УДК 543.51

МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЯ

ЖУРНАЛ ВСЕРОССИЙСКОГО МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКОГО ОБЩЕСТВА

Редакция журнала «Масс-спектрометрия»:
119234 Москва, а/я 51, журнал «Масс-спектрометрия». Тел.: +7 (495) 939-14-07. E-mail: mail@vmso.ru

Редакторы

Главный редактор
Заикин Владимир Георгиевич, д.х.н., профессор
Институт нефтехимического синтеза им. А.В. Топчиева РАН, 119991 Москва, Ленинский пр., д. 29
Тел./факс: +7 (495) 954-22-69. E-mail: zaikin@ips.ac.ru

Приборостроение
Галль Лидия Николаевна, д.ф.-м.н., профессор
Институт аналитического приборостроения РАН, 190103 Санкт-Петербург, Рижский пр., д. 26
Тел.: +7 (812) 251-81-59. E-mail: gall@ianin.spb.ru

Новые масс-спектрометрические методы
Горшков Михаил Владимирович, к.ф.-м.н.
Институт энергетических проблем химической физики РАН, 119334 Москва, Ленинский пр., д. 38, корп. 2
Тел.: +7 (495) 137-10-07 (доб. 138), факс: +7 (495) 137-82-58. E-mail: gorshkov@chph.ras.ru
http://www.proteomics.narod.ru

Изотопная и неорганическая масс-спектрометрия
Чернышев Игорь Владимирович, д.г.-м.н., член-корреспондент РАН
Институт геологии рудных месторождений, петрографии, минералогии и геохимии РАН,
119017 Москва, Старомонетный пер., д. 35
Тел.: +7 (495) 951-36-43, 230-82-25. E-mail: cher@igem.ru

Органическая масс-спектрометрия
Некрасов Юрий Степанович, д.х.н., профессор
Институт элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова РАН, 119991 Москва, ул. Вавилова, д. 28
Тел.: +7 (495) 135-93-93. E-mail: yusnekr@ineos.ac.ru

Биомедицинская масс-спектрометрия
Шевченко Валерий Евгеньевич, д.б.н.
Институт ГУ Российский онкологический научый центр им. Н.Н. Блохина РАМН,
115478 Москва, Каширское шоссе, д. 24
Тел.: +7 (495) 323-56-11. E-mail: vshev@nm.ru

Проблемы охраны окружающей среды, аналитическая масс-спектрометрия
Лебедев Альберт Тарасович, д.х.н., профессор
Химический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова, 119991 Москва, Ленинские горы, д. 1 стр. 3
Тел./факс: +7 (495) 939-14-07. E-mail: lebedev@org.chem.msu.ru

Статьи на английском языке по всем вопросам масс-спектрометрии
Микая Анзор Иванович, д.х.н. (Dr. Anzor Mikaia)
National Institute of Standards & Technology,
100 Bureau Drive, 221/A111, Stop 8380, Gaithersburg, MD 20899-8380, USA
Phone: +1 (301) 975 2521; Fax: +1 (301) 975 3670. E-mail: anzor.mikaia@nist.gov

Секретарь редакции
Хрущева Мария Леонидовна, к.х.н.
119234 Москва, а/я 51, Хрущевой М.Л.
Тел.: +7 (495) 939-14-07. E-mail: mail@vmso.ru

Редакционная коллегия

Борщевский А.Я., д.х.н. (Москва)
Бродский Е.С., д.х.н. (Москва)
Ефремов Ю.Я., к.х.н. (Казань)
Зенкевич И.Г., д.х.н., профессор (Санкт-Петербург)
Зякун А.М., д.б.н. (Пущино)
Кудин Л.С., д.х.н., профессор (Иваново)
Кутин А.А. (Москва)
Мазунов В.А., д.ф.-м.н., профессор (Уфа)
Самгина Т.Ю., к.х.н. (Москва)
Самсонов Д.П., к.х.н. (Обнинск)
Сысоев А.А., д.ф.-м.н., профессор (Москва)
Цыбин О.Ю., д.ф.-м.н., профессор (Санкт-Петербург)

Журнал включен в «Реферативный журнал» и Базы данных ВИНИТИ, в Российский индекс научного цитирования (РИНЦ), созданный Федеральным агентством по науке и инновациям, Министерством образования и науки РФ и Научной электронной библиотекой eLIBRARY.RU (www.elibrary.ru). Сведения о журнале ежегодно публикуются в международной справочной системе по периодическим и продолжающимся изданиям Ulrich's Periodical Directory.

Содержание

Альберт Тарасович Лебедев (к 50-летнему юбилею) 163

Новый метод количественного масс-спектрометрического анализа белковых смесей с использованием селективных изотопных меток на цистеин
М.В. Федяев, И.Э. Нифантьев, А.В. Пшежецкий 165

Количественный анализ простагландинов и полиненасыщенных жирных кислот методом масс-спектрометрии с ионизацией электрораспылением
Ю.О. Каратассо, С.Е. Алёшин, Н.В. Попова, В.В. Чистяков, М.Г. Сергеева, С.Д. Варфоломеев 173

Исследование взаимодействия кумаринов и их гетероциклических производных с поверхностью кремнезема методом десорбционной масс-спектрометрии
Т.В. Кулик, В.В. Ищенко, Б.Б. Паляница, В.П. Хиля, К.С. Кулик, В.Н. Барвинченко, В.К. Погорелый 179

Масс-спектрометрия отрицательных ионов производных циклопропилмочевины
Д.В. Гамирова, Е.М. Вырыпаев, В.К. Мавродиев, С.Л. Хурсан, И.П. Клименко, Ю.В. Томилов, И.И. Фурлей 187

***Письмо в редакцию*. Масс-спектрометрическое исследование фрагментации фуллеренов при их скольжении вдоль углеводородной пленки**
В.В. Комаров, А.М. Попова, Л. Шмидт, Х. Юнгклас, А. Цуляуф 193

***Обзор*. Исследование углеводородного состава средних и высококипящих фракций грузинских нефтей методами масс- и хроматомасс-спектрометрии**
Э.Н. Топурия, Э.Г. Леквейшвили, Н.Т. Хецуриани, И.Л. Эдилашвили 197

Методики выполнения измерений массовой концентрации веществ с использованием масс-спектрометрии 227

MASS-SPEKTROMETRIA
PUBLISHED BY RUSSIAN SOCIETY FOR MASS SPECTROMETRY
Publishing office of the «Mass-spektrometria» Journal
P/Box 51, Journal «Mass-spektrometria», 119234 Moscow, Russia.
tel/fax +7 (495) 939-1407. E-mail: mail@vmso.ru

Editor-in-Chief:

Professor Vladimir G. Zaikin
Topchiev Institute of Petrochemical Synthesis, Russian Academy of Sciences,
Leninskii prospect 29, 119991 Moscow, Russia. tel/fax +7 (495) 954-22-69.
E-mail: zaikin@ips.ac.ru

Editors:

Instrumentation
Dr. Lidiya N. Gall'
Institute of Analytical Instrumentation, Russian Academy of Sciences,
Rizhskii prospect 26, 190103 Saint-Petersburg, Russia. tel. +7 (812) 251-81-59. E-mail: gall@ianin.spb.ru

New mass spectrometric methods
Dr. Mikhail V. Gorshkov
Institute for Energy Problems of Chemical Physics, Russian Academy of
Sciences, Leninsky prospect 38, bld. 2, 119334 Moscow, Russia.
tel. +7 (095) 137-10-07 (ext. 138), fax: +7 (495) 137-82-58. E-mail: gorshkov@chph.ras.ru

Isotopic and inorganic mass spectrometry
Professor Igor' V. Chernishev
Institute of Geology of Ore Deposits, Petrography, Mineralogy and
Geochemistry, Russian Academy of Science, Staromonetnii pereulok 35
119017 Moscow, Russia. tel. +7 (495) 951-36-43, +7 (495) 230-82-25. E-mail: cher@igem.ru

Organic mass spectrometry
Professor Yurii S. Nekrasov
Nesmeyanov Institute of Organo-Element Compounds, Russian Academy of Sciences, Ulitza Vavilova 28,
119991 Moscow, Russia. tel. +7 (495) 135-93-93. E-mail: yusnekr@ineos.ac.ru

Biomedical mass spectrometry
Dr. Valerii E. Shevchenko
Blokhin Cancer Research Center, Russian Academy of Medical Sciences, Kashirskoe Shosse 24, 115478
Moscow, Russia. tel. + 7 (495) 323-56-11. E-mail: vshev@nm.ru

Environmental and analytical mass spectrometry
Professor Al'bert T. Lebedev
Chemical Department, Moscow State University, Leninskie Gori 1, Building 3, 119992 Moscow, Russia.
tel/fax +7 (495) 939-14-07. E-mail: lebedev@org.chem.msu.ru

Articles in English on all aspects of mass spectrometry
Dr. Anzor Mikaia
National Institute of Standards & Technology, 100 Bureau Drive 221/A111, Stop 8380,Gaithersburg, MD
20899-8380, USA. Phone: +1 (301) 975-25-21
fax: +1 (301) 975-36-70. E-mail: anzor @nist.gov

The secretary of journal
Dr. Maria L. Khrushcheva
P/Box 51, Journal «Mass-spektrometria», 119234 Moscow, Russia.
tel/fax +7 (495) 939-14-07. E-mail: mail@vmso.ru

Editorial Board

A.Ya. Borshevskii (Moscow)
E.S. Brodskii (Moscow)
Yu.Ya. Efremov (Kazan')
I.G. Zenkevich (St.-Petersburg)
A.M. Zyakoon (Pushino)
A.A. Kutin (Moscow)
L.S. Kudin (Ivanovo)
V.A. Mazunov (Upha)
T.Yu. Samgina (Moscow)
D.P. Samsonov (Obninsk)
A.A. Sisoev (Moscow)
O.Yu. Tsibin (St.-Petersburg)

CONTENTS

Al'bert Tarasovich Lebedev (to Celebrate his 50th Birthday) 163

Novel cysteine-specific isotopic tags for quantitative proteomics
M. Fedjaev, I. Nifant'ev, A. Pshezhetsky 165
Sainte-Justine Hospital Research Center, University of Montreal, 3175 Côte Ste-Catherine, Montreal (Quebec), H3T 1C5, Canada. E-mail: fedjaev@yahoo.com; Chemistry Department, Moscow State University, 119992 Moscow, Russia; Department of Anatomy and Cell Biology, Faculty of Medicine, McGill University,Montreal, Canada; Department of Pediatrics and Biochemistry, Faculty of Medicine, University of Montreal, Canada

Quantitative analysis of prostaglandins and polyunsaturated fatty acids using electrospray ionization mass spectrometry
Yu.O. Karatasso, S.E. Aleshin, N.V. Popova, V.V. Chistyakov, M.G. Sergeeva, S.D. Varfolomeev 173
N.M. Emanuel Institute of Biochemical Physics, Russian Academy of Sciences, ul. Kosygina 4, 117997 Moscow, Russia; Department of Bioengineering and Bioinformatics, M.V. Lomonosov Moscow State University, Leninskie Gory, 1/73, 119992 Moscow, Russia; Center for Drug Chemistry, ul. Zubovskaya, 7119815 Moscow, Russia; A.N. Belozersky Institute of Physico-Chemical Biology, ul. Khohlova 6, 119992 Moscow, Russia. E-mail: sergeeva@genebee.msu.su

Desorption mass spectrometric study of the interaction of coumarins and their heterocyclic derivatives with a silica surface
T.V. Kulyk, V.V. Ishchenko, B.B. Palyanitsa, V.P.Khylya, K.S. Kulyk, V.N. Barvinchenko, V.K. Pogorelyi 179
Institute of Surface Chemistry, National Academy of Science of Ukraine, Vul. Gen. Naumova 17, 03164 Kyiv, Ukraine. E-mail: borbor@gala.net; Kyiv National Taras Shevchenko University, Volodymyrska 64, 01033, Kyiv, Ukraine

Negative ion mass spectrometry of cyclopropylurea derivatives
D.V. Gamirova, E.M. Vyrypaev, V.K. Mavrodiev, S.L. Khursan, I.P. Klimenko, Yu.V. Tomilov, I.I. Furley 187
Institute of Organic Chemistry, Ufa Science Center, Russian Academy of Sciences, 71 Oktyabrya prosp., 4500545 Ufa, Russian Federation. E-mail: elmolek@anrb.ru; N. D. Zelinsky Institute of Organic Chemistry, Russian Academy of Sciences, 47 Leninsky prosp., 119991 Moscow, Russian Federation. E-mail: tom@ioc.ac.ru

Letter to the Editor. Mass spectral study of fullerene fragmentation by grazing along hydrocarbon film
V.V. Komarov, A.M. Popova, L. Schmidt, H. Jungclas, A. Zulauf 193
Institute of Nuclear Physics, Lomonossov Moscow State University, 119992 Moscow, Russia. E-mail: popovakomarov@mail.ru; Department of Physical Chemistry, Philipps-University, 35032 Marburg, Germany

Review. Investigation of hydrocarbon composition of average and high-boiling fractions of georgian crude oils by mass spectrometry and gas chromatography/mass spectrometry
E.N.Topuria, E.G.Lekveishvili, N.T. Khetsuriani, I.L. Edilashvili 197
P.Melikishvili Institute of Physical and Organic Chemistry, Jikia 5, 0186 Tbilisi, Georgia. E-mail: physorgchem@pochta.ru

Methods for accomplishing the measurements of mass concentrations of compounds by using mass spectrometry 227

Альберт Тарасович Лебедев (к 50-летнему юбилею)

Альберт Тарасович Лебедев родился 29 июля 1957 г. в Петрозаводске, где окончил среднюю школу с преподаванием ряда предметов на английском языке. Химия стала для него самым любимым предметом еще в школе – он был неоднократным чемпионом олимпиад по химии в Карельской АССР и призером Всесоюзных олимпиад школьников по химии 1973 и 1974 гг. В 1974 г. А.Т. Лебедев, сдав все вступительные экзамены на отлично, стал студентом химического факультета Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова. Он закончил учебу с красным дипломом и поступил в аспирантуру химического факультета. В 1982 г. А.Т. Лебедев защитил кандидатскую диссертацию и был оставлен для работы на химическом факультете МГУ им. М. В. Ломоносова, сотрудником которого он является и по сей день.

Обладая незаурядными способностями и недюжинной работоспособностью, Альберт Тарасович очень быстро прошел все ступеньки служебной лестницы: младший научный сотрудник, старший научный сотрудник, ассистент, доцент, профессор, заведующий лабораторией органического анализа химического факультета.

Наряду с основной научной работой он выполнял и выполняет ряд других обязанностей: в 1989–1993 гг. он был заведующим аналитическим отделом Международного научного центра по оценке воздействия на окружающую среду; с 1994 г. – член Научно-технического совета Главрыбвода России, в 1997–2002 гг. – заведующий лабораторией физико-химических методов анализа ВНИИПрироды, в 1998–2001 гг. – председатель экспертной комиссии по экологической экспертизе пестицидов Госкомэкологии РФ, с 1999 г. – директор аналитической группы при кафедрах органического цикла химического факультета МГУ им. М. В. Ломоносова.

Научные интересы Лебедева весьма разнообразны, но делом его жизни стала масс-спектрометрия органических соединений: с ней связана практически вся научная деятельность Альберта Тарасовича. Масс-спектрометрический метод был положен в основу его дипломной работы, затем кандидатской («Масс-спектрометрическое изучение реакции циклизации диазокетонов», 1982 г.) и докторской («Возможности масс-спектрометрического моделирования химических реакций, инициируемых в растворах кислотами и основаниями», 1992 г.) диссертаций.

Одним из наиболее важных и продолжающихся многие годы исследований А.Т. Лебедева является масс-спектрометрическое моделирование химических реакций, протекающих в растворе при кислотном и щелочном катализе. Эффективность метода продемонстрирована на примере нескольких серий

орто-замещенных фенилциклопропанов, замещенных полигалоидпиридинов, диазоамидов, триазолов, диазокетонов, диазоэфиров. Этому вопросу была посвящена его кандидатская диссертация, результаты которой были удостоены в 1983 г. премии Ленинского комсомола в области химии. Эти исследования были развиты в его докторской диссертации и последующих работах, что позволило предложить новый подход к прогнозированию реакционной способности органических соединений на основании масс-спектрометрических данных.

Другое весьма важное направление исследований связано с решением различных экологических проблем. Под его руководством осуществлен анализ химических загрязнений самых разнообразных объектов окружающей среды, проведены комплексные исследования экологической ситуации в водных экосистемах озера Байкал и Каспийского моря. Работа по выявлению приоритетных загрязняющих веществ в выбросах Костомукшского горно-обогатительного комбината была признана одной из лучших работ в Европе по химической экологии в 2002 г. В ходе таких исследований разработаны предельно допустимые концентрации для химических соединений и методов их контроля в окружающей среде. Разработано и аттестовано

в Госстандарте 180 методик определения химических соединений в воде на уровне ПДК. Методики приняты контролирующими органами РФ в качестве стандартных для мониторинга и аналитического контроля водных объектов.

Продолжением предыдущих работ является изучение превращений органических соединений в условиях подготовки питьевой воды (хлорирование и озонирование). Изучено поведение в условиях водного хлорирования более 30 модельных субстратов, на основании чего предложены схемы превращений соединений. Проведено сравнение различных применяемых на практике дезинфицирующих агентов (хлор, гипохлорит натрия, озон). Помимо полулетучих продуктов трансформации, которые определялись во время первых экспериментов с помощью экстракционной хроматомасс-спектрометрии, в настоящее время анализируются также летучие продукты (масс-спектрометрия с вводом «выдувание-улавливание») и нелетучие продукты (высокоэффективная жидкостная хроматография).

Новым поворотом в научной деятельности Альберта Тарасовича стало применение масс-спектрометрии в протеомных исследованиях. В частности, уже к настоящему времени с помощью комплекса масс-спектрометрических методов изучены структуры биологически активных пептидов, выделяемых амфибиями. Наряду с известными соединениями обнаружено более 30 новых пептидов с 6–45 аминокислотными звеньями и определена их первичная структура. Предложен новый подход для масс-спектрометрического *de novo* секвенирования пептидов, включающий разные варианты пробоподготовки, дериватизации и анализа.

А.Т. Лебедевым опубликовано 220 работ, включая книги, обзоры, статьи, тезисы докладов. Монография «Масс-спектрометрия в органической химии», наряду с информацией о классической масс-спектрометрии органических соединений, содержит разделы по современным методам (электрораспыление, ионизация при атмосферном давлении, матрично-активированная лазерная десорбция/ионизации и др.), которые до сих пор не были описаны в русскоязычной литературе, а также большое количество задач с решениями.

Его работы признаны всемирно известными учеными не только в России, но и за рубежом. Он часто участвует в работе международных конференций, входит в состав оргкомитетов многих из них.

Альберт Тарасович Лебедев ведет большую учебно-методическую и научно-организационную работу. С 1985 г. он постоянно занимается преподавательской деятельностью: читает лекции и проводит семинары и практикумы по общему курсу органической химии для студентов, а также по курсу органической масс-спектрометрии и современным методам физико-химического анализа для дипломников и аспирантов кафедры органической химии университета. Под руководством А.Т. Лебедева успешно защищены 7 кандидатских диссертаций и 10 дипломных работ.

По инициативе А.Т. Лебедева создано Всероссийское масс-спектрометрическое общество, объединившее более 600 человек из 49 регионов России. На Учредительном съезде он был избран Президентом этого общества. Альберт Тарасович вложил много усилий, своих организационных способностей и таланта в создание и укрепление этого нового для России общества.

Позже по его же инициативе создан журнал «Масс-спектрометрия», одним из редакторов которого он является.

А.Т. Лебедев является членом масс-спектрометрического общества США и Совета Европейского общества по охране окружающей среды.

Альберт Тарасович – интеллигентный и неизменно доброжелательный человек. Он свободно говорит на английском и испанском языках, ценит и разбирается в классическом отечественном и зарубежном кино, интересуется филателией. Альберт Тарасович – большой поклонник спорта, особенно футбола. В прошлом заядлый болельщик, он по-прежнему живо интересуется отечественным и мировым футболом. Сам он является приверженцем активного образа жизни. К числу его увлечений относятся теннис, плавание, равнинные лыжи.

Всероссийское масс-спектрометрическое общество,
редакция журнала «Масс-спектрометрия»,
а также все ученики, коллеги, друзья
поздравляют Альберта Тарасовича Лебедева с пятидесятилетием
и желают юбиляру новых научных свершений,
сохранения на долгие годы творческой и организаторской энергии.

Новый метод количественного масс-спектрометрического анализа белковых смесей с использованием селективных изотопных меток на цистеин

М.В. Федяев[*а,б], И.Э. Нифантьев[б], А.В. Пшежецкий[а,в,г]

[а] *Sainte-Justine Hospital Research Center, University of Montreal, 3175 Côte Ste-Catherine, Montreal (Quebec), H3T 1C5, Canada. E-mail: fedjaev@yahoo.com*

[б] *Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, химический факультет, Ленинские горы 1, стр. 3, 119992 Москва, Россия.*

[в] *Department of Anatomy and Cell Biology, Faculty of Medicine, McGill University, Montreal, Canada.*

[г] *Department of Pediatrics and Biochemistry, Faculty of Medicine, University of Montreal, Canada.*

Поступила в редакцию 04.06.2007 г.

Наиболее признанной методологией в современной количественной протеомике является метод изотопного аналога, заключающийся во введении атомов стабильных изотопов (^{2}H, ^{15}N, ^{18}O, ^{13}C) в состав пептидов и белков. В то же время существующие подходы обладают рядом недостатков, связанных в основном с низкой селективностью введения изотопной метки и выделения меченных пептидов. Данная работа описывает новый метод количественного масс-спектрометрического анализа белковых смесей, основанный на быстрой и селективной модификации тиольных групп белков N-фенилмалеинимидом с последующим ковалентным выделением меченных пептидов на твердофазной матрице. Выделение осуществляется путем обработки меченных пептидов гидразином, которые затем связываются с иммобилизованным бензальдегидом с образованием гидразонов. Основными достоинствами разработанного метода являются введение изотопов и объединение сравниваемых образцов на самой первой стадии приготовления и последующее проведение всех операций с образцами в одних и тех же условиях, что позволяет обеспечить максимальную точность и воспроизводимость анализа. Данный метод использует быстрые и количественно протекающие химические реакции, позволяющие ковалентное связывание и выделение пептидов на матрице, а также их эффективную промывку, обеспечивая тем самым высокую специфичность выделения. Эффективность разработанного метода была продемонстрирована на примере анализа модельного белка − бычьего сывороточного альбумина.

Ключевые слова: *количественная протеомика, стабильные изотопы, метод изотопного аналога, цистеин.*

Covalent modification of peptides and proteins with the reagents containing stable isotopes (^{2}H, ^{15}N, ^{18}O, ^{13}C) or «isotopic tagging» is currently a leading methodology in quantitative proteomics. Majority of the described methods, however, have limitations mostly related to a low selectivity of isotopic labeling or peptide enrichment. We describe a novel mass spectrometry-based method for quantitative analysis of protein mixtures using selective modification of cysteine residues of proteins with N-phenylmaleimide containing light or heavy isotopes followed by the covalent enrichment of labeled peptides on a solid matrix. Enrichment is based on the modification of labeled peptides with hydrazine, which then form hydrazones with the immobilized benzaldehyde. Major advantage of the described method is that the protein samples are modified with stable isotopes and combined at the first step of sample preparation and thus further processing of the samples is performed under the same conditions which provides for a high accuracy and reproducibility of the analysis. The method uses rapid, selective and quantitative chemical reactions allowing purification of labeled peptides through their covalent binding, and rigorous washing of bound peptides, leading to a high enrichment. Efficiency of the approach was demonstrated using bovine serum albumin as a model protein.

Keywords: *quantitative proteomics, stable isotopes, isotopic tagging, cysteine.*

Введение

В настоящее время масс-спектрометрия продолжает играть ключевую роль в протеомных исследованиях, все более актуальным требованием к которым становится способность количественной оценки изменений белкового состава клетки, ткани или физиологической жидкости. Наиболее признанной методологией в современной количественной протеомике является дериватизация белков (пептидов) с использованием стабильных изотопов (^{2}H, ^{13}C, ^{15}N, ^{18}O) для создания «изотопных аналогов» (рис. 1). На данный момент большое количество подобных реагентов описано в печати (см. обзоры [1, 2]) и некоторые из них являются коммерчески доступными (ICAT, iTRAQ).

Можно выделить 3 основные группы методов введения стабильных изотопов: метаболические, энзиматические (протеолитические) и химические.

Метаболические методы заключаются в использовании изотопсодержащих исходных веществ для процессов обмена, например, при росте клеток [3, 4]. Энзиматические методы основаны на проведении протеолиза белков в обычной и тяжелой (^{18}O) воде. Основным преимуществом энзиматических и метаболических методов является отсутствие дополнительных стадий в процессе приготовления образцов, в то же время существует и ряд фундаментальных ограничений. Так, например, в случае метаболических методов использование тяжелых изотопов часто приводит к нарушению биологических процессов. Кроме того, данные методы применимы в основном только для клеточных моделей.

Для протеолитических методов одной из основных проблем является различная степень введения изотопов, а также обратный изотопный обмен, что может приводить к значительным ошибкам измерений и снижению чувствительности вследствие уменьшения интенсивности сигнала [5]. По причине использования только двух (легкого и тяжелого) изотопов анализ также ограничен одновременным сравнением не более чем двух образцов, а небольшая разница в массе приводит к перекрыванию изотопных кластеров, что затрудняет интерпретацию получаемых данных.

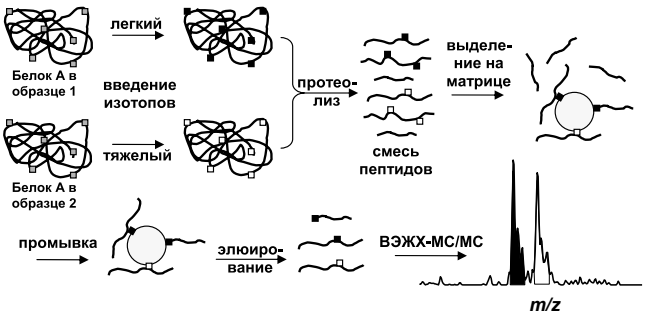


Рис. 1. Пример схемы количественного анализа белковых смесей с использованием метода изотопного аналога.

Химические методы, основанные на селективной ковалентной модификации белков или полученных при протеолизе пептидов реагентами, содержащими стабильные изотопы, включают методы, в которых селективно модифицируется определенный аминокислотный остаток (например, цистеин), и методы, основанные на модификации функциональных групп, присутствующих практически в любом пептиде, полученном при протеолизе белка, например, терминальных аминогрупп.

Очевидным преимуществом последнего класса методов является возможность количественного анализа большей фракции пептидов, что повышает достоверность определения белков и точность в оценке их количества [6, 7]. В то же время, этим методам присущи ограничения, связанные с невозможностью эффективного разделения компонентов сложной белковой смеси, как правило, включающей десятки тысяч пептидов, и их детектирования с помощью тандемной масс-спектрометрии (**МС/МС**).

Одним из подходов к решению данной проблемы является использование химических методов не только для дериватизации определенных аминокислот, но и для выделения модифицированных пептидов, что значительно упрощает состав смеси и позволяет детектировать белки с более низкой клеточной концентрацией.

Наиболее часто используемой аминокислотой для введения изотопов является цистеин ввиду наличия тиольной группы, которая может быть количественно алкилирована в мягких условиях с высокой селективностью.

Среди описанных подходов к изотопной модификации и выделению цистеинсодержащих пептидов для последующего масс-спектрометрического анализа можно выделить следующие (рис. 2): 1) ICAT [8], 2) твердофазный ICAT [9], 3) расщепляемый cICAT [10], 4) ALICE [11], 5) метод Ветстона с использованием комплексов редкоземельных металлов [12], 6) метод Манна с использованием полигистидиновой очистки [13].

Следует отметить, однако, что в большинстве перечисленных методов для алкилирования тиольной группы цистеина используются галоацетатные производные, что обуславливает низкую стабильность данных реагентов и возможность протекания побочных реакций [14,15]. В случае выше описанных методов 1, 3, 5 и 6 для выделения меченных пептидов используется нековалентное связывание, что может приводить к неполному или же наоборот необратимому связыванию пептидов, а также исключает промывку растворами с большой ионной силой или высокой концентрацией органических растворителей для уменьшения неспецифического связывания. В выше описанных методах 2 и 4 для модификации тиольных групп используется реагент, иммобилизованный на твердофазной матрице, что, с одной стороны, сокращает общее число стадий и время, требуемое для анализа. С другой же стороны, анализируемые образцы объединяются

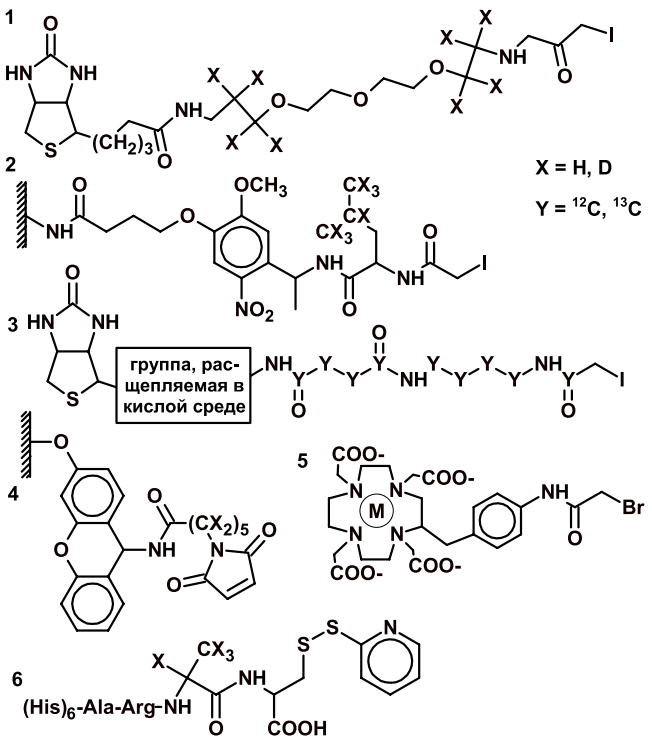


Рис. 2. Существующие химические методы модификации белков стабильными изотопами с последующим выделением меченных пептидов: ICAT, модифицированные пептиды выделяются с помощью биотин-авидиновой афинной хроматографии (1); твердофазный ICAT, содержит группу, расщепляемую ультрафиолетовым светом (2); расщепляемый ICAT (3) ; ALICE, расщепление в кислой среде (4); реагент Ветстона, M – редкоземельный металл, очистка производится с помощью антител, распознающих данный комплекс (5); реагент Манна для использования полигистидиновой очистки, расщепление производится трипсином (6).

лишь после реакции с матрицей, что требует большего числа параллельных стадий и может увеличить экспериментальную ошибку. Таким образом, различные недостатки существующих решений и растущие потребности протеомики указывают на необходимость разработки более совершенных методов.

Данная работа описывает новый метод количественного анализа белковых смесей основанный на быстрой и селективной модификации тиольных групп белков N-фенилмалеинимидом с последующим ковалентным выделением меченных пептидов на твердофазной матрице и их масс-спектрометрическим анализом.

Экспериментальная часть

4-Фениламино-4-оксобутен-2-овая кислота (d_0/d_5) [16]. В двугорлую колбу, снабженную капельной воронкой, обратным холодильником и магнитной мешалкой, помещают 2 г малеинового ангидрида (0.02 моль) и 30 мл эфира. Перемешивают до полного растворения всего малеинового ангидрида, после чего из капельной воронки прибавляют раствор 1.83 мл анилина или 1.85 мл анилина-d_5 (Cambridge Isotope Laboratories) (0.02 моль) в 5 мл эфира. Реакционную смесь упаривают и используют в следующей стадии без дополнительной очистки. Спектр ЯМР ^{1}H (DMSO-d6, δ, м.д.) 6.24 (д, 1H), 6.42 (д, 1H), 7.35 (м, 3H), 7.46 (м, 2H); для d5: 6.24 (д, 1H), 6.42 (д, 1H).

N-фенилмалеинимид (d_0/d_5) [16]. В колбу, снабженную обратным холодильником и магнитной мешалкой, помещают 3.82 г 4-фениламино-4-оксобутен-2-овой кислоты или 3.91 г 4-фениламино-4-оксобутен-2-овой кислоты-d_5 (0.02 моль), 9.5 мл уксусного ангидрида (0.1 моль) и 0.92 г ацетата натрия (0.01 моль). Реакционную смесь перемешивают в течение 2–3 ч на горячей водяной бане, затем промывают 10 мл насыщенного раствора карбоната калия, экстрагируют 50 мл хлористого метилена и упаривают на роторном испарителе. Очистку осуществляют перекристаллизацией из спирта. Спектр ЯМР ^{1}H ($CDCl_3$, δ, м.д.) 6.87 (с, 2H), 7.37 (м, 3H), 7.49 (м, 2H); для d5: 6.87 (с, 2H). Спектр ЯМР ^{13}C ($CDCl_3$, δ, м.д.) 125.50, 127.31, 128.53, 130.96, 134.09, 169.40; для d_5: 125.50 (т), 127.31 (т), 128.53 (т), 130.96, 134.09, 169.40.

Модификация пептидов N-фенилмалеинимидом. Данные эксперименты были выполнены с использованием синтетических пептидов ECG (Sigma) и RGDC (American Peptide Company). Раствор петидов в 50%-ном ДМФА обрабатывают эквимолярным количеством N-фенилмалеинимида в течение 30 мин при 37 °C. Гидразин прибавляют в трехкратном избытке и смесь инкубируют в течение 15 мин при комнатной температуре.

Модификация белков N-фенилмалеинимидом. Белок денатурируют в растворе, содержащем 8 M мочевину, 100 мМ ацетат натрия (pH = 5.0), 10%-ный ацетонитрил либо в растворе, содержащем 50%-ный трифторэтанол и 100 мМ ацетат натрия (pH = 5.0). В обоих случаях конечная концентрация белка составляет ~1 мг мл$^{-1}$. Для восстановления дисульфидных связей прибавляют дитиотреитол в конечной концентрации 10 мМ и смесь инкубируют в течение 1 ч при 37 °C. Обработку N-фенилмалеинимидом с конечной концентрацией 25 мМ проводят в течение 1 ч при комнатной температуре с последующим прибавлением гидразин гидрата до конечной концентрации 0.1 M и инкубацией в течение 15 мин. Далее проводят очистку белка путем осаждения 5%-ной трихлоруксусной кислотой и промывания ацетоном. Расщепление белка производят трипсином (Promega Sequencing Grade) в 20 мМ растворе гидрокарбоната аммония (pH = 8.0).

Выделение меченных пептидов на твердофазной матрице. 20 мг матрицы AMEBA-26 PS (Sigma), представляющей собой 2,6-диметоксибензальдегид, иммобилизованный на полистирене с концентрацией функциональных групп 1–1.5 ммоль г$^{-1}$, промывают 0.5 мл ДМФА, 0.5 мл 1 M LiCl в 50%-ном ДМФА и двукратно

50%-ным ДМФА. Смесь пептидов прибавляют к матрице в количестве $\leq 0.5\times10^{-6}$ моль в ~50 мкл 50%-ном ДМФА; подшивку проводят в течение 2 ч при комнатной температуре при легком перемешивании. Далее матрицу промывают 0.5 мл 1 М LiCl в 50%-ном ДМФА и два раза 50%-ным ацетонитрилом. Снятие меченных пептидов производят обработкой матрицы 0.1 мл 1 М гидразин гидрата в 50%-ном ацетонитриле в течение 30 мин при комнатной температуре и отделением полученного раствора. Для последующего анализа гидразидные группы защищают 4-нитробензальдегидом.

Масс-спектрометрический анализ выполняли с использованием хроматомасс-спектрометра Agilent 1100 Series LC MSD SL (тип источника ионов – ионизация электрораспылением). Пептиды сначала обогащали на колонке с обращенной фазой Zorbax 300SB-C18 (5 мкм, 5×0.3 мм) и затем разделяли на аналитической колонке Zorbax 300SB-C18 (3.5 мкм, 150×0.075 мм) в градиенте 5–90 % ацетонитрила в воде, содержащей 0.1 % муравьиной кислоты при скорости потока 300 нл мин$^{-1}$. В случае, если хроматографическое разделение не требовалось, анализируемый образец в 60%-ном ацетонитриле и 0.1%-ной муравьиной кислоте впрыскивали с помощью шприца со скоростью ~300 нл мин$^{-1}$. Интерпретацию тандемных спектров проводили с использованием компьютерной программы Spectrum Mill (Agilent Technologies).

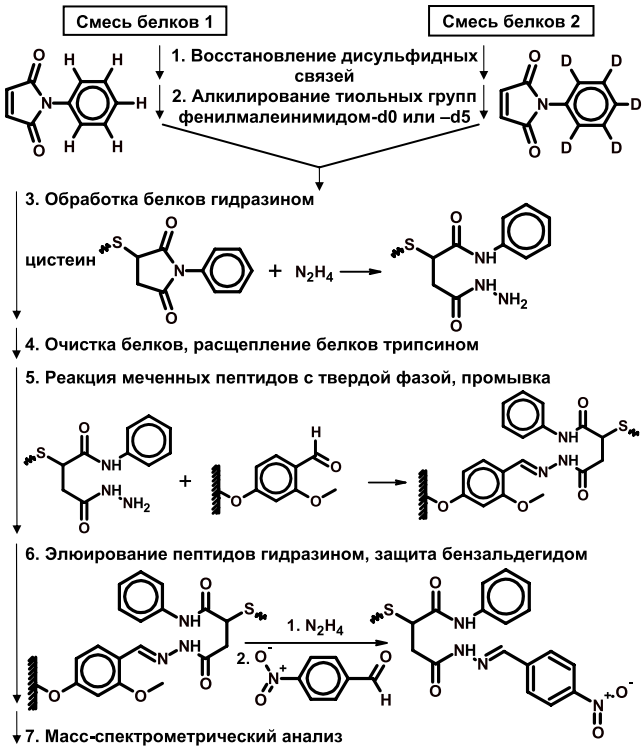


Рис. 3. Схема метода количественного анализа белковых смесей, основанного на модификации тиольных групп белков N-фенилмалеинимидом с последующим выделением меченных пептидов на твердофазной матрице и их масс-спектрометрическим анализом.

Результаты и обсуждение

Результатом данной работы стало создание метода количественного анализа белков, основанного на модификации тиольных групп с использованием N-фенилмалеинимида с последующим ковалентным выделением модифицированных пептидов на твердофазной матрице (рис. 3). Белки денатурируются и дисульфидные связи восстанавливаются и алкилируются N-фенилмалеинимидом, содержащим легкие (H) или тяжелые (D) изотопы. После объединения равных количеств образцов и обработки модифицированных групп гидразином, белки очищаются и обрабатываются трипсином. Далее меченные пептиды ковалентно связываются с твердофазной матрицей, промываются и элюируются избытком гидразина, гидразидные группы защищаются *n*-нитробедзальдегидом и выполняется масс-спектрометрический анализ.

В настоящей работе для алкилирования тиольных групп в составе белков мы применили малеинимиды, которые обладают более высокой стабильностью и селективностью по сравнению с галоацетатами [15]. Кроме того, легкие и тяжелые изотопные аналоги N-фенилмалеинимида легко могут быть получены из коммерчески доступных ^{13}C или ^{2}H анилина (см. параграф «Экспериментальная часть»). В этом случае, при введении дейтерия в относительно полярное по сравнению с алкильным арильное положение нивелируется H/D изотопный эффект при хроматографическом разделении модифицированных пептидов на обращенной фазе [17]. Помимо данных преимуществ N-фенилмалеинимид является еще и более реакционноспособным по сравнению с ранее описанными N-метил-и N-этилмалеинимидами [18].

Для осуществления специфического и количественного выделения меченных пептидов с использованием твердофазной матрицы в процессе выполнения данной работы был разработан эффективный и оригинальный метод. С помощью масс-спектрометрии мы показали, что цистеин-содержащие пептиды, модифицированные N-фенилмалеинимидом, в водно-органических смесях способны селективно и с высокой скоростью реагировать с гидразином с раскрытием сукцинимидного цикла и образованием амидгидра-

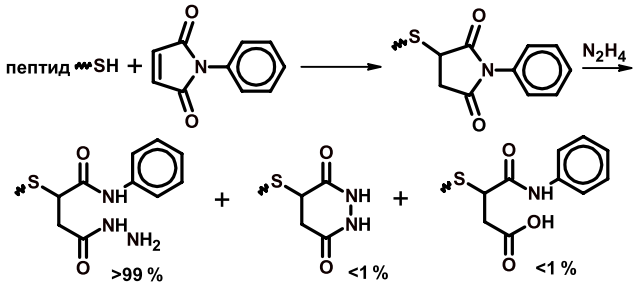


Рис. 4. Модификация цистеин-содержащего пептида N-фенилмалеинимидом и реакция модифицированного пептида с гидразином.

Таблица 1. Время полной модификации гидразинами пептидов ECG и RGDC, меченных N-фенилмалеинимидом, концентрация пептидов 1 мМ, гидразина 0.1 М.

Гидразин	Время реакции
Гидразин гидрат	10 мин (25 °C)
Цианоэтилгидразин	6 ч (37 °C)
Бензилгидразин	5 ч (37 °C)
Фенилгидразин	Реакции не обнаружено
Гидроксиэтилгидразин	2 ч (37 °C)

зидов (рис. 4). Мы также зафиксировали протекание двух побочных реакций: раскрытие сукцинимида водой и образование соответствующего пиридазина, однако скорости этих побочных реакций были на 1–2 порядка ниже, чем скорость основного процесса. При концентрации модифицированного пептида 1 мМ и концентрации гидразина 0.1 М реакция образования амидгидразина протекает с выходом 99 % за 10 мин при комнатной температуре. В то же время, замещенные гидразины значительно менее активны в данной реакции по сравнению с незамещенным гидразином (табл. 1), что приводит к тому, что скорость основной реакции становится соизмеримой со скоростью гидролиза. Таким образом, применение замещенных гидразинов для связывания пептидов, модифицированных фенилмалеинимидом, не представляется перспективным.

