктор химических наук, профессор, Сибирский федеральный университет, научная лаборатория № 2, ведущий научный сотрудник

Шилова Инесса Владимировна

доктор фармацевтических наук, НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга Томского НИМЦ, лаборатория фитофармакологии и специального питания, старший научный сотрудник

Защита состоится «30» ноября 2023 г. в 14.00 часов на заседании диссертационного совета ДС.ТПУ.08 Национального исследовательского Томского политехнического университета по адресу: 634050, г. Томск, пр. Ленина 43 а., офис 225.



С диссертацией можно ознакомиться в научно-технической библиотеке Томского политехнического университета и на сайте dis.tpu.ru при помощи QR-кода.

Автореферат разослан «__» октября 2023

Ученый секретарь
диссертационного совета ДС.ТПУ.08

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Е.В. Дорожко', written in a cursive style.

Е. В. Дорожко
к.х.н., доцент

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность. Имидазолидин-2-тионы и их комплексы с переходными металлами различного строения прежде всего привлекают пристальное внимание исследователей в связи с установленными видами биологической активности. Кроме того, 4,5-дигидроксиимидазолидин-2-тионы (ДГИТ) являются важными синтетическими предшественниками надмолекулярных структур – семитиогликолурилов и семитиобамбусурилов, перспективными для применения в биомедицине, наноэлектронике, катализе и других областях. Наличие серы в структуре этих соединений, в отличие от кислородсодержащих аналогов, позволяет использовать их для терапии каналопатий. Наряду с этим, 4,5-дигидроксиимидазолидин-2-тионы являются эффективными ингибиторами кислотной коррозии стали.

4,5-Дигидроксиимидазолидин-2-тион и его производные получают взаимодействием соответствующих тиомочевин и глиоксаля в присутствии водорастворимых спиртов, при этом образуется смесь *цис*- и *транс*-изомеров, однако побочные продукты приводятся только для дифенилпроизводных ДГИТ. Известно, что положение гидроксильных групп относительно кольца имидазолидин-2-тиона влияет на упаковку супрамолекулярных структур, в связи с чем необходим количественный контроль содержания геометрических изомеров в смеси, а также других сопутствующих примесей в реакции образования ДГИТ. В литературе информация о методах количественного анализа ДГИТ отсутствует. Поэтому, вышесказанное делает актуальным разработку методик идентификации и определения геометрических изомеров ДГИТ. Для реализации синтеза ДГИТ в промышленности и конструирования промышленных аппаратов необходимо знать кинетические параметры направления процесса. Одним из способов изучения кинетики реакций является математическое моделирование. Для подтверждения рассчитанной модели помимо методик анализа ДГИТ и идентификации побочных продуктов необходимы методики анализа реагента – тиомочевины. В литературе представлено несколько методов количественного анализа тиомочевины – титриметрические, спектроскопические, спектрофотометрические, электрохимические, хроматографические. Почти все перечисленные выше методы обладают высокой чувствительностью и селективностью, однако из-за сложной матрицы в синтезе 4,5-дигидроксиимидазолидин-2-тиона они не подходят для количественного определения тиомочевины в реакции с глиоксалем, поэтому также актуальна задача разработки методики определения тиомочевины в синтезе ДГИТ.

Цель и задачи исследования. Цель настоящей работы заключалась в разработке методик идентификации и количественного определения целевых и побочных продуктов взаимодействия тиомочевины и глиоксаля в синтезе 4,5-дигидроксиимидазолидин-2-тиона.

Для достижения цели, необходимо было решить следующие **задачи**:

1) Выявить влияние природы растворителя (смеси водно-спиртовых растворов: с использованием метанола, этанола, пропанола-1, пропанола-2) и pH реакционной среды на тион-тиольную таутомерию тиомочевины с применением УФ-спектроскопии.

2) Разработать методики определения тиомочевины, смеси *цис*- и *транс*-4,5-дигидроксиимидазолидин-2-тиона в реакции между глиоксалем и тиомочевинной с использованием КР-спектроскопии *in situ*.

3) Разработать ТСХ методики разделения и определения *цис*- и *транс*-4,5-дигидроксиимидазолидин-2-тиона, и их *N,N'*-диметилпроизводных с использованием видеоденситометрии.

4) Разработать ВЭЖХ методику определения тиомочевины, *цис*- и *транс*-4,5-дигидроксимимдазолидин-2-тиона в реакционной смеси.

5) Идентифицировать целевые и побочные продукты реакции тиомочевины с глиоксалем методом ЯМР-спектроскопии.

6) Предложить схему реакции взаимодействия тиомочевины с глиоксалем и определить кинетические параметры отдельных стадий.

Научная новизна. Впервые предложен метод контроля реакции между тиомочевинной и глиоксалем с использованием КР-спектроскопии *in situ*. Использование полосы зонда при 790 см⁻¹ в качестве внутреннего стандарта позволило разработать методику определения тиомочевины в реакции получения 4,5-дигидроксимимдазолидин-2-тиона.

Разработан метод аналитического контроля реакции образования *цис*- и *транс*-4,5-дигидроксимимдазолидин-2-тиона с применением ВЭЖХ. Метод основан на определении тиомочевины и геометрических изомеров ДГИТ в реакционной смеси, разбавленной ацетонитрилом, с использованием водной нормально-фазовой жидкостной хроматографии.

Впервые методом ТСХ разделены и идентифицированы *цис*- и *транс*-изомеры 4,5-дигидроксимимдазолидин-2-тиона и его *N,N'*-диметилпроизводные с использованием модифицированных ацетатом кальция пластин для ТСХ (Sorbfil ПТСХ-А-В-УФ). С применением видеоденситометрии разработана методика определения *транс*-4,5-дигидроксимимдазолидин-2-тиона в смеси с *цис*-4,5-дигидроксимимдазолидин-2-тионом.

С использованием ЯМР-спектроскопии идентифицированы целевые и побочные продукты реакции тиомочевины с глиоксалем. Установлено, что побочными продуктами являются кислородсодержащие аналоги ДГИТ – смесь геометрических изомеров 4,5-дигидроксимимдазолидин-2-она, а также 1,3-дигидро-2*H*-имидазол-2-тион. Предложен способ идентификации тиомочевины, имидазолидин-2-онов и -2-тионов по значению изотопных сдвигов дейтерия (ДИС).

Впервые исследована кинетика реакции тиомочевины с глиоксалем с использованием ВЭЖХ. Предложена схема реакции, рассчитаны кинетические параметры модели. Модель удовлетворительно описывает кинетику образования ДГИТ и расхода тиомочевины.

Практическая значимость. Разработанная ВЭЖХ методика определения была использована для установления концентраций тиомочевины, *цис*- и *транс*-ДГИТ в реакционной массе, для исследования кинетики процесса образования ДГИТ из тиомочевины и глиоксала. Предложенная схема реакции и рассчитанные кинетические параметры отдельных стадий могут быть использованы при моделировании технологических процессов и реакционного оборудования получения 4,5-дигидроксимимдазолидин-2-тиона.

Разработанные методики разделения геометрических изомеров ДГИТ могут быть использованы на фармацевтических предприятиях, научно-исследовательскими лабораториями для контроля качества ДГИТ при получении супрамолекулярных структур.

Установленная схема образования побочных продуктов для органиков-синтетиков позволяет предположить новую стратегию синтеза 1,3-дигидро-2*H*-имидазол-2-тиона из тиомочевины и 4,5-дигидроксимимдазолидин-2-тиона.

Актуальность, цель и задачи работы определены автором совместно с научным руководителем. **Личный вклад автора** заключается в планировании и проведении экспериментов, получении и интерпретации данных, обработке результатов исследований, подготовке публикаций и текста диссертации. Работа выполнена автором или при непосредственном участии автора. Разработка условий разделения геометрических изомеров ДГИТ с использованием ВЭЖХ выполнялась Мамко К. Е. (ТГУ), регистрация ЯМР-спектров

проводилась Котельниковым О. А. (ТГУ), расчет кинетических параметров синтеза ДГИТ был проведен Новиковым Д. В. (ТГУ).

Положения, выносимые на защиту:

1. Методика определения тиомочевины в реакции образования 4,5-дигидроксиимидазолидин-2-тиона с использованием КР-спектроскопии *in situ*;
2. Методика ТСХ разделения и определения *цис*- и *транс*-4,5-дигидроксиимидазолидин-2-тиона с применением видеоденситометрии;
3. Условия ТСХ разделения *цис*- и *транс*-4,5-дигидроксиимидазолидин-2-тиона и их *N,N'*-диметилпроизводных (влияние природы аналита, состава подвижной и неподвижной фаз на разделение);
4. Результаты идентификации целевых и побочных продуктов взаимодействия тиомочевины с глиоксалем методом ЯМР-спектроскопии;
5. Методика определения тиомочевины, *цис*- и *транс*-4,5-дигидроксиимидазолидин-2-тиона в реакции между тиомочевинной и глиоксалем с использованием ВЭЖХ.

Достоверность результатов работы подтверждается соответствием результатов, полученных при использовании нескольких независимых методов анализа. Работа проводилась на поверенном современном аналитическом оборудовании. Выполнена оценка метрологических характеристик методик. Методики анализа использовались для изучения кинетики реакции взаимодействия тиомочевины с глиоксалем.

Апробация результатов. Результаты работ представлены на XXXII Всероссийском симпозиуме молодых ученых по химической кинетике (Москва, 2014), на XIII и XIX Международной конференции студентов и молодых ученых «Перспективы развития фундаментальных наук» (Томск, 2014 и 2022), на Международной научно-практической конференции «Интеграция науки, образования и производства – основа реализации Плана нации» (Сагиновские чтения №12) (Караганда, 2020), XXII Всероссийской конференции молодых учёных по математическому моделированию и информационным технологиям (Новосибирск, 2021).

Публикации по результатам работы. По теме диссертации опубликовано 4 статьи в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК, входящих в наукометрические базы данных Scopus и Web of Science, 1 статья в прочем зарубежном журнале, а также 5 публикаций в сборниках материалов международных и всероссийских конференций и симпозиума, получено 2 патента Российской Федерации.