Мы показали, что полученные амидгидразиды способны количественно присоединяться к бензальдегидам с образованием соответствующих гидразонов. Последние, в свою очередь, быстро и количественно разрушаются под действием избытка гидразина с образованием исходных амидгидразинов (рис. 5).

Описанные реакции были использованы нами для выделения модифицированных пептидов на матрице путем взаимодействия гидразида с иммобилизованным бензальдегидом (рис. 3). Для выбора наиболее эффективной матрицы было проведено сравнение реакционной способности шести коммерчески доступных твердых фаз с подшитыми бензальдегидами (рис. 6). Сравнение проводили на основании данных по выделению синтетических пептидов ECG и RGDC, модифицированных N-фенилмалеинимидом и гидразином. Подшивку проводили в среде ДМФА-вода (1:1) при комнатной температуре в течении 2 ч. Для учета неспецифического (нековалентного) связывания после подшивки матрицу промывали 1 М LiCl в 50%-ном ДМФА. Контроль за протеканием реакций осуществлялся с помощью масс-спектрометрии (табл. 2). Матрица (1) оказалась малоэффективной, матрицы (4) и (6) содержали большое количество примесей (полиэтиленгликоль и красители соответственно), мешающих масс-спектрометрическому анализу. Среди матриц (2), (3) и (5), которые были пригодны для использования, последняя показала наилучшую селективность.

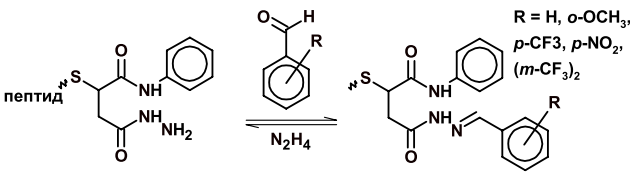


Рис. 5. Меченный пептид, модифицированный гидразином, при обработке бензальдегидами количественно образует гидразон, который количественно разрушается избытком гидразина в исходный гидразид.

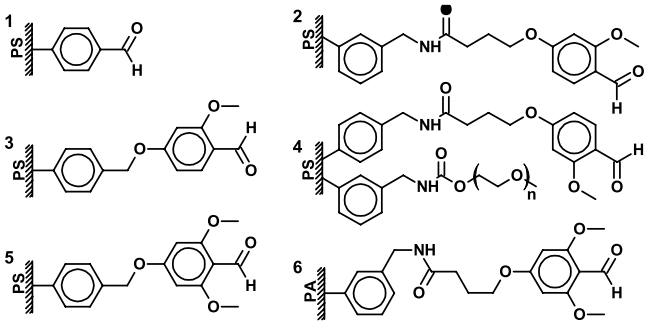


Рис. 6. Матрицы, использованные для оптимицации выделения меченных пептидов: формилполистирол, Sigma (1); 4-(4-формил-3-метокси-фенокси)-бутирил AM полистирол, Sigma (2); 4-гидрокси-2-метоксибензальдегид AMEBA полистирол, Sigma (3); 4-(4-формил-3-метокси-фенокси)-бутирил NovaGel HL полистирол, NovaBiochem (4); 4-гидрокси-2,6-диметоксибензальдегид AMEBA-26 полистирол, Sigma (5); 4-гидрокси-2,6-диметоксибензальдегид SynPhase PA Lanterns, Mimotopes (6). PS – полистирол, PA – полиамид.

Химическая эффективность данного подхода была подтверждена результатами масс-спектроиетрических исследований, однако при переходе к тандемным масс-спектрометрическим экспериментам выяснилось, что меченные пептиды, содержащие гидразидную группу неэффективно разделяются при обращенно-фазовой хроматографии. Кроме того, пептиды с данной модификацией при фрагментации легко теряют молекулы анилина

Таблица 2. Сравнение эффективности связывания пептидов ECG и RGDC, модифицированных N-фенилмалеинимидом и гидразином с твердыми фазами 1–6 (рис. 6). Данные являются полуколичественными.

Матрица	Связывание, %	Неспецифическое связывание, %
1	70	30
2	90	10
3	95	10
4	100*	10*
5	99	<5
6	95*	5*

* Полученные масс-спектры содержали большое количество примесей.

и гидразина (рис. 7б), что препятствует эффективной интерпретации МС/МС спектров доступными программными средствами.

Для улучшения МС/МС спектров и хроматографического разделения была предложена защита получающихся гидразидов с помощью бензальдегидов, содержащих акцепторные заместители (рис. 5). При подобной модификации исчезает гидразидная группа, что значительно улучшает эффективность хроматографического разделения, а также МС/МС спектры модифицированных пептидов.

Лучшие и схожие результаты в ВЭЖХ–МС/МС экспериментах показали нитробензальдегид и бис(трифторметил)бензальдегид, однако поскольку последний значительно увеличивал гидрофобность модифицированных пептидов для проведения дальнейших экспериментов использовался только нитробензальдегид (рис. 7в).

Проверка эффективности разработанного подхода (рис. 3) была выполнена на основе анализа бычьего сывороточного альбумина (**БСА**). Из табл. 3 видно, что после инкубации смеси протеолитических фрагментов БСА, модифицированных N-фенилмалеинимидом и гидразином, с матрицей (5) пептиды, содержащие цистеин, были полностью связаны из раствора на матрице и затем элюированы раствором гидразина. Высокая специфичность выделения подтверждается тем, что в элюате найдены только меченные пептиды, в состав которых входит цистеин.

Заключение

Достоинствами разработанного нами метода протеомного анализа является прежде всего введение

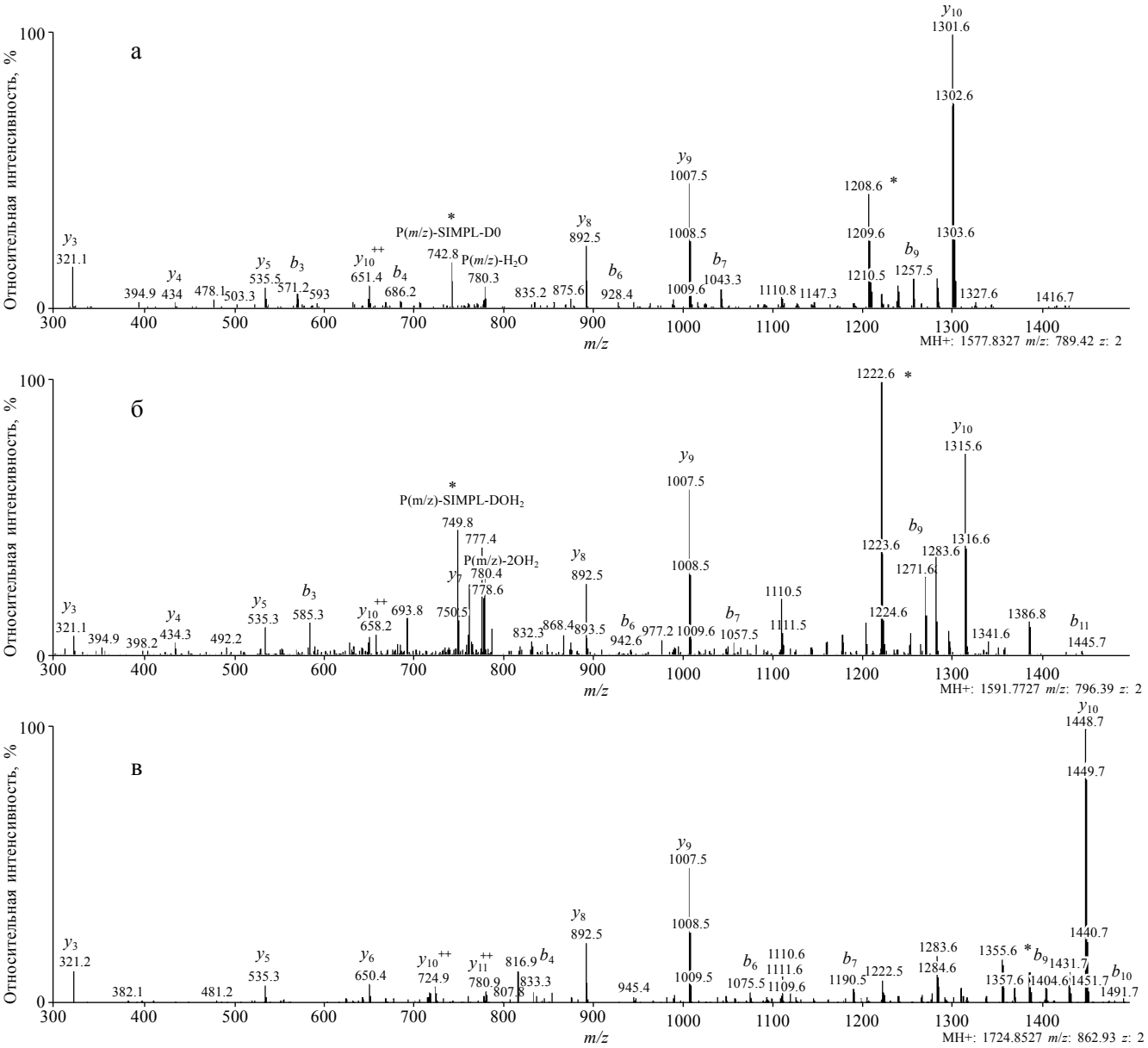


Рис. 7. Спектры ионов-продуктов, образующихся из протонированных молекул пептида YICDNQDTISSK, модифицированного фенилмалеинимидом (а); N-фенилмалеинимидом и гидразином (б); нитробензальдегидной защитой (в). (* Пики, соответствующие отрыву анилина).

изотопов на самой первой стадии приготовления образца и последующее проведение всех операций над сравниваемыми образцами в одних и тех же условиях, что позволяет обеспечить максимальную точность и воспроизводимость анализа.

Также необходимо отметить использование быстрых, селективных и количественно протекающих реакций, использующих только ковалентное связывание, что позволяет эффективно промыть иммобилизованные на матрице пептиды, обеспечив тем самым высокую специфичность выделения. В качестве тяжелого изотопа используется дейтерий, находящийся в арильном положении, что обеспечивает практически одинаковое поведение изотопных форм меченных пептидов при обращенно-фазовой хроматографии при невысокой стоимости используемых реагентов. Дизайн метки также позволяет введение в ее структуру шести атомов ^{13}C при использовании анилина $-^{13}C_6$.

Описанный в данной статье метод может быть применен как для сравнительного анализа, так и для абсолютного количественного анализа при использовании в качестве одного из образцов известных количеств синтетических пептидов, идентичных цистеин-содержащим протеолитическим фрагментам белков в анализируемом образце.

Содержание цистеина в белках составляет в среднем 1.9 % [19], поэтому выделение пептидов, содержащих в своем составе модифицированный цистеин, позволяет существенно упростить анализируемую смесь, что положительно сказывается на чувствительности анализа. Последующим усовершенствованием метода может являться сокращение числа стадий, например замена элюирования пептидов с матрицы с использованием гидразина и последующей бензальдегидной защитой на одностадийное окисление с использованием либо соответствующих ферментов, например, лакказы [20], либо окисления кислородом в присутствии Cu^{2+} в качестве катализатора [21].

Таблица 3. Пептиды, идентифицированные при анализе (рис. 3) бычьего сывороточного альбумина с использованием матрицы 5. Элюат содержит только меченные цистеин-содержащие пептиды.

#	Пептид	Масса, Да	Раствор после инкубации с матрицей	Элюат
1	AEFVEVTK	922.4886	+	–
2	DAFLGSFLYEYSR	1567.7433	+	–
3	DAIPENLPPLTADFAEDK	1955.9602	+	–
4	HLVDEPQNLIK	1305.7167	+	–
5	HPEYAVSVLLR	1283.7112	+	–
6	HPYFYAPELLYYANK	1888.9274	+	–
7	KVPQVSTPTLVEVSR	1639.9383	+	–
8	LCVLHEK	1104.5148	–	+
9	LGEYGFQNALIVR	1479.7960	+	–
10	LVNELTEFAK	1163.6312	+	-
11	LVVSTQTALA	1002.5835	+	-
12	QNCDQFEK	1349.5221	–	+
13	QTALVELLK	1014.6199	+	–
14	RPCFSALTPDETYVPK	2086.9544	–	+
15	SHCIAEVEK	1358.6211	–	+
16	TVMENFVAFVDK	1399.6932	+	–
17	VPQVSTPTLVEVSR	1511.8433	+	–
18	YICDNQDTISSK	1729.7540	–	+
19	YLYEIAR	927.4940	+	–

Благодарности

Настоящая работа выполнена при подержке Канадских институтов медицинских иследований (CIHR) и фонда Genome Quebec.

Список литературы

1. A. Leitner, W. Lindner, «Chemistry meets proteomics: the use of chemical tagging reactions for MS-based proteomics», *Proteomics* **6**, 5418–5434 (2006).

2. A. Leitner, W. Lindner, «Current chemical tagging strategies for proteome analysis by mass spectrometry», *J. Chromatogr.* B **813**, 1–26 (2004).

3. B. Blagoev, I. Kratchmarova, S.E. Ong, M. Nielsen, L.J. Foster, M. Mann, «A proteomics strategy to elucidate functional protein-protein interactions applied to EGF signaling», *Nat Biotechnol.* **21**, 315–18 (2003).

4. S.E. Ong, B. Blagoev, I. Kratchmarova, D.B. Kristensen, H. Steen, A. Pandey, M. Mann, «Stable isotope labeling by amino acids in cell culture, SILAC, as a simple and accurate approach to expression proteomics», *Mol. Cell. Proteomics* **1**, 376–386 (2002).

5. M. Miyagi, K.C. Rao, «Proteolytic ^{18}O-labeling strategies for quantitative proteomics», *Mass Spectrom. Rev.* **26**, 121–136 (2007).

6. A. Pshezhetsky, M. Fedjaev, L. Ashmarina, A. Mazur, L. Budman, D. Sinnet, D. Labuda, JF. Beaulieu, D. Мйnard, I. Nifant'ev, E. Levy, «Subcellular proteomics of cell differentiation: quantitative analysis of the plasma membrane proteome of Caco-2 cells», *Proteomics* **13**, 2201–2215 (2007).

7. M. Fedjaev, S. Trudel, N. Tjon-A-Pan, A. Parmar, B. Posner, E. Levy, I. Nifant'ev, A. Pshezhetsky, «Quantitative Analysis of a Proteome by N-terminal Stable-Isotope Labeling of Peptides», *Rapid Commun. Mass Spectrom* (2007), в *печати.*

8. S.P. Gygi, B. Rist, S.A. Gerber, F. Turecek, M.H. Gelb, R. Aebersold, «Quantitative analysis of complex protein mixtures using isotope-coded affinity tags», *Nat. Biotechnol*. **17**, 994–999 (1999).

9. H. Zhou, J.A. Ranish, J.D. Watts, R. Aebersold, «Quantitative proteome analysis by solid-phase isotope tagging and mass spectrometry», *Nat. Biotechnol.* **20**, 512–515 (2002).

10. J. Li, H. Steen, S.P. Gygi, «Protein profiling with cleavable isotope-coded affinity tag (cICAT) reagents: the yeast salinity stress response», *Mol. Cell. Proteomics* **2**, 1198–1204 (2003).

11. Y. Qiu, E.A. Sousa, R.M. Hewick, J.H. Wang, «Acid-labile isotope-coded extractants: a class of reagents for quantitative mass spectrometric analysis of complex protein mixtures», *Anal. Chem.* **74**, 4969–4979 (2002).

12. P.A. Whetstone, N.G. Butlin, T.M. Corneillie, C.F. Meares, «Element-coded affinity tags for peptides and proteins», *Bioconjug. Chem*. **15**, 3–6 (2004).

13. J.V. Olsen, J.R. Andersen, P.A. Nielsen, M.L. Nielsen, D. Figeys, M. Mann, J.R. Wisniewski, «HysTag – a novel proteomic quantification tool applied to differential display analysis of membrane proteins from distinct areas of mouse brain», *Moll. Cell. Proteomics* **3**, 82–92 (2004).

14. A.N. Glazer, R.J. DeLange, D.S. Sigman, *Chemical modifications of proteins*, Elsevier, New York (1975).

15. A. Grant, *Synthetic Peptides: A User's Guide (Advances in Molecular Biology)*, Oxford University Press, New York (2002).

16. Б.А. Казанский, *Синтезы органических препаратов*, т. 4., Изд-во иностр. лит-ры, Москва, 162 (1953).

17. R. Zhang, C.S. Sioma, R.A. Thompson, L. Xiong, F.E. Regnier, «Controlling deuterium isotope effects in comparative proteomics», *Anal Chem*. **74**, 3662–3669 (2002).

18. S. Niwayama, S. Kurono, H. Matsumoto, «Synthesis of d-labeled N-alkylmaleimides and application to quantitative peptide analysis by isotope differential mass spectrometry», *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **11**, 2257–2261 (2001).

19. R.F. Doolittle, G.D. Fasman, *Predictions of Protein Structure and the Principles of Protein Conformation*, Plenum Press, New York (1989)

20. M. Volkert, S. Koul, G.H. Muller, M. Lehnig, H. Waldmann, «Phenylhydrazide as an enzyme-labile protecting group in peptide synthesis», *J. Org. Chem*. **20**, 6902–6910 (2002).

21. B. Ludolph, F. Eisele, H. Waldmann, «Solid-phase synthesis of lipidated peptides», *J. Am. Chem. Soc*. **124**, 5954–5955 (2002).

Количественный анализ простагландинов и полиненасыщенных жирных кислот методом масс-спектрометрии с ионизацией электрораспылением

Ю.О. Каратассо[а], С.Е. Алёшин[б], Н.В. Попова[б], В.В. Чистяков[в], М.Г. Сергеева*[г], С.Д. Варфоломеев[а]

[а] *Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, ул. Косыгина 4, 117997 Москва, Россия.*

[б] *Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, факультет биоинженерии и биоинформатики, Ленинские горы 1, стр. 73, 119992, ГСП-2, Москва, Россия.*

[в] *Центр по химии лекарственных средств – ВНИХФИ, ул. Зубовская 7, 119815 Москва, Россия.*

[г] *Институт физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского, ул. Хохлова 6, 119992 Москва, Россия. E-mail: sergeeva@genebee.msu.su*

Поступила в редакцию 04.05.2007 г.; после переработки – 25.06.2007 г.

Предложено использовать метод масс-спектрометрии с ионизацией электрораспылением для количественного анализа простагландинов и полиненасыщенных жирных кислот с длиной углеродной цепи C18–C22. Показано, что анализ данных веществ можно проводить одновременно, в наномолярном диапазоне концентраций, без предварительного хроматографического разделения. Проведена валидация метода.

Ключевые слова: *простагландины, полиненасыщенные жирные кислоты, масс-спектрометрия, ионизация электрораспылением, количественный анализ, валидация.*

Electrospray ionization mass spectrometry was suggested for quantitative analysis of prostaglandins and polyunsaturated fatty acids with carbon chain length C_{18}–C_{22}. The possibility of simultaneous analysis of the compounds in nanomolar concentration range without preliminary chromatographic separation was shown. The validation of the method was accomplished.

Keywords: *prostaglandins, polyunsaturated fatty acids, electrospray ionization, mass spectrometry, quantitative analysis, validation.*

Введение

Существует задача одновременного определения полиненасыщенных жирных кислот с длиной углеродной цепи C18–C22 и окисленных производных арахидоновой кислоты (C20 : 4*n*-6) (**AA**), в первую очередь простаноидов (простагландинов, тромбоксана, простациклина). Известно, что простаноиды являются модуляторами сердечно-сосудистой, желудочно-кишечной, почечной и репродуктивной систем, они являются медиаторами боли, воспаления, повышения температуры, аллергии [1, 2]. Терапевтический эффект всех нестероидных противовоспалительных средств, и в частности аспирина, потребление которого в мире непрерывно растет, обусловлен ингибированием простагландин-Н-синтазы – ключевого фермента синтеза простагландинов [3, 4]. Исследования последних лет показали, что воспалительный ответ в организме – это скоординированная система реакций, направленных на усиление ответа и его последующее подавление [1, 5]. Среди этих реакций центральную роль играют высвобождение из фосфолипидов полиненасыщенных жирных кислот и синтез простагландинов [1, 6]. В настоящее время установлено, что для диагностики условий протекания воспалительного процесса необходимо одновременно определять несколько видов синтезируемых простагландинов и группу полиненасыщенных жирных кислот с длиной углеродной цепи C18–C22.

Для количественного определения полиненасыщенных жирных кислот используют метод газовой хроматографии, который позволяет с достаточной точностью измерять их концентрации [7, 8]. Количество отдельных видов простагландинов измеряют с помощью иммуноферментного анализа [9], для одновременного детектирования различных видов простагландинов применяют методы высокоэффек-

тивной жидкостной хроматографии (**ВЭЖХ**) [10] и ее комбинации с масс-спектрометрией (**ВЭЖХ/МС**) [11, 12]. Однако эти методы не позволяют проводить одновременный анализ полиненасыщенных жирных кислот и простагландинов. Недавно было предложено использовать метод масс-спектрометрии с электрораспылением без предварительного хроматографического разделения для одновременного анализа различных липидов, экстрагированных из тканей животных [13]. Нами исследована возможность проведения анализа указанных соединений этим методом и показано, что его преимуществом является не только отсутствие стадии предварительного хроматографического разделения смеси веществ, но также и то, что при количественном определении в качестве стандартов можно использовать вещества близкой природы [14].

Целью данной работы явилось развитие и доказательство возможности использования метода масс-спектрометрии с электрораспылением без предварительного хроматографического разделения для одновременного анализа смеси полиненасыщенных жирных кислот и простагландинов.

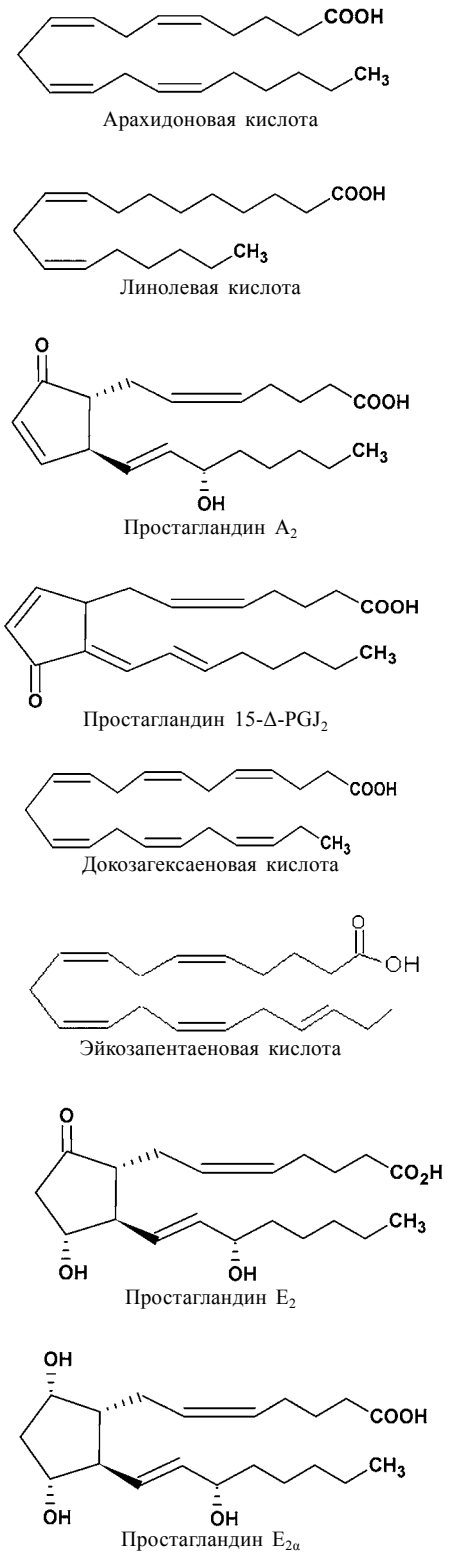


Рис. 1. Структурные формулы исследованных веществ.

Экспериментальная часть

Эксперименты проводили на масс-спектрометре Esquire 4000 (Bruker, Германия) с источником ионизации электрораспылением и анализатором «ионная ловушка». Напряжение на капилляре для электрораспыления составляло 3.5 кВ, температура капилляра 300 °C, скорость потока при вводе образца составляла 1.5 мкл мин$^{-1}$. Все эксперименты проводились в режиме детектирования отрицательно заряженных ионов. Между каждыми двумя измерениями регистрировали спектр чистого растворителя до тех пор, пока интенсивность сигнала не падала до того уровня, который был в спектре чистого растворителя перед введением пробы.

В работе использовали простагландин E_2 (**PGE_2**), простагландин $F_{2\alpha}$ (**$PGF_{2\alpha}$**), простагландин A_2 (**PGA_2**), 15-деокси-Δ12,14-простагландин J_2 (**15-Δ-PGJ_2**), а также арахидоновую (C20 : 4*n*-6), линолевую (C18 : 2*n*-6) (**LA**), докозагексаеновую (C22 : 6*n*-3) (**DHA**), эйкозапентаеновую (C20 : 5*n*-3) (**EPA**) кислоты фирмы Cayman. Структурные формулы веществ приведены на рис. 1.

Все образцы были растворены в растворе ACN–MetOH–H_2O (2 : 1 : 1, v : v : v). Использовались ацетонитрил и метанол марки LC-MS (Sigma-Aldrich, Germany). Вода очищена системой Millipore.

Для анализа в шприц набирали 50 мкл анализируемого раствора и начинали ввод образца в прибор. После установления стационарного значения ионного тока итоговый спектр получали как результат усреднения 500 единичных спектров.

Процентное содержание изотопов с массой *M*+2 было рассчитано с использованием программы Molecular Weight Calculator.

Обсуждение результатов

Получение сигнала. В предварительных экспериментах был выбран растворитель – ACN–MetOH–H_2O (2 : 1 : 1, v : v : v) и показано, что

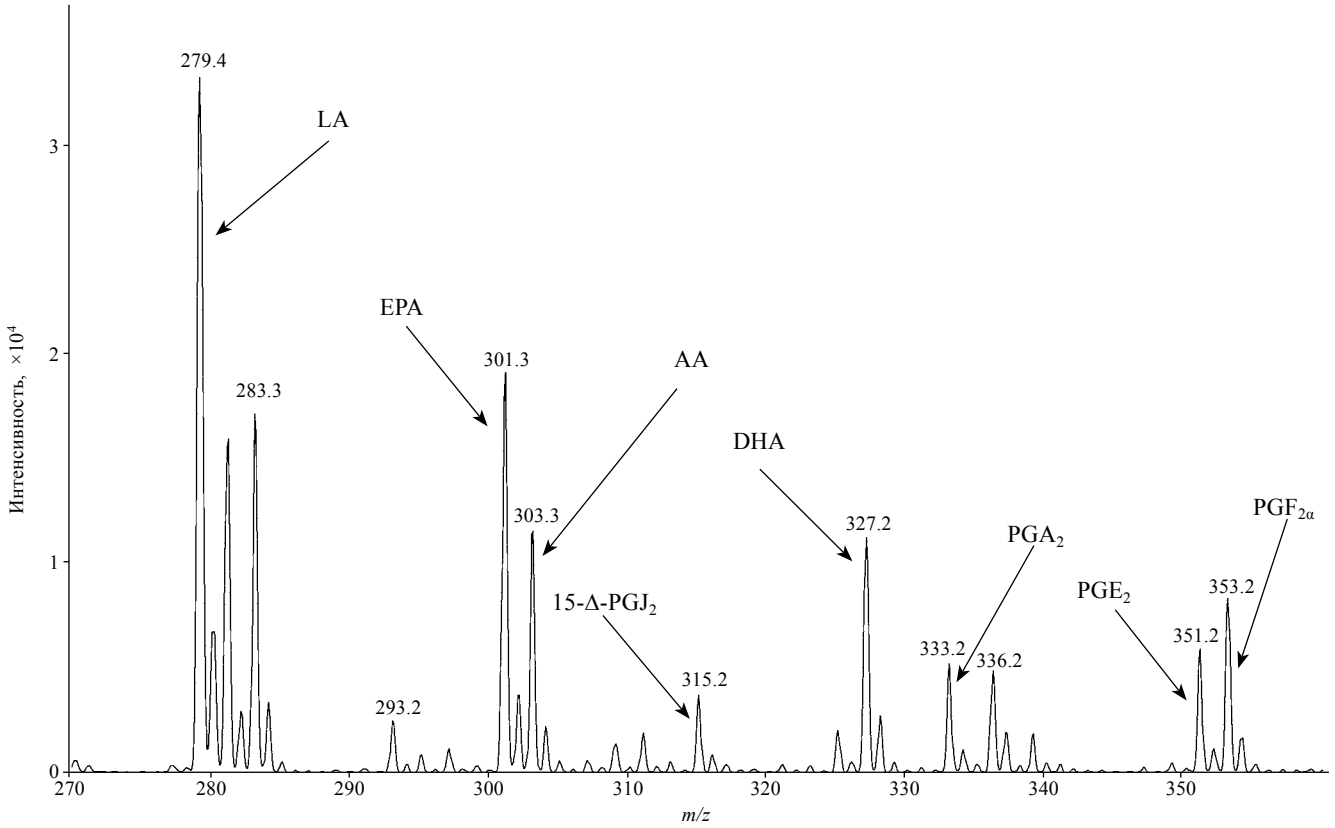


Рис. 2. Масс-спектр растворителя ACN-MetOH-H_2O (2 : 1 : 1, v : v : v), содержащего 50 нМ линолевой кислоты (LA, C18:2*n*-6), 10 нМ эйкозапентаеновой кислоты (EPA, C20 : 5*n*-3), 100 нМ арахидоновой кислоты (AA, C20 : 4n-6), 200 нМ 100 нМ 15-деокси-Δ12,14-простагландина J_2 (15-Δ-PGJ_2), докозагексаеновой кислоты (DHA, C22 : 6*n*-3), 50 нМ простагландина A_2 (PGA_2), 100 нМ простагландина E_2 (PGE_2), 200 нМ простагландина $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$).

при данных условиях ионизации исследуемые вещества образуют ионы $[M-H]^-$, не характерные для растворителя. В ходе ионизации и детектирования фрагментации практически не наблюдали и в дальнейшем рассматривали только интересующий нас диапазон масс (*m/z* от 260 до 360). На рис. 2 представлен масс-спектр исследуемой смеси веществ в растворе.

Валидация. Валидация (оценка пригодности) методики анализа – это экспериментально обоснованное доказательство ее пригодности для получения результатов, имеющих достаточную точность и прецизионность [15]. В данном случае исследованы следующие элементы, определяющие валидацию метода: воспроизводимость, предел количественного определения, линейность, устойчивость системы анализа. Эти процедуры соответствуют современным рекомендациям по определению валидационных характеристик для количественного анализа [16].

Воспроизводимость. Для проверки воспроизводимости в течение нескольких дней периодически регистрировали спектр раствора, содержащего 10 нМ эйкозапентаеновой кислоты и 200 нМ простагландина E_2. В промежутках между опытами раствор хранили при – 20 °С. Анализ показал, что величина отклонения абсолютного значения интенсивности составляет до 10 %, отклонение отношения интенсивностей составляет лишь 2 %. В дальнейшем мы использовали эйкозапентаеновую кислоту в качестве единого стандарта и под относительной интенсивностью пика вещества понимали отношение интенсивности пика, соответствующего этому веществу, к интенсивности пика, характерного для эйкозапентаеновой кислоты.

Предел количественного определения. Для определения нижнего предела количественного определения готовили раствор, содержащий стандарт и исследуемое вещество. Последовательным разбавлением в 2 раза (по объему) растворителем, содержащим стандарт в той же концентрации, получали растворы, содержащие стандарт (с постоянной концентрацией) и исследуемое вещество (концентрация которого в каждом новом растворе была в 2 раза меньше, чем в предыдущем). После чего регистрировали поочередно спектры всех растворов. В результате получали зависимость интенсивности сигнала от разбавления. На рис. 3 приведена характерная зависимость для простагландина A_2. Исходная концентрация простагландина составляла 100 нМ (разведение 1 на рис. 3), последняя концентрация – 1.5625 нМ (разведение 7 на рис. 3). Поэтому теоретическим пределом количественного определения для простагландина A_2 мы считаем концентрацию в 12.5 нМ. Аналогичные эксперименты были проведены для простагландинов E_2, $F_{2\alpha}$ и 15-Δ-PGJ_2 и линолевой, арахидоновой и докозагексаеновой кислот. Результаты приведены в табл. 1.

Линейность. Для определения линейности метода готовили растворы, содержащие стандарт и исследуемое вещество с концентрацией 20 нМ,

Таблица 1. Нижний предел определения некоторых простагландинов и полиненасыщенных жирных кислот.

Вещество	Нижний предел определения, нМ	Нижний предел определения*, пг
Арахидоновая кислота	10	4.5
Линолевая кислота	50	21
Докозагексаеновая кислота	12.5	6
Простагландин E_2	12.5	6.5
Простагландин $F_{2\alpha}$	50	26.5
Простагландин A_2	12.5	6.1
Простагландин 15-Δ-PGJ_2	25	12

* Выражение нижнего предела определения через количество вещества сделано из следующих соображений: снятие одного спектра длится 1 мин, при скорости потока 1.5 мкл $мин^{-1}$ в прибор вводится 1.5 мкл раствора.

Таблица 2. Концентрации простагландинов и полиненасыщенных жирных кислот в растворах, используемых для проверки устойчивости метода.

Вещество	Проба № 1, нМ	Проба № 2, нМ	Проба № 3, нМ
Арахидоновая кислота	100	200	400
Линолевая кислота	50	100	20
Докозагексаеновая кислота	200	50	500
Простагландин E_2	100	200	400
Простагландин $F_{2\alpha}$	200	50	500
Простагландин A_2	50	100	400
Простагландин 15-Δ-PGJ_2	100	200	400

50 нМ, 100 нМ, 200 нМ, 400 нМ и 600 нМ и получили их спектры. Зависимости относительной интенсивности от концентрации вещества представлены для простагландинов на рис. 4, для жирных кислот – на рис. 5. Рассчитанный коэффициент корреляции прямых составляет в среднем 0.99.

Устойчивость. Под устойчивостью понимают возможность метода по обеспечению точных измерений в растворе, содержащем несколько веществ с различными концентрациями. Для исследования устойчивости метода готовили пробы, содержащие все исследуемые простагландины и жирные кислоты в различных концентрациях (см. табл. 2), и регистрировали их спектры. В результате получали значения интенсивностей по каждому веществу, которые потом нормировались на интенсивность стандарта (10 нм эйкозапентаеновой кислоты). Эти значения были нанесены на калибровочные кри-

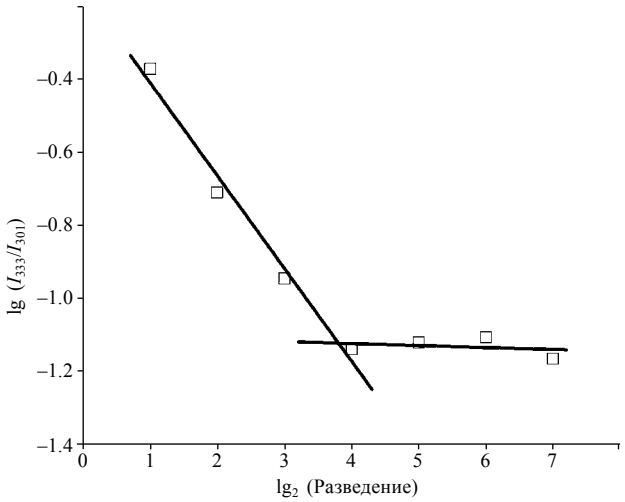


Рис. 3. Зависимость логарифма относительной интенсивности пика простагландина A_2 от логарифма разведения. Стандарт – 10 нМ эйкозапентаеновой кислоты. Для количественного определения использовали пики с *m/z* 333.2 и 301.3 для PGA_2 и EPA соответственно.

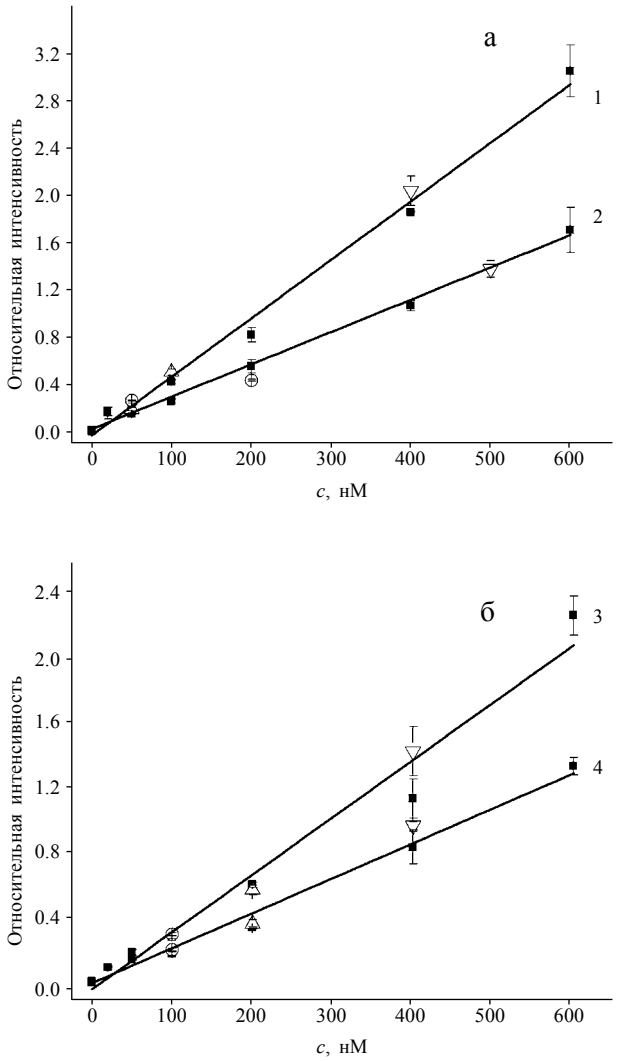


Рис. 4. Зависимость относительной интенсивности пиков простагландинов от их концентрации. а: *1* – PGA_2, *2* – $PGF_{2\alpha}$; б: *3* – PGE_2, *4* – 15-Δ-PGJ_2; ○ – проба № 1, △ – проба № 2, ▽ – проба № 3 (см. табл. 2). Для количественного определения использовали пики с *m/z* 333.2, 353.2, 351.2 и 315.2 для PGA_2, $PGF_{2\alpha}$, PGE_2 и 15-Δ-PGJ_2 соответственно.

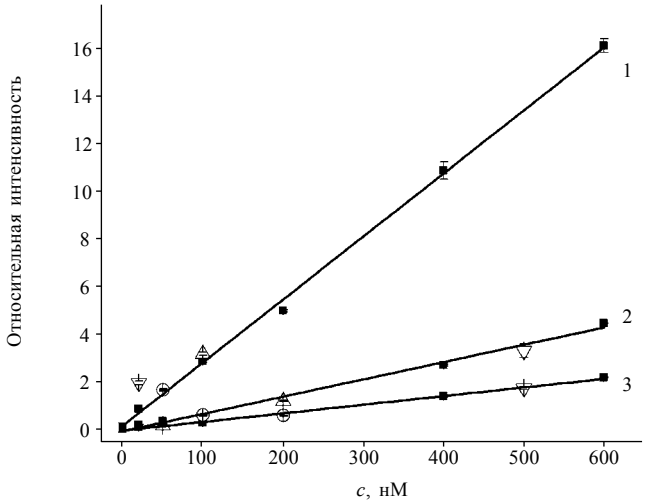


Рис. 5. Зависимость относительной интенсивности пиков для линолевой (*1*), арахидоновой (*2*) и докозагексаеновой (*3*) кислот от их концентрации. Отдельные точки соответствуют спектрам, которые регистрировали для проверки устойчивости (см. пояснения в тексте и табл. 3). Для количественного определения линолевой, арахидоновой и докозагексаеновой кислот использовали пики с *m/z* 279.4, 303.3 и 327.2 соответственно.

вые (рис. 4а,б; рис. 5) в виде отдельных точек: ○ соответствуют пробе № 1, △ соответствуют пробе № 2, ▽ соответствуют пробе № 3.

Экспериментальные значения сравнивали со значениями, рассчитанными из калибровочных кривых. Результаты приведены в табл. 3. Из нее видно, что отклонения значений, полученных при проверке калибровочных кривых, не превышают 10 %. Исключение составляют данные для 20 нМ линолевой кислоты (табл. 3), что объясняется тем, что данная концентрация меньше нижнего предела количественного обнаружения данного вещества (для линолевой кислоты предел – 50 нМ).

Учет влияния изотопного состава молекул при анализе многокомпонентных смесей. Среди простагландинов и жирных кислот есть много молекул, отличающихся по массе на 2 Да, поэтому при анализе сложных многокомпонентных смесей необходимо учитывать вклад изотопного состава молекул. Значение интенсивности пика $[M–H+2]^-$, обусловленное изотопным составом молекулы, может составлять от 2.5 % (для линолевой кислоты) до 3.5 % (для простагландина $F_{2\alpha}$) от интенсивности пика $[M–H]^-$. Поэтому если при анализе сложных смесей наблюдаются два пика, отличающиеся по массе на 2 Да, необходимо оценить отношение их интенсивностей $\frac{100 \cdot I_{[M-H+2]^-}}{I_{[M-H]^-}}$. Если данная

Таблица 3. Отклонение относительной интенсивности пиков простагландинов и жирных полиненасыщенных кислот в пробах № 1, № 2 и № 3 (см. табл. 2) от величины, полученной из калибровочной кривой.

Вещество	Концентрация, нМ	Величина, определенная по калибровочной кривой	Значение, полученное из эксперимента	Отклонение, %
Арахидоновая кислота	100	0.663	0.62	6.4
	200	1.38	1.26	8.7
	500	3.56	3.31	7
Линолевая кислота	50	1.52	1.67	9.8
	100	2.9	3.15	8.6
	20	0.7	1.96	180
Докозагексаеновая кислота	200	0.68	0.62	8.82
	50	0.15	0.16	6.6
	500	1.77	1.74	1.7
Простагландин E_2	100	0.31	0.3	3.2
	200	0.64	0.58	9.3
	400	1.37	1.42	3.6
Простагландин $F_{2\alpha}$	200	0.56	0.5	10.7
	50	0.17	0.18	5.8
	500	1.39	1.38	0.7
Простагландин A_2	50	0.24	0.26	8.3
	100	0.47	0.5	6.3
	400	1.95	2.04	4.6
Простагландин 15-Δ-PGJ_2	100	0.21	0.205	2.4
	200	0.42	0.39	7.1
	400	0.86	0.93	8.1

величина превышает 3.5, то это дает основание считать, что в среде есть минорные компоненты, для определения которых нужен более детальный анализ, например, хроматографическое разделение смеси.

Выводы

Предложен метод, позволяющий проводить одновременный количественный анализ простагландинов и полиненасыщенных жирных кислот в наномолярной области концентраций. Проведена валидация метода, которая показала линейность и устойчивость системы анализа в диапазоне концентраций до 600 нМ. Определены пределы количественного определения, которые составляют для данных веществ от 10 нМ до 50 нМ.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 07-04-01160.

Список литературы:

1. М.Г. Сергеева, А.Т. Варфоломеева, *Каскад арахидоновой кислоты*, Народное образование, Москва, 2006.
2. R.G. Kurumbail, J.R. Kiefer, L.J. Marnett, «Cyclooxygenase enzymes: catalysis and inhibition», *Curr. Opin. Struct. Biol.* **11**, 752–760 (2001).
3. J.R. Vane, Y.S. Bakhle, R.M. Botting, «Cyclooxygenases 1 and 2», *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **38**, 97–120 (1998).
4. С.Д. Варфоломеев, А.Т. Мевх, *Простагландины – молекулярные биорегуляторы*, Изд-во Московского ун-та, 1985.
5. D.W. Gilroy, P.R. Colville-Nash, D. Willis, J. Chivers, M.J. Paul-Clark, D.A. Willoughby, «Inducible cyclooxygenase may have anti-inflammatory properties», *Nat Med.* **5,** 698–701 (1999).
6. S.P. Khanapure, D.S. Garvey, D.R. Janero, L.G. Letts, «Eicosanoids in inflammation: biosynthesis, pharmacology, and therapeutic frontiers», *Curr. Top. Med. Chem.* **7,** 311–340 (2007).
7. T. Verleyen, R.Verhe, L. Garcia, K. Dewettinck, A. Huyghebaert, W.D. Greyt, «Gas chromatographic characterization of vegetable oil deodorization distillate», *J. Chromatogr.* A **6**, 277–285 (2001).
8. А.Т. Мевх, А.К. Юськович, В.С. Дуженко, Е.Д. Ли, К.М. Лакин, «Изменение уровней полиненасыщенных жирных кислот-субстратов и ингибиторов синтеза тромбоксана и простациклина в плазме крови человека при сердечно-сосудистых заболеваниях», *Кардиология.* **3**, 54–57 (1990).
9. A. Margalit, K.L. Duffin, P.C. Isakson, «Rapid quantitation of a large scope of eicosanoids in two models of inflammation: development of an electrospray and tandem mass spectrometry method and application to biological studies», *Anal. Biochem.* **235**, 73–81 (1996).
10. M.V. Gonchar, M.G. Sergeeva, A.T. Mevkh, S.D. Varfolomeyev, «Kinetics of prostanoid synthesis by macrophages is regulated by arachidonic acid sources», *Eur. J. Biochem.* **265**, 779–787 (1999).
11. S. Kurata, K.Yamaguchi, M. Nagai, «Rapid discrimination of fatty acid composition in fats and oils by electrospray ionization mass spectrometry», *Jap. Soc. Anal. Chem.* **21**, 1457–1465 (2005).
12. M. Masoodi, A. Nicolaou, «Lipidomic analysis of twenty-seven prostanoids and isoprostanes by liquid chromatography/electrospray tandem mass spectrometry», *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **20,** 3023–3029 (2006).
13. X. Han, R.W. Gross, «Global analyses of cellular lipidomes directly from crude extracts of biological samples by ESI mass spectrometry: a bridge to lipidomics», *J. Lipid Res.* **44,** 1071–1079 (2003).
14. Ю.О. Каратассо, И.В. Логунова, М.Г. Сергеева, Е.Н. Николаев, С.Д. Варфоломеев, В.В. Чистяков, «Количественный анализ лекарственных препаратов в плазме крови с использованием электроспрей ионизации – масс-спектрометрии без хроматографического разделения», *Химико-фармацевтический журн.* **38**, 44–47 (2007).
15. Государственная Фармакопея СССР **1**, 200–220 (1998).
16. Н.А. Эпштейн, «Оценка пригодности (валидации) ВЭЖХ методик в фармацевтическом анализе», *Химико-фармацевтический журн.* **38**, 40–-56 (2004).

Исследование взаимодействия кумаринов и их гетероциклических производных с поверхностью кремнезема методом десорбционной масс-спектрометрии

Т.В. Кулик*[а], В.В. Ищенко[б], Б.Б. Паляница[а], В.П. Хиля[б], К.С. Кулик[б], В.Н. Барвинченко[а], В.К. Погорелый[а]

[а]*Институт химии поверхности НАН Украины, ул. Генерала Наумова 17, 03164 Киев, Украина. E-mail: tankulyk@online.ua*

[б]*Национальный университет имени Тараса Шевченко, ул. Владимирская 64, 01033 Киев, Украина.*

Поступила в редакцию 30.03.07 г.; после переработки – 04.05.2007 г.

Методом температурно-программированной десорбционной масс-спектрометрии исследовано взаимодействие кумаринов (**1-6**) с поверхностью высокодисперсного кремнезема. Идентифицированы стадии термолиза и рассчитаны кинетические параметры химических реакций кумаринов на поверхности кремнезема.

Ключевые слова: *температурно-программированная десорбционная масс-спектрометрия, кумарины, высокодисперсный кремнезем, термолиз, термические превращения, 4-метилтиазол, бензтиазол.*

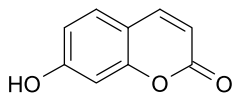
Interactions between coumarins (**1-6**) and the surface of fumed silica were studied by temperature-programmed desorption mass spectrometry. The stages of thermal decomposition of coumarins (**1-6**) were identified. In addition, kinetic parameters of the chemical reactions on the silica surface were calculated.

Keywords: *temperature-programmed desorption mass spectrometry, coumarins, fumed silica, thermolysis, thermal transformations, 4-methylthiazole, benzothiazole.*

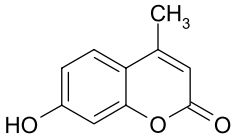
Введение

Среди биологически активных веществ растительного происхождения важное место занимают производные α-пиронов – кумарины. Особенно ценны их синтетические аналоги, в которых кумариновое ядро модифицировано разнообразными гетероциклическими системами, которые сами по себе обладают достаточно высокой биологической активностью и широко применяются как лекарственные средства [1]. Особенно важно то, что для модифицированных кумаринов при разноплановой высокой биологической активности характерна низкая токсичность. Наибольшее значение для практической медицины имеет спазмолитическое, антикоагулянтное, капилляроукрепляющее, гипотензивное, противовоспалительное и желчегонное действие этих веществ [2]. На основе этих соединений созданы препараты, которые нашли широкое применение в медицине [3].

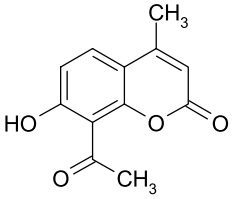
В Институте химии поверхности НАН Украины ведутся исследования по созданию и разработке комплексных медицинских препаратов на основе биологически активных синтетических средств и высокодисперсного кремнезема Силикса, которые в перспективе будут проявлять пролонгированное лечебное действие [4]. Проведены исследования некоторых изомерных кумаринам производных γ-пирона – хромонов [5, 6], ряда биологически активных замещенных коричных кислот [7, 8]. Для разработки комплексных препаратов на основе кумаринов и кремнезема необходимы физико-химические данные об адсорбционных взаимодействиях в таких системах, о структуре поверхностных комплексов, механизме их образования и энергии связывания. Такие данные можно получить с помощью метода термопрограммированной десорбционной масс-спектрометрии **(ТПД МС)**. Остается открытым вопрос о механизмах связывания кумаринов с поверхностью кремнезема. Именно этому вопросу посвящена настоящая работа, в которой исследован ряд гидрокси- и метоксизамещенных кумаринов, наиболее распространенных в природе, а также синтетические тиазольное и бензтиазольное производные α-пирона **(1–6)**.



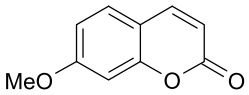
1



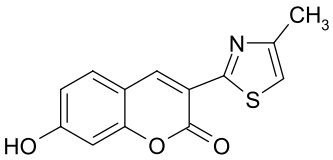
2



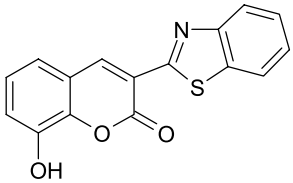
3



4



5



6

Экспериментальная часть

Реактивы. В работе был использован высокодисперсный кремнезем **ВДК** (удельная поверхность 300 м^2 г$^{-1}$) производства Калушского опытно-экспериментального завода ИХП НАН Украины (ГОСТ 14922-77), который является субстанцией для производства лекарственного препарата «Силикса». Кумарины **5** и **6** синтезированы на кафедре органической химии, специализация «химия природных соединений», 4-метилтиазол производства Fluka. Образцы с концентрацией 0.3, 0.4 и 0.6 ммоль г$^{-1}$ соответствующего кумарина на поверхности кремнезема получали методом импрегнирования. К навеске 1 г ВДК равномерно добавляли спиртовый раствор кумарина, перемешивали и выдерживали при комнатной температуре на протяжении 24 ч, сушили при комнатной температуре. Использовали для дальнейших исследований методом ТПД МС.

Метод температурно-программированной десорбционной масс-спектрометрии. ТПД МС исследования проводились на монопольном масс-спектрометре МХ-7304А (Сумы, Украина) с ионизацией электронами, переоборудованном для проведения термодесорбционных измерений. Образец весом 0.1–20 мг помещался на дно кварц-молибденовой ампулы, и до начала эксперимента откачивался при комнатной температуре до давления ~5×10^{-5} Па. Программированное линейное нагревание образца проводилось со скоростью 0.15 °С с$^{-1}$ до температуры ~750 °С. Летучие продукты термолиза, через высоковакуумный вентиль диаметром 5.4 мм, напрямую поступали в ионизационную камеру масс-спектрометра. Регистрация и анализ масс-спектров проводился автоматизированной системой регистрации и обработки данных на базе компьютера. Регистрация масс-спектров проводилась в диапазоне 1–210 а.е.м., на протяжении ТПД МС эксперимента записывалось около 240 масс-спектров. При проведении термодесорбционного эксперимента нагревание образца проводилось достаточно медленно, скорость откачивания летучих продуктов термолиза была высокой, что позволило пренебречь диффузионными эффектами, поэтому интенсивность ионного тока была пропорциональна скорости десорбции. Это позволило рассчитать параметры неизотермической кинетики.

Расчет неизотермических параметров десорбции, термического разложения и химических реакций в конденсированном состоянии и на поверхности кремнезема был проведен с помощью разработанной компьютерной программы. Теория переходного состояния лежит в основе математической модели [9], разработанной для исследования термических превращений биомолекул на поверхности дисперсных оксидов. Расчет неизотермических параметров проводился для максимумов, для которых форма и положение на температурной шкале хорошо воспроизводились на протяжении нескольких экспериментов.

Обсуждение результатов

При исследовании кумаринов (**1–6**) в конденсированном состоянии было установлено, что они обладают высокой термической стабильностью. При нагревании в вакууме они сублимируются и покрывают тонкой пленкой холодные части ампулы масс-спектрометра. Поэтому нам не удалось методом ТПД МС получить масс-спектры; для этого необходимо использовать прямой ввод вещества, или, например, метод полевой десорбции.

При исследовании термолиза кумаринов (**1–6**) на поверхности кремнезема молекулярный ион наблюдался в масс-спектрах только для метокси-производного **4**, тогда как другие кумарины подвергались на поверхности термодеструкции. В масс-спектрах продуктов их термолиза отсутствовал молекулярный ион во всем исследованном интервале температур.

На поверхности кремнезема разложение кумаринов (**1–3**) и их гетероциклических производных со свободной гидроксидной группой **5** и **6** начинается с реакции декарбоксилирования. Полученные кривые термодесорбции, построенные по иону с *m/z* 44 (CO_2^+), имеют идентичные форму и локализацию максимума на температурной шкале (рис. 1, 2).

В отличие от кумаринов **1–3**, **5** и **6** для 7-метоксикумарина (**4**) на кривой термодесорбции, построенной по иону с *m/z* 44, не наблюдается максимумов (рис. 3). 7-Метоксикумарин легко сублими-

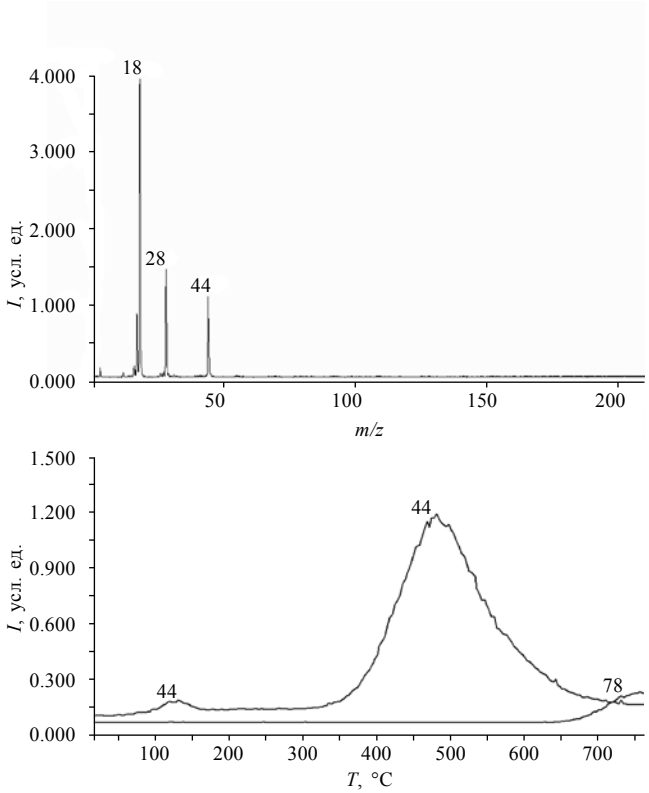


Рис. 1. Масс-спектр при 470 °C и кривые термодесорбции, построенные по ионам с *m/z* 44 и 78, которые характеризуют термическое разложение умбеллиферона (**1**) на поверхности кремнезема (0.3 ммоль г$^{-1}$).

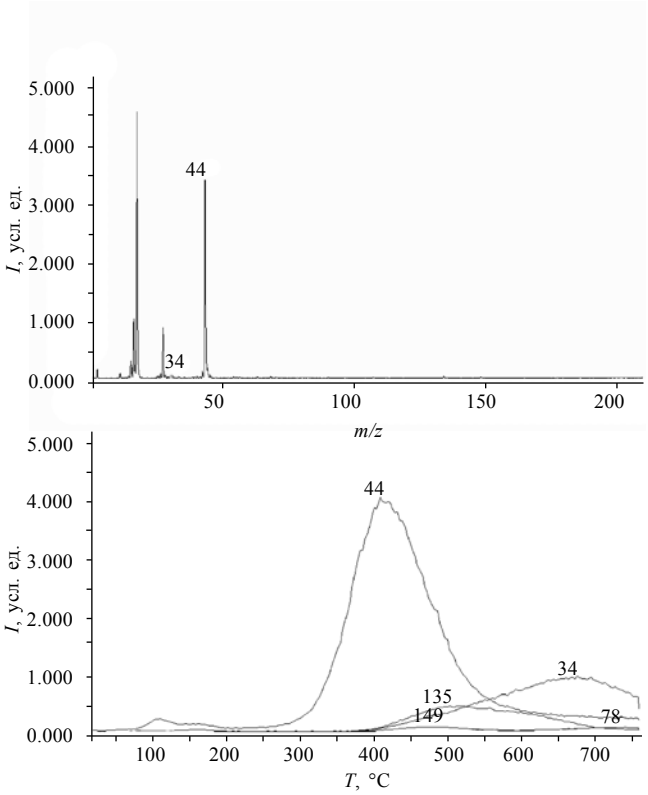
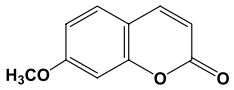


Рис. 2. Масс-спектр при 391 °C и кривые термодесорбции, построенные по ионам с *m/z* 44, 34, 78, 135 и 149, которые характеризуют термическое разложение 3-(2-бензтиазолил)-8-гидроксикумарина (**6**) на поверхности кремнезема (0.4 ммоль г$^{-1}$).

руется с поверхности кремнезема: в масс-спектрах при температуре выше 200 °C регистрируется молекулярный ион: *m/z* 176 и его перегруппировочные ионы: *m/z* 148, 133, 105, образующиеся в источнике ионов масс-спектрометра под действием электронов (схема 1).



176 Да

$\downarrow \bar{e}$

$M^{+\cdot}$ (*m/z* 176)

$[M - CO]^{+\cdot}$ (*m/z* 148)

$[M - CO - CH_3]^{+\cdot}$ (*m/z* 133)

$[M - CO_2 - CO + H]^{+\cdot}$ (*m/z* 105)

Схема 1

Такое существенное различие в термолизе на поверхности, вызванное заменой группы –OH на –OCH_3 объясняется исключительной ролью гидроксидной группы в связывании с поверхностью кремнезема. Вероятно, кумарины хемосорбируются на поверхности кремнезема по схеме 2а или по схеме 2б, представленных ниже. Хемосорбция может протекать при нагревании в ампуле масс-спектрометра в ходе термодесорбционного эксперимента.

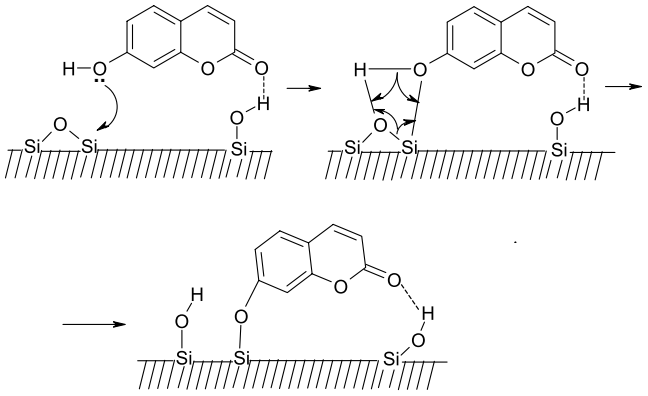


Схема 2а

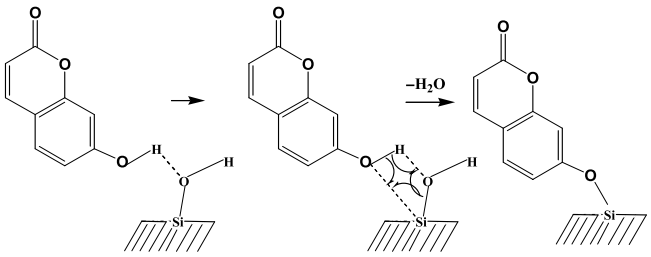


Схема 2б

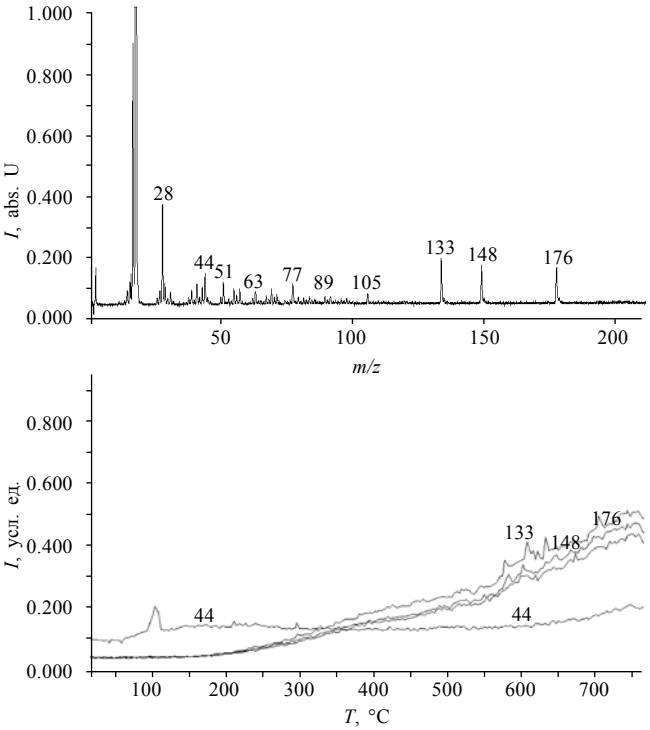


Рис. 3. Масс-спектр при 350 °C и кривые термодесорбции, построенные по ионам с *m/z* 176, 148 и 133, которые характеризуют десорбцию 7-метоксикумарина (**4**) с поверхности кремнезема (0.3 ммоль $г^{-1}$).

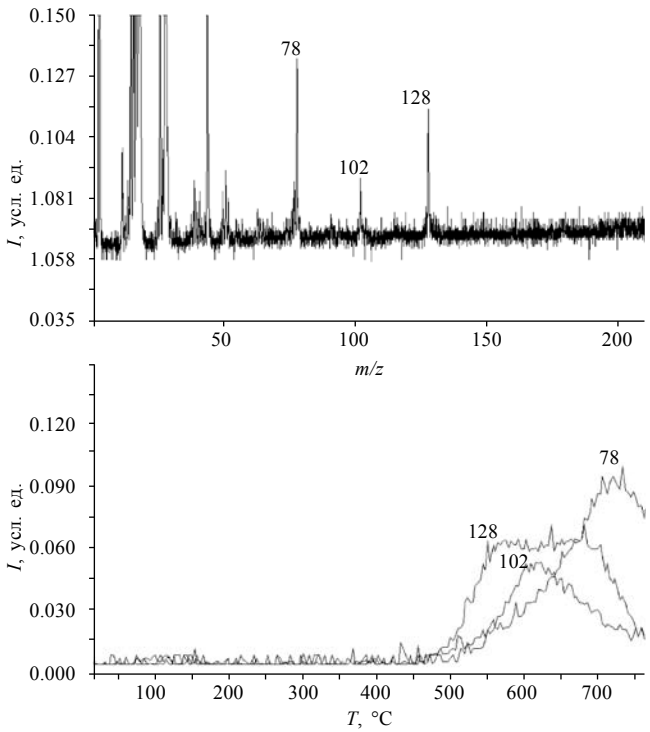


Рис. 4. Масс-спектр при 704 °C и кривые термодесорбции, построенные по ионам с *m/z* 128, 102 и 78, которые характеризуют термическое разложение 4-метил-7-гидроксикумарина (**2**) на поверхности кремнезема (0.6 ммоль $г^{-1}$).

Хемосорбция и возможное протонирование протоном силанольных групп карбонильного кислорода пиранового цикла, а также азота тиазольного и бензтиазольного заместителей, приводят к перераспределению электронной плотности в молекуле кумарина. Вследствие этого при повышении температуры происходит деструкция кумарина путем разрыва наиболее слабых связей с выделением диоксида углерода, что не наблюдалось для конденсированного состояния. Поэтому кумарины не могут десорбироваться с поверхности в молекулярной форме, как в случае метоксипроизводного.

Расчет кинетических параметров (таблица) показал, что декарбоксилирование кумаринов протекает, как реакция второго порядка (n = 2). Этот факт свидетельствует в пользу участия силанольных групп поверхности в реакции декарбоксилирования. Протекание декарбоксилирования в таком широком температурном интервале 350–650 °C для всех исследованных образцов, вероятно, также связано с участием активных центров поверхности в этом процессе, а именно: энергетической неравноценностью силанольных групп и неоднородностью поверхности. Температура максимума скорости декарбоксилирования $T_{макс}$ уменьшается почти на 100 °C в ряду исследованных кумаринов в таком порядке: **3** − 502, **1** − 481, **2** − 475, **5** − 427, **6** − 408 °C. Таким образом, $T_{макс}$ оказалась наиболее чувствительной характеристикой влияния заместителей в молекуле кумаринов на их способность отщеплять CO_2 на поверхности. Самые низкие значения $T_{макс}$ наблюдаются для гетероциклических производных кумаринов **5** и **6**.

После отщепления молекулы CO_2 остатки хемосорбированного кумарина, вероятно, полимеризуются на поверхности кремнезема. При дальнейшем нагревании, выше 500 °C, в масс-спектрах образцов кумаринов **(1–3**, **5** и **6)** появляются линии для ионов с *m/z* 102, 78, а для образца кумарина **2** также линия для иона с *m/z* 128 (рис. 4), которые свидетельствуют [10] о выделении в молекулярной форме нафталина (128 Да), фенилацетилена (102 Да) и бензола (78 Да) в результате деструкции этого полимера. На кривых термодесорбции, построенных по ионам с *m/z* 128, 102, 78, наблюдаются максимумы (рис. 4). В таблице приведены рассчитанные кинетические параметры образования фенилацетилена.

Таким образом, термические превращения кумаринов **1–3** на поверхности кремнезема можно представить схемой 3 на примере кумарина **2**.

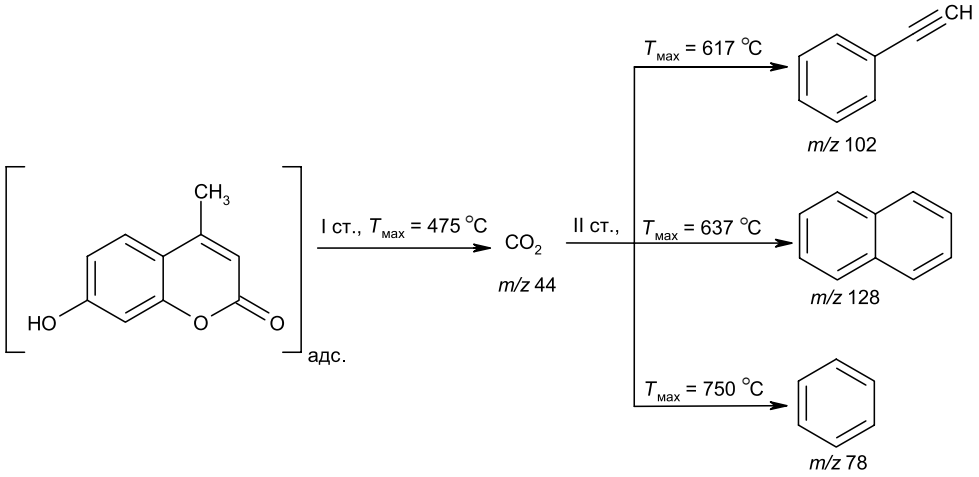


Схема 3

Для молекул кумаринов **5** и **6** наблюдаются дополнительные стадии термолиза (рис. 5, 6), которые соответствуют термическим превращениям гетероциклического заместителя. Для кумарина **5** наблюдаются максимумы на кривых термодесорбции, построенных по ионам с *m/z* 113, 99, 71 (рис. 5) и, соответственно, для кумарина **6** – *m/z* 149, 135, 108 (рис. 6). Набор линий в масс-спектрах, представленных на рис. 5, 6, согласно литературным данным [10] соответствует 4-метилтиазолу (*m/z* 99) и бензтиазолу (*m/z* 135). Наиболее вероятно, что вторая стадия термолиза происходит с выделением в молекулярной форме 4-метилтиазола (*m/z* 99) для кумарина **5** (схема 4) и бензтиазола для кумарина **6** (схема 5).

Интересным фактом является наличие в продуктах десорбции гетероциклических производных (**5** и **6**) соединения, молекулярная масса которого отличается от молекулярной массы гетероциклического заместителя на 14 а.е.м. – *m/z* 113 (**5**) и *m/z* 149 (**6**). Максимум на кривой термодесорбции, построенной для иона с *m/z* 113, вероятнее всего относится к выделению в молекулярной форме 4Н-3-метил-1,4-тиазина (113 Да), а максимум на кривой термодесорбции, построенной для иона с *m/z* 149 к выделению соответствующего бенз-4Н-1,4-тиазина (149 Да), (схемы 4, 5). Образование тиазинов, вероятно, протекает вследствие перегруппировки тиазольного и бензтиазольного заместителя на поверхности кремнезема.

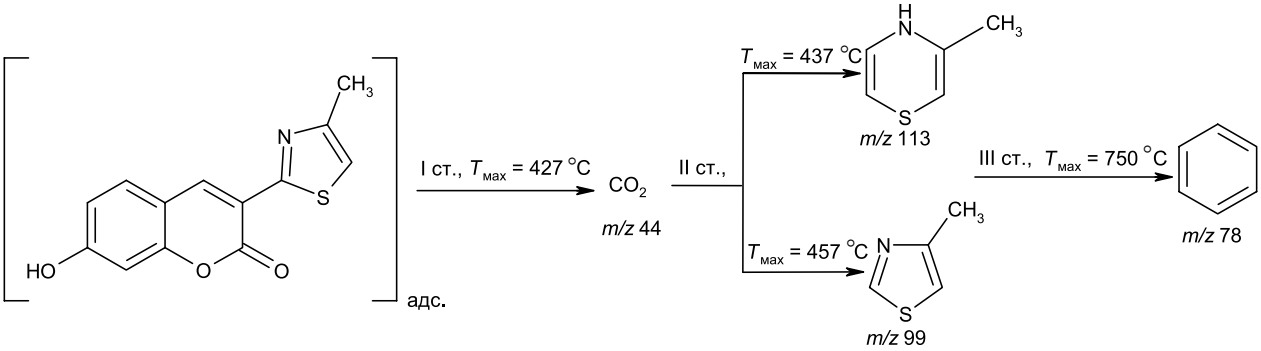


Схема 4

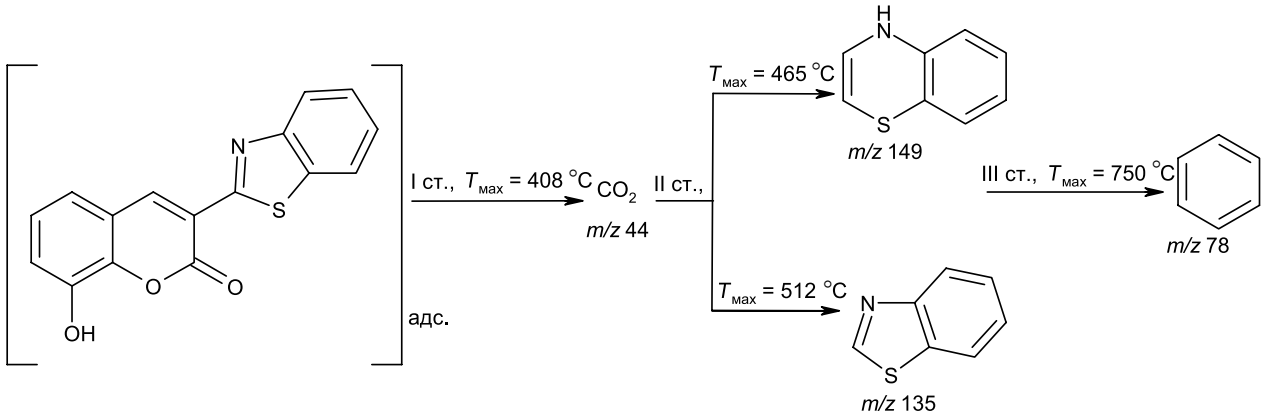


Схема 5

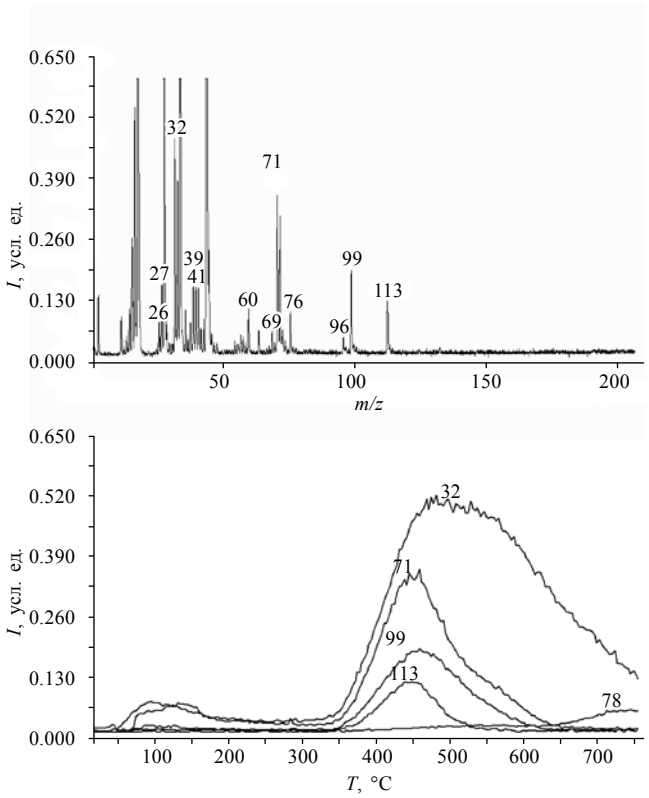


Рис. 5. Масс-спектр при 447 °C и кривые термодесорбции, построенные по ионам с *m/z* 32, 71, 78, 99 и 113, которые характеризуют термическое разложение 3-(4-метил-2-тиазолил)-7-гидроксикумарина (**5**) на поверхности кремнезема (0.4 ммоль г$^{-1}$).

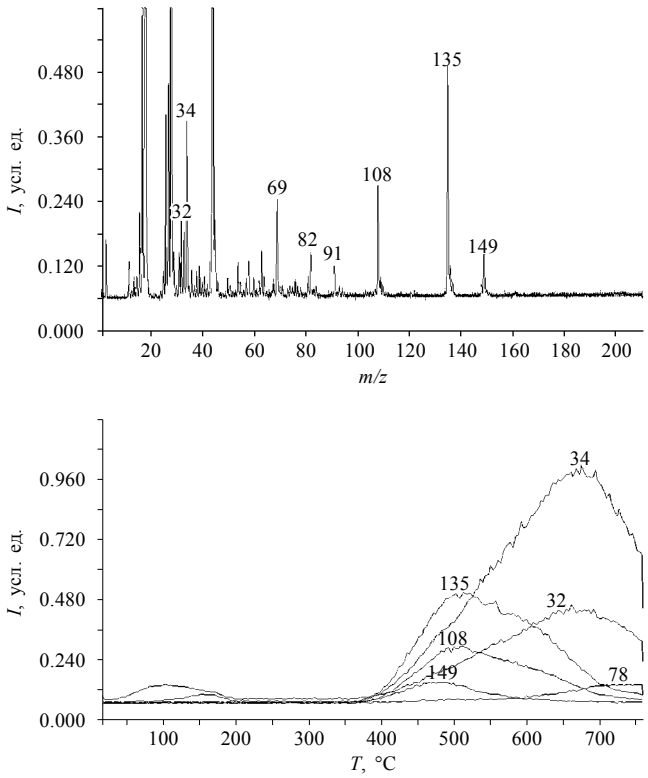


Рис. 6. Масс-спектр при 518 °C и кривые термодесорбции, построенные по ионам с *m/z* 149, 135, 108, 78, 34 и 32, которые характеризуют термическое разложение 3-(2-бензтиазолил)-8-гидроксикумарина (**6**) на поверхности кремнезема (0.4 ммоль г$^{-1}$).

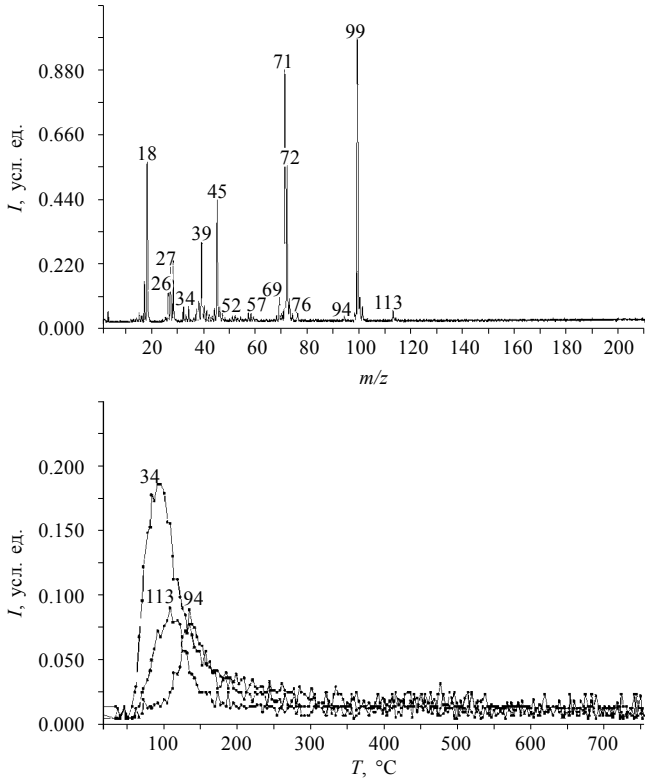


Рис. 7. Масс-спектр при температуре 105 °C и кривые термодесорбции, полученные при термодесорбции образца кремнезема, импрегнированного 4-метилтиазолом.

С протеканием сложных химических реакций гетероциклических заместителей (4-метилтиазола и бензтиазола) на поверхности кремнезема при повышенной температуре связано наличие широких высокотемпературных максимумов на кривых термодесорбции, построенных по ионам с *m/z* 32 и 34, которые соответствуют образованию H_2S (рис. 2, 5, 6).

Дополнительное ТПД МС исследование образца кремнезема, импрегнированного 4-метилтиазолом и высушенного при комнатной температуре, показало наличие в масс-спектре при температуре выше 60 °C линии с *m/z* 113 и соответственно – максимума при $T_{макс}$=110 °C на кривой термодесорбции, построенной для иона с *m/z* 113 (рис. 7). Масс-спектр 4-метилтиазола, полученный с помощью напуска его паров, не содержит пика с *m/z* 113. Эти данные подтверждают наличие перегруппировки индивидуального 4-метилтиазола на поверхности кремнезема, механизм которой пока не установлен.

Кривые термодесорбции, построенные по ионам с *m/z* 99 и *m/z* 113 в случае термолиза кумарина **5** и, соответственно, с *m/z* 135 и *m/z* 149 для кумарина **6** не идут синхронно (рис. 5, 6). Это свидетельствует о протекании двух разных химических

Таблица. Кинетические параметры реакций кумаринов на поверхности кремнезема.

Образец кумарина, количество на поверхности кремнезема	Процесс или реакция	Продукт реакции	$T_{макс}$, °C	m/z	n, порядок реакции	$E^{\neq}$, кДж моль$^{-1}$	k_0, с$^{-1}$, (n=1); л моль$^{-1}$ с$^{-1}$, (n=2)	$dS^{\neq}$, кал К$^{-1}$ моль$^{-1}$	R^2
Кумарин **1**, 0.3 ммоль г$^{-1}$	Декарбоксилирование	CO_2	481	44	2	177.3	8.49×10^9	–62.51	0.944
Кумарин **2**, 0.6 ммоль г$^{-1}$	Декарбоксилирование	CO_2	475	44	2	197.2	3.25×10^{11}	–32.15	0.949
	Деструкция полимерного покрытия	Фенил-ацетилен	617	102	1	165.6	1.03×10^7	–119.71	0.932
Кумарин **3**, 0.3 ммоль г$^{-1}$	Декарбоксилирование	CO_2	502	44	2	163.1	1.37×10^9	–77.88	0.848
Кумарин **5**, 0.4 ммоль г$^{-1}$	Декарбоксилирование	CO_2	427	44	2	159.6	3.04×10^9	–70.42	0.888
	Образование 4-метил-тиазола	4-метил-тиазол	457	99	2	173.4	1.43×10^{10}	–57.92	0.923
	Образование 4Н-3-метил-1,4-тиазина	4Н-3-метил-1,4-тиазин	437	113	1	153.1	5.24×10^{10}	–85.17	0.969
Кумарин **6**, 0.4 ммоль г$^{-1}$	Декарбоксилирование	CO_2	408	44	2	175.2	1.12×10^{11}	–40.23	0.927
	Образование бензтиазола	Бенз-тиазол	512	135	2	214.4	5.50×10^{11}	–28.17	0.835
	Образование бенз-4Н-1,4-тиазина	Бенз-4Н-1,4-тиазин	465	149	1	126.1	1.55×10^6	–133.87	0.941

процессов на поверхности. Максимумы на кривых термодесорбции, соответствующие выделению в молекулярной форме гетероциклических заместителей, более широкие и смещены в сторону более высоких температур по сравнению с максимумами на кривых термодесорбции, соответствующих выделению продуктов перегруппировки.

Максимум скорости образования 4-метилтиазола ($T_{макс}$=457 °C) на поверхности кремнезема смещен в сторону низких температур на 55 °C по сравнению с образованием бензтиазола ($T_{макс}$=502 °C). При этом наблюдаются более низкие величины $T_{макс}$=437 °C для кривой термодесорбции иона с m/z 113 и $T_{макс}$=465 °C для кривой термодесорбции иона с m/z 149. Это означает, что 4-метилтиазол и бензтиазол десорбируются с поверхности при более высокой температуре, чем продукты их перегруппировок на поверхности.