Работа выполнена при финансовой поддержке программы развития Томского государственного университета (Приоритет-2030), проект № 2.0.14.22 ОНГ «Экспериментальные и теоретические исследования гетероциклических соединений, имеющих имидазольный скелет: от прекурсоров к макро- и супрамолекулярным системам», 01.09.2022– 31.12.2023 г.

Структура и объём работы: Диссертационная работа состоит из введения, литературного обзора (глава 1), экспериментальной части (глава 2), результатов и их обсуждения (глава 3), выводов, списка литературы (103 источника). Изложена на 128 страницах, содержит 71 рисунок, 15 таблиц и 1 приложение.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении обоснована актуальность исследования, определена цель работы, сформулированы задачи исследования, отражена научная и практическая значимость исследований.

В первой главе проведен литературный обзор по количественным методам анализа тиомочевины, по способам получения, идентификации ДГИТ и его производных, а также

методам разделения и анализа диолов с использованием жидкостной хроматографии.

Во второй главе приведена экспериментальная часть, описаны использованные реактивы, оборудование и основные методы.

Третья глава посвящена обсуждению полученных в ходе работы результатов. **В первом разделе третьей главы** проводилось исследование влияния смеси водно-спиртовых растворов: метанола, этанола, пропанола-1, пропанола-2 и pH реакционной среды на тион-тиольную таутомерию тиомочевины с использованием УФ-спектроскопии, для определения преобладающей таутомерной формы тиомочевины в условиях синтеза ДГИТ. УФ-спектры раствора тиомочевины в воде имеют два максимума поглощения при 195 нм и 236 нм. Поглощение при 195 нм обусловлено переносом заряда между двумя аминогруппами, и соответствует $n\text{-}\pi^*$ переходу электронов аминогрупп и относится к протонированной форме тиомочевины (2), а поглощение при 236 нм связано с $\pi\text{-}\pi^*$ электронными переходами в -C=S группе (1) (Рисунок 1).

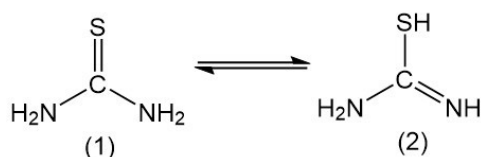


Рисунок 1 – Тион-тиольная таутомерия тиомочевины

Для определения содержания форм тиомочевины в растворах использовали соотношение оптической плотности при 200 и 236 нм ($A_{\text{тиол}}/A_{\text{тион}}$) с добавлением соляной кислоты и без нее. Установлено, что в воде преобладает тиольная форма над тионной, а в водно-спиртовых растворах с уменьшением диэлектрической проницаемости растворителя, происходит увеличение тионной и уменьшение тиольной формы в ряду: вода>метанол>этанол>пропанол-1>пропанол-2. Этот экспериментальный факт связан с протонированием тиомочевины водой, а

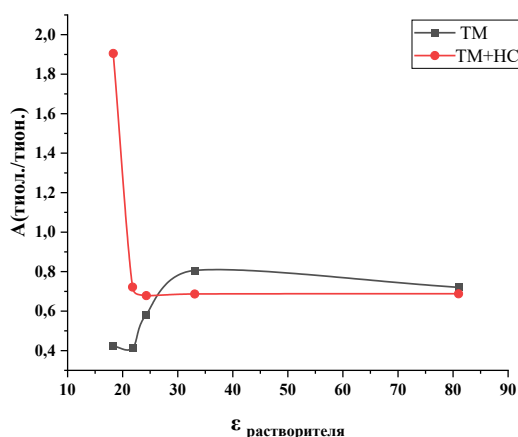


Рисунок 2 – Влияние диэлектрической проницаемости на содержание тионной формы тиомочевины

не спиртами из-за уменьшения кислотности спиртов с увеличением алкильного радикала. При добавлении кислоты в этом же ряду растворителей доля тионной формы уменьшается из-за уменьшения константы автопротолиза растворителя и протонирования тиомочевины, как более сильного основания в спиртах (Рисунок 2). Так как синтез ДГИТ ведут в слабокислой среде, то для преобладания тионной формы тиомочевины процесс необходимо проводить в воде. Для дальнейшего исследования влияния растворителя на тиомочевину использовали КР-спектроскопию, представленную **во втором разделе третьей главы**.

КР-спектроскопия глиоксала, тиомочевины и 4,5-дигидроксиимидазолидин-2-тиона

На КР-спектре тиомочевины наблюдаются полосы при 478, 734, 1095 и 1384 см^{-1} , которые относятся к деформационным колебаниям -N-C-N- , валентным колебаниям -C=S и -N-C-N- , деформационным колебаниям -NH_2 группы, соответственно. К тому же, малоинтенсивные полосы 577, 1611, 1637 см^{-1} , а также группа полос в области 3183–3373 см^{-1}

относятся к деформационным колебаниям $-\text{NH}_2$ группы. Смена воды на водно-спиртовые растворители приводит к перекрыванию КР-полос тиомочевины в области от 1000 см^{-1} до 3500 см^{-1} . Поэтому рассматривалось влияние спиртов только на тионную форму тиомочевины, так как $-\text{C}=\text{S}$ группа имеет характерную интенсивную полосу, соответствующую валентным колебаниям в области 730 см^{-1} , а моду колебания $\text{S}-\text{H}$, соответствующую тиольной форме тиомочевины, с малой интенсивностью в спектральной области 2800 см^{-1} обнаружить трудно из-за ее перекрывания полосами растворителя. При смене водного на водно-спиртовой растворитель происходит смещение полосы комбинационного рассеяния $-\text{C}=\text{S}$ группы тиомочевины в более длинноволновую область в диапазоне до $\Delta 14\text{ см}^{-1}$, с максимальным значением для пропанола-2. По нашему предположению этот экспериментальный факт связан со специфической сольватацией $-\text{C}=\text{S}$ группы спиртами. Кроме того, интенсивность полосы комбинационного рассеяния тионной группы уменьшается с уменьшением диэлектрической проницаемости растворителя. Это также указывает на сольватацию этой группы спиртами.

Для определения продуктов взаимодействия глиоксали с тиомочевинной был снят КР-спектр глиоксали, который в диапазоне $1300\text{--}400\text{ см}^{-1}$ представляет собой область перекрывающихся полос, относящихся к валентным и деформационным колебаниям $-\text{C}-\text{C}-$, $-\text{O}-\text{H}$, $-\text{C}-\text{O}-\text{C}-$. Спектральная область $3000\text{--}3500\text{ см}^{-1}$ характеризует моды гидроксильных и метиновых групп. Отсутствие отдельных характеристических сигналов на КР-спектре не позволяет следить за изменением его концентрации во времени методом КР-спектроскопии. В связи с тем, что КР-спектр тиомочевины имеет несколько интенсивных КР-полос, данный метод был использован для решения задачи по определению тиомочевины в реакции образования ДГИТ. Для этого регистрировали КР-спектры смеси водных растворов глиоксали и тиомочевины с концентрацией 1 моль/л , при температуре $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ каждые 2 с (Рисунок 3). На спектре смеси тиомочевины с глиоксалем хорошо видны характеристические колебательные моды тиомочевины, интенсивность которых со временем снижается, а интенсивность новых полос возрастает, что говорит о протекании химической реакции между тиомочевинной и глиоксалем. Интенсивность тиаомидной группы тиомочевины уменьшается, появляется интенсивная полоса комбинационного рассеяния при 920 см^{-1} , которая относится к $-\text{C}=\text{S}$ группе ДГИТ. Вторая по интенсивности полоса 489 см^{-1} , а также полосы 434 см^{-1} и 1208 см^{-1} характеризуют деформационные колебания $-\text{N}-\text{C}-\text{N}-$ цикла ДГИТ.

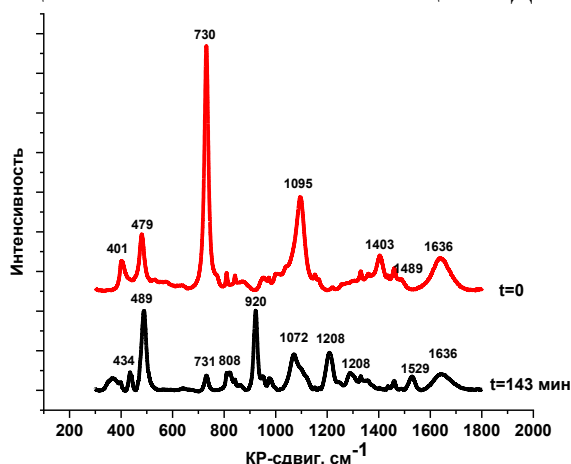


Рисунок 3 – КР-спектр реакционной смеси синтеза ДГИТ, в начальный момент времени ($t=0^{\circ}$ мин), в конце реакции ($t=143$ мин)

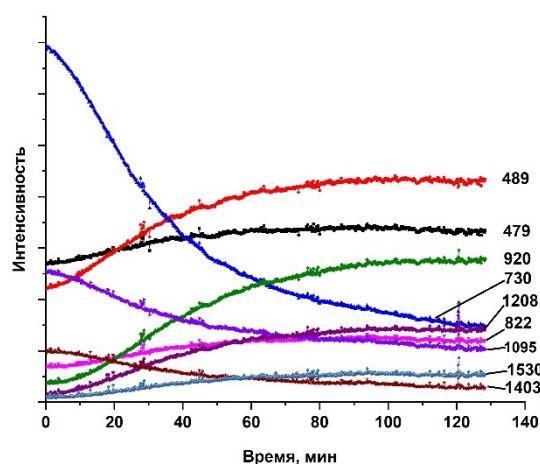


Рисунок 4 – Изменение интенсивности КР-полос реакции взаимодействия тиомочевины с глиоксалем во времени

Сигнал при частоте 1208 см^{-1} также относится к области перекрывающихся полос деформационных колебаний -СН- и ОН- группы. Полоса 1072 см^{-1} характеризует валентные колебания -С-С-О-, кроме того в этой области находятся деформационные колебания -ОН группы ДГИТ, эта же группа имеет сигнал в области 800 см^{-1} . Сигнал 1529 см^{-1} относится к деформационными колебаниями -NH кольца ДГИТ. КР-полоса в области 1600 см^{-1} относится к колебаниям связей в воде, а также деформационным колебаниям аминогруппы.