Выводы

Установлено, что ключевую роль в связывании исследованных кумаринов с поверхностью кремнезема играет свободная гидроксидная группа в положении 7 или 8 кумаринового ядра. Идентифицированы стадии термолиза, отвечающие определенным структурным элементам природных и модифицированных кумаринов: кумаринового ядра; тиазольного и бензтиазольного заместителей. Показано, что термическое разложение исследованных кумаринов на поверхности кремнезема начинается с отщепления молекулы CO_2 и последующего выделения при температурах выше 500 °C в молекулярной форме бензола, нафталина и фенилацетилена. Для гетероциклических производных наблюдаются дополнительные стадии с выделением в молекулярной форме гетероциклических соединений, в частности, 4-метилтиазола и бензтиазола.

Список литературы

1. В.П. Хиля, О.В. Шаблыкина, В.В. Ищенко, «Гетарил кумарины: методы синтеза», в кн. *Избранные методы синтеза и модификации гетероциклов* (ред. В.Г.Карцев), IBS PRESS, **2**, 518–533 (2003).
2. М.Е. Перельсон, Ю.Н. Шейнкер, А.А. Савина, *Спектры и строение кумаринов, хромонов и ксантонов*, Медицина, Москва, 1975.

3. М.Д. Машковский, *Лекарственные средства*, в 2-х томах, Медицина, Москва, 2002.

4. *Медицинская химия и клиническое применение диоксида кремния* (ред. А.А.Чуйко), Наукова думка, Киев, 2003.

5. T.V. Kulik, N.P. Galagan, V.K. Pogoreliy, V.A. Pokrovskiy, «TPD MS studies of several polyketides in solid state and adsorbed on silica surface», *Advances in Mass Spectrometry*, Proceedingns of the 15th Int. Mass Spectrometry Conference (Ed. Emilio Gelpi E.), John Wiley&Sons, Chichester, **15**, 491–492 (2001).

6. T.V. Kulik, N.P. Galagan, V.K. Pogoreliy, V.A. Pokrovskiy, «Mass-spectrometric investigation of thermal decomposition of several polyketides in the condensed state», *Chemistry, physics and technology of surface* (Ed. A.A. Chuiko), Institute of Surface chemistry, **4–6**, Kyiv, 143–149 (2002).

7. А.А. Чуйко, В.Н. Барвинченко, О.А. Довбий, Т.В. Кулик, Н.А. Липковская, В.К. Погорелый, «Закономерности адсорбционных взаимодействий природных биоактивных молекул с поверхностью нанодисперсного кремнезема в лекарственных композитах», *Химия, физика и технология поверхности* (ред. П.П. Горбик), Наукова думка, Киев, **11–12**, 358–373 (2006).

8. Т.В. Кулик, В.Н. Барвинченко, Б.Б. Паляница, О.В. Смирнова, В.К. Погорелый, А.А. Чуйко, «Исследование взаимодействия коричной кислоты с поверхностью кремнезема методом десорбционной масс-спектрометрии», *Журн. физ. химии* **81**, 88–95 (2007).

9. V.A. Pokrovskiy, N.P. Galagan, T.V. Kulik, «Non-isothermal decomposition of biomolecules studied by means of temperature-programmed desorption mass spectrometry», *Chemistry, physics and technology of surfaces* (Ed. A.A. Chuiko), Institute of Surface chemistry, Kiev, **4–6**, 332–347 (2001).

10. *Каталог сокращенных масс-спектров* (ред. А.М. Колчин), Наука, Новосибирск, 1981.

Масс-спектрометрия отрицательных ионов производных циклопропилмочевины

Д.В. Гамирова[а*], Е.М. Вырыпаев[а], В.К. Мавродиев[а], С.Л. Хурсан[а], И.П. Клименко[б], Ю.В. Томилов[б], И.И. Фурлей[а]

[а] *Институт органической химии Уфимского научного центра РАН, пр. Октября 71, 450054 Уфа, Россия. E-mail:maratabdulin@rambler.ru*

[б] *Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского РАН, Ленинский пр. 47, 119991 Москва, Россия.*

Поступила в редакцию 05.04.2007 г.; после переработки – 12.06.2007 г.

Изучены масс-спектры отрицательных ионов резонансного захвата электронов молекулами замещенных циклопропилмочевин. Установлено, что процессы образования отрицательных ионов из этих соединений существенно зависят от природы заместителей в циклопропановом кольце: в случае соединений, содержащих электроноакцепторные заместители, образование ионов $[M-H]^-$ происходит за счет отрыва атома водорода от азота, соединенного с малым циклом; эти ионы затем распадаются с выбросом карбеновых частиц R_1CR_2; напротив, при ионизации мочевин с электронодонорными заместителями анион $[M-H]^-$ образуется в результате отщепления атома водорода от NH_2-группы. Обнаружена антибатная зависимость между возможностью нитрозирования N-циклопропилмочевин по NH-группе и наличием в масс-спектрах отрицательных ионов этих соединений иона с *m/z* 85, обусловленного отрывом H-атома от NH-группы.

Ключевые слова: *масс-спектрометрия отрицательных ионов, резонансный захват электронов, замещенные циклопропилмочевины.*

Resonance electron capture negative ions (NI) mass-spectra of substituted cyclopropylureas have been studied. It was found that the processes of formation of NI depend essentially on the electron properties of substitutients in cyclopropan ring: compounds with electron-acceptor substituents in the small ring produce the $[M-H]^-$ ions due to the loss of hydrogen from the nitrogen atom connected to the cycle, the ions decomposing further via elimination of carbonic species R_1CR_2. In opposite, the $[M-H]^-$ ions are formed from the ureas with electron-donor substituents as a result of elimination of a hydrogen from NH_2 group. Opposite regularity between the possibility of solution nitrozation of ureas at NH_2 group and the presence of the *m/z* 85 ion (whose formation involves the loss of hydrogen from NH_2 group) was found out.

Keywords: *negative ion mass spectrometry, resonance electron capture, substituted cyclopropylureas.*

Введение

Возможность прогнозирования химических свойств соединений на основании информации о фрагментации органических молекул при ионизации электронами неоднократно обсуждалась в литературе [1–4]. При резонансном захвате электронов (**РЗЭ**) молекулами затрагиваются в основном граничные молекулярные орбитали (**МО**), вследствие чего данный метод может адекватно отражать реакционную способность изучаемых соединений в условиях образования отрицательных ионов. В данной работе изучены масс-спектры отрицательных ионов (**ОИ**) мочевины (**1**) и серии N-циклопропилмочевин (**2–7**), содержащих различные заместители в положении 2 циклопропанового кольца (схема 1).

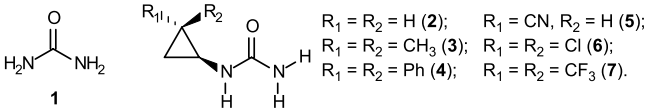


Схема 1

Экспериментальная часть

Мочевины **2**, **3**, **4**, **6** получали по ранее описанным методикам [5–8]. Мочевину **5** синтезировали исходя из этилового эфира *транс*-2-цианоциклопропанкарбоновой кислоты, полученного по методике [9]. Мочевину **7** синтезировали исходя из этилового эфира 2,2-бис(трифторметил)циклопропанкарбоновой кислоты, полученного по методике [10]. Структура полученных соединений подтвержде-

на спектрами ЯМР ^{1}H, ^{13}C, ^{19}F, масс-спектрами с ионизацией электронами и отрицательных ионов в режиме РЗЭ.

Спектры ЯМР ^{1}H зарегистрированы на спектрометре «Bruker AM-300» (300 МГц) для растворов, содержащих 0.05 % $SiMe_4$ в качестве внутреннего стандарта. Спектры ЯМР ^{13}C записаны на спектрометре «Bruker WM-250» (62.9 МГц) для растворов в CD_3OD (δ_C = 49.0 м.д.), DMSO-d_6 (δ_C = 39.5 м.д.) или $CDCl_3$ (δ_C = 77.1 м.д.). Спектры ЯМР ^{19}F записаны на спектрометре «Bruker AC-200» (188.3 МГц). Масс-спектры с ионизацией электронами получены на приборе «Finnigan MAT INCOS-50» (70 эВ, прямой ввод). Масс-спектры РЗЭ получены на масс-спектрометре МИ-1201, переоборудованном для регистрации ОИ [11−12]. Калибровку шкалы энергии электронов проводили по максимумам кривых эффективного выхода SF_6^- из SF_6 (0 эВ) и NH_2^- из NH_3 (5.65 эВ).

Все структуры рассчитаны методом функционала плотности B3LYP и методом Хартри−Фока с использованием базисного набора 6−31G(*n*, *d*)++, реализованные в программе Gamess [13]. Оптимизацию геометрии проводили без ограничения по симметрии. Использовали анализ заселенности по Малликену. Данные расчетов обоих методов хорошо согласуются друг с другом.

***Транс*-2-цианоциклопропанкарбоновая кислота**. Смесь 4.4 г (32 ммоль) этилового эфира *транс*-2-цианоциклопропанкарбоновой кислоты, 17.4 г (126 ммоль) K_2CO_3, 140 мл MeOH и 35 мл H_2O перемешивали 30 мин. Затем MeOH упарили, полученный раствор экстрагировали Et_2O (3×15 мл), затем подкислили HCl до pH = 2 и вновь экстрагировали Et_2O (10×15 мл), насытив водный слой хлоридом натрия. Второй экстракт сушили над Na_2SO_4, упарили и остаток перекристаллизовали из смеси гексан/$CHCl_3$ = 3 : 1. Получили 2.6 г (75 %) *транс*-2-цианоциклопропанкарбоновой кислоты, в виде бесцветных кристаллов с т. пл. 128–129 °C (литературные данные [14], 128.5–130 °C). Спектр ЯМР ^{1}H (DMSO-d_6, δ, м.д., *J*/Гц): 12.95 (уш.с, 1 H, COOH); 2.24 (д.д.д, 1 H, H(1), J_{cis} = 8.8, J_{trans} = 5.9, J_{trans} = 4.3); 2.13 (д.д.д, 1 H, H(2), J_{cis} = 9.3, J_{trans} = 6.2, J_{trans} = 4.3); 1.52 (д.д.д, 1 H, H(3), J_{cis} = 8.8, J_{trans} = 6.2, J_{gem} = 4.6); 1.35 (д.д.д, 1 H, H(3), J_{cis} = 9.3, J_{trans} = 5.9, J_{gem} = 4.6). Спектр ЯМР ^{13}C (DMSO-d_6, δ, м.д.): 171.3 (CO); 120.1 (CN); 20.4 (C(1)); 13.6 (C(3)); 4.7 (C(2)). Масс-спектр, *m/z* (*I*, %): 111 (29) $[M]^{+\cdot}$; 94 (13) $[M–OH]^+$; 93 (11) $[M–H_2O]^{+\cdot}$; 67 (40) $[M–CO_2]^{+\cdot}$; 45 (83); 41 (100); 39 (82).

Хлорангидрид *транс*-2-цианоциклопропанкарбоновой кислоты. К 13.3 г (0.12 моля) *транс*-2-цианоциклопропанкарбоновой кислоты прибавили 40.0 г (0.34 моля) $SOCl_2$ и нагревали при 60–80 °C в течение 2 ч, затем $SOCl_2$ отогнали, а остаток перегнали в вакууме. Получили 15.0 г (96 %) хлорангидрида *транс*-2-цианоциклопропанкарбоновой кислоты в виде бесцветной жидкости с т. кип. 54–55 °C (1 Торр) (литературные данные [14], 78–79 °C (2.5 Торр)). Спектр ЯМР ^{1}H ($CDCl_3$, δ, м.д., *J*/Гц): 2.78 (д.д.д, 1 H, H(1), J_{cis} = 8.7, J_{trans} = 5.8, J_{trans} = 4.2); 2.25 (д.д.д, 1 H, H(2), J_{cis} = 9.3, J_{trans} = 6.8, J_{trans} = 4.2); 1.80 (д.т, 1 H, H(3), J_{cis} = 9.3, $J_{trans} \approx J_{gem} \approx$ 5.6); 1.75 (д.д.д, 1 H, H(3), J_{cis} = 8.7, J_{trans} = 6.8, J_{gem} = 5.5). Спектр ЯМР ^{13}C ($CDCl_3$, δ, м.д.): 171.4 (CO); 117.5 (CN); 30.2 (C(1)); 17.1 (C(3)); 8.7 (C(2)). Масс-спектр, *m/z* (*I*, %): 131 (3) $[M(^{37}Cl)]^{+\cdot}$; 129 (8) $[M(^{35}Cl)]^{+\cdot}$; 103 (10) $[M(^{37}Cl)–CO]^{+\cdot}$; 101 (29) $[M(^{35}Cl)–CO]^{+\cdot}$; 94 (100) $[M–Cl]^+$; 66 (75) $[M–COCl]^+$; 39 (90).

***Транс*-2-цианоциклопропанкарбонилазид**. К раствору 14.2 г (0.11 моля) хлорангидрида *транс*-2-цианоциклопропанкарбоновой кислоты в 180 мл ацетона при охлаждении льдом добавили в течение 30 мин концентрированный раствор 11.4 г (0.18 ммоль) NaN_3 в воде. Продолжали интенсивное перемешивание, поддерживая температуру 3–5 °C, в течение часа. Затем реакционную смесь вылили в делительную воронку, содержащую 1.5 л H_2O и 30 мл толуола. Органический слой отделили, а водный экстрагировали толуолом (2×30 мл). Органические фракции объединили и высушили безводным $MgSO_4$. Упарив аликвоту полученного раствора непосредственно в ампуле ЯМР, получили спектральные характеристики *транс*-2-цианоциклопропанкарбонилазида. Спектр ЯМР ^{1}H ($CDCl_3$, δ, м.д., *J*/Гц): 2.29 (д.д.д, 1 H, H(1), J_{cis} = 8.7, J_{trans} = 6.0, J_{trans} = 4.2); 2.04 (д.д.д, 1 H, H(2), J_{cis} = 9.1, J_{trans} = 6.7, J_{trans} = 4.2); 1.60 (м, 2 H, H(3)). Спектр ЯМР ^{13}C ($CDCl_3$, δ, м.д.): 176.6 (CO); 118.6 (CN); 23.0 (C(1)); 15.9 (C(3)); 7.2 (C(2)).

N-(*Транс*-2-цианоциклопропил)мочевина (5). К 30 мл толуола, нагретого до 80 °C, при перемешивании добавили в течение 1 ч раствор *транс*-2-цианоциклопропанкарбонилазида в толуоле, затем довели температуру до 85 °C и через 40 мин нагрев закончили. Реакционную смесь охладили до 20 °C и пропустили в течение 1.5 ч ~10-ти кратный избыток сухого NH_3. Выпавший осадок отфильтровали, промыли петролейным эфиром и получили 6.0 г (44 %) мочевины **5** в виде бесцветных кристаллов с т. пл. = 174–176 °C (ацетон), плохо растворимых в большинстве растворителей. Найдено (%): C, 48.24; H, 5.67 $C_5H_7N_3O$. Вычислено (%): C, 47.99; H, 5.64. Спектр ЯМР ^{1}H (DMSO-d_6, δ, м.д., *J*/Гц): 6.46 (уш.д, 2 H, NH, *J* = 3.5); 5.71 (уш.с, 2 H, NH_2); 3.04 (д.д.т, 1 H, H(1), J_{cis} = 8.0, J_{trans} = 5.4, $J_{trans} \approx J_{CH\text{-}NH} \approx$ 3.5); 1.59 (д.д.д, 1 H, H(2), J_{cis} = 9.5, J_{trans} = 5.9, J_{trans} = 3.2); 1.32 (д.т, 1 H, H(3), J_{cis} = 8.0, $J_{trans} \approx J_{gem} \approx$ 5.9); 1.17 (д.т, 1 H, H(3), J_{cis} = 9.5, $J_{trans} \approx J_{gem} \approx$ 5.6). Спектр ЯМР ^{13}C (DMSO-d_6, δ, м.д.): 158.8 (CO); 121.1 (CN); 30.8 (C(1)); 13.1 (C(3)); 4.9 (C(2)). Масс-спектр, *m/z* (*I*, %)): 82 (91) $[M–HNCO]^{+\cdot}$; 81 (72) $[M–H_2NCO]^+$; 55 (85) $[M–HNCO–HCN]^{+\cdot}$; 54 (100) $[M–H_2NCO–HCN]^+$; 44 (91) $[H_2NCO]^+$.

N-Нитрозо-*N*-(*транс*-2-цианоциклопропил)мочевина. Это соединение получали, точно следуя методике, описанной в работе [6–8]. Выход соста-

вил 5 %. Желтые кристаллы с т. пл. = 87–88 °C (с разложением). Разлагается при 20 °C в CD_3OD за 80–90 ч, а в D_2O и DMSO-d_6 менее, чем за сутки. Спектр ЯМР ^{1}H (DMSO-d_6, δ, м.д., *J*/Гц): 8.11 (уш.с, 1 H, NH); 7.83 (уш.с, 1 H, NH); 3.06 (д.д.д, 1 H, H(1), J_{cis} = 7.9, J_{trans} = 5.7, J_{trans} = 3.9); 1.92 (д.д.д, 1 H, H(2), J_{cis} = 9.7, J_{trans} = 6.6, J_{trans} = 3.9); 1.74 (д.т, 1 H, H(3), J_{cis} = 7.9, $J_{trans} \approx J_{gem} \approx$ 6.5); 1.36 (д.д.д, 1 H, H(3), J_{cis} = 9.7, J_{trans} = 6.3, J_{trans} = 5.7). Спектр ЯМР ^{13}C (CD_3OD, δ, м.д.): 156.0 (CO); 120.5 (CN); 29.8 (C(1)); 15.3 (C(3)); 6.6 (C(2)). Масс-спектр, *m/z* (*I*, %): 124 (7) $[M–NO]^{+\cdot}$; 81 (8) $[M–H_2NCO]^+$; 54 (29) $[M–H_2NCO–HCN]^+$; 44 (100) $[H_2NCO]^+$.

Этиловый эфир 2,2-бис(трифторметил)циклопропанкарбоновой кислоты. Бесцветная жидкость с т. кип. 87–88 °C (100 Торр). Спектр ЯМР ^{1}H ($CDCl_3$, δ, м.д., *J*/Гц): 4.23 (<u>AB</u>X_3-система, 2 H, OCH_2, J_{ab} = 10.8, J_3 = 7.1); 2.48 (д.д.к, 1 H, H(1), J_{cis} = 9.6, J_{trans} = 7.9, $J_{H,F}$ = 1.0); 1.95 (д.д.к, 1 H, H(2), J_{trans} = 7.9, J_{gem} = 6.7, $J_{H,F}$ = 1.4); 1.58 (д.д.к, 1 H, H(2), J_{cis} = 9.6, J_{gem} = 6.7, $J_{H,F}$ = 1.8); 1.28 (X-часть ABX_3-системы, т, 3 H, CH_3, *J* = 7.1). Спектр ЯМР ^{13}C ($CDCl_3$, δ, м.д., *J*/Гц): 165.6 (CO); 122.6 (к, 2×CF_3, *J* = 276); 62.3 (OCH_2); 32.7 (септет, C(2), *J* = 35); 23.6 (уш.с, C(1)); 13.9 (Me); 11.5 (септет, C(3), *J* = 2). Спектр ЯМР ^{19}F ($CDCl_3$, δ, м.д., *J*/Гц): –62.5 (д.д.к, *транс*–CF_3, $J_{F,F}$ = 7.7, $J_{H,F}$ = 1.0, $J_{H,F}$ = 1.8); –67.5 (д.к, *цис*–CF_3, $J_{F,F}$ = 7.7, $J_{H,F}$ = 1.4).

2,2-Бис(трифторметил)циклопропанкарбоновая кислота. Смесь 3.75 г (15 ммоль) этилового эфира 2,2-бис(трифторметил)циклопропанкарбоновой кислоты, 8.3 г (60 ммоль) K_2CO_3, 150 мл MeOH и 37.5 мл H_2O перемешивали 8 ч. Затем MeOH упарили, полученный раствор экстрагировали Et_2O (3×10 мл), затем подкислили HCl до pH = 1 и вновь экстрагировали Et_2O (10×10 мл), насытив водный слой хлоридом натрия. Второй экстракт сушили над $MgSO_4$, упарили и остаток перегнали в вакууме. Получили 3,23 г (97 %) 2,2-бис(трифторметил)циклопропанкарбоновой кислоты, в виде бесцветной маслянистой жидкости с т. кип. 107–108 °C (60 Торр), которая через несколько дней закристаллизовалась в бесцветную кристаллическую массу с т. пл. 38–40 °C. Найдено (%): C, 32.23; H, 1.59. $C_6H_4F_6O_2$. Вычислено (%): C, 32.45; H, 1.82. Спектр ЯМР ^{1}H ($CDCl_3$, δ, м.д., *J*/Гц): 10.64 (уш.с, 1 H, COOH); 2.53 (м, 1 H, H(1)); 1.99 (д.д.к, 1 H, H(2), J_{trans} = 7.9, J_{gem} = 6.8, $J_{H,F}$ = 1.4); 1.65 (д.д.к, 1 H, H(2), J_{cis} = 9.5, J_{gem} = 6.8, $J_{H,F}$ = 1.8). Спектр ЯМР ^{13}C ($CDCl_3$, δ, м.д., *J*/Гц): 171.8 (CO); 122.4 (к, 2×CF_3, *J* = 276); 33.6 (септет, C(2), *J* = 35); 23.2 (уш.с, C(1)); 11.9 (септет, C(3), *J* = 2). Спектр ЯМР ^{19}F ($CDCl_3$, δ, м.д., *J*/Гц): –66.8 (д.д.к, *транс*–CF_3, $J_{F,F}$ = 7.8, $J_{H,F}$ = 1.8, $J_{H,F}$ = 1.0); –72.5 (д.к, *цис*–CF_3, $J_{F,F}$ = 7.8, $J_{H,F}$ = 1.4). Масс-спектр, *m/z* (*I*, %): 205 (8) $[M–OH]^+$; 183 (24) $[M–HF_2]^+$; 158 (42) $[M–COOH–F]^+$; 153 (63) $[M–CF_3]^+$; 69 (62) $[CF_3]^+$; 45 (100); 39 (48) $[HF_2]^+$.

Хлорангидрид 2,2-бис(трифторметил)циклопропанкарбоновой кислоты. К 3.28 г (14.8 ммоля) 2,2-бис(трифторметил)циклопропанкарбоновой кислоты прибавили 5.0 г (42 ммоля) $SOCl_2$ и нагрели до 50 °C, когда началось газовыделение. Нагревание продолжали в течение 6 ч, постепенно доведя температуру реакционной смеси до 110 °C, затем $SOCl_2$ отогнали, а остаток перегнали в вакууме. Получили 2.1 г (59 %) хлорангидрида 2,2-бис(трифторметил)циклопропанкарбоновой кислоты в виде бесцветной жидкости с т. кип. 59–60 °C (70 Торр). Спектр ЯМР ^{1}H ($CDCl_3$, δ, м.д., *J*/Гц): 2.99 (уш.т., 1 H, H(1), *J* ≈ 8.5); 2.10 (д.д.к, 1 H, H(2), J_{trans} = 7.8, J_{gem} = 7.2, $J_{H,F}$ = 1.4); 1.74 (д.д.к, 1 H, H(2), J_{cis} = 9.0, J_{gem} = 7.2, $J_{H,F}$ = 1.8). Спектр ЯМР ^{13}C ($CDCl_3$, δ, м.д., *J*/Гц): 166.5 (CO); 122.0 (к, 2×CF_3, *J* = 277); 35.1 (септет, C(2), *J* = 36); 33.2 (к, C(1), *J* = 2); 13.4 (септет, C(3), *J* = 2). Спектр ЯМР ^{19}F ($CDCl_3$, δ, м.д., *J*/Гц): –62.1 (д.т.к, *транс*–CF_3, $J_{F,F}$ = 7.7, $J_{H,F}$ = 1.8, $J_{H,F} \approx J_{H,F} \approx$ 0.9); –68.1 (д.к, *цис*–CF_3, $J_{F,F}$ = 7.7, $J_{H,F}$ = 1.4). Масс-спектр, *m/z* (*I*, %): 205 (100) $[M–Cl]^+$; 157 (29) $[M–COCl–HF]^+$; 69 (24) $[CF_3]^+$.

2,2-Бис(трифторметил)циклопропанкарбонилазид. К раствору 2.1 г (8.7 ммоля) хлорангидрида 2,2-бис(трифторметил)циклопропанкарбоновой кислоты в 20 мл ацетона при охлаждении льдом быстро добавили концентрированный раствор 1.17 г (18 ммоль) NaN_3 в воде. Продолжали интенсивное перемешивание, поддерживая температуру 3–5 °C в течение часа. Затем реакционную смесь вылили в делительную воронку, содержащую 60 мл H_2O и 5 мл бензола. Органический слой отделили, а водный экстрагировали бензолом (2×5 мл). Органические фракции объединили и высушили безводным Na_2SO_4. Упарив аликвоту полученного раствора непосредственно в ампуле ЯМР, получили спектральные характеристики 2,2-бис(трифторметил)циклопропанкарбонилазида. Спектр ЯМР ^{1}H ($CDCl_3$, δ, м.д., *J*/Гц): 2.46 (уш.т., 1 H, H(1), *J* ≈ 8.7); 2.04 (д.д.к, 1 H, H(2), J_{trans} = 8.1, J_{gem} = 6.8, $J_{H,F}$ = 1.5); 1.64 (д.д.к, 1 H, H(2), J_{cis} = 9.4, J_{gem} = 6.8, $J_{H,F}$ = 1.9). Спектр ЯМР ^{19}F ($CDCl_3$, δ, м.д., *J*/Гц): –61.8 (д.д.к, *транс*–CF_3, $J_{F,F}$ = 7.7, $J_{H,F} \approx$ 1.9, $J_{H,F} \approx$ 0.8); –67.8 (д.к, *цис*–CF_3, $J_{F,F}$ = 7.7, $J_{H,F}$ = 1.5).

N-[2,2-Бис(трифторметил)циклопропил]-мочевина (7). Раствор 2,2-бис(трифторметил)-циклопропанкарбонилазида в бензоле нагревали 2 ч при температуре от 55 до 75 °C, измеряя количество выделяющегося N_2, затем охладили до 20 °C и пропустили в течение 2 ч ~10-ти кратный избыток сухого NH_3. Выпавший осадок отфильтровали, промыли петролейным эфиром, высушили и перекристаллизовали из $CHCl_3$. Получили 0.96 г (47 %) мочевины **7** в виде бесцветных кристаллов с т. пл. = 154–155 °C. Найдено (%): C, 30.09; H, 2.39; N, 11.70. $C_6H_6F_6N_2O$. Вычислено (%): C, 30.52; H, 2.56; N, 11.86. Спектр ЯМР ^{1}H (CD_3OD, δ, м.д., *J*/Гц): 4.86 (уш.с, 2 H, NH_2, частично перекрыт сигналом растворителя); 4.57 (уш.с, 1 H, NH); 3.63 (д.д.к,

1 H, H(1), J_{cis} = 9.1, J_{trans} = 7.0, $J_{H,F}$ = 2.2); 1.72 (м, 2 H, 2H(2)). Спектр ЯМР ^{13}C (CD_3OD, δ, м.д., *J*/Гц): 161.7 (CO); 124.6 (к, CF_3, *J* = 275); 124.5 (к, CF_3, *J* = 272); 33.2 (к, C(1), *J* = 4); 31.6 (септет, C(2), *J* = 33); 12.7 (уш.с, C(3)). Спектр ЯМР ^{19}F (CD_3OD, δ, м.д., *J*/Гц): –62.1 (уш.к, *транс*–CF_3, $J_{F,F}$ = 6.9); –67.3 (уш.к, *цис*–CF_3, $J_{F,F}$ = 6.9). Масс-спектр, *m/z* (*I*, %): 236 (8) $[M]^{+\cdot}$; 193 (46) $[M–HNCO]^{+\cdot}$; 174 (7) $[M–HNCO–F]^+$; 154 (21) $[M–HNCO–HF_2]^+$; 124 (67) $[M–HNCO–CF_3]^+$; 104 (28) $[M–HNCO–CF_3–HF]^+$; 69 (25) $[CF_3]^+$; 44 (100) $[(CO)NH_2]^+$.

Обсуждение результатов

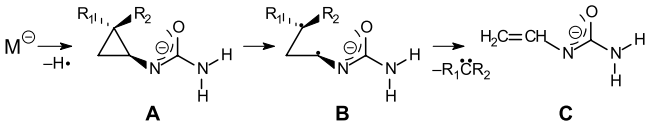
В табл. 1 (в скобках) приведены значения интенсивностей основных пиков ионов (I_{max}, %) и энергий в максимумах резонанса (*E*, эВ). Как видно, при захвате электронов низких энергий (1.0–2.4 эВ) молекулами мочевины **1** образуются ионы $(M–H)^-$, $(NCO)^-$, CN^-.

В отличие от ранее изученных замещенных циклопропанов [15], в масс-спектрах ОИ соединений **2–7** регистрируются пики ионов $(M–H)^-$, которые образуются в результате отрыва атома водорода от одного из атомов азота. Квантово-химические расчеты показали, что стабильность ионов $(M–H)^-$, возникающих при отщеплении H-атома от разных атомов азота, зависит от природы заместителей R_1 и R_2. Так, для соединений **2, 3** и **4** (R_1 = R_2 = H, Me или Ph) энергетически более выгодным (~0.2 эВ) является отрыв атома водорода от концевой группы NH_2, тогда как для соединения **5** – от NH-группы (~0.1 эВ). Резонанс при 2.4 эВ, по-видимому, является резонансом формы и связан с захватом налетающего электрона на вакантную МО (π*-CO). Ионы $(M–H)^-$ из этого резонанса согласно работе [16] образуются по предиссоциативному механизму, и на кривой эффективного выхода проявляется колебательная структура. Смещение этого резонанса почти на 1 эВ для соединений **5–7**, содер-

Таблица 1. Масс-спектры отрицательных ионов при РЗЭ производных мочевины.

Ион	№ соединения						
	1	2	3	4	5	6	7
	m/z (*I*, %)/*E*, эВ						
$[M–H]^-$	59 (3.3)/2.4	99 (27.5)/2.4	127 (23)/2.3	251 (7.5)/1.4	124 (27)/1.6		235 (13)/1.0
$[CNO]^-$	42 (12)/1.0, (11.6)/2.0, (21)/6.2	42 (100)/1.8, (75)/6.0	42 (100)/1.8, (50)/5.9	42 (100)/1.6, (50)/5.75	42 (100)/0.8, (40)/5.9	42 (12)/2.1	42 <(0.1)/8.0, (100)/2.1
$[CN]^-$	26 (10)/2.4, (0.8)/7.0	26 (33)/2.1, (18)/6.8	26 (30)/2.0, (15)/6.7		26 (28)/1.7, (36)/6.0, (7)/1.9		26 <(0.1)/1.7, <(0.1)/6.0
$[NH_2]^-$	16 (100)/6.0	16 (55)/6.6	16 (75)/6.5				
$[NH_2CONH]^-$		59 (3.5)/1.8	59 (4.0)/1.8	59 (2)/1.8		59 (13)/2.6	59 (1)/4.0
$[Ph]^-$				77 (2)/6.9, (1.5)/5.9			
$[M–H–CHCN]^-$					85 (57)/1.7		
Cl^-						35 (100)/0.3	
$[M–H_2F]^-$							215 (36)/1.6
$[M–NH_2CF_3]^-$							151 (48)/2.0
$[M–C(CF_3)_2–H]^-$							85 (5)/0.9
$[CF_3NH]^-$							84 (45)/2.0, (5)/6.0
$[CF_3]^-$							69 <(0.1)/2.1
$[F_2H]^-$							39 <(0.1)/2.4
$[F]^-$							19 <(0.1)/3.5
$[M–CCl_2–H]^-$						85 (9)/2.2	

жащих электроноакцепторные заместители, косвенно подтверждает это предположение. Разница в энергиях образования ионов $(M-H)^-$ более существенна для соединений **6** и **7** ($R_{1,2}$ = Cl и CF_3 соответственно) и составляет ~0.3 и ~0.4 эВ соответственно, причем для этих соединений также более выгоден отрыв H-атома от NH-группы. Вероятно, с этим связано различие масс-спектров отрицательных ионов РЗЭ соединений **2–4** и **5–7**. В последних отчетливо наблюдается пик с *m/z* 85, соответствующий иону **C** (схема 2). Учитывая, что для мочевин **5–7** отрицательный заряд в ионе $(M-H)^-$ локализован ближе к циклопропановому кольцу, а подобный анион согласно квантово-химическим расчетам [17] неустойчив, можно предложить направление фрагментации, представленное на схеме 2. Образование иона **C** из анион-радикала **A** может проходить как в две стадии с промежуточным образованием интермедиата **B**, так и одностадийно с одновременным разрывом обоих связей циклопропанового кольца и выбросом карбена R_1CR_2.



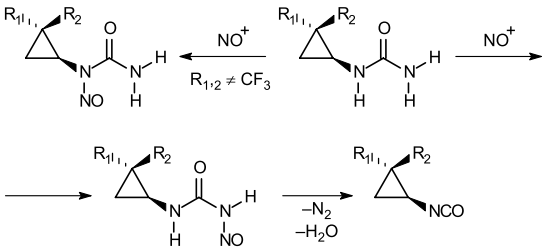
R_1 = CN, R_2 = H (**5**); R_1 = R_2 = Cl (**6**); R_1 = R_2 = CF_3 (**7**).

Схема 2

Следует отметить, что протекание перегруппировочных процессов в **7** связано с миграцией фторсодержащего фрагмента к атому азота. Возможно, что такие процессы протекают также через стадию образования промежуточного иона **B**.

Таким образом, процессы образования отрицательных ионов при РЗЭ соединений **2–7** существенно зависят от природы заместителей в циклопропановом кольце. В случае соединений **5–7**, содержащих электроноакцепторные заместители в циклопропановом кольце, образование ионов $(M-H)^-$ происходит за счет отрыва атома водорода от азота, соединенного с малым циклом, и эти ионы затем распадаются с выбросом карбеновых частиц R_1CR_2, давая в масс-спектре характерный пик с *m/z* 85. Напротив, при ионизации мочевин **2–4** анион $(M-H)^-$ образуется в результате отщепления атома водорода от NH_2-группы, и канал распада с выбросом карбена не реализуется.

Отметим, что предпочтительность элиминирования атома водорода от NH-группы коррелирует со снижением реакционной способности данной группы в реакциях электрофильного замещения. Так, нитрозирование мочевин **2–4** идет преимущественно по атому азота, связанному с малым циклом [6–8], и соответствующие N-нитрозо-N-циклопропилмочевины могут быть получены с выходами 60–70 %. Однако введение электроноакцепторных заместителей в малый цикл N-циклопропилмочевин приводит к появлению нового направления реакции, и NO^+ присоединяется не только к NH- но и к NH_2-группе. В результате выход целевых N-нитрозо-N-циклопропилпроизводных существенно снижается и при нитрозировании мочевины **5** и **6** он составляет 5 (см. параграф «Экспериментальная часть») и 30 % [5] соответственно, а аналогичная реакция с мочевиной **7** идет исключительно по концевой NH_2-группе (схема 3).



R_1 = R_2 = H (**2**); R_1 = CN, R_2 = H (**5**);
R_1 = R_2 = CH_3 (**3**); R_1 = R_2 = Cl (**6**);
R_1 = R_2 = Ph (**4**); R_1 = R_2 = CF_3 (**7**).

Схема 3

Таким образом, существует антибатная зависимость между возможностью нитрозирования N-циклопропилмочевин по NH-группе и наличием в масс-спектрах отрицательных ионов этих соединений фрагмента с *m/z* 85, появление которого обусловлено отрывом атома H от NH-группы с последующим распадом образовавшегося анион-радикала.

Список литературы

1. В.В. Лободин, А.Т. Лебедев, «Аналогия протекания мономолекулярных превращений органических соединений в растворе и в масс-спектрометрических экспериментах», *Масс-спектрометрия* **2**, 91–128 (2005).
2. А.Т. Лебедев, П.А. Шарбатян, А.Г. Казарян, А.М. Сипягин, В. Г. Карцев, В. С. Петросян, «Масс-спектрометрическое изучение реакции циклизации диазокетонов. 7. Фталимидоалкил-α-диазокетоны», *Химия гетероцикл. соединений*, 788–793 (1985).
3. А.Т. Лебедев, *Масс-спектрометрия в органической химии*, Бином, Москва, 2003.
4. В.В. Тахистов, Д.А. Пономарев, *Органическая масс-спектрометрия*, ВВМ, Санкт-Петербург, 2005.
5. В.П. Гольмов, «К механизму изомеризации циклических аминов. Действие едкого кали на нитрозоциклопропилмочевину», *Журн. общ. химии* **5,** 1562–1565 (1935).
6. Ю.В. Томилов, Е.В. Шулишов, И.П. Клименко, О. М. Нефедов, «1,3-Диполярное циклоприсоединение генерируемых *in situ* 2,2-диметил- и 2,2-дихлордиазоциклопропанов к 3,3-диметилциклопропену», *Изв. АН. Сер. хим.* 2698–2701 (1996).
7. W.M. Jones, M.H. Grasley, W.S. Brey, Jr., «The cyclopropylidene: generation and reactions», *J. Am. Chem. Soc.* **85,** 2754–2759 (1963).

8. И.П. Клименко, Ю.В. Томилов, О.М. Нефедов, «Образование и реакции замещенных диазоциклопропанов и ионов циклопропилдиазония», *Изв. АН. Сер. хим*. 226–231 (2004).

9. В.И. Иванский, И.А. Дьяконов, А.П. Кулешов, «Синтез 1-циано-2-карбоэтоксициклопропана из диазоуксусного эфира и акрилонитрила», *Журн. орг. химии* **7,** 2108–2110 (1971).

10. Y.M. Saunier, R.Danion–Bougot, D.Danion, R.Carrie, «Addition du diazomethane et du phenylazide au bis (trifluoromethyle)-3,3 acrylate de methyle et a ses derives. Obtention de cyclopropanes et d'aziridines fluores», *Tetrahedron* **32,** 1995–1999 (1976).

11. В.И. Хвостенко, *Масс-спектрометрия отрицательных ионов в органической химии*, Наука, Москва, 1981.

12. В.А. Мазунов, В. И. Хвостенко, *Приборы и техника эксперимента*, 1979.

13. M.W. Schmidt, K.K. Baldridge, J.A. Boatz, S.T. Elbert, M.S. Gordon, J.J. Jensen, S. Koseki, N. Matsunaga , K.A. Nguyen, S. Su, T.L. Windus, M. Dupuis, J.A. Montgomery, Jr., «General atomic and molecular electronic structure system», *J. Comput. Chem.* **14**, 1347–1363 (1993).

14. K. Grundstroem, R. Dahlbom, «Cyclopropane analogs to acetylenic oxtotremorine antagonists», *Acta Pharmaceutica Suecica* **9,** 491–498 (1972)..

15. И.И. Фурлей, Е.А. Бурмистров, Ф.З. Галин, В.Н. Искандарова, Г.А. Толстиков, «Резонансный захват электронов молекулами замещенных циклопропанов», *Изв. АН СССР, Сер. хим.* 2473–2478 (1987).

16. M.V.Muftakhov, Yu.V.Vasil'ev, V.A.Mazunov, «Determination of electron affinity of carbonyl radicals by means of negative ion mass spectrometry», *Rapid Commun. Mass Spectrometry* **13**, 1104–1108 (1999).

17. M.J. S. Dewar, D.J. Nelson, «Group States of Molecules. 60. A MNDO study of conformations of crotyl anion and a diaza analogue, of their BeH derivatives, and of the interconverasion of cyclopropyl anion and allyl anion», *J. Org. Chem*. **47**, 2614 (1982).

Письмо в редакцию

Масс-спектрометрическое исследование фрагментации фуллеренов при их скольжении вдоль углеводородной пленки

В.В. Комаров[а], А.М. Попова[а], Л. Шмидт[б], Х. Юнгклас[б], А. Цуляуф[б]

[а] *Научно-исследовательский институт ядерной физики им. Д.В. Скобельцина Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова, 119992 Москва, Россия. E-mail: popovakomarov@mail.ru.*

[б] *Факультет физической химии Филипс-университета, 35032 Марбург, ФРГ.*

Поступила в редакцию 15.04.2007 г.; после переработки – 18.07.2007 г.

Ключевые слова: *масс-спектрометрия, фрагментация фуллеренов C_{60}.*

Keywords: *mass spectrometry, fullerens C_{60} fragmentation.*

В настоящей работе получены масс-спектры продуктов фрагментации фуллеренов C^{+}_{60}. Спектры измерялись с помощью специальной установки Филиппс-университета (г. Марбург, ФРГ), в которой фрагментация ускоренных ионов происходила при их скольжении со скоростями ниже скорости Бора ($<10^8$ см $с^{-1}$) вдоль конвертора, покрытого углеводородной пленкой. Ранее эта установка использовалась для изучения спектров фрагментации различных пептидов. Продукты фрагментации (в данной работе − фуллеренов) регистрировались по времени пролета. Экспериментальные результаты обсуждаются на основе разработанной нами ранее теории накопления вибрационной энергии в углеводородных структурах в периодическом кулоновском поле.

Углеродные кластеры – фуллерены оказались предметом многочисленных экспериментальных и теоретических исследований, начиная со времени их обнаружения в 1985 г. [1]. Наиболее известным фуллереном является молекула C_{60}, геометрическая структура которой подобна футбольному мячу, поверхность которого состоит из 20 шестиугольных и 12 пятиугольных частей. Благодаря своей структуре и электронным свойствам, фуллерены обладают высокой стабильностью и практически не подвергаются фрагментации [2]. Основными задачами при исследовании фуллеренов и особенно фуллерена C_{60} является установление механизмов процессов фрагментации фуллеренов, процесса возбуждения углеродного кластера, транспорта внутренней энергии и ее локализации на отдельных связях, приводящей к их разрыву. Предполагается, что эти задачи могут быть решены путем анализа фотофрагментации фуллерена и, в частности, при изучении зависимости вероятности этого процесса от интенсивности потоков излучений и от времени его протекания.

К настоящему времени проведено большое число экспериментальных исследований фотопроцессов (ионизации и фрагментации), протекающих в фуллеренах при множественном захвате ИК фотонов из видимого спектра [3, 4], а также под действием УФ фотонов [5, 6]. Следует отметить, что во всех этих исследованиях указанные выше процессы анализировались, в основном, с микросекундными временами задержки после фемтосекундного или наносекундного импульса десорбирующего излучения. Такие процессы ионизации и фрагментации характеризуются возбуждением многих вибрационных состояний, возникающих в фуллеренах в результате релаксации электронных возбуждений. Анализы указанных фотопроцессов проводятся на основе статистических теорий молекулярных релаксаций [5, 6]. В работах [3, 7] имеются указания на существование процессов ионизации и фрагментации фуллеренов непосредственно в момент облучения, т.е. сверхбыстрых пикосекундных фотопроцессов, обусловленных, например, местным нагревом фуллерена.

В данной работе предлагается экспериментальный анализ распада фуллеренов с помощью специальной установки, позволяющей изучать фрагментацию полиатомных молекул в пикосекундные интервалы времени. В работе проводятся исследования распада фуллеренов в процессе их медленного скольжения ($\upsilon < 10^8$ см $с^{-1}$) вдоль органической пленки, молекулы которой содержат подструктуры углеводородов (C_nH_{2n}), $n >> 2$

Экспериментальная установка для масс-спектроскопического анализа фрагментации фуллеренов была сконструирована нами ранее для изучения фрагментации молекул различных пептидов и детально описана в работах [8−10]. В этой установке положительные ионы фуллеренов десорбировались с поверхности мишени под действием лазерного

излучения с длиной волны 335 нм, ускорялись до энергии 8 КэВ и направлялись на конвертор под углом 12° по отношению к нормали. Конвертор из полированного алюминия был покрыт пленкой вакуумного минерального масла, содержащего углеводороды $(CH_2)_n$ с длиной цепи $n \geq 30$. Для осуществления процесса скольжения фуллеренов вдоль поверхности конвертора без их проникновения в него, на последний подавался положительный потенциал и перед конвертором (в 7 мм от него) располагалась заземленная сетка. Таким образом на атомных расстояниях от конвертора падающие ионы имели нулевую нормальную составляющую скорости, что обеспечивало их скольжение вдоль конвертора. В нашем эксперименте заряженные фуллерены C_{60}^{+} имели скорость скольжения 1.18×10^6 см c^{-1} при энергии 500 эВ. Оценки показали, что во время скольжения центр масс фуллеренов находился на расстоянии ~0.4 нм от конвертора.

Действие суммарного кулоновского поля экранируемых атомов углерода, расположенных почти периодически на расстоянии $a \approx 0.25$ нм друг от друга [2], на поверхности фуллеренов, скользящих над диполями (C–H) углеводородных подструктур молекул поверхности конвертора, возбуждает в этих подструктурах коллективные колебательные состояния – эксимоли.

Метод анализа этого процесса детально рассмотрен в наших работах [11,12]. В основе метода лежит развитая нами ранее теория возбуждения коллективных колебательных состояний (эксимолей) по аналогии с теорией возбуждения электронных состояний (экситонов).

Время скольжения фуллеренов составляло порядка 10^{-12} с, что следует из уравнения для вероятности P_{01} возбуждения коллективного вибрационного состояния в молекулярных диполях в зависимости от скорости скольжения фуллеренов υ:

$$P_{01}(\upsilon)=\frac{B\omega_{ex}}{\upsilon\Theta}\left[\frac{E_{ex}-\hbar\upsilon\Theta}{\hbar\upsilon\Theta}\exp(-R\Theta)\right]^2,$$

$$B=\frac{(2\pi)^2}{3\hbar}\frac{M_{01}^2D_0^2Z^2e^2}{r_0^2c^3E_{ex}b},$$

$$\Theta=\left[\left(\frac{\omega_{ex}}{\upsilon}\right)^2+\left(\frac{1}{\alpha_{eff}}\right)^2\right]^{1/2},$$

где ω_{ex} и E_{ex} – частота и энергия вибрационного состояния; M_{01} – матричный элемент дипольного взаимодействия в осцилляторном приближении; α_{eff} – эффективный радиус экранирования среднего атомного заряда поверхности, Ze; b – постоянная распределения зарядов на поверхности; D_0/r_0 – постоянная диполей.

Детальный вывод этого уравнения приведен в работе [11]. Из него следует, что вероятность фрагментации в зависимости от скорости скольжения имеет максимум, что и было использовано в нашем эксперименте для достижения наибольшего выхода продуктов фрагментации.

За счет множественного рождения эксимолей в углеводородных подструктурах в пикосекундные интервалы времени происходят накопление энергии при относительном скольжении полиатомных молекул, имеющих такие подструктуры [8], и диполь-дипольная передача энергии в другие дипольные подструктуры молекул, что может привести к их диссоциации или к их электронному возбуждению

В соответствии с этой теорией, суммарная энергия эксимолей, возбужденых в подструктурах $(CH_2)_n$, $n \geq 30$ молекул поверхности конвертора, может безизлучательно перейти за счёт диполь-дипольного взаимодействия за время $\approx10^{-12}$ с в связиловушке этих молекул [11] или в π-электронное возбуждение фуллеренов, приводя к фрагментации и тех и других. Фрагменты регистрировались по времени пролета. Схема нашей установки позволяла регистрировать фрагментацию изучаемых ионов C_{60}^{+} в процессе их скольжения вдоль конвертора в пикосекундные интервалы времени.

Масс-спектры вторичных ионов, полученные при скольжении фуллеренов вдоль поверхности конвертора, покрытого плёнкой минерального масла, представлены на рис. 1а–1в. На рис. 1а приведе суммарный спектр вторичных ионов в диапазоне значений *m/z* от 0 до 800. На рис. 1б и 1в представлены с большим разрешением масс-спектры вторичных ионов в диапазоне *m/z* от 0 до 200 и от 550 до 800 соответственно. Указанные на рисунках значения *m/z* для наблюдаемых максимумов в приведенных спектрах позволяют отнести спектр ионов на рис. 1б к продуктам фрагментации углеводородных подструктур минерального масла и спектр ионов на рис. 1в к продуктам фрагментации фуллеренов.

Вид масс-спектров вторичных ионов, полученных при скольжении фуллеренов вдоль поверхности конвертора в пикосекундные интервалы времени, свидетельствует о накоплении в этом процессе внутримолекулярной энергии. достаточной для фрагментации молекул поверхности и самих фуллеренов. Применяя метод, детально изложенный в работе [12], можно рассчитать, что в указанном процессе в углеводородной подструктуре минерального масла, покрывающего поверхность конвертора, содержащей цепь из 60 диполей (C–H), возбуждаются эксимоли с энергией E_{ex} = 0.07 эВ. Этот процесс вибрационного возбуждения молекул конвертора происходит при действии на диполи (C–H) суммарного кулоновского поля экранированных зарядов ядер C^{12} фуллеренов. Оценки вероятности P_{01} возбуждения эксимолей в углеводородных цепях молекул конвертора в рассматриваемом эксперименте с использованием приведеного выше уравнения показали, что эта вероятность близка к единице. В углеводородной подструктуре с числом диполей $M_г \sim 60$ возбуждаются эксимоли, число которых K можно определить по формуле (9) из работы [12]: $K = P_{01}M_г\tau_{ск}/\tau_{ex}$.

Внутренняя энергия углеводородной подструктуры минерального масла может быть определена из соотношения $E(K) = E_{ex}K$, равного

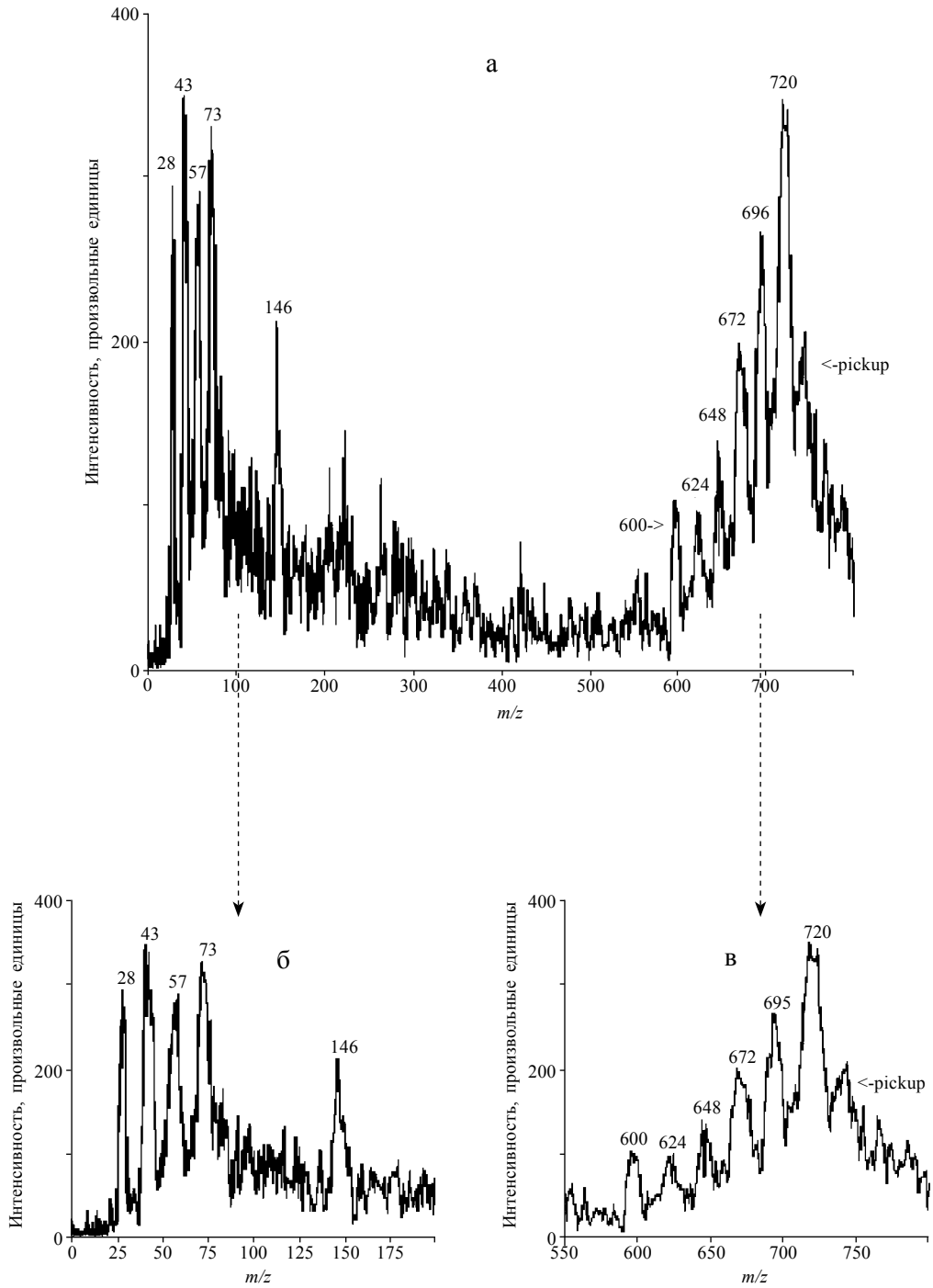


Рис. 1. Полный спектр продуктов фрагментации фуллеренов C_{60} (а), увеличенная часть спектра в диапазоне m/z 0–200 (б) и 550–800 (в).

в нашем эксперименте ≈55 эВ. Энергия эксимолей, накопленная в молекулах минерального масла, может перейти за счет диполь-дипольного взаимодействия в связи-ловушке (C–C), соединяющего конечные или боковые группы атомов CH_3, C_2H_4, C_3H_7 и т.п. в подструктурах минерального масла. Энергия эксимолей может также трансформироваться за счет диполь-дипольного взаимодействия в электронное возбуждение фуллеренов, вызывая их локальный нагрев. В результате возможна диссоциация связей-ловушек (C–C) с выходом вторичных ионов указанных выше атомных групп (рис. 1б).

Возможна также диссоциация фуллеренов

$$C_{60}^{+} \xrightarrow{+E(K)} C_{60-2n}^{+} + C_{2n}\,,$$

n = 1, 2, 3, 4 и 5 (см. рис. 1в). Отметим, что такие диссоциации происходят в пикосекундные интервалы времени, что исключает их объяснение с помощью статистических моделей.

Замеченный процесс сверхбыстрой фрагментации фуллеренов в нашем эксперименте, отражающейся в регистрируемых масс-спектрах (рис. 1), может быть объяснен с помощью механизма аккумулирования энергии в углеводородных подструктурах минерального масла, покрывающего конвертор, вдоль которого

скользят фуллерены, и диполь-дипольной передачи этой энергии фуллеренам. Эксперимент показывает существование сверхбыстрой (пикосекундной) фрагментации фуллеренов при их скольжении вдоль углеводородной пленки. Эксперимент подтверждает также справедливость развитой нами ранее модели аккумулирования и передачи внутримолекулярной энергии при относительном скольжении полиатомных органических молекул, содержащих цепи упорядочных биатомных диполей.

Список литературы

1. H. Kroto, «Space, stars, C_{60}, and soot», *Science* **243**, 1139–1145 (1988).
2. R.E. Stanton, «Fullerene structures and reactions; MNDO calculations», *J. Phys. Chem.* **96,** 111–118 (1992).
3. S.C. O´Brien, J.R. Heath, R.F. Curl, R.E. Smalley, «Photophysics of Buckminster fullerene and other carbon cluster ions», *J. Chem. Phys*. **88,** 220–230 (1988).
4. P. Wurz, K.R. Lykke, «Multiphoton excitation, dissociation and ionization of C_{60}», *J. Phys. Chem.* **96,** 10129–10139 (1992).
5 R.K. Yoo, B. Ruscic, J. Berkowitz, «Vacuum ultraviolet photoionization mass-spectrometric study of C_{60}», *J. Chem. Phys*. **96,** 911–918 (1992).
6. J. Kon, T. Mori, Y. Kubozono, K. Mitsuke, «Photofragmentation of C_{60} in the extreme ultraviolet: statistical analysis on the appearance energies of $C_{60\text{-}2n}^{z+}$ ($n \geq 1$, $z = 1–3$)», *Phys. Chem. Chem. Phys.* **7,** 119–123 (2005).
7. H. Hohmann, C. Callegry, S. Furrer, E.E.B. Campbell, I.V. Hertel «Photoionization and fragmentation dynamics of C_{60}», *Phys. Rev. Lett*. **73**, 1919–1922 (1994).
8. V.V. Komarov, A.M. Popova, I.O. Stureiko, L. Schmidt, H. Jungclas, «Resonant dissociation of polyatomic surface molecules by hyperthermal ions», *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **15,** 1625–1633 (2001).
9. A. Wieghaus, L. Schmidt, A.M. Popova, V.V. Komarov, H. Jungclas, «Grazing incidence surface induced dissociation of protonated peptides generated by matrix-assistend laser desorption/ionization», *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **14,** 1654–1661 (2000).
10. A. Wieghaus, L. Schmidt, A.M. Popova, V.V. Komarov, H. Jungclas «Fragmentation of polyatomic molecules by grazing incidence surface induced dissociation (GI-SID)», *J. Mass Spectrom*. **34,** 1178–1184 (1999).
11. H. Jungclas, A. Wieghaus, L. Schmidt, A.M. Popova, V.V. Komarov, «Fragmentation of molecules sliding along surfaces in the speed range above thermal and below Bohr velocity», *J. Am. Soc. Mass Spectrom*. **10,** 471–482 (1999).
12. H. Jungclas, L. Schmidt, V.V. Komarov, A.M. Popova, I.O. Stureiko, «Super fast selective fragmentation of organic molecules induced by IR radiation», *Масс-спектрометрия* **2,** 129–139 (2005).

Обзор

Исследование углеводородного состава средних и высококипящих фракций грузинских нефтей методами масс- и хроматомасс-спектрометрии

Э.Н. Топурия, Э.Г. Леквейшвили, Н.Т. Хецуриани, И.Л. Эдилашвили

Институт физической и органической химии им. П.Г. Меликишвили, Джикия 5, 0186 Тбилиси, Грузия. E–mail: physorgchem@pochta.ru

Поступила в редакцию 15.07.2007 г.; после переработки 31.07.2007 г.

Обзор посвящен применению масс-спектрометрических методов к исследованию средних и высококипящих фракций (200–250 °C, 250–350 °C и 350–540 °C) ряда нефтей Грузии с целью получения информации о групповом и индивидуальном углеводородном составе. Продемонстрирована необходимость использования дополнительной разделительной техники для эффективного масс-спектрометрического изучения таких трудно анализируемых фракций. Описана идентификация и установление структуры большого числа парафинов нормального и изо-строения, полициклических нафтеновых углеводородов, содержащих от двух до пяти циклов (в том числе полиэдранов, каркасных углеводородов), полициклических ароматических углеводородов, относящихся к ряду фенантрена. Особое внимание уделено идентификации реликтовых углеводородов (изопренаны, стераны, тритерпаны), которые можно использовать как «биомаркеры» при сопоставлении генетических типов нефтей. Описано установление строения ряда новых соединений, рассмотрены масс-спектральные характеристики вновь обнаруженных типов полициклических углеводородов.

Ключевые слова: *нефти, полициклические нафтены, полиэдраны, реликты, полициклические ароматические углеводороды, масс-спектрометрия, газохроматография/масс-спектрометрия.*

The application of mass spectrometric methods for the investigation of average and high-boiling fractions (200–250 °C, 250–350 °C and 350–540 °C) of Georgian oils is reviewed; a special attention is given to the information regarding the group and individual hydrocarbon composition. Additional separation techniques for efficient mass spectrometric study of such complex oil fractions are validated, and its importance is demonstrated. Identification and structure elucidation of various isomeric alkanes, polycyclic naphtenic hydrocarbons containing from two to five rings (including compounds with polyedrane and cage structures), and phenanthrene series polycyclic aromatic hydrocarbons is described. Methods for identification of relict hydrocarbons, such as isoprenanes, steranes, triterpanes, and their use as «biomarkers» for comparison of genetic types of Georgian oils are discussed. The use of mass spectrometry for structure elucidation of a number of new compounds of petrochemical interest is described, and fragmentation pathways of newly discovered polycyclic hydrocarbons are considered.

Keywords: *crude oils, polycyclic naphthenes, polyedranes, relicts, polycyclic aromatics, mass spectrometry, gas chromatography/mass spectrometry.*

СОДЕРЖАНИЕ

1. Введение
2. Полициклические нафтены средних фракций нефтей
2.1. Задачи, объекты и методы исследования
2.2. Результаты исследования
2.3. Основные выводы
3. Реликтовые углеводороды нефтей
3.1. Задачи и объекты исследования
3.2. Результаты исследования
3.3. Основные выводы
4. Ароматические углеводороды высококипящих фракций нефтей
4.1. Групповой состав ароматических углеводородов
4.2. Фенантреновые углеводороды; выделение и исследование
4.3. Сравнительная характеристика состава высококипящих нефтяных фракций, смолисто–асфальтеновых соединений и природных битумов

1. Введение

Систематические исследования нефтей Грузии начались в 30-х годах прошлого века и продолжаются до сих пор. В результате многолетних работ был накоплен богатый материал, характеризующий химическую природу нефтей всех известных месторождений страны [1–4]. Согласно этим исследованиям нефти Грузии значительно отличаются своими физико–химическими показателями и, несмотря на сравнительно близкое расположение месторождений, относятся ко всем известным типам: $А^1$, $А^2$, $Б^1$ и $Б^2$ (по классификации А.А. Петрова [5, 6]). Особенностью всех нефтей является небольшое содержание серы (<0.3 %); в основном они относятся к парафинистым, малосмолистым нефтям с большим выходом светлых фракций и в этом отношении являются ценным сырьем для химической переработки и нефтехимического синтеза. Исследования, проводимые грузинскими химиками часто совместно с русскими учеными, велись в различных направлениях рационального освоения в основном малодебитных грузинских нефтей. При этом были изучены особенности и специфические свойства (флуоресцентные, фотохимические и др.) как самих нефтей, так и выделенных из них отдельных углеводородов или углеводородных групп и разработаны новые комплексные методики и аппаратурные новшества [1–10].

В настоящем обзоре представлены исследования, которые были проведены с применением современных, наиболее информативных методов анализа: масс-спектрометрии (**МС**), газохроматографии/масс-спектрметрии (**ГХ/МС**), газо-жидкостной хроматографии (**ГЖХ**), люминесцентной спектроскопии и спектрофотометрии. В работах, выполненных грузинскими авторами, приведены результаты изучения ряда грузинских нефтей, причем упор был сделан на анализе полициклических нафтенов, в основном мостиковой, компактной структуры средних фракций (200–250 °С и 250–350 °С); реликтовых углеводородов фракций (начало кипения 200 °С и выше 420 °С) и полициклических ароматических углеводородов, в частности, фенантренов, их бензологов и нафтенологов фракции (350–540 °С). При этом было проведено определение как группового углеводородного состава нефтяных фракций, так и присутствующих в них индивидуальных соединений с однозначной расшифровкой их структуры и пространственного строения.

Интерес к исследованию полициклических нафтенов средних фракций нефтей был вызван скудостью информации как об указанных фракциях, так и о присутствующих в них три-, тетра- и пентациклоалканах компактной структуры состава C_{11}–C_{15}. Изучение этих углеводородов в нефтях Грузии было проведено впервые на молекулярном уровне. Важность тщательного изучения сложного углеводородного состава нефтей создает предпосылки к нахождению новых органических соединений и, с другой стороны, новые перспективы для освоения нефтяного сырья и получения полезных данных для решения различных геохимических проблем [11–12]. Указанные углеводороды (адамантаноподобные, каркасные соединения), благодаря уникальности свойств и строения, нашли широкое применение как во многих процессах органической химии и нефтехимии, так и в ряде отраслей промышленности. Эти углеводороды представляют интерес и с точки зрения геохимической истории

Таблица 1. Характеристика исследованных нефтей.

Нефть	Начало кипения, 20 °С,	Плотность, кг/м^3 при 20 °С	Смолы и асфальтены, мас. %	Сера, мас. %	Фракционный состав нефти		Содержание углерода в структурных фрагментах, %			Содержание классов углеводородов, мас. %	
					Пределы выкипания фракций, °С	Выход на нефть, мас. %	C_A	C_P	C_N	Ароматические углеводороды	Парафино-цикло-парафиновые углеводороды
Тарибанская	55	890.4	8.5; 6.3	0.2	55–100 100–150 150–200 200–250 250–350	6.3 8.7 11 11.5 13	21.8	58.0	20.2	20	80
Сацхенисская	30	837.9	2.37 0.31	0.26	30–100 100–150 150–200 200–250 250–350	5 33 21 10.7 9.0	36.8	15.5	47.7	60	40

нефти. Отсутствие подобных соединений в природной биомассе позволило предположить, что они являются продуктами катагенного преобразования углеводородов иного строения и могут указывать на глубину химической эволюции нефтей. Любые исследования в области указанных углеводородов создают возможность обнаружения в нефти более крупных соединений этого класса, свойства и области применения которых могут оказаться весьма интересными [13–14].

Изучение реликтовых углеводородов, хемофоссилий, сохранивших определенные черты строения исходного органического вещества нефтематеринских пород, позволяет получить информацию, на основе которой возможно проводить генетическую типизацию нефтей и различные геохимические корреляции, помогающие решать проблемы нефтехимии, нефтедобывающей и нефтеперерабатывающей промышленности [11–15]. Проведенные исследования позволили расширить знания о природе нефтей данного региона с геохимических позиций [5].

Широкомасштабные исследования ароматических углеводородов обусловлены решением проблем охраны окружающей среды, возможностью использования данных о составе полициклических ароматических углеводородов при прогнозировании и поисках нефтяных залежей, установлением генезиса нефтей, а также совершенствованием процессов их переработки. Привлекают внимание работы по использованию определенных соотношений фенантреновых углеводородов в качестве показателей степени созревания нефтей, а также для оценки влияния биодеградации и проведения взаимных геохимических корреляций в системах нефть-нефть, нефть-органическое вещество [16]. Следует также обратить внимание на некоторые практические аспекты применения ароматических углеводородов: являясь сравнительно дешевым низкоплавким материалом, стойким к высоким температурам и облучению, алкилфенантреновая фракция применяется для охлаждения бетонных стенок ядерных реакторов и в качестве сырья для радиационностойких консистентных смазок и высококачественной сажи [17–18].

2. Полициклические нафтены средних фракций нефтей

2.1. Задачи и объекты исследования

Основную массу углеводородов нефтей составляют нафтены, которые во многом определяют ценные химические и технологические свойства нефтепродуктов. Следовательно, их изучение является неотъемлемой частью проблемы нефтехимии и нефтепереработки. Низшие нафтены (C_5–C_9), выкипающие до температуры 200 °C, изучены достаточно хорошо [11, 12]. В средних фракциях значительно возрастает сложность состава и строения представленных в них три-, тетра- и пентациклических нафтенов, которые в силу многообразия их структурных и пространственных изомеров являются наименее изученными соединениями, за исключением может быть адамантановых.

Восьмидесятые годы прошлого столетия в органической химии характеризуются бурным развитием химии адамантана, трицикло[3,3,1,1^{3,7}]декана (состав $C_{10}H_{16}$), имеющего чисто мостиковый тип строения. Впервые этот углеводород был обнаружен в нефти, что дало начало развитию нового направления органической химии – химии полиэдранов, или так называемых каркасных соединений. В указанный выше период в Грузии также были проведены исследования адамантановых углеводородов в различных нефтях страны [5, 19–21]. В последующие годы продолжались исследования более высокомолекулярных полициклических нафтенов в средних (200–350 °C) и выше 420 °C фракциях нефтей. Эти работы изложены ниже.

В настоящей главе рассмотрены результаты исследования индивидуального углеводородного состава полициклических нафтенов состава C_{10}–C_{16} средних фракций (200–250 °C и 250–350 °C) двух разнотипных нефтей Грузии Тарибана и Сацхениси [6, 22–28]. Исследование было проведено в лаборатории химии нефти Института физической и органической химии им. П.Г. Меликишвили АН Грузинской ССР и в лабораториях химии нефти и спектральных исследований Института нефтехимического синтеза им. А.В. Топчиева РАН.

Исследованные нефти относятся к третичному периоду, имеют различную глубину залегания и возраст вмещающих пород. Тарибанскую нефть, одну из издавна известных нефтей Красных колодцев, отбирали на Ширакской долине из отложений верхнего сармата эльдарской свиты, скв. 23, на глубине 2 345–2 374 м; а сацхенисскую нефть, скв. 3, – в селе Сацхениси в окрестностях Тбилиси, из отложений верхнего олигоцена майкопской толщи, с глубины 1 400 м. Первая из них является высокопарафинистой нефтью, а вторая – нафтено-ароматической, так называемой «белой» нефтью с большим выходом светлых фракций. Характеристика нефтей Тарибана и Сацхениси приведена в табл. 1. Согласно «Химической типизации нефтей» [6], исследованные нефти отнесены к двум противоположным химическим типам, тарибанская – к типу А[1], а сацхенисская – к типу Б[2] .

2.2. Методы и результаты исследования

Для изучения индивидуального углеводородного состава полициклических нафтенов средних фракций нефтей использовались современные методы разделения и исследования в таком комплексе, чтобы можно было достигнуть наибольшей дифференциации по типу строения молекул сложных углеводородных смесей. При этом учитывалось, что чем больше степень дифференциации исследуемых объектов по определенным специфическим показателям, тем эффективнее методы их анализа.

В качестве основного метода разделения исследованных углеводородных смесей, установления строения или идентификации индивидуальных компонентов использовалась ГХ/МС – один из наиболее эффективных методов анализа сложных смесей органических соединений, который сочетает в себе такую высокоэффективную разделительную технику как ГЖХ и высокоинформативный метод определения структуры – МС [29–32]. Благодаря совокупности аналитических возможностей МС и ГЖХ, этот комбинированный метод, как наиболее высокочувствительный и не требующий предварительного выделения индивидуального вещества, широко вошел в практику исследования нефтей, повзволяя проводить исследования на молекулярном уровне [5, 25, 27, 33–46]. В этой связи большое значение имело накопление сведений о закономерностях диссоциативной ионизации индивидуальных углеводородов разного типа в условиях ионизации электронами и использование этих данных для идентификации соответствующих им нефтяных аналогов.

Не менее важную роль в исследованиях играла масс-спектрометрия с прямым вводом в ионный источник, которая использовалась для определения структурно-группового состава фракций без их дополнительного разделения.

Нужно подчеркнуть, что отмеченная выше исключительная сложность состава исследованных фракций потребовала привлечения дополнительных методов их выделения, обогащения и разделения

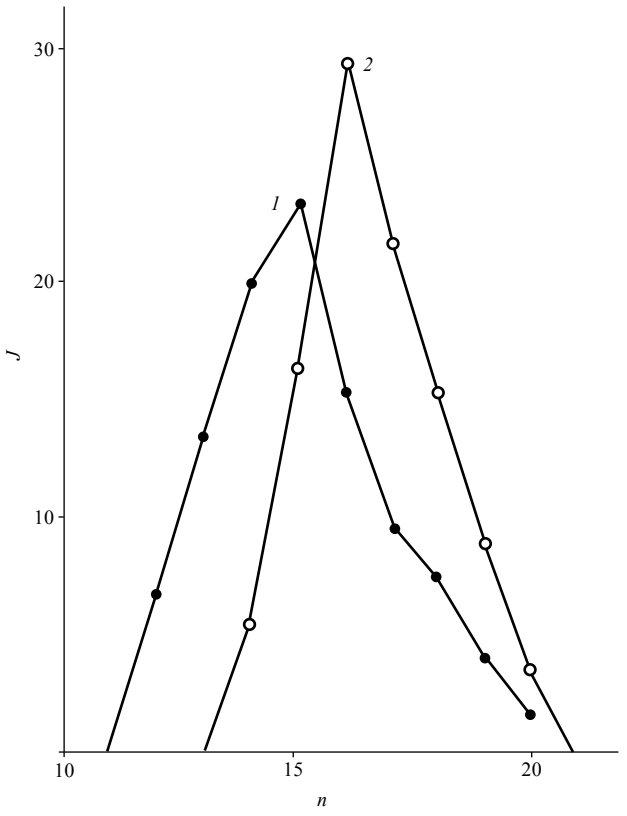


Рис. 1. Молекулярно-массовое распределение тетрацикланов *(1)* пентацикланов *(2)* нафтенового концентрата (250–350 °С) тарибанской нефти. *n* – число атомов С в молекуле, *J* – интенсивность пиков молекулярных ионов в %.

перед анализами методом ГХ/МС. Методика разделения фракции для получения из них нафтеновых концентратов включала дистилляцию, деароматизацию адсорбционной хроматографией на силикагеле, разделение полученных парафино-циклопарафиновых (**ПЦП**) частей насыщенных фракций методом термодиффузии (**ТДФ**). При исследованиях нефтей одной из трудно разрешаемых проблем является раздельное определение изопарафинов и циклопарафинов в зависимости от степени их цикличности. Разделение методом ТДФ позволяет успешно разрешать указанную проблему [11–12]. При удачном подборе оптимальных условий (температурного градиента, времени и кратности деления) и эффективных колонок, становится возможным из нефтяных фракций выделять концентраты тех или иных углеводородных типов [5, 22–24, 40, 41, 45–48]. В рассматриваемых иследованиях ТДФ служила главным методом разделения. Для этого были применены микроколонки оригинальной конструкции, сконструированные и изготовленные в лаборатории химии нефти ИФОХ им. П.Г. Меликишвили [48]. Концентрирование полициклических нафтенов было проведено трехстадийной ТДФ. Смеси конечных термодиффузионных фракций (9+10), представляли собой концентраты полициклических нафтенов.

Кроме того, для большей эффективности использования ГХ/МС при анализе нафтеновых концентратов их подвергали экстракционной кристаллизации с тиокарбамидом. Авторы многих работ [12, 26, 40, 45, 47, 49–51] с успехом применяли эту методику для разделения, очистки, выделения и идентификации различных соединений, таких, например, как гомологи адамантана и подобные им углеводороды нефтей. В отличие от существующих вариантов в представленном исследовании были использованы большие объемные соотношения фракция : тиокарбамид = 1 : 1 вместо 1 : 10 [24–26]. В результате стало возможным выделять полицикланы определенных рядов. Дальнейшее исследование экстрактов показало, что углеводороды этих рядов представляли полициклические нафтены с наиболее компактной структурой адамантанового типа строения, сечения молекул которых соответствовали размерам канала включения, образуемого тиомочевиной.

Как уже отмечалось, в цитируемых работах широко применялся метод МС для оценки группового состава образцов, поэтапно получаемых в ходе разделения, а также термодиффузионных фракций на всех стадиях процесса, что дало возможность следить за степенью концентрирования полициклоалканов. Характеристика насыщенных фракций приведена в табл. 2, а результаты анализа группового состава нафтеновых концентратов, полученные также методом МС, приведены в табл. 3. Эти данные подтверждают, что из насыщенных фракций исследованных нефтей были выделены узкие (90 %) концентраты полициклических нафтенов, содержащие в основном, би-, три-, тетра-

и пентациклоалканы (фракция 200–250 °С) и три-, тетра- и пентациклоалканы (фракция 250–350 °С). В результате изучения молекулярно-массового распределения этих углеводородов было показано, что в нафтеновом концентрате тарибанской нефти молекулярные массы тетра- и пентациклоалканов (C_nH_{2n-6} и C_nH_{2n-8}) были сравнительно малы и соответствовали 13–18 и 15–19 атомам углерода в молекуле соответствненно (рис. 1). Следовательно, они не могли содержать ката-конденсированные шестичленные кольца, которые должны были включать как минимум по 18 и 22 атома углеводорода (в молекулах тетра- и пентациклоалканов соответственно). Это значило, что они состояли из мостиковых, или компактных структур типа адамантановых, в основном не содержащих длинных боковых цепей. Подобные заключения были сделаны и для соответствующей фракции сацхенисской нефти. Как видно из табл. 3, большая часть трициклоалканов в нафтеновых концентратах фракций (250–350 °С) обеих нефтей была представлена гомологами адамантана. Обнаружены также значительные содержания пентациклоалканов.

Перед хроматомасс-спектрометрическим анализом конечные продукты разделения методом ТДФ предварительно анализировались методом ГЖХ на капиллярных колонках (60 и 40 м × 0,25 мм, с апьезоном *L*) при линейном программировании температуры. Хроматограммы обычно свидетельствовали об очень сложном составе, представляя собой, по существу, сплошной «горб». Работать с такими фракциями с целью определения их индивидуального состава очень сложно, так как наличие фона затрудняет качественную интерпретацию хроматограмм и анализ масс-спектров при использовании ГХ/МС. Хроматограммы же экстрактов, полученных аддуктообразованием с тиокарбамидом, были намного проще по составу, индивидуализированы и нафтеновый фон в них был значительно понижен.

Методами ГЖХ и ГХ/МС были исследованы, в частности, углеводороды, образующие комплекс с тиокарбамидом, выделенные из фракции 200–250 °С тарибанской нефти (образец I, рис. 2), и углеводороды, не образующие комплекс с тиокарбамидом (образец II); аналогичные образцы

Таблица 2. Характеристика парафино–циклопарафиновой (**ПЦП**) и изопарафино-циклопарафиновой (**ИПЦП**) частей насыщенных фракций.

Фракции, °С	Нефть	ПЦП					ИПЦП		
		Групповой состав, мас. % (по масс-спектральным данным)					Выход фракции, мас. %	n_D^{20}	Плотность, кг м$^{-3}$ при 20 °С
		Парафины	Моноциклоалканы	Бициклолканы	Трициклолканы	Тетрациклолканы			
200–250	Тарибанская	66	22	7	4	1	25	1.4486	783.0
	Сацхенисская	32	36	20	9	3	30	1.4703	780.0
250–350	Тарибанская	60	11	13	8	8	13	1.4495	797.0
	Сацхенисская	47	28	16	7	2	9	1.4536	880.0

Таблица 3. Структурно-групповой состав нафтеновых концентратов, выделенных из насыщенных средних фракций (определено методом масс-спектрометрии).

Полициклические нафтены	Состав нафтеновых концентратов, мас. %			
	Тарибанская нефть		Сацхенисская нефть	
	200–250 °С	250–350 °С	200–250 °С	250–350 °С
Моноциклические	10	–	12	–
Бициклические	34	3	36	8
Трициклические	40	18	41	42
в том числе:				
Адамантановые	18	9	21	20
Тетрациклические	14	50	11	31
Пентациклические	2	24	–	18
Гексациклические	–	5	–	1

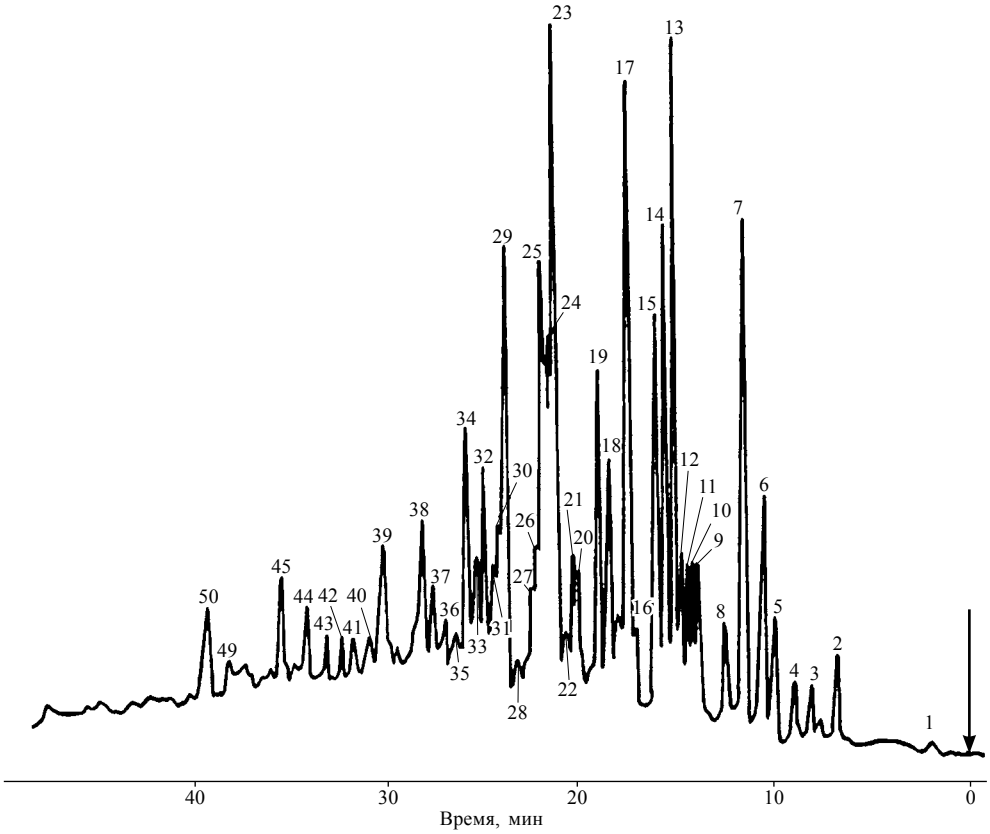


Рис. 2. Хроматограмма (капиллярная колонка 60 м × 0.25 мм, апьезон *L*, линейное программирование температуры от 120 °С со скоростью 2 °С мин$^{-1}$) углеводородов (нафтенового концентрата), образующих комплекс с тиокарбамидом (фракции 200–250 °С тарибанской нефти). Отнесение пиков дано в табл. 4.

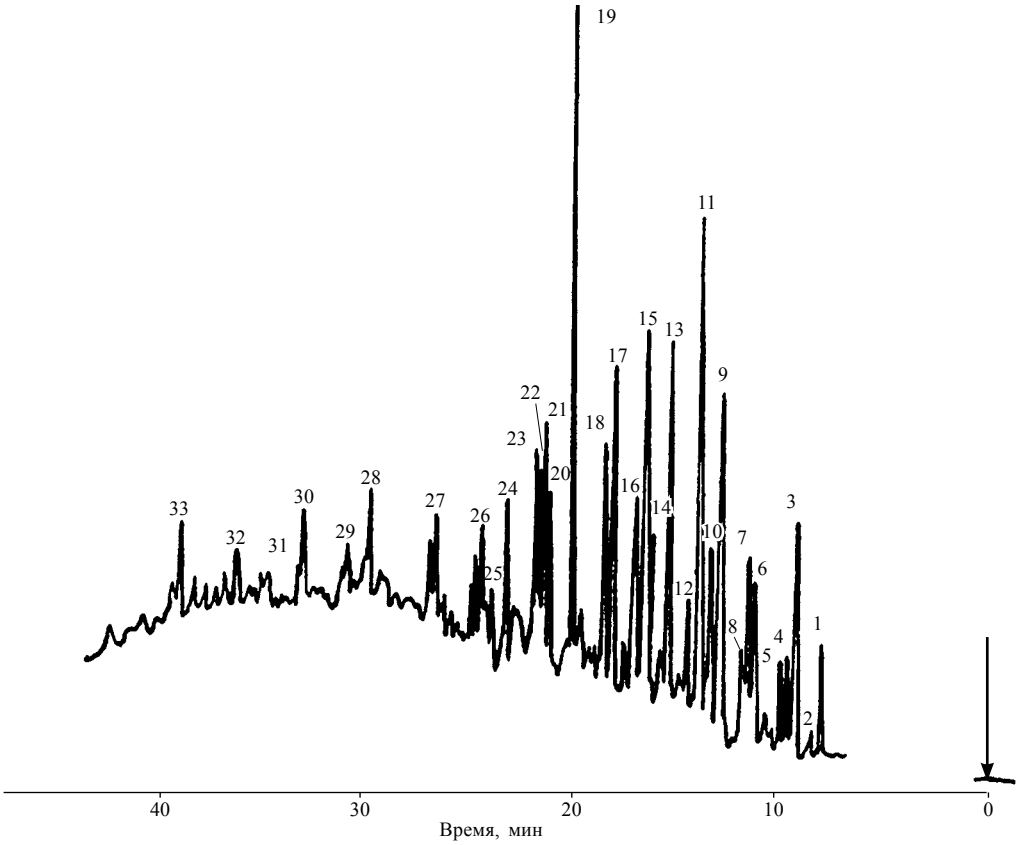


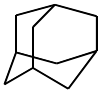
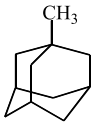
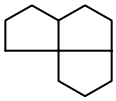
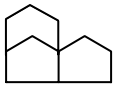
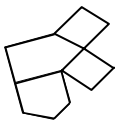
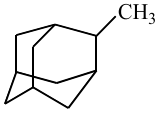
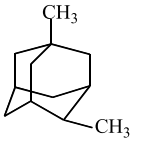
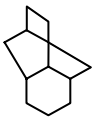
Рис. 3. Хроматограмма (капиллярная колонка 40 м × 0,25 мм, апьезон *L*, линейное программирование температуры от 130 °С со скоростью 3 °С мин$^{-1}$) углеводородов (нафтенового концентрата тарибанской нефти), образующих комплекс с тиокарбамидом (фракции 250–350 °С). Отнесение пиков дано в табл. 4.