*Разработка методики определения тиомочевины в реакции образования ДГИТ
с использованием КР-спектроскопии in situ*

С целью выбора КР-полосы для контроля реакции между тиомочевинной и глиоксалем был построен график в координатах интенсивность изменяющихся КР-полос от времени (Рисунок 4). Наибольшее изменение интенсивности полос между начальным и конечным состоянием системы, имеют валентные колебания моды 730 см^{-1} , характеризующей -C=S группу исходной тиомочевины, и моды колебания -C=S в ДГИТ при частоте 920 см^{-1} , поэтому эти полосы были выбраны для контроля за реакцией получения ДГИТ из тиомочевины и глиоксала.

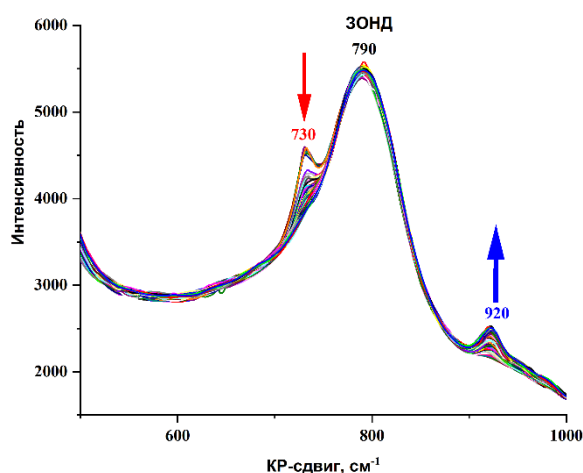


Рисунок 5 – КР-спектры реакции тиомочевины с глиоксалем *in situ*

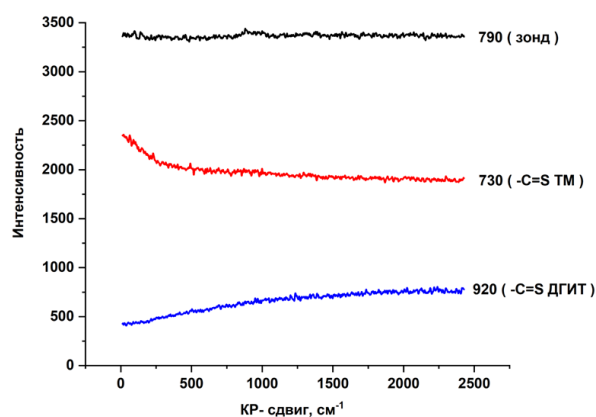


Рисунок 6 – Изменение интенсивности КР-полос -C=S групп и зонда во времени в реакции образования ДГИТ *in situ*

Для перехода качественной методики определения тиомочевины в реакционной массе в количественную необходимо, чтобы интенсивность КР-полосы тиомочевины зависела только от концентрации. Поэтому для нивелирования влияния фокусного расстояния на интенсивность КР-полосы регистрацию спектров проводили с помощью зонда, который погружали в исследуемый раствор. КР-спектры реакционной смеси взаимодействия тиомочевины с глиоксалем, полученные с использованием зонда, представлены на рисунке 5. Зонд представляет собой металлическую трубку из сплава и сферической линзы, изготовленной из синтетического сапфира. Зонд имеет свой КР-спектр, который включает в себя несколько интенсивных полос в области 700 см^{-1} и $1000\text{--}1200\text{ см}^{-1}$, что соответствует колебаниям фосфатов, оксидов алюминия, цинка и лантана. Еще одним преимуществом использования зонда является отсутствие необходимости отбора пробы, так как съемка происходит в реальном времени (*in situ*). Для того, чтобы все остальные параметры (мощность источника, частота рассеянного света, отклик спектрометра, молярное рассеивание), от которых зависти интенсивность КР-полосы были постоянными, мы использовали КР-полосу зонда при 790 см^{-1} в качестве стандарта, считая, что ее интенсивность не меняется во время реакции, так как отн. СКО изменения этой полосы во времени составляет 0,7% (Рисунок 6). Для определения концентрации тиомочевины в растворе, строили градуировочную

зависимость отношения интенсивностей сигнала аналита к полосе «стандарта» от концентрации определяемого компонента. Далее концентрацию тиомочевины определяли по градуировочной зависимости, подставляя значения отношения интенсивности КР-полос в уравнение прямой. Использование полосы зонда при 790 см^{-1} приводит к линейной зависимости интенсивности полосы комбинационного рассеяния от концентрации тиомочевины.

Для разработки методики определения ДГИТ методом КР-спектроскопии *in situ* строили градуировочную зависимость концентрации ДГИТ от отношения интенсивности аналита при

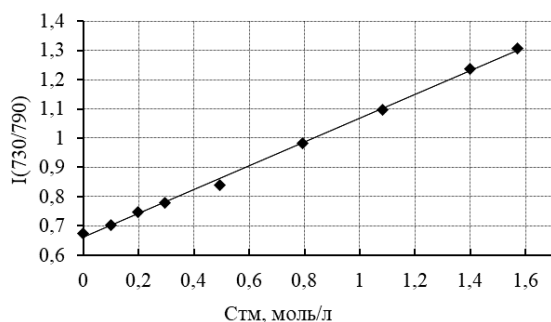


Рисунок 7 – Градуировочная зависимость $I(730/790)$ от $C_{\text{ТМ}}$,

в диапазоне концентраций 0,10–1,57 моль/л

частоте 920 см^{-1} к стандарту при 790 см^{-1} . Градуировочная зависимость имеет линейный вид с уравнением: $y=0,4173x+0,1141$ и $R^2=0,949$. Однако узкий диапазон определяемых концентраций от 0,11 до 0,18 моль/л не позволяет определять концентрацию ДГИТ в реакции методом КР-спектроскопии. Минимальная концентрация ДГИТ обусловлена наложением его полосы при 920 см^{-1} с полосой стандарта при 790 см^{-1} , а максимальная связана с ограниченной растворимостью ДГИТ.

Оценка метрологических характеристик методики определения тиомочевины в синтезе ДГИТ *in situ* проводилась по РМГ 61 2010 ($P = 0,95$, $n=5$, $l=3$) по показателям: линейность, правильность, промежуточная прецизионность, повторяемость и точность. Для определения линейности методики строили градуировочную зависимость отношения интенсивностей полосы аналита при частоте 730 см^{-1} к стандарту при частоте 790 см^{-1} от концентрации тиомочевины. Градуировочная зависимость имеет линейный вид в диапазоне определяемых концентраций от 0,10 до 1,57 моль/л, с уравнением регрессии: $y = 0,4067x + 0,6616$, $R^2 = 0,998$ (Рисунок 7).

Таблица 1 – Метрологические характеристики методики определения тиомочевины методом КР-спектроскопии *in situ*

СТМ, моль/л	Показатель повторяемости		Показатель промежуточной прецизионности		Показатель правильности		Показатель точности	
	$\sigma_{\text{г,л}}$, моль/л	$\sigma_{\text{г,л}}$, %	$\sigma_{\text{R, л}}$, моль/л	$\sigma_{\text{R, л}}$, %	U_{θ} , моль/л	U_{θ} , %	$U_{\text{м}}$, моль/л	$U_{\text{м}}$, %
0,10	0,01	4,9	0,005	4,3	0,012	11,5	0,013	12,6
0,20	0,01	4,0	0,008	3,7	0,004	2,2	0,01	4,4
0,30	0,01	3,0	0,009	3,3	0,008	2,6	0,02	5,1
0,49	0,01	1,9	0,014	2,9	0,014	2,9	0,03	5,7
0,79	0,01	1,3	0,020	2,6	0,022	2,8	0,04	5,5
1,08	0,01	1,0	0,026	2,3	0,029	2,6	0,06	5,2
1,40	0,02	1,3	0,048	3,4	0,054	3,7	0,11	7,6
1,57	0,03	1,6	0,062	3,7	0,067	4,1	0,13	8,5

Показатель повторяемости ($\sigma_{\text{г}}$) и промежуточной прецизионности (σ_{R}) методики оценивали как СКО в условиях повторяемости и прецизионности, соответственно. С максимальным значением в нижней границе диапазона определяемых концентраций для $\sigma_{\text{г}}$ и

σ_R – 4,9 и 4,3%, соответственно (Таблица 1). Показатель правильности (U_0) и точности (U_m) методики оценивали как расширенную неопределенность с максимальным значением относительной расширенной неопределенности в нижней границе диапазона определяемых концентраций – 11,5 % и 12,6 %. Кроме того, по t-критерию оценена систематическая погрешность методики, установлено, что в диапазоне от 0,2 до 1,57 моль/л она не значима на фоне случайного разброса. При концентрации тиомочевины 0,1 моль/л, погрешность значима, поэтому учтена при расчете расширенной неопределенности.

По изменению интенсивности КР-полос тиомочевины и ДГИТ, при взаимодействии тиомочевины с глиоксалем, можно отметить, что кривая образования ДГИТ вышла на плато, а тиомочевина продолжает расходоваться, что говорит о протекании побочных реакций (Рисунок 4). Для определения пути расходования тиомочевины и образования побочных продуктов, которые не удалось идентифицировать КР-спектроскопией по причине близости КР-сдвигов для групп атомов близких по структуре, реакция взаимодействия глиоксала с тиомочевинной исследовалась с помощью ЯМР-спектроскопии, результаты которой представлены в третьем разделе третьей главы диссертации.

Идентификация продуктов взаимодействия тиомочевины с глиоксалем методом ЯМР-спектроскопии

ЯМР спектры ^{13}C и ^1H реакционной смеси взаимодействия тиомочевины с глиоксалем представлены на рисунке 8 и 9. С использованием DEPT 135 (который позволяет выделить различные типы замещения атомов углерода) установили, что сигналы от 183–154 м.д. относятся к четвертичным атомам углерода. Сигналы, направленные в одну сторону с метиновыми атомами углерода ДГИТ в области спектра от 86 до 83 м.д., относятся к метиновой группе, а направленный вниз сигнал 62,6 м.д. – метиленовая группа.