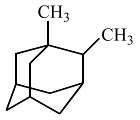
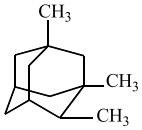
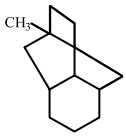
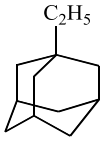
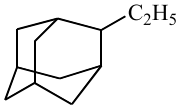
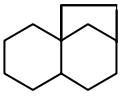
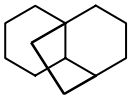
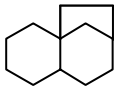
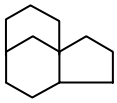
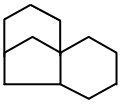
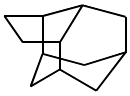
из сацхенисской нефти (образец III и образец IV); нафтеновый концентрат, выделенный из фракции 250–350 °С тарибанской нефти (образец V) и углеводороды, образующие комплекс с тиокарбамидом (образец VI, рис.3); аналогичные образцы из сацхенисской нефти (образец VII, VIII, рис. 4).

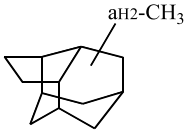
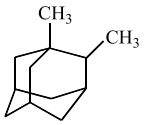
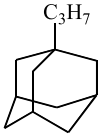
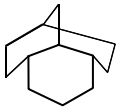
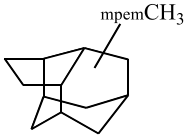
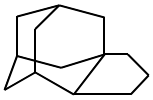
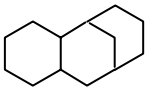
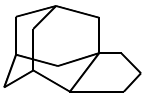
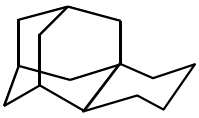
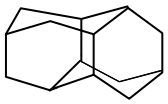
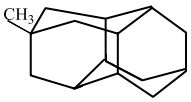
Во всех исследованных образцах на основе анализа полученных масс–спектров (для основных хроматографических пиков) были обнаружены 70 би-, три-, тетра- и пентациклических нафтенов состава C_{10}–C_{16}. Интерпретация этих спектров, сопоставление их с масс-спектрами модельных аналогов, а также известных нефтяных углеводородов, в сочетании с хроматографическими индексами удерживания, позволили идентифицировать 42 углеводорода, причем некоторые из них определены в нефтях впервые. Шесть бициклических углеводородов, не образующих комплекса с тиокарбамидом, идентифицированные в нафтеновых концентратах иследованных нефтей (образцы II и IV), рассмотрены в следующей главе. Отметим, что в процессе идентификации применяли метод добавления эталонных углеводородов и была учтена способность углеводородов к комплексообразованию с тиокарбамидом.

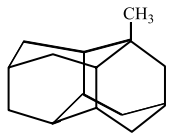
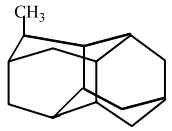
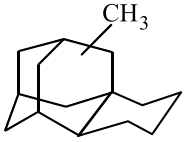
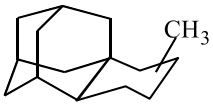
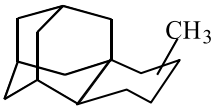
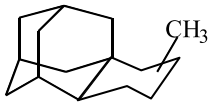
В табл. 4 представлены характеристические масс-спектры идентифицированных углеводородов, их брутто-формулы, номера пиков углеводородов на соответствующих хроматограммах (номера рисунков), где они были определены, и ссылки на

Таблица 4. Полициклические нафтены, идентифицированные в средних фракциях тарибанской и сацхенисской нефтей.

№	Наименование соединения. № пика (рис)[a], (образец)	Структурная и брутто-формулы	*m/z* (интенсивность, %)	Литературный источник
1	Адамантан 6(2); (III)	 $C_{10}H_{16}$	136($M^{+\cdot}$;100). 135(29), 121(12), 108(5), 107(13), 95(28), 94(30), 93(50), 92(8), 91(9), 81(18), 80(32), 79(46), 67(25)	38–39, 47, 51–54
2	1-Метиладамантан 7(2); (III)	 $C_{11}H_{18}$	150($M^{+\cdot}$;14), 136(12), 135(100), 107(10), 93(24), 81(7), 79(17), 67(10)	47, 51, 53–55
3	Трицикло[6,3,0,$0^{1,5}$]-ундекан 8(2)	 $C_{11}H_{18}$	150($M^{+\cdot}$;52), 136(3), 135(29), 123(10), 122(100), 121(54), 108(10), 107(95), 93(74), 80(40), 79(15), 67(35)	39, 41, 45
4	Трицикло[5,3,1,$0^{1,5}$]-ундекан 9(2)	 $C_{11}H_{18}$	150($M^{+\cdot}$;100), 136(8), 135(78), 122(79), 121(82), 108(10), 107(94), 93(68), 81(64), 80(53), 79(62), 67(55)	11, 41–42
5	Трицикло[5,2,2,$0^{3,7}$]-ундекан 10(2)	 $C_{11}H_{18}$	150($M^{+\cdot}$;100), 135(28), 122(70), 121(33), 109(23), 108(23), 107(30), 95(37), 94(43), 92(33), 91(13), 88(24), 82(24), 81(74), 80(33), 79(37), 67(65)	38–39, 41, 42
6	2-Метиладамантан, 13(2); 1(3) (III,VIII)	 $C_{11}H_{18}$	150($M^{+\cdot}$;65), 136(10), 135(100), 107(14), 93(23), 81(20), 80(14), 79(35), 67(33)	14, 39, 41, 45, 47, 51, 54–56
7	*транс*-1,4-Диметиладамантан 15(2); 2(3); (III)	 $C_{12}H_{20}$	164($M^{+\cdot}$;14), 150(13), 149(100), 136(2), 135(6), 122(3), 121(7), 107(18), 96(5), 95(7), 94(6), 93(39), 91(11), 81(20), 79(17), 77(10), 67(16)	14, 39, 41, 45, 47, 51, 54, 56
8	Трицикло-[5,3,1,$0^{3,8}$]-ундекан 17(2); (III)	 $C_{11}H_{18}$	150($M^{+\cdot}$;100), 135(16), 122(67), 121(53), 109(20), 108(21), 107(28), 96(10), 95(22), 94(31), 93(41), 91(10), 88(6), 81(50),80(66), 79(42), 69(9), 68(15), 67(49), 66(23)	14, 39, 42–43

№	Наименование соединения. № пика (рис)[a], (образец)	Структурная и брутто-формулы	*m/z* (интенсивность, %)	Литературный источник
9	1,2-Диметиладамантан 18(2); 2(4)	 $C_{12}H_{20}$	164($M^{+\cdot}$;18), 150(10), 149(100), 107(13), 93(25), 79(16), 67(19)	14, 39, 41, 45, 51, 56
10	1,3,4-Триметиладамантан 5 (4)	 $C_{13}H_{22}$	178($M^{+\cdot}$;12), 163(100), 149(15), 135(9), 121(6), 107(35)	14, 39, 54
11	1-Метилтрицикло-[5,3,1,$0^{3,8}$]ундекан 4(2)	 $C_{12}H_{20}$	164($M^{+\cdot}$;100), 149(85),1 35(45),1 21(65), 120(33), 107(20), 93(73), 79(55)	11, 39, 43, 45
12	1-Этиладамантан 19(2); (III)	 $C_{12}H_{20}$	164($M^{+\cdot}$;4), 136(12), 135(100), 107(6), 93(14), 91(6), 79(19), 67(10), 55(5), 41(8)	14, 39, 41, 45, 47, 51–53
13	2-Этиладамантан 21(2); 5(3); (III)	 $C_{12}H_{20}$	164($M^{+\cdot}$;35), 136(10), 135(100), 121(10), 107(13), 93(25), 91(10), 81(15), 79(28), 67(30)	39,45,51,54–56
14	*Эндо*-Трицикло-[7,2,1,$0^{1,6}$]додекан 23(2); (III)	 $C_{12}H_{20}$	164($M^{+\cdot}$;56), 149(11), 136(34), 135(100), 122(12), 121(33), 107(19), 93(30), 81(38), 80(16), 79(26), 67(33)	39, 41, 43
15	Трицикло-[5,3,2,$0^{1,6}$]-додекан, *анти* 24(2)	 $C_{12}H_{20}$	164(M^{+};80), 149(15), 136(76), 135(50), 122(35), 121(100), 107(39), 93(50), 81(45), 80(41), 79(44), 67(35)	39, 41, 43
16	*Экзо*-Трицикло-[7,2,1,$0^{1,6}$]додекан 25(2), 7(3)	 $C_{12}H_{20}$	164($M^{+\cdot}$;57), 149(18), 136(22), 135(100), 121(21), 108(10), 107(25), 95(14), 94(11), 93(37), 81(35), 80(12), 79(25), 67(27)	39, 41, 43, 45
17	*Эндо*-Трицикло-[6,3,1,$0^{1,5}$]додекан 26(2), 8(3)	 $C_{12}H_{20}$	164(M^{+};47), 149(14), 136(10), 135(27), 122(25), 121(100), 107(29), 95(9), 94(7), 93(45), 82(5), 81(40), 80(23), 79(34), 67(50)	39, 41, 43
18	*Эндо*-трицикло-[6,3,1,$0^{1,6}$]додекан 6(3)	 $C_{12}H_{20}$	164($M^{+\cdot}$;10), 149(17), 136(16), 135(98), 122(35), 121(100), 107(14), 95(10), 94(9), 93(45), 82(3), 81(69), 80(32), 79(60), 67(30)	39, 41, 43, 45
19	Тетрацикло-[6,3,1,$0^{2,6}$,$0^{5,10}$]додекан 29(2);9(3);6(4); (III,VIII)	 $C_{12}H_{18}$	162(M^{+};100), 133(20), 120(23), 119(23), 93(20), 92(20), 91(33), 81(50), 79(11), 67(23)	38–39, 41, 50, 55

№	Наименование соединения. № пика (рис)[a], (образец)	Структурная и брутто-формулы	*m/z* (интенсивность, %)	Литературный источник
20	Метилтетрацикло-[6,3,1,$0^{2,6}$,$0^{5,10}$]-додекан 10(3)	 $C_{13}H_{20}$	176($M^{+\cdot}$;41), 161(100), 133(9), 120(5), 119(18), 91(29), 81(21), 80(15), 79(11), 67(23)	38, 41, 50, 55, 57
21	1-Этил-2-метилада-мантан 31(2)	 $C_{13}H_{22}$	178($M^{+\cdot}$;41), 163(12), 150(10), 149(100), 135(7), 121(9), 120(12), 107(20), 93(25)	39, 53, 55–56
22	1-н-Пропиладамантан 33(2)	 $C_{13}H_{22}$	178($M^{+\cdot}$;6), 150(4), 149(10), 136(7), 135(100), 121(5), 107(5), 95(6), 93(7), 81(8), 79(16)	39, 47, 52–54
23	Трицикло-[5,3,1,$1^{4,11}$]додекан 34(2);11(3); (VIII)	 $C_{12}H_{20}$	164($M^{+\cdot}$;37), 149(17), 136(10), 135(100), 121(11), 120(13), 107(14), 93(30), 81(30), 80(10), 79(38), 67(32)	41, 43, 45
24	Метилтетрацикло-[6,3,1,$0^{2,6}0^{5,10}$]додекан (изомер соединения **10**) 12(3)	 $C_{13}H_{20}$	176($M^{+\cdot}$;100), 161(15), 135(27), 107(10), 93(40), 92(20), 91(40), 81(20), 80(20), 79(40), 67(20)	38, 41, 50, 55, 57
25	Тетрацикло-[6,3,1,$1^{6,10}$,$0^{2,6}$]тридекан 38(2);13(3);10(4) (III, VIII)	 $C_{13}H_{20}$	176($M^{+\cdot}$;100), 148(52), 147(16), 135(10), 133(48), 121(26), 120(21), 119(13), 94(25), 93(30), 91(28), 81(15), 80(30), 79(24), 67(15)	38–41, 57–58
26	Трицикло-[7,3,1,$0^{2,7}$]тридекан 15(3)	 $C_{13}H_{22}$	178($M^{+\cdot}$;45), 163(2), 150(6), 149(19), 135(100), 121(10), 95(8), 94(18), 93(16), 92(20), 81(28), 80(14), 79(26), 67(33)	38–39, 59
27	Метилтетра-цикло-[6,3,1,$1^{6,10}0^{2,6}$]-тридекан 18(3);17(4); (VIII)	 $C_{14}H_{22}$	190($M^{+\cdot}$;80), 175(100), 162(21), 161(35), 149(17), 148(22), 147(28), 135(43), 133(21), 121(10), 119(35), 107(23)	38–41, 57–58
28	Тетрацикло-[7,3,1,$0^{2,7}$,$1^{7,11}$]-тетрадекан 45(2);19(3); 19(4); (III,V, VIII)	 $C_{14}H_{22}$	190($M^{+\cdot}$;100), 175(11), 162(12), 161(9), 148(45), 147(19), 134(42), 133(23), 132(40), 117(11), 105(20), 95(20), 94(27), 93(22), 92(15), 91(49), 81(22), 80(20), 79(44), 78(7), 77(20)	38–40, 50, 57–58, 60
29	Диамантан 20(3);20(4); (VIII)	 $C_{14}H_{20}$	188($M^{+\cdot}$;100),1 73(7), 159(11), 145(10), 131(15), 117(12), 105(23), 91(40), 79(50), 77(40), 67(33)	38–39, 50, 61–63
30	4-Метилдиамантан 22(3);22(4); (VIII)	 $C_{15}H_{22}$	202($M^{+\cdot}$;17), 187(100), 173(7), 159(5), 145(4), 131(5), 117(8), 105(5), 91(30), 79(35), 67(28)	39–40, 44, 49, 61–63

№	Наименование соединения. № пика (рис)[a], (образец)	Структурная и брутто-формулы	*m/z* (интенсивность, %)	Литературный источник
31	1-Метилдиамантан 24(4); (VIII)	 $C_{15}H_{22}$	202($M^{+\cdot}$;17), 187(100), 174(3), 145(5)	39, 44, 61–63
32	3-Метилдиамантан 27(4); (VIII)	 $C_{15}H_{22}$	202($M^{+\cdot}$;100), 187(93), 173(17), 159(5), 145(8), 131(10), 90(30), 80(20), 79(20), 77(17)	39–40, 44, 49, 60, 63
33	Метилтетрацикло-[7,3,1,$0^{2,7}$,$1^{7,11}$]-тетрадекан 23(3); (VIII)	 $C_{15}H_{24}$	204($M^{+\cdot}$;100), 189(30), 175(11), 161(36), 148(70), 147(54), 105(25), 95(43), 94(38), 93(42), 92(23), 91(77), 81(40), 80(31), 79(46), 78(14), 77(23), 69(14), 67(46)	38–39, 58, 60, 64
34	Метилтетрацикло-[7,3,1,$0^{2,7}$,$1^{7,11}$]-тетрадекан 24(3);	 $C_{15}H_{24}$	204($M^{+\cdot}$;100), 189(10), 175(10), 162(20), 161(12), 149(45), 148(5), 147(20), 135(12), 134(17), 133(21), 123(22), 121(25), 109(21), 108(29), 95(25), 94(30), 93(31), 92(5), 91(65), 85(62), 81(43), 79(45), 71(80), 69(50), 67(20), 57(93), 55(60)	38–39, 58, 60, 64
35	Метилтетрацикло-[7,3,1,$0^{2,7}$,$1^{7,11}$]-тетрадекан 25(3)	 $C_{15}H_{24}$	204($M^{+\cdot}$;100), 189(7), 175(5), 162(10), 149(30), 147(10), 135(15), 134(10), 133(20), 23(25), 121(30), 109(20), 108(25), 95(15), 94(20),93(15), 91(30), 85(27), 81(25), 79(40)	38–39, 58, 60, 64
36	Метилтетра-цикло-[7,3,1,$0^{2,7}$,$1^{7,11}$]-тетрадекан 26(3)	 $C_{15}H_{24}$	204($M^{+\cdot}$;100), 189(10), 175(14), 162(18), 161(15), 149(40), 147(23), 135(15)	38–39, 58, 60, 64

[a] На хроматограммах образцов тарибанской и сацхенисской нефтей соответственно. Если рисунок не приведен в тексте, указан образец (римскими цифрами), в котором обнаружен углеводород.

литературные источники, которые были использованы при определении конкретных структур. Концентрации исследуемых углеводородов, согласно проведенным рассчетам [23, 25] находятся в пределах 0,01–0,03 % мас.

Методом ГХ/МС в средних фракциях (200–250 °С и 250–350 °С) тарибанской и сацхенисской нефтей были идентифицированы: адамантан и девять его гомологов состава C_{10}–C_{13}; двенадцать трициклических углеводородов состава C_{11}–C_{13} (трициклоундеканы и трициклододеканы); десять тетрациклических адамантаноидных углеводородов состава C_{12}–C_{16} (углеводороды, содержащие в полициклический системе адамантановое ядро); четыре пентациклотетрадекана – диамантан ($C_{14}H_{20}$) и три его гомолога состава $C_{15}H_{22}$; шесть бициклических углеводородов сесквитерпанового типа строения, полиметилзамещенные декалины состава C_{14}–C_{16}, структуры которых имеют реликтовый характер.

К ряду трициклоалканов в исследованных нефтях относятся как адамантановые, так и неадамантановые углеводороды. Известно, что все трициклоалканы в условиях равновесной изомеризации над $AlBr_3$ превращаются в адамантановые [11, 14, 41–43, 47]. Нефтяные же трициклоалканы идентичны промежуточным соединениям, образующимся при изомеризации любых индивидуальных трициклоалканов неадамантанового типа в адамантановые углеводороды. Они имеют состав (C_{11}–C_{12}) и являются предшественниками адамантанов в нефти, т.н. «протоадамантанами» [11]. Из этих трициклоалканов, обнаруженных во фракции 200–250 °С тарибанской нефти, углеводород **5** (здесь и дальше в тексте углеводороды, обозначенные жирным шрифтом, отвечают порядковому номеру в табл. 4), соответствующий хроматографическому пику 10 (рис. 2), имеет молекулярную массу 150, что отвечает трициклическому углеводороду состава $C_{11}H_{18}$. Высокая интен-

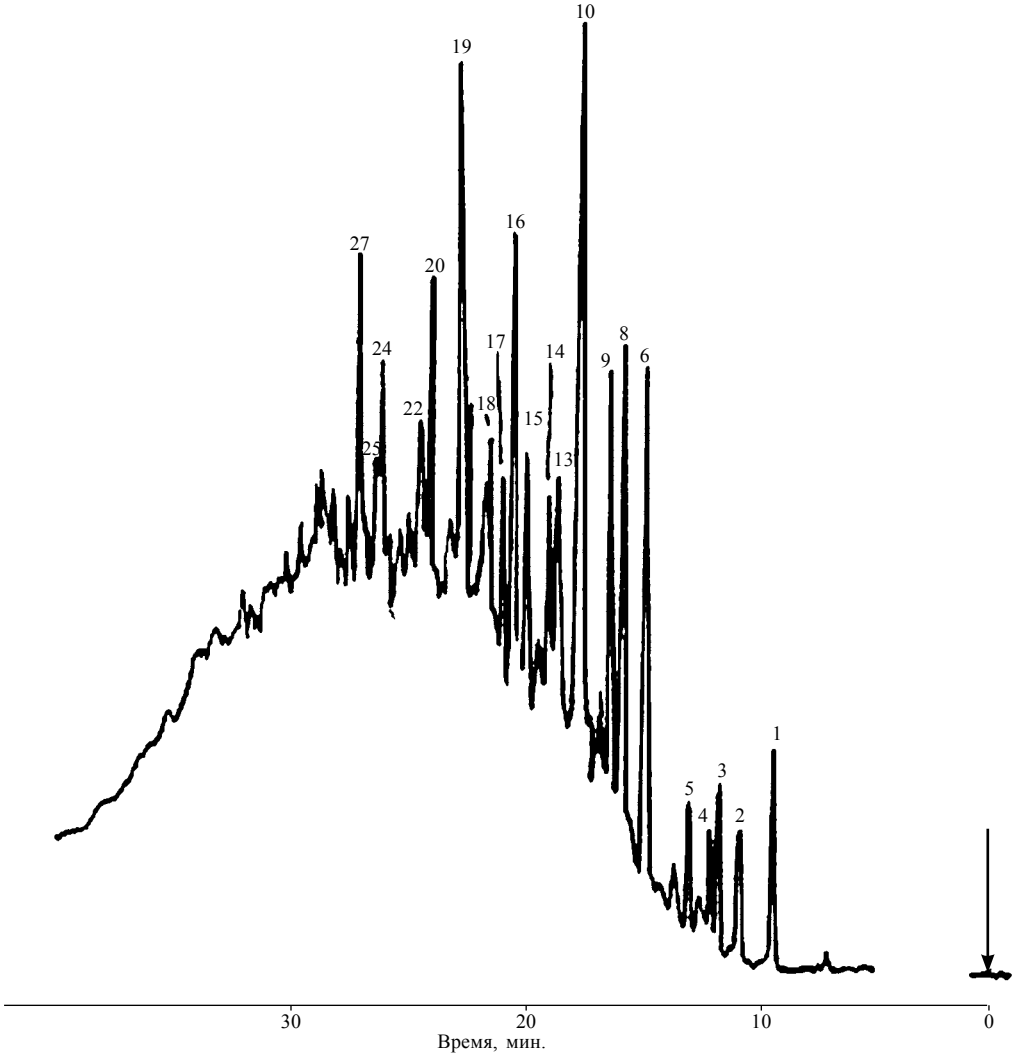


Рис. 4. Хроматограмма (капиллярная колонка 60 м × 0.25 мм, апьезон *L*, линейное программирование температуры от 130 °С со скоростью 3 °С мин⁻1) нафтенового концентрата (250–350 °С) сацхенисской нефти. Отнесение пиков дано в табл. 4.

сивность пика $M^{+\cdot}$ характерна для углеводородов, включающих фрагмент устойчивого углеводорода бицикло[2,2,2]октана; отрыв двух углеродных атомов (*m/z* 121, 122) происходит за счет указанного фрагмента, отрыв же трех углеродных атомов может осуществляться за счет циклопентанового кольца. Анализ масс-спектра углеводорода **5** позволил предположить для него структуру трицикло-[5,2,2,$0^{3,7}$]ундекана, который до настоящего исследования не был найден в нефти, хотя его получали при изомеризации трициклоалканов [41–42]. Среди производных адамантана были идентифицированы в основном те гомологи, которые способны к комплексообразованию с тиокарбамидом. Наиболее интересны углеводороды **21** и **22** (рис. 2, обр. 1), являющиеся алкиладамантанами с более длинными, чем этильная, алкильными группами. Известно, что такие длинноцепные алкиладамантаны не образуются в процессе каталитической изомеризации [11, 14, 44, 47, 51], поэтому считали, что наибольшим заместителем, связанным с адамантановым ядром, мог быть этильный радикал. Однако при исследовании углеводородов нафтенового концентрата, образующих комплекс с тиокарбамидом (фракции 200–250 °С тарибанской нефти), для углеводорода **22** (пик 33, рис. 2) была предложена структура 1-*н*-пропиладамантана, поскольку было показано, что в масс-спектре этого соединения присутствовали пики $M^{+\cdot}$ и $[M–C_3H_7]^+$,отсутствовал пик иона $[M–C_2H_5]^+$ а, в целом, данный спектр соответствовал таковому 1-*н*-пропиладамантана [38–39, 47, 52–53, 61]. Кроме того, по времени удерживания при ГЖХ данный углеводород соответствовал добавленному эталону 1-*н*-пропиладамантана. Присутствие в нефти указанного углеводорода не объяснено, поскольку не обнаружены возможные его предшественники.

Масс-спектр соеденения **21** (пик 31, рис. 2) содержал малоинтенсивные пики ионов $M^{+\cdot}$ и $[M–CH_3]^+$ и основной пик с *m/z* 149 $[M–29]^+$. Эти данные позволили предположить, что в этом трициклическом углеводороде метильная группа находится в ангулярном положении, а этильная

группа – у третичного С-атома. Учитывая также соответствующую хроматографическую подвижность, для углеводорода была предложена структура 1-этил-2-метиладамантана. Этот углеводород был получен раннее метиленированием 1-этиладамантана в работе [53], но присутствие его в нефти до данного иследования не было зафиксировано. Соотношения протоадамантановых и адамантановых углеводородов в нефтях отражает геохимическую историю нефтей. В частности, судя по данным масс-спектрометрического анализа (табл. 3) в исследованных нефтях суммарное содержание их было приблизительно равно содержанию адамантановых углеводородов в нафтеновых концентратах. Этот факт указывает на среднюю и, с другой стороны, близкую степень катагенной зрелости исследованных нефтей независимо от их различного химического типа.

Авторы работ [5, 21] также исследовали углеводороды адамантанового ряда (C_{10}–H_{14}) в разнотипных нефтях Норио, Мирзаани и Сартичала. С целью количественного выделения адамантановых углеводородов из нафтенового концентрата ими была применена реакция гидрокрекинга над платиновым катализатором. В нафтеновых концентратах фракций, выкипающих в диапазоне 200–250 °С, были определены 15 гомологов адамантана. Среди изомеров адамантана преобладали структуры с этильными заместителями и с заместителями у вторичного углеводородного атома ядра. Масс-спектрометричское исследование показало, что основная масса трицикланов (34, 8 и 31 мас. %) в исследованных фракциях трех названных нефтей была представлена неадамантановыми структурами. Адамантановые же углеводороды содержались в количестве 6.2, 3.8 и 0.9 мас. %, что соответствовало общим закономерностям распределения указанных углеводородов в нефтях. Соотношения же термодинамически более устойчивых адамантановых соединений и суммы трицикланов были близки, что указывало на сравнительно близкую степень превращенности углеводородов нефтей Норио, Мирзаани, Сартичала.

Особое внимание в излагаемом исследовании было уделено наименее изученным в нефтях адамантаноидным тетрациклическим структурам. В исследуемых образцах были обнаружены углеводороды с высокой степенью упаковки атомов углерода в тетрациклической системе, на создание четырех колец которых использовано только 12–14 атомов углерода. Следует отметить, что в нефтях не обнаружены иные тетрациклические углеводороды с подобной упаковкой углеродных атомов. Указанные углеводороды, как правило, можно получить при жидкофазной каталитической изомеризации из насыщенных тетрациклических углеводородов различного строения и соответствующей молекулярной массы. Однако некоторые тетрациклические адамантаноидные углеводороды, например, тетрацикло[6,3,1,$0^{2,6}$,$0^{5,10}$]додекан (этаноадамантан), а также монометильный гомолог тетрацикло[6,3,1,$1^{6,10}$,$0^{2,6}$]тридекана (циклопентаноадамантан) получить путем изомеризации не удалось [11, 13, 57]. Тетрацикло[6,3,1,$0^{2,6}$,$0^{5,10}$]-додекан впервые выделил С. Ланда из нафтеновой годонинской нефти вместе с диамантаном [50]. В представленном исследовании [22, 25–27] на основании работ [38–39, 41, 50, 57] углеводороду **19** (пик 29, рис. 2; пик 9, рис.3; пик 6, рис. 4) была приписана именно эта структура. Было показано, что появление этанового мостика в положении 2,5 не вносит изменение в характер масс-спектра по сравнению с таковым для адамантана: здесь максимальной интенсивностью обладает пик $M^{+\cdot}$ с *m/z* 162. Было установлено также [38, 60, 64], что интенсивность пика $M^{+\cdot}$ остается максимальной и в спектрах тетрацикло-[6,3,1,$1^{6,10}$,$0^{2,6}$]тридекана ($M^{+\cdot}$, *m/z* 176) и тетрацикло-[7,3,1,$0^{2,7}$,$1^{7,11}$]тетрадекана ($M^{+\cdot}$, *m/z* 190). Указанные углеводороды **25** и **28** (табл. 4), также были идентифицированы в исследуемых образцах.

В масс-спектре углеводорода **27**, который присутствовал в тиомочевинных экстрактах, выделенных из нафтеновых концентратов обеих исследованных нефтей, зафиксирован максимальный по интенсивности пик иона $[M–CH_3]^+$. Сопоставление его с масс-спектрами эталонных тетрацикло-[7,3,1,$0^{2,7}$,$1^{7,11}$]тетрадекана (**28,** $C_{14}H_{22}$) и тетрацикло[6,3,1.$1^{6,10}0^{2,6}$]тридекана (**25,** $C_{13}H_{20}$) позволили с большой вероятностью предположить для этого соединения структуру метильного гомолога тетрацикло[6,3,1.$1^{6,10}0^{2,6}$]тридекана ($C_{14}H_{22}$), который до настоящего исследования не был найден в нефти.

К адамантаноподобным углеводородам нефтей относится и пентациклический углеводород, пента цикло[7,3,1,$1^{4,12}$,$0^{2,7}$,$0^{6,11}$]тетрадекан, состава $C_{14}H_{20}$ (диамантан). Он впервые был синтезирован, а затем обнаружен в нафтеновой годонинской нефти С.Ланда [50]. Как и в адамантане, все параметры, все углы и связи углеродной решетки молекулы диамантана близки к параметрам идеального тетраэдра, что придает углеводороду высокую термодинамическую устойчивость. Для него характерна высокая степень симметрии, чем объясняется возможность существования только трех изомеров метилдиамантана [50, 55, 63]. В исследованных нефтях был идентифицирован как сам диамантан, так и все его три метильных гомолога: 4-, 1- и 3-метилдиамантаны, причем, два последних гомолога с большой вероятностью были найдены в нефтях впервые. По соотношению интенсивностей пиков $M^{+\cdot}$ и ионов $[M–CH_3]^+$, а также по характеру низкомолекулярной области масс-спектров, руководствуясь соответствующими литературными данными [38–40, 55, 61–63], указанным углеводородам **29, 30, 31** и **32** были приписаны соответственно следующие строения: диамантан, 4-метилдиамантан, 1-метилдиамантан и 3-метилдиамантан.

Равновесие метилдиамантанов над хлорированным платиноалюминиевым катализатором в присутствии хлористого водорода было изучено в работах [62–63, 65] и установлено, что среди трех

метилдиамантанов самым устойчивым является 4–метилдиамантан (в равновесной смеси его содержание составило около 90 %), так как метильная группа у него ориентирована экваториально ко всем циклогексановым кольцам. В сацхенисской же нефти среди других гомологов преобладал 3-метилдиамантан. Так, в нафтеновом концентрате фракции 250–350 °С этой нефти (рис. 4), соотношения 1-, 3- и 4-метилдиамантанов составляло 1 : 3 : 1 [22, 25], что значительно отличалось от их равновесного содержания 10 : 3 : 87 [55]. Данный факт еще раз указывал на сравнительно невысокую степень превращенности углеводородов сацхенисской нефти. Все эти изомеры определены в нафтеновом концентрате, а в углеводородах, образующих комплекс с тиомочевиной, 1- и 3-метилдиамантаны были представлены в меньших количествах. Диамантан и 4-метилдиамантан, как и ожидали, присутствовали в тиомочевинных экстрактах как тарибанской (рис. 3), так и сацхенисской нефтей (обр. VIII). Этот факт можно объяснить по-видимому тем, что молекула 4-метилдиамантана имеет наименьший объем, и следовательно, легче, чем другие изомеры, вступает в реакцию комплексообразования.

Представляют интерес масс-спектры углеводородов, соответствующие пикам 23–33, присутствующих в тиокарбамидном экстракте, выделенном из нафтенового концентрата фракции (250–350 °С) тарибанской нефти (рис. 3). Характер фрагментации указанных углеводородов при ионизации электронами (**ИЭ**) позволил предположить, что первые четыре из них – **33, 34, 35** и **36** (пики 23–26) – являлись изомерными метильными гомологами тетрацикло[7,3,1,$0^{2,7}$,$1^{7,11}$]тетрадекана. Интенсивность пиков $M^{+\cdot}$ во всех масс-спектрах была максимальной, что предполагало расположение метильного заместителя в боковом цикле, а не в адамантановом ядре. Лишь в случае углеводорода **33** по характеру масс-спектра нельзя было исключить наличия метильной группы в адамантановом ядре. Указанные углеводороды (пики 19, 24, 27, 28, 30, 32, 33, рис. 3) отнесены к гомологической серии тетрацикло[7,3,1,$0^{2,7}$,$1^{7,11}$]тетрадекана. На основании данных ГЖХ исследуемого концентрата можно было предположить, что все они представляли собой новый гомологический ряд. Масс-спектральные данные подтвердили это предположение: массовые числа $M^{+\cdot}$ для указанных пиков составляли, соответственно, 190, 204, 218, 232, 246, 260, 276, причем максимальные интенсивности были у пиков ионов $[M–15]^+$. В пользу сделанного предположения говорит и способность указанных углеводородов к комплексообразованию с тиокарбамидом. Первый член нового гомологического ряда, тетрацикло[7,3,1,$0^{2,7}1^{7.11}$]тетрадекан (**28**), как было указано выше, также был идентифицирован в исследованных нефтях [26].

Кроме того в исследованных нефтях были обнаружены 28 неизвестных углеводородов, получены их хроматографические и масс-спектральные характеристики. Структуры этих углеводородов не были доказаны из–за отсутствия их синтетических аналогов, а, следовательно, и их характеристических масс-спектров, хотя все они относятся к три-, тетра- и пентациклическим нафтенам состава C_{12}–C_{15} и явно имеют мостиковый тип сочленения колец и компактную структуру адамантанового типа. Анализ их масс-спектров приведен в работах [23,26].

До настоящего иследования, изучение подобных структур, за не большим исключением, проводились в сильно нафтеновых нефтях и нефтях, содержащих мало бензинов. Авторами работ [11, 47, 52] было показано, что действительно, согласно предположений, сделанных первооткрывателем адамантана С. Ланда, углеводороды данного класса в заметных количествах могли присутствовать в нефтях указанного типа. Хотя иследованные нефти месторождений Тарибана и Сацхениси имели противоположный тип, в них определены углеводороды, соответствующие полиэдранам в довольно большом наборе.

2.3. Основные выводы

Суммируя полученные результаты, подчеркнем, что в средних фракциях (200–250 °С и 250–350 °С) исследованных нефтей присутствуют углеводороды, принадлежащие к определенным гомологическим рядам. Во всяком случае, был идентифицирован хотя бы первый член гомологического ряда и его метильный гомолог, а в одном из рядов, для тетрацикло[7,3,1,$0^{2,7}$,$1^{7.11}$]тетрадекана, обнаружены гомологи вплоть до гексаметильного, причем четыре из них идентифицированны. Изученные углеводороды относились к рядам адамантана ($C_{10}H_{16}$) (**1**), этаноадамантана ($C_{12}H_{18}$) (**19**), циклопентаноадамантана ($C_{13}H_{20}$) (**25**), циклогексаноадамантана ($C_{14}H_{22}$) (**28**), диамантана ($C_{14}H_{20}$) (**29**); а также трициклоундеканов и трициклододеканов (C_{11}–C_{12}), т.е. каркасным сопединениям, полиэдранам.

В результате проведенных исследований стало очевидным, что независимо от химического типа, исследованные нефти имели одинаковый компонентный состав нафтеновых концентратов средних фракций, отличающиеся лишь количественным содержанием компонентов. Эти данные согласуются с выводами Ф. Россини об идентичности качественного углеводородного состава бензиновых фракций, сделанными им полвека назад на основании изучения ряда нефтей [66].

3. Реликтовые углеводороды нефтей

3.1. Задачи и обьекты исследования

Среди насыщенных углеводородов нефтей особое место занимают реликтовые, то есть углеводороды, сохранившие сходства состава и строения углеродного скелета исходных биомолекул, принимавших участие в процессах нефтеобразования. В основном – это нормальные и изопреноидные алканы

(изопренаны), сесквитерпановые углеводороды, стераны и тритерпаны (би-, три-, тетра- и пентациклические углеводороды), получившие название «биологических меток» [11,12,15]. Наличие таких соединений (хемофоссилий) является одним из подтверждений биогенного происхождения нефтей, а их обнаружение и установление состава и молекулярно-массового распределения используются для генетической и химической типизации нефтей, установления их катагенетической превращенности, для создания современных процессов химической переработки нефтей и нефтехимического синтеза (на основе моделирования химических реакций в условиях залегания) и ряда важнейших задач геохимии нефти. Закономерность в концентрационном распределении хемофоссилий, присущих данному конкретному региону осадконакопления, является неким «отпечатком пальцев» [11, 12], который характеризует нефть данного региона. Для каждого бассейна осадконакопления свойственен свой набор как исходных соединений, так и конечный химический состав нефтей. Как уже отмечалось во Введении, выделяют четыре категории различного химического состава – $А^1$, $А^2$, $Б^1$, $Б^2$, которые определяют «химическую типизацию» нефтей, основанную на закономерностях относительного распределения в них различных классов углеводородов: алканов, цикланов, аренов. В отличие от генетического типа, химический состав нефтей изменяется во времени, так как он формируется под воздействием термобарических, каталитических факторов, водо-нефтяного контакта и микроорганизмов (биодеградации) [11, 12].

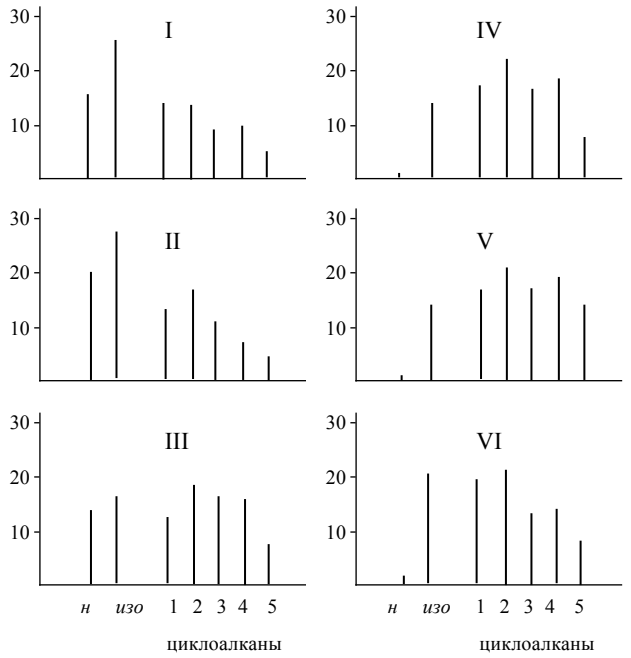


Рис. 5. Распределение нормальных, изо- и циклопарафиновых углеводородов во фракции 200–430 °С грузинских нефтей: I – Сартичала ($А^1$), II – Патардзеули ($А^1$), III – Шромисубани ($А^2$), IV – Норио($Б^1$), V – Телети ($Б^1$), VI – Мирзаани ($Б^2$). Арабские цифры соответствуют моно-, би-, три-, тетра- и пентациклическим углеводородам.

Нужно еще отметить, что идентификация и определение профилей стеранов и тритерпанов, довольно слоболетучих соединений и незначительно подверженных выветриванию, используются в арбитражных процессах при установлении источника разливов нефтей на поверхности морей и океанов. Начиная с 60-ых годов прошлого столетия, поискам таких структур посвящены многочисленные исследования нефтей, углей, сланцев и рассеянного органического вещества [11–12, 15].

Насыщенные углеводороды, в основном, реликтовые структуры, ряда грузинских нефтей впервые были изучены на молекулярном уровне авторами работ [5, 21, 67–68]. Были исследованы нефти основного нефтегазоносного района Грузии Самгори–Сартичала, Телети, Шромисубани, Норио, Патардзеули, Мирзаани; все эти нефти единого бассейна осадконакопления, различного химического типа, близкого геологического возраста, взятые с различных глубин. Характеристика исследованных нефтей приведена из работы [5] в табл. 5.

Исследования проведены в лаборатории геохимии нефти Института геологии и разработки горючих ископаемых (Москва) совместно с кафедрой технологии органических веществ Грузинского политехнического института. Методами исследования в основном служили ГЖХ, ГХ/МС и МС. Для разделения сложных фракций с целью выделения целевых концентратов применялись ТДФ и гидрокрекинг [5, 21]. В результате в каждой из них подробно изучен углеводородный состав и определено около 200 индивидуальных углеводородов, в основном реликтовых.

3.2. Результаты исследования

В легких фракциях (н.к.–200 °С) исследованных нефтей определены свыше 100 индивидуальных углеводородов состава ($С_5$–$С_{11}$). Выявлено наибольшое содержание 2,3- и 2,6-диметилалканов, а также 2-метил-3-этилгептана, (при иследовании изомерных нонанов и деканов), основных реликтов легких фракций нефтей [5, 67].