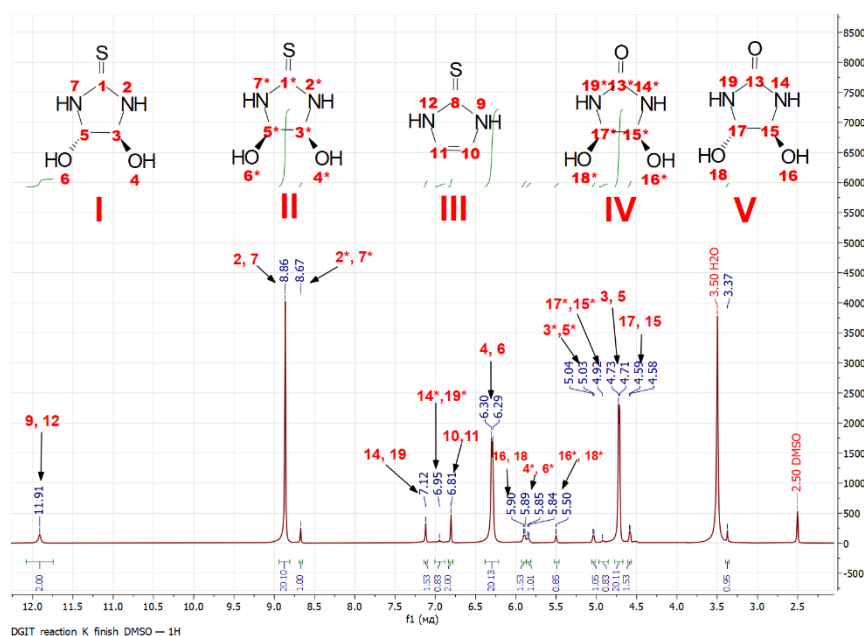


Рисунок 8 – ^1H спектр сконцентрированной реакционной смеси синтеза 4,5-дигидроксиимидазолидин-2-тиона в DMSO-d_6

Для определения соответствия между атомами Н–С была проведена регистрация 2D спектров ^{13}C – ^1H HSQC и ^{13}C – ^1H HMBC. Спектр ЯМР ^{13}C – ^1H HSQC показывает прямые корреляции между атомами С–Н, а спектр ^{13}C – ^1H HMBC, характеризующий дальние

взаимодействия углеродных атомов с протонами, позволяет установить последовательность связывания углеродных атомов в молекуле. Сигналы метиновой группы *цис*-ДГИТ с прямой ^{13}C - ^1H (79,90–5,04 м.д.) и дальней (79,90–8,60 м.д.) корреляциями, также *транс*-ДГИТ с прямой (87,21–4,73 м.д.) и двумя дальними корреляциями (87,21–6,29 м.д.; 182,1–8,86 м.д.), соединения на рисунках 8, 9, 11 под номерами **I** и **II**.

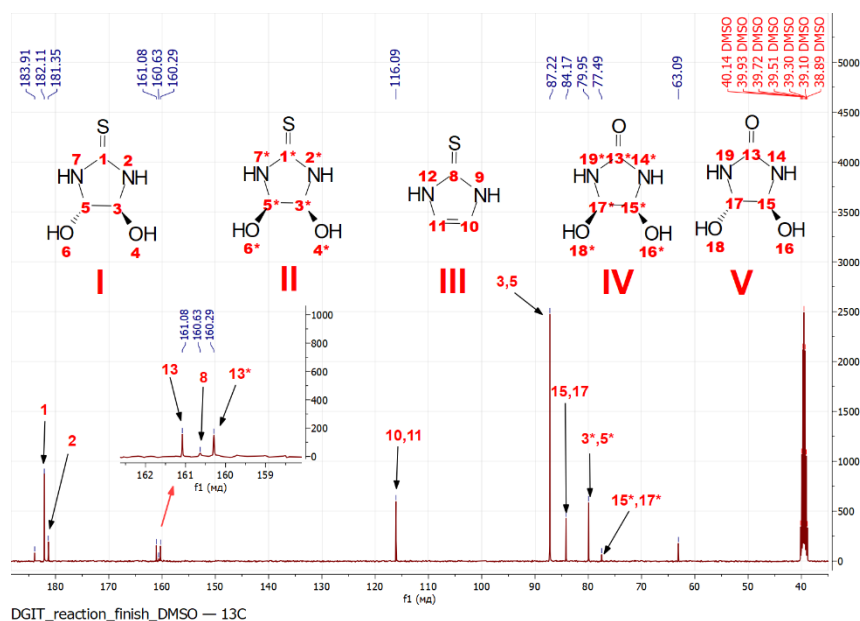


Рисунок 9 – ^{13}C спектр сконцентрированной реакционной смеси синтеза 4,5-дигидроксиимидазолидин-2-тиона в DMSO-d_6

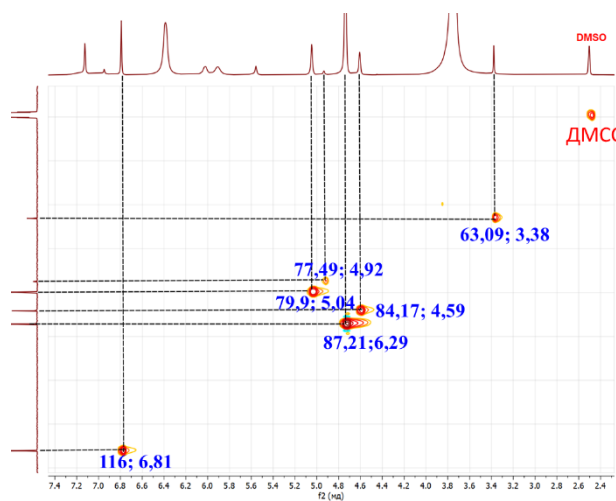


Рисунок 10 – ^{13}C - ^1H HSQC ЯМР-спектр реакционной смеси синтеза 4,5-дигидроксиимидазолидин-2-тиона, растворитель DMSO-d_6

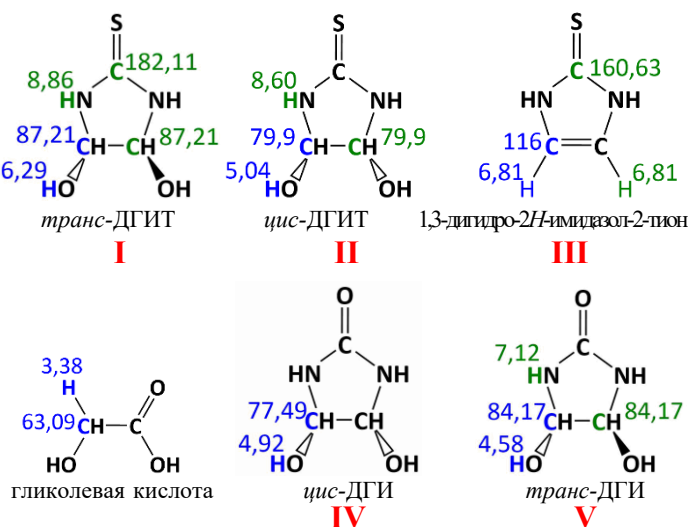


Рисунок 11 – Результаты 2D ЯМР-анализа
зеленый – дальние корреляции ^{13}C - ^1H ;
синий – прямые корреляции ^{13}C - ^1H

Дальнейшая расшифровка ЯМР-спектров реакционной смеси позволяет сделать вывод о том, что протон 7,12 м.д. с дальней корреляцией с углеродом метиновой группы 84,17 м.д., с прямой корреляцией ^{13}C - ^1H (84,17–4,58 м.д.), относится к -NH-группе (Рисунок 8, 10, 11).

Из приведённых данных видно, что амидные и метиновые протоны, а также углерод метиновой группы смещены в сторону более сильного поля, в сравнении с сигналами *транс*-ДГИТ, что обусловлено их экранированием более электроотрицательным элементом, чем сера, например кислородом амидной группы с сигналом в области 160 м.д. на спектре ^{13}C . Наличие в протонном спектре дублетов метиновой группы, а также исходя из интенсивности сигналов протонов $\text{NH}:\text{CH}=1,53:1,53$, позволяет сделать вывод, что сигнал на ^1H спектре в виде дублета 5,9 м.д. с интегральной интенсивностью 1,53, принадлежит гидроксильной группе (Рисунок 8). Совокупность вышеприведенных данных позволяет идентифицировать соединение *транс*-4,5-дигидроксиимидазолидин-2-он (ДГИ) под номером **V** на рисунках 8, 9, 11. Кроме того, углерод другой метиновой группы 77,49 м.д. имеет прямую корреляцию с протоном в области 4,92 м.д., а сигналы протонов 6,95 м.д. и 5,5 м.д., не имеющие прямой корреляции с углеродом, с одинаковым значением интегральной интенсивности с протоном метиновой группы в области 4,92 м.д., относятся к амидным и гидроксильным протонами, соответственно (Рисунок 8, 10, 11). Небольшое смещение описанных сигналов в область сильного поля относительно соответствующих сигналов в *транс*-ДГИ позволяет сделать вывод, что соединение под номером **IV** на рисунках 8, 9, 10, 11 – *цис*-4,5-дигидроксиимидазолидин-2-он (*цис*-ДГИ). На спектре ^{13}C реакционной массы присутствуют 3 сигнала карбонильного атома углерода (Рисунок 9). Сигнал, в более сильном поле 160,29 м.д. относится к карбонильной группе *цис*-ДГИ, а 161,08 м.д. – *транс*-ДГИ. Оставшийся неидентифицированный сигнал четвертичного атома углерода 160,63 м.д. имеет дальнюю $^{13}\text{C}-^1\text{H}$ корреляцию с протоном 6,81 м.д., который имеет прямую корреляцию с метиновой группой в области 116 м.д. Протон метиновой группы в этой области спектра относится к соединениям с двойной связью. Магнитный анизотропный эффект двойной связи, приводит к дезэкранированию метиновой группы до 116 м.д. и её смещению в слабое поле в сравнении с *транс*-ДГИТ, дезэкранированию протонов -NH группы и смещению в слабое поле со значением 11,91 м.д., а также к экранированию тиамидной группы со значением 160,63 м.д. (Рисунок 8, 9, 10, 11). Согласно интегральным интенсивностям $\text{NH}:\text{CH}$ относятся как 2:2, то есть количество амидных и метильных протонов эквивалентно, что позволяет предположить структуру идентифицируемого вещества – 1,3-дигидро-2*H*-имидазол-2-тион под номером **III** на рисунке 8, 9, 11.

При динамическом ЯМР анализе интенсивность сигнала метильной группы при 63,09 м.д. с прямой корреляцией протона в области 3,37 м.д. не изменялась, что позволило отнести этот сигнал к метиленовой группе гликолевой кислоты, которая входила в качестве примеси в глиоксаль. Ранее неидентифицированный сигнал в области 183,91 м.д., предположительно относится к карбонильной группе этой кислоты (Рисунок 9, 10, 11).

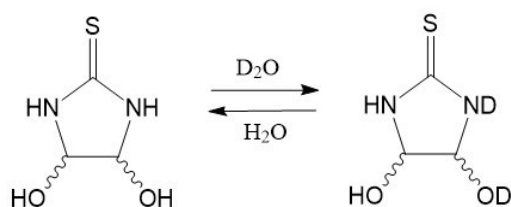


Рисунок 12– Схема дейтериеобмена
для ДГИТ в системе $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$

Кроме этого, при динамическом ЯМР-анализе и регистрации спектров в смеси растворителей $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$, на спектре ^{13}C сигналы соединений **I**, **II**, **III**, **IV**, **V** выглядят в виде «дублетов», причем разница между химическими сдвигами соседних сигналов составляет 0,06–0,14 м.д. Для установления причины данного явления был снят спектр ДГИТ фирмы «Aldrich» в $\text{DMSO}-d_6$, D_2O и $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$. В растворителе $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$ также наблюдается «удвоение» сигналов в спектре ^{13}C .

Мы предполагаем, что это связано с дейтериеобменом амидных и гидроксильных протонов (Рисунок 12). Середина «дублета» в ^{13}C смещена относительно синглета в сильное поле, это происходит за счет замены легкого изотопа

– водорода на более тяжелый – дейтерий, что приводит к увеличению экранирования. Разницу между значениями химических сдвигов в спектре ^{13}C в присутствии оксида дейтерия по сравнению с водой, называют изотопные сдвиги дейтерия или индуцированные дейтерием изотопные сдвиги ^{13}C (ДИС): $\text{ДИС} = \delta(\text{H}_2\text{O}) - \delta(\text{D}_2\text{O})$.

Величина ДИС в ЯМР ^{13}C зависит от соседних групп, в состав которых входят протоны, способные замещаться дейтерием, а также от температуры. Таким образом, это значение позволяет определить, какая группа связана с углеродом в данной молекуле. В ДГИТ протоны, которые могут быть замещены дейтерием, связаны с гетероатомами кислорода (-ОН) и азота (-NH-). В смешанном растворителе ($\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$) форма сигналов -C-ОН(D) и -C-NH(D) сильно зависит от скорости обмена H/D. Обычно амидный обмен -C-NH(D) протекает медленно, однако гидроксильный обмен -C-ОН(D) происходит быстро и сигналы выглядят как «синглетные». В нашем эксперименте реакционную смесь разбавляли холодной D_2O , а затем регистрировали спектры ЯМР. Таким образом, ЯМР-анализ образца проводился при температуре около 10 °C, и наблюдались амидный -C-NH(D) и гидроксильный -C-ОН(D) обмены.

Стоит обратить внимание на значения ДИС для четвертичных атомов углерода геометрических изомеров ДГИТ, которые составляют 0,08 и 0,06, м.д. это же значение имеют *цис*- и *транс* – ДГИ, что можно отнести к фрагменту C-(NH(D))₂- (Таблица 2). Фрагмент молекулы ((D)НО-С-) ДГИТ и ДГИ имеет значение 0,12 и 0,11 м.д. Максимальное значение ДИС принадлежит фрагменту -(D)HN-C=) в молекуле 1,3-дигидро-2*H*-имидазол-2-тиона, в которой реализуется дейтерообмен только амидных протонов. Единственный сигнал 62,58 м.д. на спектре ^{13}C проявляется в виде синглета. Так как дейтерообмен в данных условиях не происходит, возможно его скорость велика, и при регистрации спектра этот эффект не наблюдается, поэтому можно предположить, что атом углерода связан только с водородом, или с сильной электроноакцепторной группой, такой как карбоксильная. Данное наблюдение подтверждает вышеизложенное предположение, что сигнал 62,58 м.д. соответствует метиленовой группе гликолевой кислоты.

Таблица 2 – Значение индуцированных дейтерием изотопных сдвигов ^{13}C (ДИС) в системе $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$

^{13}C , м.д.		ДИС, м.д.	Фрагмент	^{13}C , м.д.		ДИС, м.д.	Фрагмент
181,76	181,67	0,08	-(D)HN-C-	86,41	86,29	0,12	(D)НО-С-
180,68	180,63	0,06	-(D)HN-C-	83,46	83,35	0,11	(D)НО-С-
162,56	162,50	0,06	-(D)HN-C-	79,77	79,66	0,11	(D)НО-С-
154,80	154,72	0,08	-(D)HN-C-	77,35	77,25	0,10	(D)НО-С-
116,81	116,67	0,14	-(D)HN-C-	62,58	—	—	—

Вследствие перечисленных выше экспериментальных фактов, с использованием КР- и ЯМР-спектроскопии качественно определили, что основным продуктом реакции тиомочевина с глиоксалем является смесь геометрических изомеров ДГИТ, количественный анализ и разделение которых не проводилось. Поэтому в **четвертом разделе третьей главы** диссертации представлено определение и разделение геометрических изомеров с использованием жидкостной хроматографии.

Разделение и определение геометрических изомеров ДГИТ методом ТСХ с денситометрическим детектированием

Как правило, для эффективного разделения анализируемых веществ необходимо подобрать такие условия хроматографирования, чтобы вещества удерживались с $0,2 \leq R \leq 0,9$. В

качестве неподвижной фазы использовали пластинку с силикагелем марки Sorbfil ПТСХ-АФ-В-УФ, в качестве подвижной фазы использовали смесь изопропилового спирта (ИПС) с гексаном. На поверхности пластины с силикагелем находятся высокополярные гидроксильные группы, поэтому фактор удерживания анализата пропорционален количеству в нем полярных групп и тиомочевина, как самая полярная, должна удерживаться сильнее, однако наибольшее удерживание имеет *цис*-ДГИТ. Этот экспериментальный факт объясняется склонностью тиомочевины к тион-тиольной таутомерии. При рассмотрении ближайшего аналога *N,N'*-диметилпроизводного ДГИТ, наибольшее удерживание имеет диметлтиомочевина в связи с меньшей склонности к таутомерии, а вещества удерживаются на ТСХ-пластине согласно своей полярности. Наибольшее разрешение между изомерами достигается путем использования элюента, содержащего 50% гексана и 50 % изопропилового спирта, при этом ухудшается разрешение между тиомочевинной и *транс*-ДГИТ. В найденных условиях, оптимальное разрешение между анализатами достигается путем использования 40% гексана и 60% изопропилового спирта.

Так как ДГИТ является диолом, для более специфичного взаимодействия неподвижной фазы с анализатами пластину модифицировали ацетатом кальция. Ацетат кальция может адсорбироваться на поверхности пластины за счёт донорно-акцепторных взаимодействий между кальцием и силанольными группами. Также во время сушки пластин при температуре 150 °С модификатор может вступать с силанольными группами в реакцию с образованием воды и уксусной кислоты. При разделении смеси *N,N'*-диметилзамещенных тиомочевины и ДГИТ на пластине, модифицированной ацетатом кальция, происходит изменение порядка элюирования между *цис*-диметил-4,5-дигидроксиимидазолидин-2-тионом (*цис*-ДиМеДГИТ) и диметилтиомочевинной (ДиМеТМ), в сравнении с немодифицированной пластиной (Рисунок 13, 14). Увеличивается удерживание *цис*-ДГИТ, вследствие координационного взаимодействия его двух гидроксильных групп с кальцием. Удерживание *транс*-ДГИТ и тиомочевины с увеличением содержания кальция уменьшается, по причине перекрывания силанольных групп, и отсутствием адсорбционного взаимодействия полярных групп анализата и сорбента.

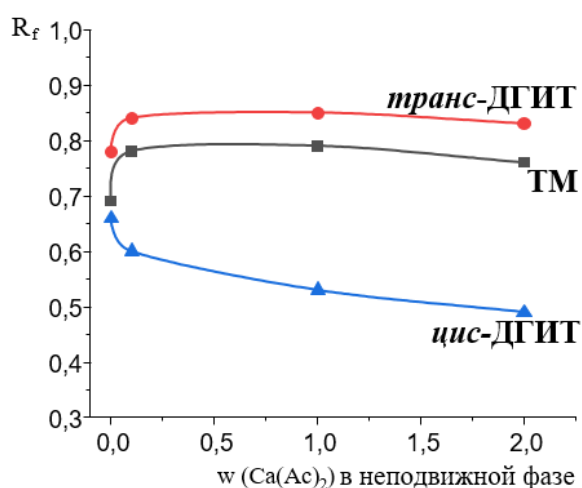


Рисунок 13 –Зависимость фактора удерживания тиомочевины, *транс*- и *цис*-ДГИТ от количества ацетата кальция в неподвижной фазе

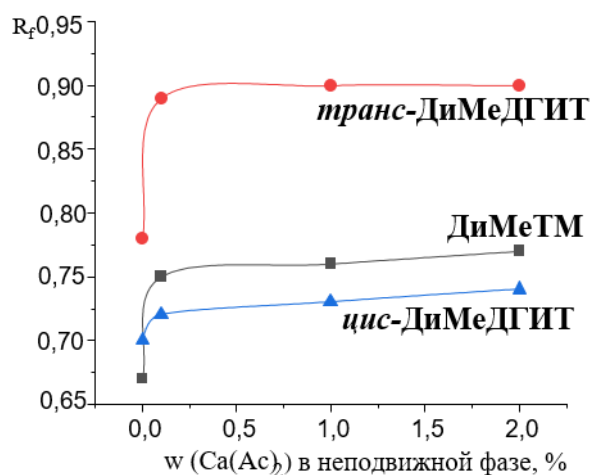


Рисунок 14 – Зависимость фактора удерживания тиомочевины, *транс*- и *цис*-ДиМеДГИТ от количества ацетата кальция в неподвижной фазе

Таким образом, ацетат кальция показывает хорошую селективность по отношению к пространственным гидроксилсодержащим изомерам ДГИТ. Для подтверждения взаимодействия аналитов с ацетатом кальция были сняты УФ-спектры смеси аналитов с ацетатом кальция, так как аналиты содержат хромофорные группы $-C=S$ и $-N-N-$. При вычитании УФ-спектров смесей ацетата кальция с аналитами наблюдается гипохромный эффект первого максимума, соответствующего электронным переходам $-NH-$ группы и принадлежащей к тиольной форме тиомочевина, с максимальным значением для тиомочевина и незамещенного ДГИТ. Это подтверждает экспериментальные результаты, полученные с помощью ТСХ (удерживание незамещенных аналитов на модифицированной пластине).