На основании изучения относительного распределения основных реликтовых углеводородов нефтей – нормальных и изопреноидных алканов – во фракции, выкипающей при температуре выше 200 °С, была проведена «химическая типизация» нефтей и показана принадлежность их к различным химическим типам: $А^1$, $А^2$, $Б^2$, $Б^1$. Нефти типа $А^1$ по групповому составу соответствуют нефтям парафинового основания; нефти $Б^2$ – нафтенового основания. Нефти же типа $А^2$ и $Б^1$ имеют промежуточные показатели химического состава [11, 12.]. Были рассчитаны геохимические коэффициенты, величины которых связаны с биодеградацией, катагенезом, со степенью катагенетической превращенности нефтей и др.

Исследование индивидуального состава нефтей показало, что нормальные алканы присутствовали в больших количествах в нефтях типа А, тогда, как изопреноидные структуры в значительных концен-

Таблица 5. Характеристика исследованных нефтей[a]

Месторождение	№ скважины	Геологический вовраст	Химический тип	Глубина залегания, м	Выход исследованных фракций, мас. %					
					н.к. –200 °С		200–420 °С		выше 420 °С	
					на нефть	ПЦП*	на нефть	ПЦП*	на нефть	ПЦП*
Самгори–Сартичала	7	Средний эоцен	$А^1$	2800	21.6	62.5	43.9	56.0	34.5	64.9
Самгори–Патардзеули	27	«	$А^1$	2800	23.5	62.8	42.5	57.4	34.0	64.4
Шромисубани		Верхний миоцен	$А^2$	3000	10.0	15.0	16.1	24.8	73.9	10.0
Норио	36	Средний сармат	$Б^1$	1400	22.5	59.1	44.0	56.1	33.5	56.4
Телети	8	Средний эоцен	$Б^1$	500	26.1	62.1	39.2	59.0	34.7	57.4
Мирзаани	109	Нижний плиоцен	$Б^2$	1000	25.0	62.4	35.0	62.5	40.0	60.5

* Выход ПЦП (парафиновые и циклопарафиновые углеводороды) на соответственные фракции.
[a] Таблица приведена из работы [5].

трациях выявлены во всех типах исследованных грузинских нефтей. Аналогичные результаты были получены авторами работы [6] при изучении двух разнотипных грузинских нефтей Тарибана ($А^1$) и Сацхениси ($Б^2$). Одна из характерных особенностей всех исследованных нефтей проявилась в большом содержании регулярных изопреноидов (изо-C_{19}) и (изо-C_{20}) с большим преобладанием пристана, поэтому почти для всех нефтей соотношение изо-C_{19}/изо-C_{20} >1. Этот показатель является очень важным геохимическим признаком, который используется при решении геохимических проблем, связанных как с происхождением, так и превращением нефтей в процессах биодеградации и катагенеза и др. [11, 12, 15]. Норийская нефть представляла исключение: в ней полностью отсутствовали изо-C_{19} и изо-$C_{20,}$ но были высоки концентрации изо-C_{14} и изо-C_{16} [5, 11].

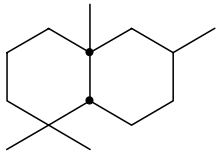
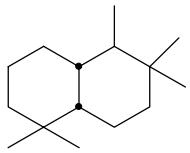
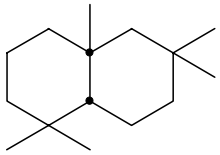
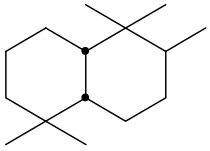
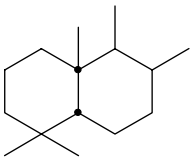
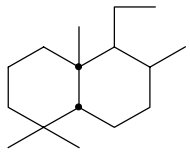
Методом масс-спектрометрии по матрицам для углеводородов в парафино-циклопарфиновой части был установлен структурно-групповой состав средних фракций (200–430 °С) – относительное распределение количества алкановых и нафтеновых углеводородов (рис. 5) [29]. Приведенные на рисунке 5 относительные распределения моно-, би-, три-, тетра- и пентациклических нафтенов представляют собой «нафтеновый паспорт» нефтей, унаследованный от исходного органического вещества [5, 11–12, 15,67].

Из данных «нафтенового паспорта» видно, что в различных грузинских нефтях циклические соединения представлены в довольно высоких концентрациях (рис. 5). Во фракциях 250–300 °С нафтеновых нефтей Норио и Телети методом ГХ/МС было установлено присутствие двух сесквитерпановых углеводорода состава $C_{15}H_{28}$ – *транс*-2,3,3,7,7-пентаметил-*транс*-бицикло[4,4,0]декана и *цис*-3,2,2,7,7-пентаметил-*транс*-бицикло[4,4,0]декана (табл. 6). Позже, шесть углеводородов подобного строения в довольно высоких концентрациях были обнаружены в грузинской парафинистой нефти Тарибана и три углеводорода в нафтено–ароматической нефти Сацхениси [69]. Все они были ранее найдены в некоторых зарубежных сильно превращенных нефтях, например, в докембрийской нефти Сивинского месторождения [11, 70]. Следует, однако, отметить, что исследованные грузинские нефти характеризуются средней степенью катагенетической превращенности.

Строение данных углеводородов было определено масс-спектрометрическим методом с привлечением литературных данных [36–37, 70–71]. При определении расположения алкильного заместителя было учтено, что присутствие двух геминальных CH_3-групп приводило к резкому увеличению интенсивности пика иона $[M–15]^+$. В спектрах, соответствующих углеводородам **2**, **3** и **4** (табл. 6), присутствуют малоинтенсивные пики $M^{+\cdot}$ (*m/z* 208) и максимальные пики ионов с *m/z* 193 $[M–CH_3]^+$; у углеводородов (**1**,**5**,**6**) с одной геминальной группой пики $M^{+\cdot}$ незначительны. Углеводородам (**2**,**3**,**4**) были приписаны структуры сесквитерпанового типа ($C_{15}H_{28}$), а углеводородам (**1**,**5**,**6**) – подобных им полиметилзамещенных транс-декалинов (табл. 6). Особенность строения этих углеводородов указывает на общность их генезиса и они имеют явно реликтовый характер [5, 11, 15].

В разнотипных нефтях Норио, Мирзаани и Сартичала были исследованы также углеводороды адамантанового ряда (C_{10}–H_{14}) [5, 21]. Хотя адамантаны имеют абиогенное происхождение

Таблица 6. Полиметилзамещенные декалины, идентифицированные в грузинских нефтях.

№ углеводорода в образцах[а]				Наименование углеводорода	Структурная и брутто–формулы	*m/z* (интенсивность, %)[б]
I	II	III	IV			
1	–	1	–	*цис*-1,3,7,7-Тетраметил-*транс*-бицикло–[4,4,0]декан	 $C_{14}H_{26}$	194($M^{+\cdot}$;21), 180(8), 179(72), 138(7), 137(16), 122(18), 121(68), 110(45), 109(69), 97(37), 96(23), 95(75), 83(43), 82(32), 81(100), 69(72), 55(40)
2	2	2	2	*транс*-2,3,3,7,7-Пентаметил-*транс*-бицикло [4,4,0]декан	 $C_{15}H_{28}$	208($M^{+\cdot}$;16), 194(15), 193(100), 179(6), 163(9), 149(10),1 38(6), 137(35), 124(11), 123((48), 111(21), 110(12), 109(48), 97(27), 96(15), 95(52), 83(52), 82(23), 81(26), 69(55), 57(27), 55(26)
3	–	3	–	1,3,3,7,7–Пентаметил-*транс*-бицикло[4,4,0] декан	 $C_{15}H_{28}$	208($M^{+\cdot}$;34), 194(9), 193(75), 179(14), 178(10), 177(24), 165(24), 164(10), 163 (27), 151(20), 150(9), 149(22), 138(12), 137(33), 124(35), 123(67), 111(25), 110 (25), 109(100), 97(65), 96(43), 95(85), 83(69), 82(41), 81(73), 70(42), 69(83), 57(43), 55(55)
4	4	4	4	*цис*-3,2,2,7,7-Пентаметил-*транс*-бицикло [4,4,0]декан	 $C_{15}H_{28}$	208($M^{+\cdot}$;20), 194(7), 193(100), 179(6), 177(7), 165(11), 163(6), 151(9), 150(9), 149(25), 137(32), 135(12), 124(25), 123(49), 149(51), 97(31), 96(25), 95(85), 83(31), 82(29), 81(61), 70(71), 69(65), 68(13), 67(26), 58(26), 57(29), 55(36)
5	–	5	–	*транс-цис*-1,2,3, 7.7-Пентаметил-*транс*-бицикло [4,4,0]декан	 $C_{15}H_{28}$	208($M^{+\cdot}$;27), 194(6), 193(41), 165(4), 139(2), 138(13), 137((32), 124(17), 123(100), 109(26), 97(7), 96(4), 95(35), 83(9), 82(11), 81(27), 79(2), 69(25), 68(4), 67(16), 57(8), 55(22)
6	6	6	–	1,3,7,7-Тетраметил-2–этил–*транс*-бицикло [4,4,0]декан	 $C_{16}H_{30}$	222($M^{+\cdot}$;37), 207(15), 194(5), 193(56), 177(10), 138(20), 137(37), 124(21), 123(100), 111(8), 110(14), 109(63), 97(18), 96(13), 95(58), 83(25), 82(6), 81(58), 69(51), 70(12), 67(26), 57(25), 55(40)

[а] концентратов бициклоалканов (I–IV) из тарибанской, сацхенисской, норийской и телетской нефтей соответственно.

[б] масс-спектры приведены из работы [69].

[11–14] и не являются реликтами, они образуются в нефтях в процессе изомеризации при контакте конденсированных насыщенных трициклических углеводородов с природными глинами и алюмосиликатами [47, 51]. По этой причине сведения о количественном содержании адамантанов в нефтях связывают с процессами метаморфизма и с информацией о стадии химической эволюции нефти [11, 13–14]. С этих позиций составляло интерес вычисление значений соотношений термодинамически более устойчивых адамантановых соединений и суммы трицикланов для нефтей различного химического типа – Сартичала, Мирзаани, Норио [21,67]. Эти соотношения, отчасти, могут служить в качестве критерия степени превращения углеводородов нефти. В данном случае, их значения были близки и составляли 0.2, 0.1 и 0.1, что указывает на сравнительно близкую степень превращенности углеводородов изученных нефтей.

С геохимических позиций особый интерес представляют крупные молекулы нафтенов реликтового типа. К таким соединениям относятся тетра- и пентациклические нафтены, а имненно, стераны и тритерпаны, предшественниками которых являются природные стероиды и тритерпеноиды, обнаруженные в различных геологических объектах [46, 72–74].

Для изучения стеранов и тритерпанов в грузинских нефтях были использованы фракции насыщенных углеводородов, выкипающихся выше 420 °С, а их качественный и количественный анализ проводился методами ГЖХ и ГХ/МС с использованием капиллярных колонок и компьютерной системы обработки данных [5, 67–68]. Результаты показывали, что изученные нефти в основном принадлежали к 17α-Н-гопановому ряду: выход на нефть в мас. % суммы гопанов варьировался от 0.1 до 0.6, а суммы стеранов от 0.03 до 0.4. При этом в максимальной концентрации присутствовал 17α-Н-гопан ($C_{30}H_{52}$); в значительных количествах встречались гомогопаны (C_{31} и C_{32}), а также адиантан (C_{29}). Тритерпаны (C_{27}–C_{33}) были представлены в основном выше- и нижекипящими гомологами гопана а также ряда моретана (C_{29}–C_{30}) [68]. Показано, что нефтяные стераны (C_{27}–C_{29}) были представлены α-стеранами и их просранственными изомерами – изостеранами. Последние характеризуются *цис*-сочленением циклов C/D и составляют основную массу исследованных нефтяных стеранов. Нефть месторождения Мирзаани (Б[2]) являлась исключением. В ней было выявлено преобладание стерановых структур (∑гопаны/∑стераны = 0.8; выход на нефть суммы гопанов – 0.2, а суммы стеранов – 0.25 мас. %). Данную нефть характеризует высокая катагенетическая превращенность: (соотношение α/изоситераны – 0.23).

С использованием стеранов и гопанов других нефтей были определены важные геохимические показатели (соотношения: α/изостераны; стераны/гопаны; адиантан/гопан и пр.), несущие в себе генетическую информацию о степени катагенетической превращенности нефтей, химическом составе нефтепродуцирующей биомассы [5, 21, 67–68].

3.3. Основные выводы

Используя данные литературных источников о возможности биологического изменения нефтей в залежах [11, 75–76] и сопоставляя их с химическим составом изученных грузинских нефтей, авторы представленного исследования [5, 21, 67–68] предположили возможность вероятной биологической деградации некоторых из них. Хотя все они принадлежат к единому генетическому типу, различный их химический состав может быть обусловлен различным гидродинамическим режимом, а также палеотемпературой в процессе водо-нефтяного контакта при биологическом окислении нефтей в залежах [5, 62]. Такое бактериальное окисление очевидно затрагивает только нормальные алканы, оставляя неизменными изопренаны.

Учитывая закономерности химического состава реликтовых углеводородов, авторы предположили, что основным материалом в исходном нефтематеринском веществе, продуцирующем нефти данного бассейна осадконакопления, являлась жировая часть морских растений, представленная эфирами насыщенных и ненасыщенных кислот, стероидами и тритерпеноидами и пр.

Цитированные работы были первыми исследованиями реликтовых углеводородов грузинских нефтей, проведенными на молекулярном уровне с применением современной исследовательской техники – ГЖХ, МС и ГХ/МС, и роль этих исследований значительна для оценки геохимических критериев грузинских нефтей.

4. Ароматические углеводороды высококипящих фракций нефтей

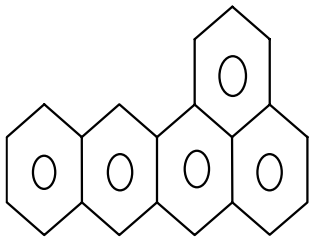
Систематическое изучение ароматических углеводородов высококипящих фракций грузинских нефтей было начато еще в середине прошлого века. К настоящему времени практически полностью изученными можно считать лишь ароматические углеводороды бензиновых фракций, среди которых идентифицировано 97–98 % углеводородов [3, 77, 78]. Изучение высококипящих ароматических углеводородов, несмотря на существование целого арсенала современных методов исследования, весьма затруднено, что связано со сложностью их строения (сильное расширение многообразия гибридных структур и изомеров положения) и трудностями выделения из многокомпонентных нефтяных фракций. В связи с этим сведения о составе ароматических углеводородов нефтяных фракций, выкипающих выше 300 °С, пока ограничены. Тем не менее, благодаря успехам в развитии инструментальных методов исследования, современная нефтехимия накопила определенный материал о составе и строении ароматических углеводородов таких фракций.

4.1. Групповой состав ароматических углеводородов

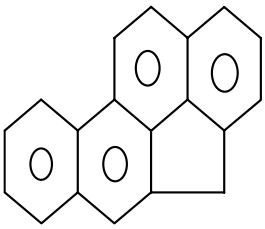
Большая работа по изучению высококипящих ароматических углеводородов нефти была проведена Л.Д. Меликадзе с сотр. Из широкой масляной фракции 340–590 °С норийской нефти (малосернистая, малопарафинистая с высоким содержанием ароматических углеводородов в масляных и остаточных фракциях) с помощью комплекса методов выделения и разделения [79–81] были изолированы относительно однородные по составу жидкие и кристаллические ароматические углеводороды в нативном виде. В частности, ароматические углеводороды из указанной фракции экстрагировались анилином, После нейтрализации, промывания, высушивания и вакуумной перегонки экстракта были получены ароматические фракции, которые затем подвергались хроматографическому разделению на более узкие фракции.

При исследовании узких хроматографических фракций люминесцентно-спектральным методом, а также методами МС и УФ-спектроскопии установлено наличие 5-метил- и 6-метилхризенов, бенз(α) нафтацена (I), производных 4,5-метилен-хризена

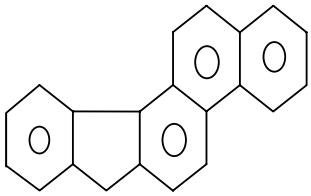
(II), нафт(1,2-с)флуорена (III) и бенз(с)фенантрена (IV) [80–84].



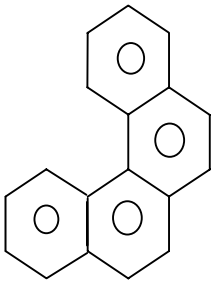
I



II

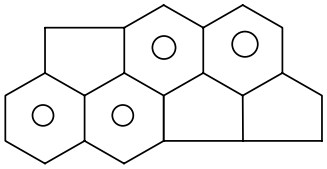


III

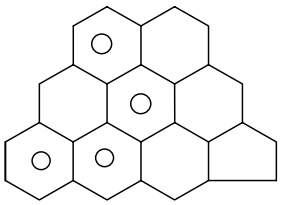


IV

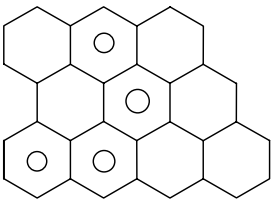
По заключению авторов бензольные углеводороды норийской нефти содержат конденсированные нафтеновые кольца и короткие алкильные цепи, тогда как полициклические конденсированные ароматические углеводороды имеют длинные алифатические цепи. В ряде случаев обнаружены ароматические углеводороды с двумя или более изолированными ароматическими циклами. С применением методов УФ-, ИК-спектроскопии и МС были изучены также кристаллические ароматические углеводороды, выделенные из норийской нефти [79, 82, 84, 85]. Авторами была впервые разработана методика масс-спектрального количественного анализа ароматических углеводородов, позволяющая исследовать соединения с высокой степенью водородной недостаточности C_nH_{2n-18}–C_nH_{2n-44} [84]. По данным УФ-спектроскопии в кристаллических фракциях авторами установлено наличие в основном хризеновых, бензфлуореновых, фенантреновых и 3,4-бензфенантреновых структур. Судя по масс-спектрам, структуры ряда $C_nH_{2n-24,}$ которые содержат от 1 до 3 метильных заместителей, присутствуют в основной массе кристаллических фракций В некоторых из последних обнаружены хризеновые и бензфенантреновые углеводороды, включающие нафтеновые циклы – ряды C_nH_{2n-26} и C_nH_{2n-28}. Пиреновые углеводороды в кристаллических фракциях содержатся в незначительном количестве. Обнаружены также нафталиновые структуры, входящие в состав сложных полициклических нафтеноароматических углеводородов. Что касается кристаллических фракций, выкипающих выше 540 °С, то в них, судя по данным масс-спектров и УФ-спектров, представлены в основном углеводороды, которые содержат хризеновые (V) и 3,4–бензфенантреновые (VI,VII) системы с метильными заместителями, конденсированные с тремя и более нафтеновыми циклами.



C_nH_{2n-30} (V)



C_nH_{2n-34} (VI)



C_nH_{2n-36} (VII)

В результате проведенных комплексных исследований было установлено, что высококипящая дистиллятная часть норийской нефти содержит до 25 % ароматических углеводородов, являющихся гибридными структурами, в которых степень конденсации бензольных ядер и число нафтеновых циклов растут с увеличением температуры кипения и молекулярной массы, причем число нафтеновых колец достигает 6 и более.

4.2. Фенантреновые углеводороды; выделение и исследование

Фенантреновые углеводороды занимают значительное место среди ароматических углеводородов нефти. Однако из-за отсутствия методов выделения из нефтей в литературе имелись весьма скудные сведения об их составе и строении. Начиная с 80-ых годов прошлого века, Л.Д. Меликадзе с сотрудниками провели большую работу по разработке методик и идентификации фенантреновых структур в нефтях. Был разработан метод выделения и разделения фенантреновых углеводородов на основе конденсации указанных углеводородов с малеиновым ангидридом [86–92], базирующийся на фотохимической реакции [93]. Авторами была изучена эта реакция на модельных индивидуальных углеводородах и их исскуственных смесях [94] и разработан метод выделения фенантренов и их бензологов из нефтей, который впоследствии успешно был применен при анализе узких ароматических, широких масляных и остаточных фракций различных по природе малосернистых и сернистых нефтей [86, 87, 90, 92, 95, 96]. Разработанный метод включал: 1) получение фотоаддуктов в растворе гексана в присутствии сенсибилизатора бензофенона при облучении ртутно-кварцовой лампой, 2) фоторазложение аддуктов в растворе этанола, 3) разделение ароматических углеводородов на колонке с оксидом алюминия, 4) анализ их различными инструментальными методами: ГЖХ [90, 92, 97], спектрофотометрии [86,

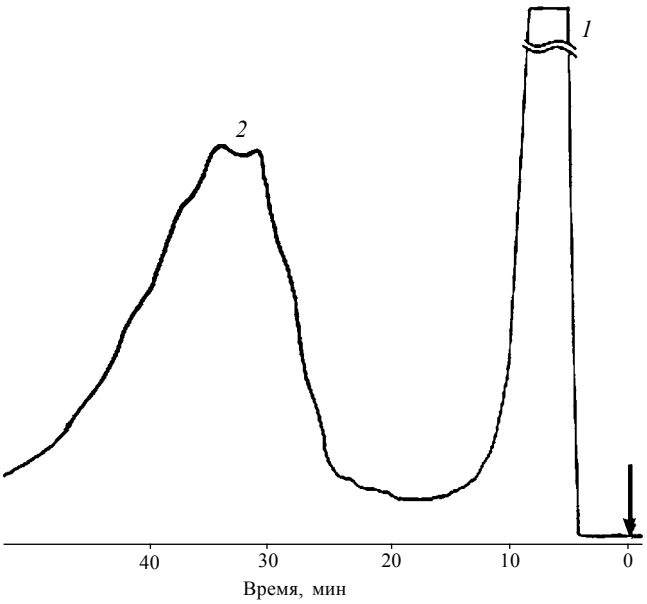


Рис. 6. Хроматограмма ароматического концентрата, выделенного из норийской нефти (фракция 498–510 °С) до обработки малеиновым ангидридом.

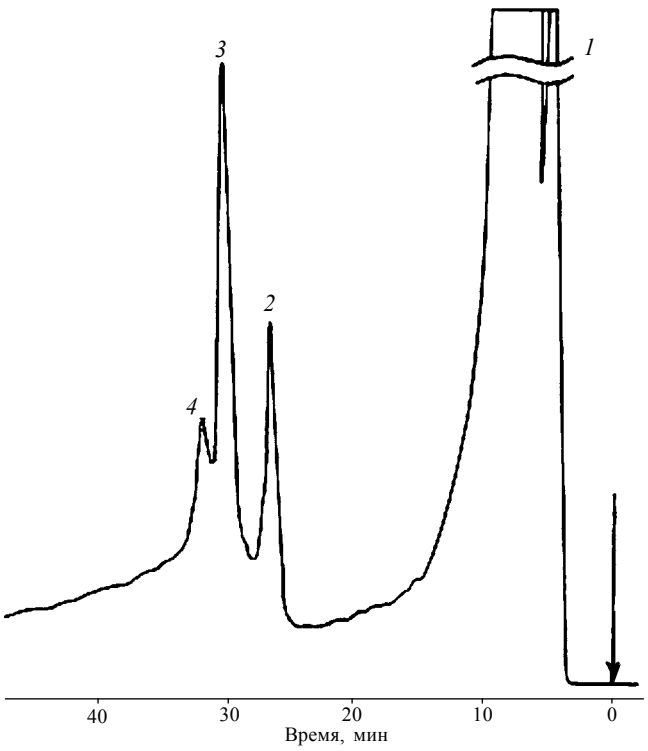


Рис. 7. Хроматограмма ароматического концентрата, выделенного из норийской нефти (фракция 498–510 °С) после обработки малеиновым ангидридом; *1* – *н*-гексан, *2* – фенантрен, *3* – 9-этилфенантрен, *4* – 9,10-диметилфенантрен.

89, 98, 99], спектрофлуориметрии [100, 101], МС [92, 102–107] и ГХ/МС [96,102]. Отметим, что метод дал возможность выделить из нефтей однородные по составу весьма узкие концентраты, в которых даже на шестиметровых насадочных колонках методом ГЖХ возможно идентифицировать отдельные фенантреновые углеводороды. Для примера на рис. 6 и 7 приведены хроматограммы ароматических концентратов, выделенных из норийской нефти (фракция 498–510 °С) до и после обработки малеиновым ангидридом [96]:

Первоначально метод был опробован на высококипящих ароматических фракциях норийской нефти, полученных по [79]. Однако оказалось, что нет необходимости в предварительном выделении из нефти ароматических фракций и в проведении трудоемкого хроматографического разделения, и в дальнейшем выделение фенантренов и их бензологов проводилось непосредственно из широких масляных фракций. Спектрофотометрическими исследованиями и люминесцентным анализом, показано наличие в различных нефтях бензольных, нафталиновых, фенантреновых, пиреновых и хризеновых углеводородов с высоким содержанием фенантреновых углеводородов и их бензологов в элюатах и экстрактах бензолом [86, 89, 98–101].

Узкие ароматические концентраты, выделенные из норийской [79], мирзаанской [108] и самгорской [109] нефтей, были исследованы методом ГЖХ и МС [92, 96, 102–107]. При этом были идентифицированы: фенантрен, 9-метил-, 9-этил-, 9-пропил-, 9-изопропил-, 9,10-диметил-, 1-метил-7-изопропил, циклогексилфенантрены и хризен [90, 92, 97].

Кроме того, проводился масс-спектральный анализ ароматических концентратов, полученных из мирзаанской и самгорской нефтей с использованием прямого ввода в ионный источник при программируемом нагреве образцов от 20 °С до 300 °С со скоростью 50 °С мин$^{-1}$. Полученные масс-спектры обрабатывались на ЭВМ по программе моноизотопных масс-спектров (**МИМС**) с разделением на 10 групп, включающих пики гомологических рядов группы молекулярных ионов $M^{+\cdot}$ и ионов $[M–1]^+$, различающихся по степени водородной ненасыщенности. Затем они использовались для определения группового состава [29]. Такие результаты, полученные для случая норийской нефти, приведены в табл. 7 и 8. Как видно из табл. 7, наибольшее количество фенантренов (80–82 мас. %) наблюдается в элюатах и экстрактах бензолом, а суммарное содержание фенантренов и их бензологов достигает 63–89 мас. %. В табл. 8 приведен групповой углеводородный состав ароматических концентратов – элюатов *н*–гексаном и экстрактов бензолом, выделенных из ароматических фракций норийской нефти с различной температурой кипения. При повышении температуры кипения фракции содержание фенантренов в элюатах вначале увеличивается, достигая максимального значения (54.3 мас. %) в образце № 9 (фракция 510–525 °С), затем уменьшается, достигая минимального значения (37.7 мас. %) в образце №11 (фракция 525–540 °С). Аналогичная закономерность наблюдается и в бензольных экстрактах.

В случае мирзаанской нефти было изучено влияние продолжительности фотооблучения на

Таблица 7. Групповой углеводородный состав (мас. %) узких ароматических концентратов, выделенных из высококипящей ароматической фракции 498–510 °С норийской нефти, рассчитанный по масс-спектрам осколочных ионов.

Типы соединений	Степень водородной ненасыщенности, z в C_nH_{2n-z}	Норийская нефть					
		1	2	3	4	5	6
Алкилбензолы	6	9.1	4.7	3.5	4.7	9.2	13.1
Инданы(тетралины)	8	5.0	–	–	6.7	4.9	2.9
Динафтенбензолы	10	4.3	4.3	3.7	8.4	3.9	4.4
Нафталины	12	5.6	5.8	3.7	9.0	17.4	17.2
Аценафтены	14	7.5	4.5	–	8.1	13.8	14.6
Флуорены	16	8.0	1.6	–	–	17.6	24.4
Фенантрены	18	13.4	60.9	59.7	52.0	16.1	13.6
Нафтенофенантрены	20	33.0	14.8	22.1	8.0	17.1	9.0
Пирены	22	11.8	0.7	3.6	–	–	0.8
Хризены	24	2.3	2.7	3.7	3.1	–	–
∑фенантрены+нафтенофенантрены		46.4	75.7	81.8	60.0	33.2	22.6
∑фенантрены+нафтенологи и бензологи фенантренов		60.1	79.1	89.1	63.1	33.2	23.4

Таблица 8. Влияние температуры кипения фракций на групповой углеводородный состав (мас. %) полученных из них узких ароматических концентратов (рассчитан по масс-спектрам осколочных ионов).

Типы соединений	z в C_nH_{2n-z}	Элюаты *н*-гексаном			Элюаты бензолом		
		7	9	11	8	10	12
Алкилбензолы	6	10.1	12.5	10.8	1.5	1.9	10.2
Инданы(тетралины)	8	1.0	–	2.6	1.1	–	–
Динафтенбензолы	10	4.8	5.3	10.2	2.0	1.0	1.1
Нафталины	12	10.5	9.8	124	1.8	1.8	11.0
Аценафтены	14	6.3	7.5	7.6	1.2	–	6.6
Флуорены	16	15.9	10.6	17.2	1.9	8.7	14.4
Фенантрены	18	40.9	44.1	29.7	40.5	44.6	16.9
Нафтенофенантрены	20	10.5	10.2	8.6	35.9	36.6	33.9
Пирены	22	–	–	1.5	3.0	5.4	4.8
Хризены	24	–	–	–	2.1	–	1.3
Σ фенантрены, нафтенофенантрены		51.4	54.3	37.7	76.4	81.2	50.

Примечание. Образцы № 7 и 8 получены из фракции 498–510 °С, №9 и 10 из фракции 510–525 °С, №11 и 12 – из фракции 525–540 °С норийской нефти.

состав выделяемых конденсацией с малеиновым ангидридом ароматических концентратов. Для примера групповой состав ароматических концентратов, полученных из фракции 460–475 °С при 2, 6 и 28-часовом облучении до и после хроматографического разделения приведен в табл. 9 и 10 соответственно. Как видно, наибольшее содержание фенантренов приходится на ароматические концентраты, выделенные при шестичасовом облучении, а из узких ароматических концентратов наиболее богаты указанными углеводородами элюаты и экстракты бензолом. Наглядная иллюстрация влияния продолжительности облучения, природы и температуры растворителя на эффективность извлечения фенантреновых углеводородов из фракции 460–475 °С мирзаанской и ароматической фракции 498–510 °С норийской нефтей приведена также на рис. 8 и 9.

В табл. 11 приведен углеводородный состав (мас. %) ароматических концентратов, выделенных из высококипящих фракций самгорской нефти. Как видно, наибольшее количество фенантренов и нафтенофенантренов наблюдается в элюатах и экстрактах бензолом (45–69 мас. %), а суммарное содержание фенантренов, их нафтенологов и бензологов достигает 49–71 мас. %.

Для сравнения группового состава узких ароматических концентратов, выделенных из различных нефтей и фракций, выкипающих в приблизительно одинаковом температурном интервале, в табл. 12 приведены результаты масс-спектрального анализа экстрактов горячим бензолом верхней зоны, полученных при 6-часовом облучении из фракции 498–510 °С норийской (образец №3), 490–505 °С мирзаанской (образец №41) и 450–500 °С самгорской (образец №39) нефтей.

Для оценки степени извлечения ароматических углеводородов сопоставлялось содержание их в исходных нефтяных фракциях и ароматических концентратах, полученных фотохимической обработкой малеиновым ангидридом по разработанному методу, до хроматографического разделения на ок-

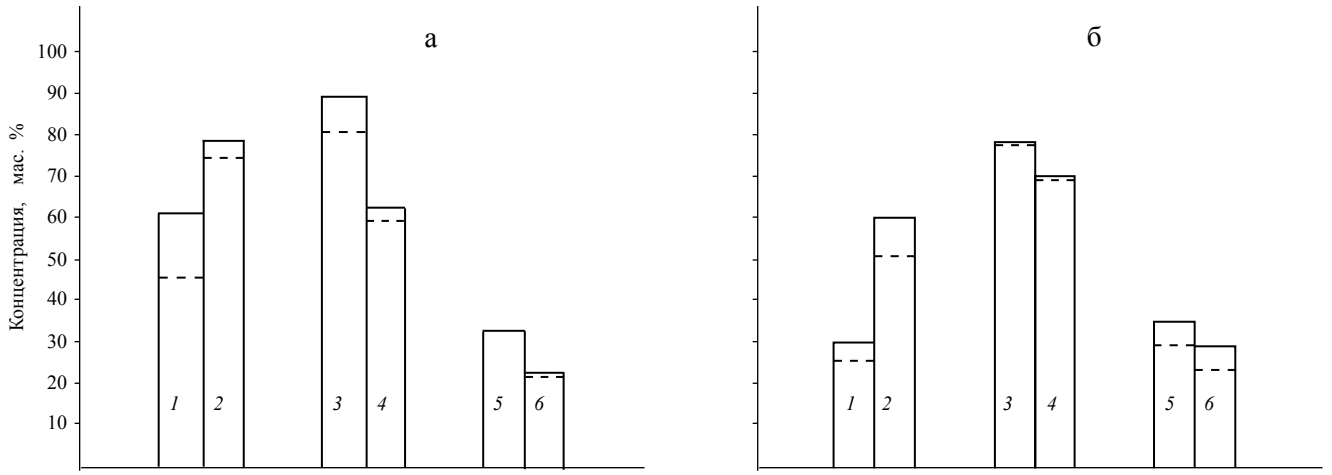


Рис. 8. Влияние природы и температуры растворителя на эффективность извлечения алкил- и нафтенофенантренов (пунктирная линия) и фенантренов и их бензологов из хроматографической колонки в случае норийской (а) и мирзаанской (б) нефтей. *1* – элюат *н*-гексаном, *2* – элюат бензолом, *3* – экстракт горячим бензолом верхней зоны, *4* – экстракт горячим бензолом нижней зоны, *5* – экстракт 1,4-диоксаном верхней зоны и *6* – экстракт 1,4-диоксаном нижней зоны.

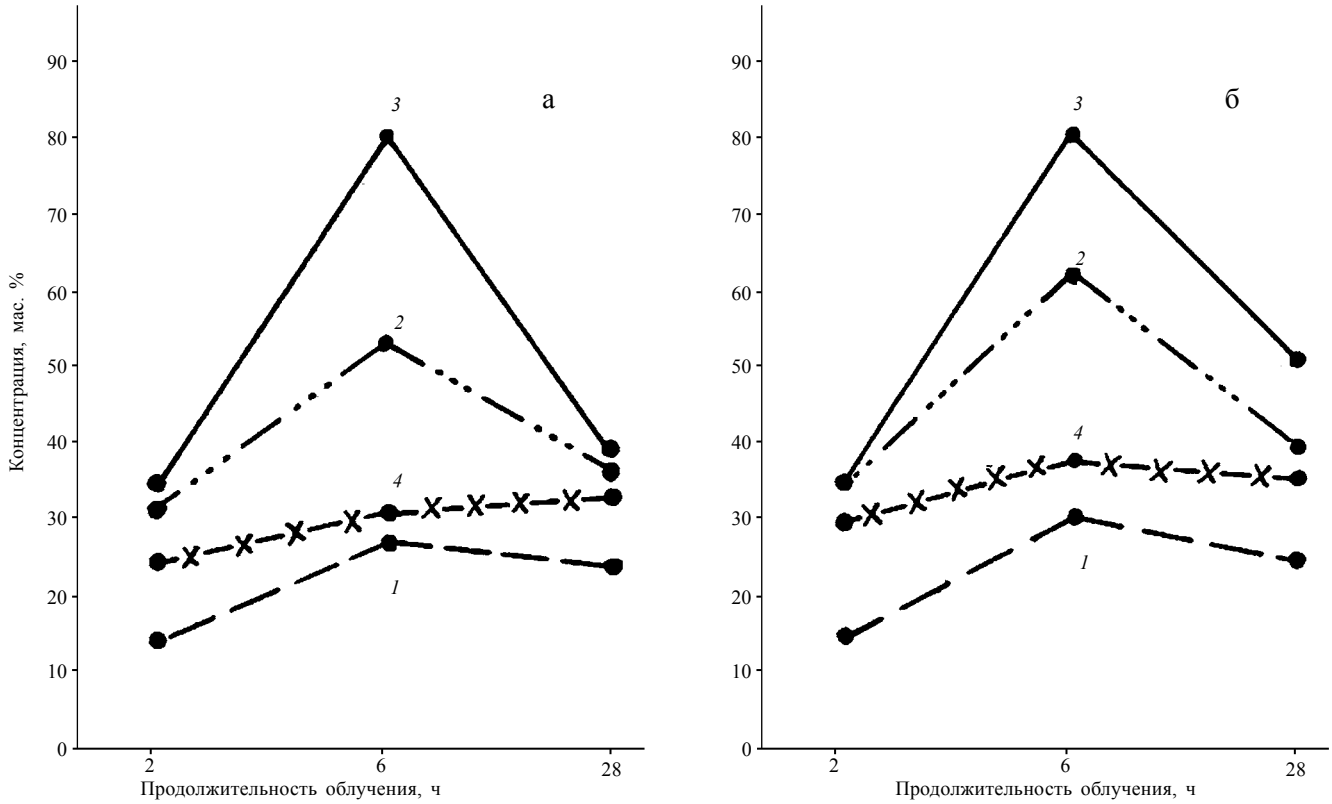


Рис. 9. Влияние продолжительности облучения, природы и температуры растворителя на эффективность извлечения алкил- и нафтенофенантренов (а) и фенантренов и их бензологов (б) из хроматографической колонки в случае мирзаанской нефти; *1* – элюат *н*-гексаном, *2* – элюат бензолом, *3* – экстракт горячим бензолом верхней зоны и *4* – экстракт 1,4-диоксаном верхней зоны.

сиде алюминия. Данные, приведенные в табл. 13, свидетельствуют об эффективности предложенного метода анализа фенантреновых углеводородов и их бензологов независимо от природы нефти и характера исследуемых фракций.

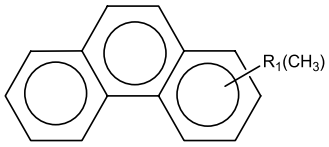
Масс-спектрометрический метод, включающий программу МИМС [110, 111], был использован также для определения группового состава фенантреновых углеводородов, их бензологов и нафтенологов в норийской (образцы № 1–3) и мирзаанской (образцы № 19–21) нефтей [96, 107]. По характеру распределения осколочных и перегруппировочных ионов была установлена средняя степень замещения, определены области истинно–молекулярных ионов гомологических рядов $M^{+\cdot}$ и ионов $[M–1]^+$ в МИМС. По кривым молекулярно-массового распределения **(ММР)** установлены число и длина алкильных заместителей в фенантренах

Таблица 9. Групповой углеводородный состав (мас. %) ароматических концентратов, выделенных при различной продолжительности облучения (фракции 460–475 °С) из мирзаанской нефти, рассчитанный по масс-спектрам осколочных ионов.

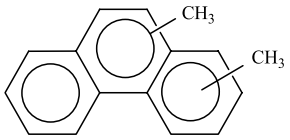
Типы соединений	z в C_nH_{2n-z}	Продолжительность облучения, ч		
		2	6	28
Алкилбензолы	6	11.4	9.8	10.6
Инданы(тетралины)	8	1.7	2.5	6.1
Динафтенбензолы	10	3.8	7.9	9.7
Нафталины	12	18.7	6.7	10.5
Аценафтены	14	20.7	3.1	8.6
Флуорены	16	11.7	4.4	10.3
Фенантрены	18	18.7	51.1	25.5
Нафтенофенантрены	20	11.9	10.9	11.1
Пирены	22	1.4	2.7	5.6
Хризены	24	–	0.9	2.0
∑ Бензольные углеводороды		28.6	24.6	36.7
∑ Нафталиновые углеводороды		39.4	9.8	19.1
∑ Фенантрены и нафтенофенантрены		30.6	62.2	36.6
∑ Фенантрены, пирены и хризены		32.0	62.7	44.2

и их бензологах. Анализ области характеристических пиков ионов алкилфенантренов в гомологических рядах показал, что во всех исследуемых узких ароматических концентратах наблюдается максимальная интенсивность пиков с *m/z* 178, 192, 206, 220 и 234, что указывает на присутствие голоядерного фенантрена, монометил-, диметил-, этил-, триметил- и тетраметилзамещенных фенантренов. В образцах №1–3, выделенных из ароматической фракции 498–510 °С норийской нефти, наблюдаются значительные пики ионов в гомологическом ряду C_nH_{2n-18} с *m/z* 192, 206 и 220, что свидетельствует о присутствии моно-, ди- и тризамещенных алкилфенантренов.

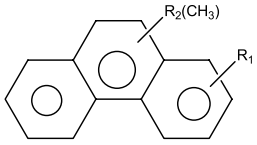
Ниже приведены наиболее вероятные типы структур алкилфенантренов (VIII–XVI) в образцах №1–3, отвечающие максимальным интенсивностям характеристических пиков ионов (с *m/z* 191 и 192, 205 и 206, 219 и 220, 233 и 234).



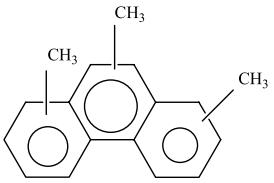
VIII (*m/z* 191 и 192)



IX (*m/z* 205 и 206)



X (*m/z* 205 и 206)



XI (*m/z* 219 и 220)

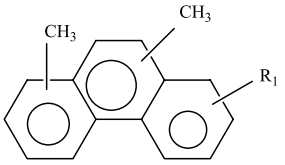
Таблица 10. Групповой углеводородный состав (мас. %) узких ароматических концентратов, выделенных из широкой масляной фракции мирзаанской нефти (фракции 460–475 °С), при различной продолжительности облучения, рассчитанный по масс-спектрам осколочных ионов.