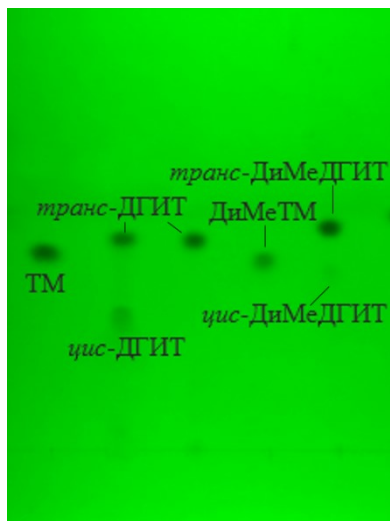


Рисунок 15 – Разделение аналитов на пластине, модифицированной раствором ацетата кальция с концентрацией 1,5 масс.%; подвижная фаза: гексан:ИПС (40:60, объемн.)

Выбраны оптимальные условия разделения замещенных и незамещенных геометрических изомеров ДГИТ: пластина Sorbfil ПТСХ-АФ-В-УФ, модифицированная 1,5% раствором ацетата кальция, подвижная фаза: гексан:изопропиловый спирт (40:60, объемн.) (Рисунок 15). Основные характеристики веществ при их определении методом ТСХ представлены в таблице 3. Разрешение между изомерами (R_s) *цис*- и *транс*- ДГИТ по методике составляет 1,9, разрешение между изомерами *цис*- и *транс*- ДиМеДГИТ составляет 1,13. Значения R_s свидетельствуют о полном разделении веществ.

Количественный анализ геометрических изомеров ДГИТ методом ТСХ осуществляли с использованием денситометрии. Для этого строили градуировочную зависимость концентрации *транс*-ДГИТ на пластине от яркости (высоты хроматографического пика), пластины обрабатывали с помощью программы «Sorbfil Videodensitometer» (Россия). В диапазоне определяемых концентраций 0,3–7,7 мкг, методика линейна: $H = 855,04 \cdot C + 836,09$, $R^2 = 0,99$ (Рисунок 16).

Таблица 3 – Характеристики тиомочевина, изомеров ДГИТ и их *N,N*-диметилпроизводных, разделенных с помощью ТСХ

Показатель	тиомочевина	<i>цис</i> -ДГИТ	<i>транс</i> -ДГИТ	ДиМеТМ	<i>цис</i> -ДиМеДГИТ	<i>транс</i> -ДиМеДГИТ
R_f	0,79	0,54	0,84	0,76	0,72	0,88
w	-	0,4-0,63	0,7-0,91	-	0,6-0,75	0,83-0,98
R_s		1,9			1,13	

Содержание *транс*-ДГИТ в смеси определяют по одновременному хроматографированию известной концентрации раствора *транс*-ДГИТ и смеси с неизвестным содержанием *транс*-ДГИТ. Содержание *цис*-ДГИТ определяют по разнице между яркостью пятен известной концентрации *транс*-ДГИТ и смеси геометрических изомеров (Таблица 4, Рисунок 17).

Таблица 4 – Характеристики изомеров ДГИТ, разделенных с использованием ТСХ

Название	R _f	S _{пик}	Содержание в смеси, %	Яркость, (H)	Асимметрия пика, (A _s)	Разрешение, (R _s)	Число теоретических тарелок, (N)
<i>Цис</i> -ДГИТ	0,54	7286	34,3	425	0,44	1,9	353
<i>Транс</i> -ДГИТ	0,84	13979	65,7	1320	0,73		1951

Оценены метрологические характеристики методики по РМГ 61 2010 (P=0,95, n=3, l=5). Показатель повторяемости методики оценивали как СКО в условиях повторяемости, показатель промежуточной прецизионности оценивали как СКО в условиях прецизионности, показатель правильности и точности, как расширенную неопределенность. В диапазоне концентраций от 3,0 до 7,7 мкг *транс*-ДГИТ на пластине показатель повторяемости и промежуточной прецизионности не превышает 7,5%, показатель правильности 5,7 % и точности 11,1% (Таблица 5). Кроме того, оценена систематическая погрешность по t-критерию, установлено, что она не значима на фоне случайного разброса.

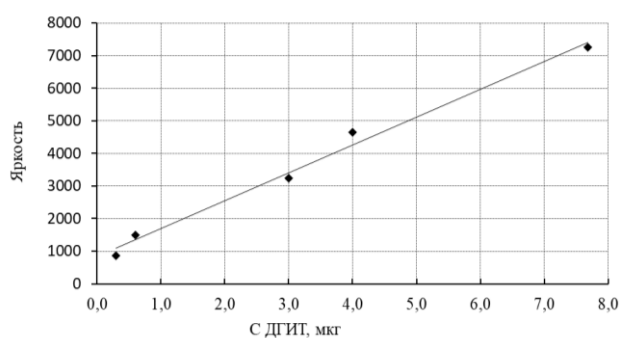


Рисунок 16 – Градуировочная зависимость яркости пятна от содержания *транс*-ДГИТ на пластине

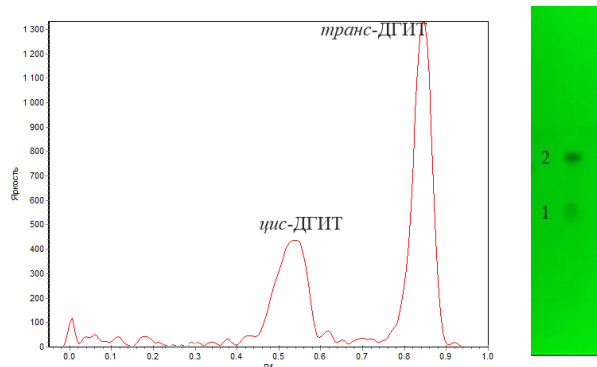


Рисунок 17 – Хроматограмма разделения геометрических изомеров ДГИТ и фото пластины, модифицированной раствором ацетата кальция с концентрацией 1,5 масс. %; подвижная фаза: гексан:ИПС (40:60, объемн.)

Таблица 5 – Метрологические характеристики методики определения *транс*-ДГИТ в смеси с *цис*-ДГИТ методом ТСХ

С <i>Транс</i> -ДГИТ, мкг	Показатель повторяемости		Показатель промежуточной прецизионности		Показатель правильности		Показатель точности	
	σ, мкг	σ _{г.л.} , %	σ _{R, л.} , мкг	σ _{R, л.} , %	U _θ , мкг	U _θ , %	U _m , мкг	U _m , %
0,3	0,02	11,7	0,04	27,6	0,15	50,1	0,09	29,8
0,6	0,03	4,0	0,07	10,1	0,11	19,2	0,16	26,4
3,0	0,2	7,0	0,22	7,5	0,17	5,7	0,33	11,1
4,0	0,11	2,7	0,21	5,1	0,21	5,3	0,43	10,7
7,7	0,41	5,3	0,37	4,8	0,18	2,4	0,38	4,9

Селективность ТСХ методики оценивали по значению R_s между геометрическими изомерами ДГИТ. Исходя из значения $R_s = 1,9$ следует, что вещества полностью разделены и методика селективна. Специфичность определяли по величине R_f пятна анализируемого ДГИТ, которое соответствовало R_f пятна стандартного образца для *транс*-ДГИТ ($R_f=0,73$). На треке анализируемого образца визуально обнаруживалось пятно, которое по интенсивности окраски и величине R_f соответствовало пятну *транс*-ДГИТ на треке стандартного образца.

Следующим этапом работы являлось разработка методики определения геометрических изомеров ДиМеДГИТ. При разделении изомеров ДиМеДГИТ, содержание *цис*-изомера находится ниже уровня ПКО. Поскольку *цис*-изомер не выделен в чистом виде, его количественный анализ не проводился. Так как при нанесении на пластину большей концентрации смеси ДиМеДГИТ теряется разрешение между изомерами. Поэтому приводятся только качественные характеристики разделения изомеров с помощью ТСХ (Таблица 6).

Таблица 6 – Характеристики изомеров ДиМеДГИТ разделенных с помощью ТСХ

Название	R_f	$S_{\text{пик}}$	Содержание в смеси, %	Н, яркость	A_s	R_s	N
<i>Цис</i> -ДиМеДГИТ	0,72	2443	10,8	329	0,44	1,13	353
<i>Транс</i> -ДиМеДГИТ	0,88	20244	89,2	2508	0,71		1764

Разработана ТСХ методика определения *транс*-ДГИТ, в диапазоне 0,12–1,09 мкг методика линейна, селективна и специфична. ТСХ методика пригодна для определения содержания геометрических изомеров в смеси, однако трудоемка для изучения кинетики процесса получения ДГИТ, поэтому следующий шаг работы – разработка методики определения и разделения тиомочевины и геометрических изомеров ДГИТ методом ВЭЖХ.

Разработка методики определения тиомочевины, *цис*- и *транс*- ДГИТ методом ВЭЖХ

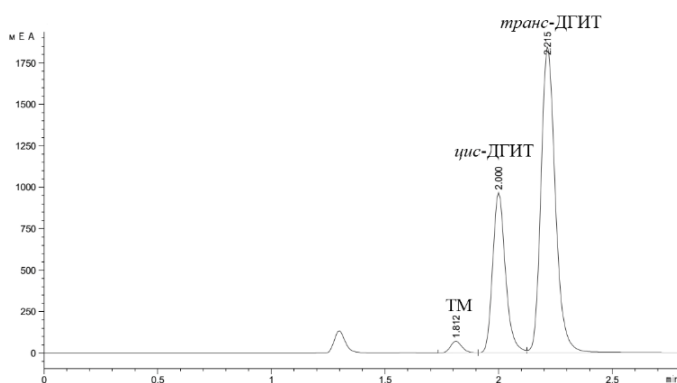


Рисунок 18 – Хроматограмма реакционной смеси при изучении кинетики реакции тиомочевины с глиоксалем; колонка Luna HILIC 200 Å 4,6×150 мм, элюент ацетонитрил:вода (95:5, объемн.)

одновременно разделить вещества с разной гидрофобностью. Оптимальными условиями

Для разделения гидрофильных тиомочевины, *цис*-ДГИТ и гидрофобного *транс*-изомера экспериментально была выбрана колонка Luna HILIC 200 Å 4,6 × 150 мм, размер частиц 5 мкм с стационарной фазой на основе сшитой диольной фазы, которая образует полимерный слой на поверхности диоксида кремния, содержащий оксиэтилен и гидроксильные группы. Вследствие того, что силанольные группы блокированы, практически исключается необратимая адсорбция полярных соединений на поверхности силикагеля. Такой сорбент обеспечивает более сильные гидрофобные взаимодействия, чем простая диол-фаза и позволяет

разделения реакционной смеси получения ДГИТ, состоящей из тиомочевины (1,812 мин.), *цис*-ДГИТ (2,000 мин.) и *транс*-ДГИТ (2,215 мин.), является колонка Luna HILIC 200 Å 4,6 × 150 мм с элюентом ацетонитрил:вода (95:5, объемн.), скорость потока 1,5 мл/мин (Рисунок 18). Реализуемые условия хроматографического разделения могут относиться к водной нормально фазовой хроматографии (ВНФХ) или HILIC (гидрофильная хроматография).

В соответствии с выбранным диапазоном концентраций приготовлены растворы. Согласно полученным при хроматографировании анализируемых растворов данным, построены градуировочные зависимости для тиомочевины: $y = 0,0001x + 0,0081$, $R=0,9994$, в диапазоне определяемых концентраций 0,80–0,02 г/мл; для *цис*-ДГИТ $y = 0,0003x + 0,0005$, $R=0,9996$, в диапазоне определяемых концентраций 0,15–0,003 г/мл; для *транс*-ДГИТ $y = 0,0002x + 0,0015$, $R=0,9999$, в диапазоне определяемых концентраций 0,85–0,017 г/мл.

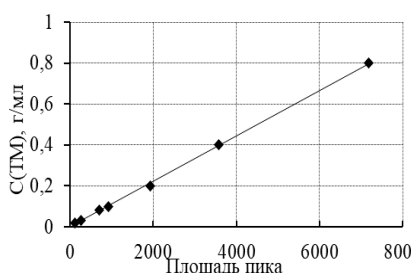


Рисунок 19 – Градуировочная зависимость концентрации тиомочевины от площади хроматографического пика

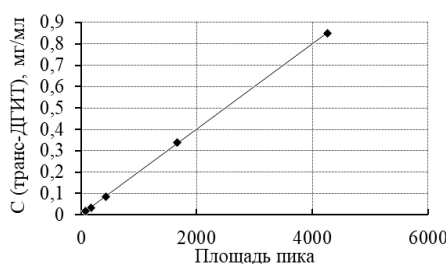


Рисунок 20 – Градуировочная зависимость концентрации *транс*-ДГИТ от площади хроматографического пика

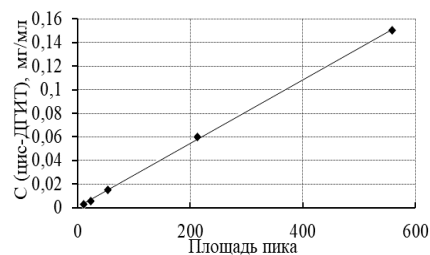


Рисунок 21 – Градуировочная зависимость концентрации *цис*-ДГИТ от площади хроматографического пика

Таблица 7 – Метрологические характеристики методики определения тиомочевины и *транс*-ДГИТ в реакции получения ДГИТ методом ВЭЖХ

С тиомочевины, моль/л	Показатель повторяемости		Показатель промежуточной прецизионности		Показатель правильности		Показатель точности	
	$\sigma_{г,л}$, моль/л	$\sigma_{г,л}$, %	$\sigma_{R, л}$ моль/л	$\sigma_{R, л}$, %	U_{θ} , моль/л	U_{θ} , %	U_m , моль/л	U_m , %
0,02	0,0002	1,0	0,0004	1,9	0,005	24,6	0,01	25,0
0,08	0,002	2,2	0,002	2,7	0,002	2,7	0,01	7,8
0,2	0,002	1,3	0,007	3,7	0,009	4,8	0,02	8,3
0,4	0,004	1,2	0,015	3,0	0,013	3,6	0,03	6,4
0,8	0,005	0,7	0,01	1,3	0,012	1,5	0,02	2,8
С <i>транс</i> -ДГИТ, моль/л	$\sigma_{г,л}$, моль/л	$\sigma_{г,л}$, %	$\sigma_{R, л}$ моль/л	$\sigma_{R, л}$, %	U_{θ} , моль/л	U_{θ} , %	U_m , моль/л	U_m , %
0,017	0,001	3,0	0,0007	3,6	0,005	27,1	0,01	29,9
0,034	0,0003	0,8	0,0011	3,0	0,005	14,6	0,01	16,2
0,34	0,005	1,3	0,009	2,5	0,01	3,0	0,02	5,5
0,40	0,01	1,9	0,014	2,9	0,014	2,4	0,03	3,7
0,85	0,005	0,6	0,006	0,7	0,007	0,9	0,01	1,4

Оценены метрологические характеристики методики по РМГ 61 2010, ($P=0,95$, $n=3$, $l=5$) для тиомочевины и *транс*-ДГИТ (Таблица 7). Показатель повторяемости методики оценивали как СКО в условиях повторяемости, показатель промежуточной прецизионности оценивали как СКО в условиях прецизионности, показатель правильности и точности, как расширенную неопределенность. Все показатели приемлемы для определения тиомочевины и геометрических изомеров в кинетическом эксперименте.

При оценке метрологических характеристик методики, установлено, что методика *селективна, специфична* в отношении тиомочевины, *цис*- и *транс*-ДГИТ. Кроме того, *линейна* в диапазоне определяемых концентраций, минимальное разрешение между аналитами $R_S=1$. Разработанную ВЭЖХ методику определения тиомочевины, *цис*- и *транс*- ДГИТ, использовали для изучения кинетики процесса взаимодействия тиомочевины и глиоксала, рассмотренную в **5 разделе 3 главы** диссертации.

*Применение ВЭЖХ методики определения тиомочевины,
геометрических изомеров ДГИТ и результатов ЯМР-спектроскопии
для исследования пути протекания реакции между тиомочевинной и глиоксалем*

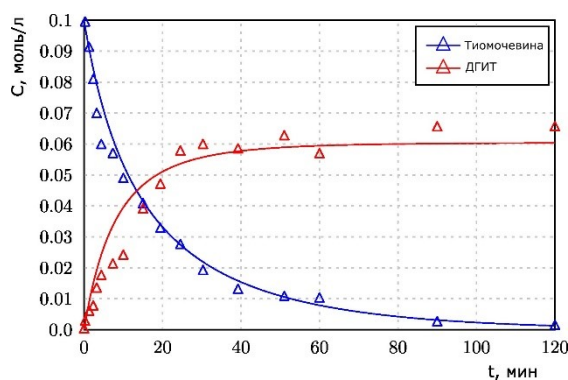


Рисунок 22 – Кинетические кривые синтеза ДГИТ: треугольники - экспериментальные данные, линия - расчет по модели с найденными коэффициентами

что в результате реакции тиомочевины с глиоксалем помимо геометрических изомеров ДГИТ, образуются его кислород содержащий аналог – *цис* и *транс*- ДГИ и 1,3-дигидро-2*H*-имидазол-2-тион.

Результаты кинетического эксперимента и исследования продуктов реакции с использованием ЯМР-спектроскопии позволяют предположить механизм образования побочных продуктов. Причем в динамическом ЯМР эксперименте, установлено, что в процессе синтеза, после образования геометрических изомеров ДГИТ, происходит увеличение сигнала протонов метиновой группы 1,3-дигидро-2*H*-имидазол-2-тиона, а затем появляются сигналы метиновых групп *цис*- и *транс*- ДГИ, что говорит о последовательности образования соединений. Наличие кислородсодержащих аналогов ДГИТ, свидетельствует о взаимодействии глиоксала с мочевиной, но изначально в реакционной массе она отсутствовала, вероятнее всего она образуется в результате побочных реакций. По нашему предположению, по аналогии с механизмом взаимодействия тиомочевины с бензилом тиомочевина взаимодействует с ДГИТ с образованием

мочевины, 1,3-дигидро-2*H*-имидазол-2-тиона и серы, далее мочевина взаимодействует с глиоксалем с образованием ДГИ (Рисунок 23).

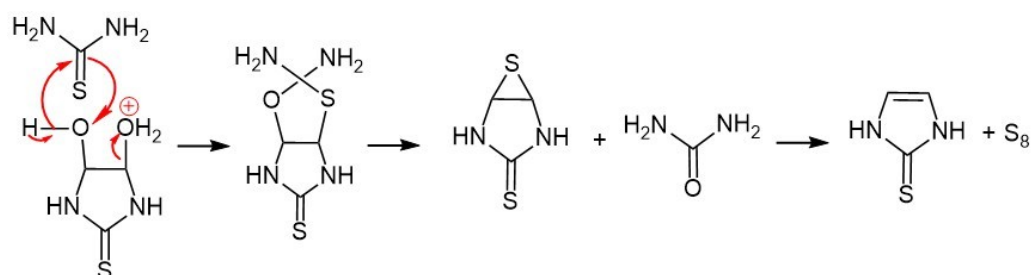


Рисунок 23 – Механизм образования побочных продуктов при синтезе ДГИТ

На рисунке 24 представлена схема образования ДГИТ и побочных реакций, протекающих в реагирующей системе. Подтверждением адекватности предложенной схемы, может выступать способность математической модели, построенной на основе схемы, адекватно описывать экспериментальные данные. Схема реакций описывается системой обыкновенных дифференциальных уравнений (ОДУ), содержащей 3 кинетических константы.

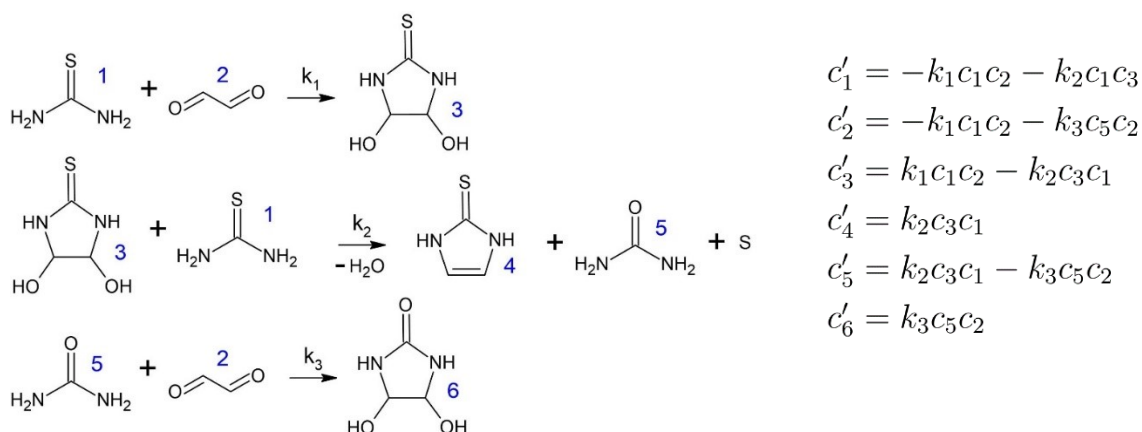


Рисунок 24 – Схема реакций в реагирующей системе и система ОДУ, описывающая ее

Кинетические параметры k_1 , k_2 , k_3 находились как координаты минимума суммы квадратов отклонений расчетных концентраций тиомочевины и ДГИТ по модели от экспериментальных данных (Рисунок 22). Поиск минимума проводился с помощью алгоритма Недледера-Мида с многократным запуском. Для нахождения расчетных концентраций проводилось численное интегрирование системы ОДУ с помощью полунявной двухстадийной L-устойчивой схемы Розенброка с комплексными коэффициентами (4 порядка точности). Расчет проводился на серии сгущающихся сеток с оценкой погрешности вычислений по методу Ричардсона. На рисунке 22 приведены найденные значения кинетических параметров, и сравнение расчетной кривой по модели с экспериментальными данными. Видно, что предложенная схема удовлетворительно описывает экспериментальные данные и согласуется с результатами ЯМР и ВЭЖХ анализа.

Выводы:

1. Методом УФ-спектроскопии установлено, что тионная форма тиомочевины преобладает в водно-спиртовых растворителях с низкой диэлектрической проницаемостью в

нейтральной среде. Содержание тионной формы тиомочевины при добавлении кислоты преобладает в воде, поэтому получение 4,5-дигидроксиимидазолидин-2-тиона необходимо вести в этих условиях.

2. Разработана методика определения тиомочевины в реакции образования 4,5-дигидроксиимидазолидин-2-тиона с применением КР-спектроскопии *in situ*.

3. Разработана ТСХ методика разделения и определения геометрических изомеров 4,5-дигидроксиимидазолидин-2-тиона, основанная на специфическом взаимодействии гидроксильных групп изомеров с модифицированной ацетатом кальция поверхностью пластины.

4. Разработан ТСХ способ разделения геометрических изомеров *N,N'*-диметил-4,5-дигидроксиимидазолидин-2-тиона, основанный на специфическом взаимодействии гидроксильных групп *цис-N,N'*-диметил-4,5-дигидроксиимидазолидин-2-тиона с модифицированной ацетатом кальция поверхностью пластины.

5. Разработана ВЭЖХ методика определения тиомочевины, *цис*- и *транс*-4,5-дигидроксиимидазолидин-2-тиона в реакции между тиомочевинной и глиоксалем с использованием ВЭЖХ.

6. Методом ЯМР-спектроскопии установлено, что побочными продуктами получения 4,5-дигидроксиимидазолидин-2-тиона, являются: 1,3-дигидро-2*H*-имидазол-2-тион, *цис*- и *транс*-4,5-дигидроксиимидазолидин-2-он.

7. Предложен способ определения структур имидазолидин-2-онов, -2-тионов и имидазолидинов с использованием значения ДИС.

8. Предложена схема реакций, объясняющая образование побочных продуктов в синтезе 4,5-дигидроксиимидазолидин-2-тиона. Предложенная схема согласуется с результатами, полученными с использованием ВЭЖХ и ЯМР.

Основное содержание диссертации изложено в следующих публикациях:

1. Mamko K. Separation of *cis/trans* Isomers of 4,5-Dihydroxy-imidazolidine-2-thione and 4,5-Dimethoxy-imidazolidine-2-thione by Aqueous Normal-Phase HPLC Mode / K. Mamko, **L. Kalichkina**, O. Kotelnikov, A. Nikulina, N. Dementeva, D. Novikov // *Chromatographia*. – 2020. – Vol. 83, № 9 – P. 1087–1093. – DOI: 10.1007/s10337-020-03926-8. (*Scopus*).

2. **Kalichkina L. E.** Spectral study of thione-thiol tautomerization of thiourea in aqueous alcohol solution / L. E. Kalichkina, A. A. Bakibaev, V. S. Malkov // *Bulletin of the University of Karaganda–Chemistry*. – 2020. – Vol. 99, № 3. – P. 66–71. – DOI: 10.31489/2020Ch3/66-71. (*WoS*).

3. **Kalichkina L. E.** The Study of Structural Features of N- and O-Derivatives of 4,5-Dihydroxyimidazolidine-2-Thione by NMR Spectroscopy and Quantum-Chemical Calculations / L. E. Kalichkina, A. V. Fateev, P. K. Krivolapenko, K. A. Isakova, A. S. Knyazev, V. S. Malkov, A. A. Bakibaev, V. P. Tuguldurova // *Magnetochemistry*. – 2023. – Vol. 9, № 1. – Article number 15. – 13 p. – URL: <https://www.mdpi.com/2312-7481/9/1/15> (access date: 23.05.2023). – DOI: 10.3390/magnetochemistry9010015. (*Scopus*).

4. Никулина А. Е. 4,5-дигидроксиимидазолидин-2-тион как ингибитор кислотной коррозии стали в солянокислых водных средах / А. Е. Никулина, **Л. Е. Каличкина**, Г. В. Лямина, О. В. Водянкина, В. С. Мальков // *Коррозия: материалы, защита*. – 2017. – № 7. – С. 18–23. (*Russian Science Citation Index*).

5. **Kalichkina L.** Reaction Pathway and Kinetic Study of 4,5-Dihydroxyimidazolidine-2-thione Synthesis by HPLC and NMR / L. Kalichkina, D. Novikov, O. Kotelnikov, V. Malkov, A. Knyazev // *Heterocycles*. – 2022. – Vol. 104, № 11. – P. 1954–1965. – DOI: 10.3987/COM-22-14731.

6. Патент 2580289 Российская Федерация, МПК C07D233/00. Способ анализа 4,5-дигидроксиимидазолин-2-тиона / **Каличкина Л. Е.** (RU), Никулина А. Е. (RU), Мальков В. С.

(RU); патентообладатель: Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет» (ТГУ, НИ ТГУ) (RU). – № 2015119881/15; заявл. 27.05.2015; опубл. 10.04.2016, Бюл. № 10. – 5 с.

7. Патент 2625312 Российская Федерация, МПК C07D233/84, C23F11/16. Способ получения ингибитора кислотной коррозии и способ его применения / Никулина А. Е. (RU), **Каличкина Л. Е.** (RU), Мальков В. С. (RU); патентообладатель: Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет» (ТГУ, НИ ТГУ) (RU). – № 2016143588; заявл. 11.08.2016; опубл. 13.07.2017, Бюл. № 20. – 5 с.

8. **Каличкина Л. Е.** Идентификация побочных продуктов реакции взаимодействия тиомочевины с глиоксалем / Л. Е. Каличкина, Д. В. Новиков // Перспективы развития фундаментальных наук: сборник научных трудов XIX Международной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых. Томск, 26–29 апреля 2022 г. – Томск, 2022. – Т. 2: Химия. – С. 103–105.

9. Никулина А. Е. Влияние добавок 4,5-дигидроксиимидазолин-2-тиона на скорость растворения стали в кислой среде / А. Е. Никулина, **Л. Е. Одышева (Каличкина)**, Г. В. Лямина, В. С. Мальков // Сборник научных трудов XXXII Всероссийского симпозиума молодых ученых по химической кинетике. Москва, 17–20 ноября 2014 г. – Москва, 2014. – С. 33.

10. **Одышева (Каличкина) Л. Е.** Изучение реакции взаимодействия глиоксала с тиомочевинной методом Раман-спектроскопии *in situ* / Л. Е. Одышева (Каличкина), А. Е. Никулина, В. С. Мальков // Тезисы докладов XXXII Всероссийского симпозиума молодых ученых по химической кинетике. Москва, 17–20 ноября 2014 г. – Москва, 2014. – С. 34.

11. **Каличкина Л. Е.** Разработка метода разделения изомеров 4,5-дигидроксиимидазолидин-2-тиона методом хроматографии в тонких слоях с денситометрией / Л. Е. Каличкина, А. А. Бакибаев, В. С. Мальков // Интеграция науки, образования и производства – основа реализации Плана нации : труды Международной научно-практической online конференции (Сагиновские чтения № 12). Караганда, Республика Казахстан, 18–19 июня 2020 г. – Караганда, 2020. – Ч. 2. – С. 764–766.

12. Новиков Д. В. Расчет кинетических параметров синтеза 4,5-дигидроксиимидазолидин-2-тиона в условиях протекания побочных реакций / Д. В. Новиков, **Л. Е. Каличкина** // Тезисы докладов XXII Всероссийской конференции молодых ученых по математическому моделированию и информационным технологиям. Новосибирск, 25–29 октября 2021 г. – Новосибирск, 2021. – С. 25.