Углеводороды	z в C_nH_{2n-z}	Продолжительность облучения, ч															
		2						6						28			
		13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28
Алкилбензолы	6	16.2	7.5	10.4	9.6	19.1	15.1	13.2	8.6	9.0	7.7	16.2	19.2	16.2	7.8	9.0	17.5
Инданы (тетралины)	8	2.6	–	2.8	0.1	3.4	1.0	8.8	1.4	1.0	3.1	5.1	5.7	14.0	4.6	7.0	3.9
Динафтенбензолы	10	13.3	8.3	1.2	4.2	5.6	4.6	12.1	12.7	4.4	4.9	11.6	11.6	15.5	13.1	8.2	6.9
Нафталины	12	21.4	23.6	27.3	32.1	9.1	16.6	13.6	9.2	2.6	6.4	10.9	11.2	13.0	12.7	8.4	12.2
Аценафтены	14	22.8	16.2	10.4	10.8	25.3	16.4	10.2	2.7	–	1.1	11.4	12.6	8.3	9.4	7.4	10.6
Флуорены	16	9.3	10.2	13.5	10.5	7.7	14.3	11.7	2.9	2.7	4.7	7.5	8.1	7.9	12.5	8.5	12.5
Фенантрены	18	12.8	22.7	17.9	31.2	17.4	20.1	25.4	42.2	69.9	52.6	26.5	19.7	15.4	31.7	24.7	20.6
Нафтенофенантрены	20	1.6	7.8	16.5	0.8	6.6	7.3	1.7	10.5	10.4	19.5	4.4	5.4	7.3	5.3	14.4	12.4
Пирены	22	–	3.7	–	–	5.5	4.6	3.3	6.5	–	–	6.4	6.5	2.4	2.9	8.2	3.4
Хризены	24	–	–	–	0.7	–	–	–	3.3	–	–	–	–	–	–	4.2	–
∑Бензольные углеводороды		41.4	26.0	27.9	24.4	36.1	35.0	45.8	25.6	17.1	20.4	40.4	44.6	53.6	38.0	32.7	40.8
∑Нафталины		44.2	39.8	37.7	42.9	34.4	33.0	23.8	11.9	2.6	7.5	22.3	23.8	21.3	22.1	15.8	22.8
∑Фенантрены. нафтенофенантрены, бензологи фенантренов		14.4	34.2	34.4	32.7	29.5	32.0	30.4	62.5	80.3	72.1	37.3	31.6	25.1	39.9	51.5	36.4

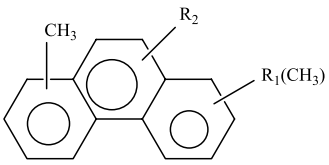
Примечание. Образцы 13, 19, 25 – элюаты *н*-гексаном; 14, 20, 26 – элюаты бензолом; 15, 16, 21, 22, 27 – экстракты бензолом; 17, 18, 23, 24, 28 – экстракты диоксаном.

Таблица 11. Групповой углеводородный состав (мас. %) ароматических концентратов, выделенных из высококипящих фракций самгорской нефти.

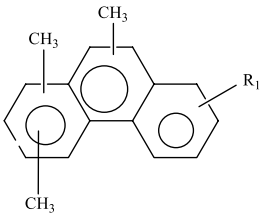
Типы соединений	z в C_nH_{2n-z}	Самгорская нефть											
		Фракция 350–400 °C				Фракция 400–450 °C				Фракция 450–500 °C			
		29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40
Алкилбензолы	6	13.6	12.6	9.3	16.2	16.8	10.0	9.1	19.2	12.0	4.9	5.3	23.0
Инданы(тетралины)	8	9.3	10.8	8.4	12.9	5.6	6.3	4.4	9.5	7.9	2.6	1.2	6.1
Динафтенобензолы	10	12.5	7.9	7.4	9.1	11.9	7.1	5.2	9.9	14.1	5.2	6.7	10.5
Нафталины	12	19.1	11.3	7.9	18.7	14.3	11.3	8.0	25.1	12.2	7.1	6.7	9.9
Аценафталины	14	18.4	4.7	4.1	14.8	19.9	9.9	8.1	11.2	13.9	6.7	5.9	15.4
Флуорены	16	12.7	3.3	3.8	5.9	7.1	5.1	4.3	3.0	10.0	6.5	3.0	8.2
Фенантрены	18	9.4	40.1	44.2	14.0	20.1	39.2	40.1	19.2	20.1	43.1	63.2	20.1
Нафтенофенантрены	20	5.0	5.1	10.8	8.1	1.5	5.3	8.0	2.1	4.0	12.9	6.3	3.2
Пирены	22	–	4.2	4.1	0.3	1.6	5.0	9.9	0.7	5.3	6.4	1.7	3.0
Хризены	24	–	–	–	–	1.2	0.8	2.9	0.1	0.5	4.6	–	0.6
$\sum$ Фенантрены, нафтенофенантрены		14.4	45.2	55.2	22.1	21.6	44.5	48.1	21.3	24.1	56.0	69.5	23.3
$\sum$Фенантрены, нафтенологи и бензологи фенантренов		14.4	49.4	59.1	22.4	24.4	50.3	60.9	22.1	29.9	63.0	71.2	26.9



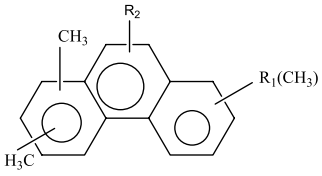
XII (*m/z* 219 и 220)



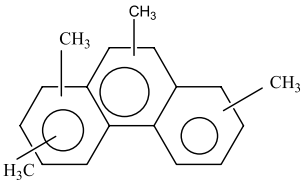
XIII (*m/z* 219 и 220)



XIV (*m/z* 233 и 234)



XV (*m/z* 233 и 234)



XVI (*m/z* 233 и 234)

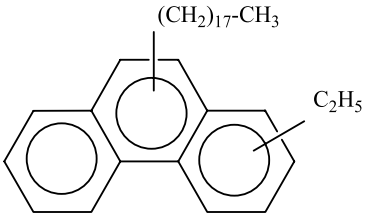
Таблица 12. Углеводородный состав (мас. %) концентратов фенантреновых углеводородов, выделенных из норийской (образец № 3), мирзаанской (образец № 41) и самгорской (образец № 39) нефтей, рассчитанный по масс-спектрам осколочных ионов.

Типы соединений	z в C_nH_{2n-z}	Образцы		
		3	41	39
Алкилбензолы	6	3.5	3.0	5.3
Инданы(тетралины)	8	–	–	1.2
Динафтенбензолы	10	3.7	2.5	6.7
Нафталины	12	3.7	4.1	6.7
Аценафтены	14	–	3.8	5.9
Флуорены	16	–	71.2	3.0
Фенантрены	18	59.7	9.8	63.2
Нафтенофенантрены	20	22.1	1.3	6.3
Пирены	22	3.6	2.7	1.7
Хризены	24	3.7	–	–
$\sum$ Фенантрены +нафтенофенантрены		81.8	80.0	69.5
$\sum$Алкилфенантрены +нафтенофенан–трены+пирены+хризены		89.1	80.0	71.2

На рис.10а приведены кривые ММР алкилфенантренов, отвечающих формуле C_nH_{2n-18}, для образцов № 1–3. Истинно-молекулярная область распределения структур начинается с массы 346, что соответствует 12 атомам углерода в алифатических заместителях. Существование нескольких типов структур подтверждается наличием максимумов на кривой распределения интенсивности пиков ионов в гомологическом ряду $[C_nH_{2n-19}]^+$, в области *m/z* 177, 191, 205, 219 и в ряду $[C_nH_{2n-18}]^{+\cdot}$ (*m/z* 178, 192, 206, 220). Максимум на кривой ММР образца №1 соответствует фенантреновым углеводородам, содержащим один короткий этильный и один длинный заместитель – $[C_{18}H_{35}]^+$ (XVII), а для образцов № 2 и 3 алкилфенантренам с более длинными алкильными заместителями $[C_{21}H_{43}]^+$ и $[C_{22}H_{45}]^+$.

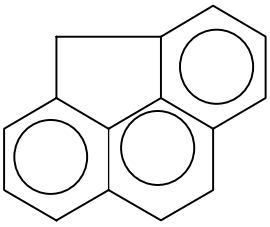
Таблица 13. Групповой состав (мас. %) исходных нефтяных фракций (1) и ароматических концентратов (2) и степени извлечения ароматических углеводородов (3).

Нефть	$T_{кип.}$ фракции, °C	Продолжительность облучения, ч	Бензольные			Нафталиновые			Фенантреновые			Пиреновые и хризеновые		
			1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Норийская	498–510	6	23.4	14.3	19.2	31.0	10.9	11.0	38.1	69.6	57.7	7.2	5.2	23.9
Мирзаанская	460–475	6	17.6	24.6	18.3	13.6	9.8	9.6	15.2	62.0	52.2	1.2	3.6	36.8
		2	17.6	28.6	13.2	13.6	39.4	23.0	15.2	30.6	14.2	1.2	1.4	32.0
		28	17.6	36.7	30.9	13.6	19.1	21.5	15.2	36.6	36.5	1.2	7.6	96.3

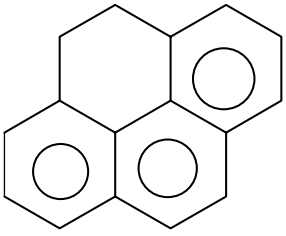


XVII

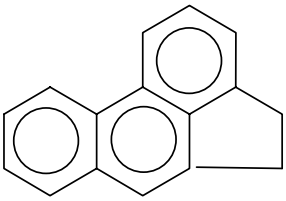
Анализ нафтенофенантренов несколько затруднен из–за неопределенности природы нафтенового кольца (пяти- или шестичленное) и положения заместителей. По характеру распределения интенсивностей пиков ионов с *m/z* 189, 203, 217, 231, 245 и 259 для гомологического ряда $[C_nH_{2n-21}]^+$ и 190, 204, 218, 232, 246 и 260 для $[C_nH_{2n-20}]^{+\cdot}$ можно судить о наличии в исследуемых образцах №1–3 голоядерных, моно-, ди-, три- и тетраалкилзамещенных мононафтенофенантренов. Ниже приведены вероятные типы структур голоядерных мононафтенофенантренов, соответствующих максимальным интенсивностям характеристических пиков ионов с *m/z* 189 и 190, 203 и 204, 217 и 218 (XVIII–XXI).



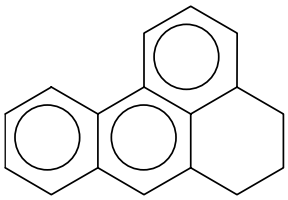
XVIII (*m/z* 189 и 190)



XIX (*m/z* 203 и 204)



XX (*m/z* 203 и 204)



XXI (*m/z* 217 и 218)

На рис.10б–г приведены кривые ММР нафтенофенантренов, динафтенофенантренов и пиренов общей формулы C_nH_{2n-24}, динафтенофенентренов и пиренов общей формулы C_nH_{2n-22} и хризенов общей формулы C_nH_{2n-24} для тех же образцов. Все кривые позволяют определить области истинно молекулярного распределения указанных структур, предположительное их количество и число углеродных атомов в алкильных заместителях.

В образцах № 19–21, полученных из мирзаанской нефти (фракция 460–475 °C), аналогично норийской нефти, присутствуют алкил-, нафтено- и динафтенофенантрены. Кривые ММР указанных углеводородов в образцах №19–21 приведены на рис.11. Как видно, истинно молекулярная область распределения структур начинается для алкилфенантренов с массы 458 (20 атомов углерода), для мононафтенофенантренов с 414 (16 С-атомов) и для динафтенофенантренов с 384 (12 С-атомов в алкильных заместителях).

Таким образом, по данным масс–спектрального анализа среди ароматических углеводородов норийской и мирзаанской нефтей отмечено наличие как голоядерного фенантрена, так и его моно-, ди-, три- и тетразамещенных алкилфенантренов в основном с метильными группами, а также мононафтено- и динафтенофенантренов, моно-, ди- и тризамещенных пиренов и хризенов, причем в них наряду с короткими содержится и один длинный алкильный заместитель [96, 107].

Фенантреновые углеводороды, выделенные из ароматической фракции 498–510 °C норийской нефти, были исследованы методом ГХ/МС [102]. При этом было показано, что в исследуемом образце они в основном представлены фенантреном и его алкилпроизводными, нафтено- и динафтенофенантренами. Гомологи обычно содержали метильные заместители, хотя в случае нафтено- и динафтенофенантренов встречались диметилбутил-производные. Идентифицированы следующие соединения: фенантрен, 1-метил-, 2-метил-, 3-метил-, 9-метил-, 9,10-диметил-, 2,5-диметил-, 2,3-диметил-, 2,7-диметил-, 4,5-диметил-, 9-этил-, 9-пропил-, 9-изопропил-, 9-бутил-, 1-метил-7-изопропилфенантрены, 3 изомера триметилфенантрена, циклогексил-, диметилнафтено-, диметилдинафтено-, бутилнафтено-, бутилдинафтенофенантрены и хризен. В то же время авторами из мирзаанской и самгорской нефтей выделены в индивидуальном виде и идентифицированы фенантрен, 9-метил- и 9-этилфенантрены [90, 92, 96, 97, 102].

4.3. Сравнительная характеристика состава высококипящих нефтяных фракций, смолисто–асфальтеновых соединений и природных битумов

Интересная работа по исследованию высококипящих ароматических углеводородов нефти была проведена Л.Д. Меликадзе с сотрудниками на примере некоторых грузинских нефтей. Ими использованием ряда ароматических углеводородов различного строения был разработан автоклавный гидропиролитический метод фрагментации, позволяющий выявить ароматические фрагменты высококипящих соединений нефти, легко идентифицируемые различными методами анализа, в частности, ГЖХ и МС [112]. Масс-спектральный анализ гидропиролизатов полициклических ароматических углеводородов проводился при использовании прямого ввода образцов в ионный источник, причем компонентный состав определялся по пикам $M^{+\cdot}$. Было показано, что в условиях гидропиролиза углеводороды в основном сохраняют кольчатую структуру, а основными процессами являются отшепления алкильных цепей и распад нафтеновых колец, причем деалкилирование длинных цепей происходит легче, чем коротких.

Разработанный метод был применен к дистиллятным и остаточным фракциям норийской нефти, а также смолисто-асфальтеновым соединениям норийской, супсинской и самгорской нефтей и природных битумов [113, 114]. Был проведен масс-спектральный анализ высококипящих ароматических углеводородов норийской нефти (фракции 498–510 °С, 525–540 °С, 560–590 °С) и их пиролизатов, полученных по методике [79, 80]. Расчет проведен по суммарным интенсив-

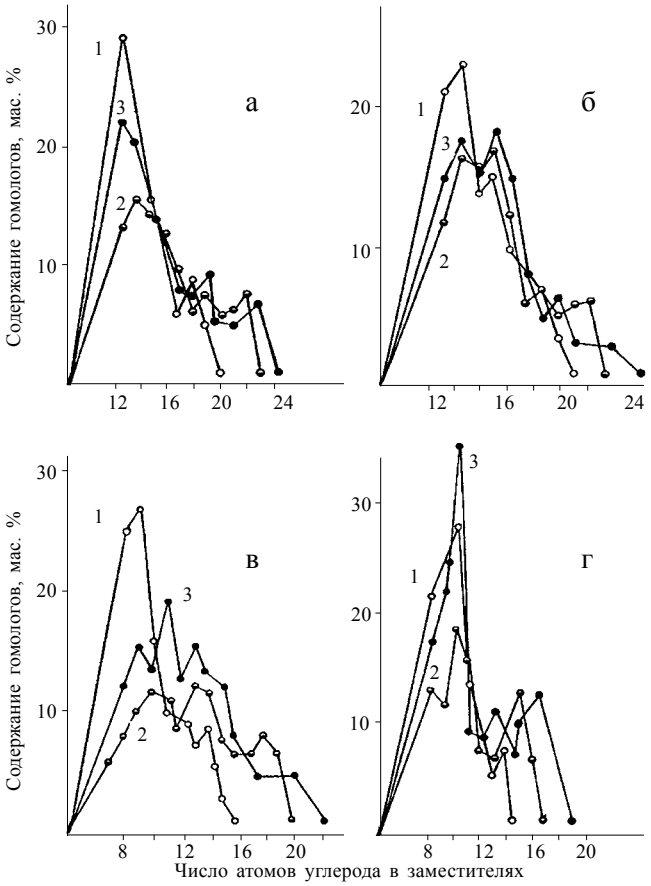


Рис. 10. Молекулярно-массовое распределение алкилфенантренов (а), мононафтенофенантренов (б), динафтенофенантренов (в) и хризенов (г) в образцах № 1–3, выделенных из норийской нефти (т. кип. 498–510 °С).

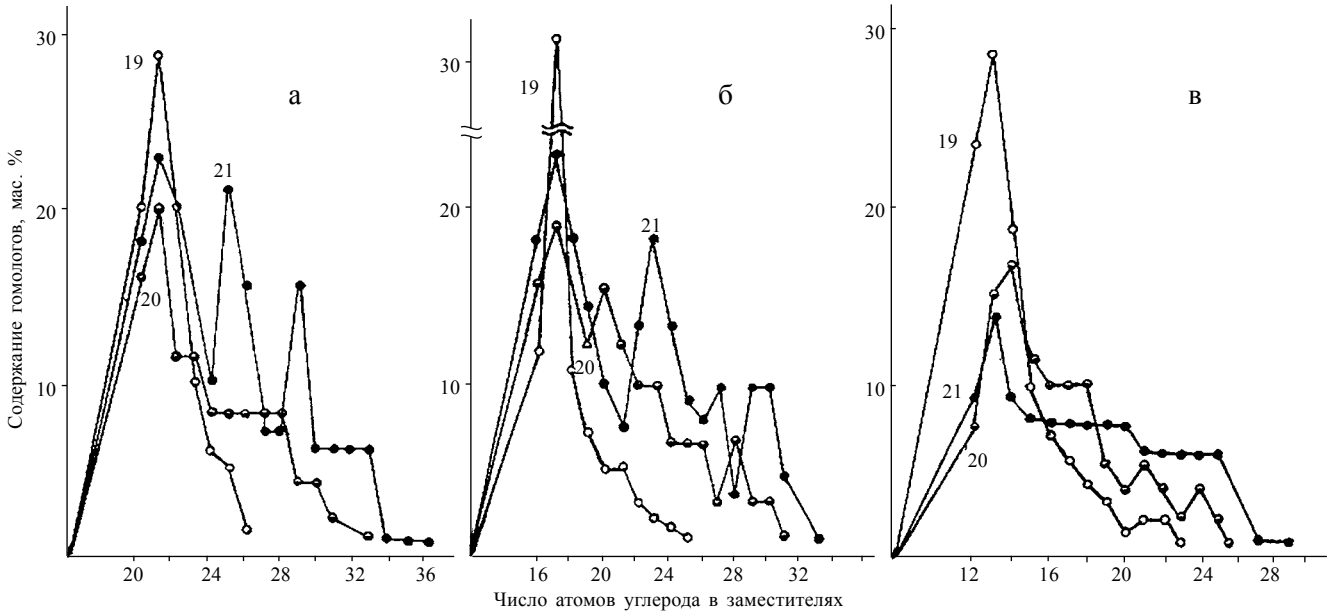


Рис.11. Молекулярно-массовое распределение алкилфенантренов (а), нафтенофенантренов (б) и динафтенофенантренов (в) в образцах № 19–21, выделенных из мирзаанской нефти (т. кип. фракции 460–475 °С).

ностям пиков молекулярных и осколочных ионов по методике [29, 115]. В результате в ароматических фракциях норийской нефти показано наличие в основном нафталинов, аценафтенов, флуоренов, фенантренов, нафтенофенантренов, пиренов и хризенов, а в гидропиролизатах – нафталина, фенантрена, пирена, хризена, перилена, бензперилена и др. Данные, полученные методами ГЖХ и МС, оказались довольно близкими. Судя по масс-спектрам, в ароматической фракции норийской нефти 498–510 °С содержится наибольшее количество фенантренов и в меньших количествах флуорены, дифенил, пирен, хризен и их алкилпроизводные. С увеличением температуры кипения фракции содержание фенантренов в пиролизатах уменьшается и увеличивается содержание полициклических структур.

В работе [4, 113, 116] авторами методом гидропиролитической фрагментации были изучены кристаллические компоненты, выделенные из высококипящих ароматических фракций норийской нефти по методике [79, 80]. Данные масс–спектрометрических исследований и структурно-группового анализа по УФ– и ИК– спектрам поглощения позволили авторам предположить, что в молекулах кристаллических продуктов содержатся ароматические углеводороды с эмпирической формулой C_nH_{2n-18} – C_nH_{2n-44}, а основными продуктами гидропиролиза являются флуорены, дифенилы, нафталины, фенантрены, хризены и пирены.

В работах [113, 117] метод гидропиролиза был применен к исследованию смолисто–асфальтеновых соединений норийской и самгорской нефтей и природных битумов. По данным МС и ГЖХ ароматические фрагменты смолисто–асфальтеновых соединений и природных битумов содержат те же структуры, что и нефтяные высококипящие углеводороды, то есть нафталина, метилнафталина, дифенила, флуорена, фенантрена, метилфенантрена, пирена и хризена. Все это свидетельствует об идентичности ароматических фрагментов смол и асфальтенов. Наличие одинаковых фрагментов в углеводородной, смолисто–асфальтеновой частях нефти и природных битумах подтверждает мнение ряда исследователей о существовании генетической связи между нефтью и природными битумами.

Заключение

В обзоре представлен материал по исследованию углеводородного состава нефтей грузинских месторождений: Норио, Мирзаани, Тарибана, Сацхениси, Самгори–Патардзеули, Ниноцминда, Шромис–убани, Телети, Самгори–Сартичала с применением наиболее информативных методов анализа МС, ГЖХ и ГХ/МС, а также дополнительной разделительной техники и оптической спектроскопии. Масс-спектрометрическая техника была использована для определения структурно-группового состава, но главным образом для исследования углеводородов на молекулярном уровне.

В средних фракциях высокопарафинистой тарибанской и нафтено-ароматической сацхенисской нефтей идентифицированы 36 углеводорода, три-, тетра- и пентациклических циклоалканов каркасной структуры (полиэдраны). Выявлено присутствие в указанных нефтях нескольких гомологических рядов наименее изученных тетрациклических углеводородов этого класса. Идентифицированы также 6 бицикланов – полиметилзамещенных декалинов.

В нефтях различного химического типа и различных геологических условий залегания было выявлено присутствие почти всех известных реликтовых структур. Все они принадлежали в основном к 17α-Н гопановому ряду, причем в них в максимальной концентрации присутствовал сам 17α-Н гопан ($C_{30}H_{52}$). Установлено, что характерной особенностью всех названных нефтей является высокая концентрация изопреноидных алканов, особенно изо-C_{19} и изо-C_{20}, соотношение которых отражает условия превращения нефтей в залежах. Высказано предположение о влиянии водо-нефтяного контакта и палеотемпературы на процессах их биодеградации.

При исследовании ароматических углеводородов высококипящих фракций норийской, мирзаанской и самгорской нефтей особое внимание уделено фенантреновым углеводородам, их бензологам и нафтенологам, которые на молекулярном уровне исследованы методами ГЖХ и ГХ/МС. Помимо вышеуказанных ароматических углеводородов в грузинских нефтях доказано наличие нафталинов, аценафтенов, флуоренов, пиренов. хризенов, 3,4-бензфенантренов и более конденсированных ароматических полициклических структур со степенью водородной ненасыщенности C_nH_{2n-18} – C_nH_{2n-44}.

Таким образом, благодаря мощным аналитическим возможностям методов МС и ГХ/МС, была получена наиболее полная информация о природе углеводородного состава нефтей основного нефтегазоносного района Грузии, которая может быть крайне полезной как в теоретическом отношении, так и для рационального использования нефтяного сырья.

Список литературы

1. Х.И. Арешидзе, *Исследование в области нефтехимического синтеза*, Универсал, Тбилиси, 2006.
2. Л.Д. Меликадзе, Г.Ш. Хитири, «Некоторые предпосылки целесообразного освоения нефтей малодебитных месторождений Грузии», *Сообщ. АН ГССР* **114**, 537–540 (1984).
3. Е.М. Бенашвили, *Разделение углеводородных и гетероатомных соединений нефти*, Мецниереба, Тбилиси, 1987.
4. И.Л. Эдилашвили, Э.А. Ушараули, *Исследование нефтей Грузии*, Сборник трудов, АН ГССР, Химия и химическая технология, Мецниереба, Тбилиси, 294–305 (2001).
5. А.В. Дидидзе, С.Д. Пустильникова, О.А. Арефьев, А.А. Петров, «Исследование индивидуального состава высокомолекулярных насыщенных углеводородов грузинских нефтей», *Нефтехимия* **19**, 336–343 (1979).
6. Э.Н. Топурия, Э.А. Ушараули, Л.М. Кортава, И.Дж. Мчедлишвили, Н.Н. Схиртладзе, Д.Д. Гвердцители, И.Л. Эдилашвили, «Химическая типизация тарибанской и сацхенисской нефтей», *Georg. Eng. News* **2**, 175–180 (2003).
7. Н.Т. Хецуриани, «Исследование нефтей Грузии и установление путей их рационального применения», Дис. канд. хим. наук, ИФОХ им. П. Меликишвили АН Грузии, Тбилиси, 2002.
8. Л.Ф. Топуридзе, Г.Ш. Хитири, Н.Т. Хецуриани, И.Л. Эдилашвили, «Изучение нефти ведзебского месторождения», *Хим. журн. Грузии* **6**, 637–638 (2006).
9. И.Л. Эдилашвили, «Фотоокислительные превращения и стабилизация нефтяных масел», Дис. докт. хим. наук, ИНХП им. Ю.Г. Мамедалиева АН АзССР, Баку, 1984.
10. Т.Н. Габуния, К.Г. Годердзишвили, И.Л. Эдилашвили, Р.А. Ахобадзе, М.Г. Надареишвили, «Корреляция нефтей кавказского региона по распределению микроэлементов», *Хим. журн. Грузии* **6**, 23–26(2006).
11. А.А. Петров, *Углеводороды нефти*, Наука, Москва, 1981.
12. А.И. Богомолов, М.Б. Темянко, Л.И. Хотинцева, *Современные методы исследования нефти*, Недра, Ленинград, 1984.
13. Е.И. Багрий, «Углеводороды ряда адамантана», *Нефтехимия* **23**, 723–739 (1983).
14. З.В. Якубсон, О.А. Арефьев, Ал.А. Петров, «Трициклические насыщенные углеводороды нефти состава C_{11}–C_{13}», *Нефтехимия* **13**, 345–351 (1973).
15. Б. Тиссо, Д. Вельте, *Образование и распространение нефти*, Мир, Москва, 1981.
16. А.Ю. Колесников, О.В. Найденов, И.А. Матвеева. «Реликтовые и полициклические ароматические углеводороды как показатели условий генезиса нефтей», *Нефтехимия* **31**, 6, 723–736 (1991).
17. П. Джулиани, Ж. Леле, Е. Горски, Г. Годмари. «Нефтехимические теплоносители для ядерных реакторов», в кн.Труды VI Международного конгресса Гостоптехиздат, Москва, 298–304 (1965).
18. Г.Ф. Усыпина, А.А. Меркуров, А.М. Ганзин, Э.В. Кашликова «Исследование углеводородного состава сырья для производства технического углерода», *Нефтехимия* **29**, 283–286 (1989).
19. Л.Д. Меликадзе, Э.А. Ушараули, А.А. Дзамукашвили, М.А. Мачабели, «Исследование некоторых нефтей Грузии на содержание углеводородов адамантанового ряда», *Сообщ. АН ГССР* **68**, 81–84 (1972).
20. Э.А. Ушараули, Э.Н. Топурия, «Исследование грузинских нефтей на содержание адамантана и его производных», *Сообщ. АН ГССР* **72**, 331–364 (1973).
21. А.В. Дидидзе, О.А. Арефьев, Т.С. Шакарашвили, Н.Г. Бекаури, «Исследование насыщенных углеводородов состава C_{11}–C_{13}нефтей грузинских месторождений Норио, Мирзаани, Сартичала», *Сообщ. АН ГССР* **85**, 633–635 (1977).
22. Э.Н. Топурия, Л.Д. Меликадзе, А.И. Микая, И.А. Мусаев, Э.Х. Курашова, «Изучение полициклических нафтеновых углеводородов сацхенисской нефти (Груз. ССР)», *Сообщ. АН ГССР* **122**, 309–312 (1986).
23. Э.Н. Топурия, Л.Д. Меликадзе, И.А. Мусаев, А.И. Микая, Э.Х. Курашова, «К изучению полициклических нафтенов тарибанской и сацхенисской нефтей», *Сообщ. АН ГССР* **123**, 553–556 (1986).
24. Э.Н. Топурия, А.И. Микая, Л.Д. Меликадзе, Э.Х. Курашова, Н.Н. Схиртладзе, «Полициклические нафтены фракции 200–250 °С тарибанской нефти (Грузинская ССР)», *Сообщ. АН ГССР* **128**, 49–52 (1987).
25. Э.Н. Топурия, Л.Д. Меликадзе, Э.Х. Курашова, «Полициклические нафтены средних фракций тарибанской и сацхенисской нефтей», Тез. докл. Всесоюзной конференции по химии нефти, Томск, 1988, с.173.
26. Э.Н. Топурия, «Полициклические нафтены средних фракций нефтей Грузии», Дис. канд. хим. наук, Институт нефти и газа им. И.М. Губкина, Москва, 1989.
27. Э.Н. Топурия, А.И. Микая, Н.Н. Схиртладзе, «Каркасные соединения в грузинских нефтях», Тез. докл. Всесоюзной конференции по перспективам развития каркасных соединений и их применение в отраслях промышленности, Киев, 1986, с.145.
28. Э.Н. Топурия, Э.А. Ушараули, Л.М. Кортава, И.Дж. Мчедлишвили, Н.Н .Схиртладзе, «Концентраты полициклических нафтенов из средних фракций нефтей», Тез. докл. 1У Бакинской Междунар. Мамедалиевской нефтехимической конференции, Баку, 2000, с.127.
29. А.А. Полякова, *Молекулярный масс-спектральный анализ нефтей*, Недра, Москва, 1973.
30. Н.С. Вульфсон, В.Г. Заикин, А.И. Микая, *Масс-спектрометрия органических соединений*, Химия, Москва, 1986.
31. Е.С.Бродский, *Масс-спектрометрический анализ в нефтепереработке и нефтехимии*, ЦНИИТЭнефтехим, Москва, 1980.
32. В.В. Тахистов, *Органическая масс-спектрометрия*, Недра, Ленинград, 1990.
33. Р.А. Хмельницкий, Е.С. Бродский, *Хромато-масс-спектрометрия*, Химия, Москва, 1984.

34. И. Митера, «Применение комбинированного анализа газожидкостной хроматографии с масс–спектрометрией при анализе сложных углеводородных смесей» в кн. Сб. Пражского хим.-технол. ин., Д19, технология топлива (ред. Дж. Мостецки), Гос. изд-во, Прага, 175–197 (1974).

35. W. Heller, W. Schallies, K. Schmidt, «Gas–liquid chromatographic–mass spectrometric studies on extracts and distillates from Posidonomia shales», *J. Chtomatogr.* **186**, 843–849 (1979).

36. J.S. Richardson, D.E. Muller, «Identification of dicyclic and tricyclic hydrocarbons in the saturate fraction of a crude oil by gas chromatography/ mass spectrometry», *Anal. Chem.* **54**, 765–768 (1982).

37. R. Alexander, R. Kagi, R. Noble, «Identification of the bicyclic sesquiterpenes drimane and eudesmane in petroleum», *Chem. Soc., Chem. Commun.* **5**, 226–228 (1983).

38. Л.С. Головкина, Г.В. Русинова, Ал.А. Петров, «Масс-спектрометрия насыщенных углеводородов», *Успехи химии* **9**, 1493–1523 (1984).

39. Ал.А. Петров, Л.С. Головкина, Г.В. Русинова, *Масс-спектры нефтяных углеводородов. Справочник*, Недра, Москва, 1986.

40. И.А. Мусаев, Е.И. Багрий, Э.Х. Курашова, В.Г. Заикин, П.И. Санин, «Диамантан и 4-метилдиамантан в нафталанской и русской нефтях», *Нефтехимия* **5**, 600–603 (1983).

41. Н.С. Воробьева, З.К Земскова, Ал.А. Петров, «Три- и тетрациклические насыщенные углеводороды нефтей состава C_{11}–C_{13}», *Нефтехимия* **19**, 3–6 (1979).

42. Н.С. Воробьева, О.А. Арефьев, Т.И. Пехк, Ю.В. Денисов, Ал.А. Петров, «Механизм и кинетика изомеризации трициклоундеканов», *Нефтехимия* **15**, 659–666 (1975).

43. Н.С. Воробьева, З.К. Земскова, Т.И. Пехк, Ал.А. Петров, «Изомеризация трициклододеканов», *Нефтехимия* **17**, 22–30 (1977).

44. M. Kuras, S. Hala, «The use of a gas chromatograph-mass spectrometer for the analysis of hydrocarbon mixtures», *J. Chromatogr*. **51**, 45, 1970.

45. И.А. Мусаев, В.Г. Заикин, Э.Х. Курашова, Е.И. Багрий, Л.С. Ермакова, П.И. Санин, «Трициклические насыщенные углеводороды нафталанской нефти», *Нефтехимия* **22**, 175–179 (1982).

46. B.I. Kimble, J.R. Maxwell, R.P. Philp, G. Eglinton, «Identification of steranes and triterpanes in geolipid extracts by high-resolution gas chromatography and mass-spectrometry», *Chem. Geol*. **14**, 173–198 (1974).

47. Е.И. Багрий «Исследование углеводородов ряда адамантана», Дис. докт. хим. наук, ИНХС им. А.В. Топчиева АН СССР, Москва, 1977.

48. Э.Н. Топурия, Э.А .Ушараули, Л.М. Кортава, И.Дж. Мчедлишвили, Н.Н. Схиртладзе, Г.Ш. Бахтуридзе, Термодиффузионные колонки оригинальной конструкции», Тез. докл. V Бакинской Международной Мамедалиевской нефтехимической конф., Баку, 2002, с.133.

49. S. Hala, M. Kuras, M. Popl, *Analysis of complex hydrocarbon mixtures*, Elsevier, Amsterdam, Oxford, New York, 1981.

50. S. Hala, S. Landa, V. Hanus, «Jsolierung von Tetracyclo [6,3,1,$0^{2,6}0^{5,10}$]dodecan und Pentacyclo[7,3,1,$1^{4,12}0^{2,7}0^{6,11}$]-tetradecan (Diamantan) aus Erdol», *Angew. Chem. B.* **78**, 1060–1061(1966).

51. П.И. Санин, Е.И. Багрий, Н.Н. Цицугина, А.А. Сучкова, И.А. Мусаев, Э.Х. Курашова, «Об алкиладамантанах нефти», *Нефтехимия* **14**, 333–340 (1974).

52. З.В. Якубсон, «Трициклические нафтены состава C_{11}–C_{13}», Дис. канд. хим. наук, ИНХС им. А. В. Топчиева АН СССР, Москва, 1973.

53. Е.И. Багрий, Т.Ю. Фрид, П.И. Санин, «Стереохимия и равновесные соотношения алкиладамантанов состава $C_{13}H_{22}$», *Нефтехимия* **10**, 480–488 (1970).

54. А.А. Полякова, Э.В. Храмова, Е.И. Багрий, Н.Н. Цицугина, И.М. Лукашенко, Т.Ю. Фрид, П.И. Санин, «Масс–спектрометрическое исследование алкиладамантанов», *Нефтехимия* **13**, 9–16 (1973).

55. Z. Weidenhoffer, S. Hala, «Progress in the Chemistry of adamantane (Review of literature 1964–67)» ln: Sbor. Vysoke Skoly Chem. – Technol. (Eds.R.Riedl), Statni pedagogicke nakladatelstvi, Praha, Ser. D, 22, 7–83 (1971).

56. Е.И. Багрий, Т.Н. Долгополова, П.И. Санин, «Исследование промежуточных продукиов изомеризации пергидроаценафтена в алкиладамантаны над алюмоокисными катализаторами (полученигексагидро[5,3.1.$1^{4,11}$]додекана)», *Нефтехимия* **14**, 349–357 (1974).

57. С.С. Берман, Ю.В. Денисов, А.С. Мураховская, Г.У. Степанянц, Ал.А. Петров, «Синтез и превращения тетрациклических насыщенных углеводородов состава C_{12}–C_{14} на бромистом алюминии», *Нефтехимия* **14**, 3–8 (1974).

58. С.С. Берман, Ю.В. Денисов, А.А. Петров, «Получение тетрациклических адаманта-ноидных углеводородов состава C_{15}–C_{16}», *Нефтехимия* **14**, 341–348, (1974).

59. Н.С. Воробьева, З.К. Земскова, Т.И. Пехк, А.А. Петров, «Синтез, стереохимия и изомерные превращения трицикло[7.3.1.$0^{2,7}$]тридекана», *Нефтехимия* **21**, 651–657 (1981).

60. Е.И. Багрий, Т.Ю. Фрид, П.И. Санин, «Изомеризация 2-циклопентиладамантана», *Нефтехимия* **19**, 812–817 (1980).

61. С.С. Берман, А.А. Петров, «Превращение пентациклических насыщенных углеводородов состава C_{15}–C_{16} в углеводороды ряда диамантана», *Нефтехимия* **19**, 17–21 (1979).

62. T.M. Gund, E .Osawa, V.Z. Williams, P.R. Schleyer, «Diamantane. 1. Preparation of diamantane, Physical and spectral properties», *J. Organ. Chem*. **39**, 2979–2987 (1974).

63. S. Hala, J. Novak, S. Landa, «Methyl–homologen des Diamantans», *Sbor.Vysoke Skoly Chem.–Technol. Praha, Ser. D* **19**, 19–37 (1969).

64. Н.С. Воробьева, Т.И. Пехк, З.К. Земскова, Ал.А. Петров, «Синтез, стереохимия и изомерные превращения тетрацикло[10,3,0,$0^{2,6}0^{7,11}$]пентадекана», *Нефтехимия* **27**, 625–634 (1987).

65. R. Hamilton, D.E. Johnston, M.A. McKervey, J.J. Rooney «Gas–phase conformational preference of the methy l group from equilibration of 1-, 3- and 4-methyldiamantane on a chlorinated platinum–alumina catalyst.», *Amer. Chem. Soc., Chem.Commun.* **22**, 1209–1210 (1972)

66. Ф.Д. Россини, «Углеводороды нефти», *Нефтехимия* **7**, 906–916 (1967).

67. А.В. Дидидзе, «Насыщенные углеводороды нефтей Грузии», Дис. канд. хим. наук, ИНХС им. А.В. Топчиева АН СССР, Москва, 1979.

68. А.В. Дидидзе, С.Д. Пустильникова, Т.С. Шакарашвили, Н.Г. Бекаури, «Тритерпаны и стераны в нефтях грузинских месторождений Норио, Мирзаани, Сартичала», *Сообщения АН ГССР* **86**, 129–131 (1977).

69. Э.Н. Топурия, Э.А. Ушараули, Л.М. Кортава, И.Д. Мчедлишвили, Н.Н. Схиртладзе, Д.Д. Гвердцители, Г.Ш. Бахтуридзе, «Секвитерпановые углеводороды в грузинских нефтях», *Georg. Eng. News* **2**, 174–176 (2003).

70. Н.С. Воробьева, З.К. Земскова, Ал.А. Петров, «Полициклические нафтены состава C_{14}–C_{26} в нефти месторождения Cuba», *Нефтехимия* **18**, 855–863 (1978).

71. Г.Р. Каграманова, С.Д. Пустильникова, Т.И. Пехк, Ю.В. Денисов, Ал.А. Петров, «Сесквитерпановые углеводороды нефтей», *Нефтехимия* **16**, 18–22 (1976).

72. Ал.А. Петров, С.Д. Пустильникова, Н.Н. Абрютина, Г.Р. Каграманова, «Нефтяные стераны и тритерпаны», *Нефтехимия* **16**, 411–427 (1976).

73. И.Б. Ушакова, В.Г. Заикин, И.С. Генех, Б.А. Смирнов, П.И. Санин, «Тритерпаны бакинской нефти», *Нефтехимия* **15**, 635–640 (1975).

74. С.Д. Пустильникова, Н.Н. Абрютина, Г.Р. Каграманова, А.А. Петров, «Углеводороды ряда гопана в нефтях», *Геохимия* **3**, 460–468 (1976).

75. N.J. Bailey, A.M. Jobson, M.A. Rogers, «Bacterial degradation of crude oil–comparison of field and experimental data», *Chem. Geol.* **11**, 203–221 (1973).

76. О.А. Арефьев, М.Н. Забродина, И.К. Норенкова, М.Н. Карпенко, В.М. Макушина, Ал.А. Петров, «Биологическая деградация нефтей, *Изв. АН СССР, Сер.геол.* 134–139 (1978).

77. Х.И. Арешидзе. *Исследования в области химии нефти*, Мецниереба, Тбилиси, 1980.

78. Е.М. Бенашвили. *Исследования в области разделения и термокаталитических превращений углеводородов*, Мецниереба, Тбилиси, 1972.

79. Л.Д. Меликадзе, Т.А. Элиава, Э.А. Ушараули. *К познанию природы флуоресцирующих компонентов нефти*, Изд. АН ГССР, Тбилиси, 1958.

80. Ш.Ш. Барабадзе, Л.Д. Меликадзе, А.Г. Сирюк, Г.Ш. Челидзе. «Изучение ароматических углеводородов норийской нефти», *Сообщ. АН ГССР* **67**, 601–603 (1972).

81. Ш.Ш. Барабадзе, Л.Д. Меликадзе, Р.Н. Ахобадзе. «Изучение ароматических углеводородов масляных фракции норийской нефти», *Сообщ. АН ГССР* **70**, 93–96 (1973).

82. Ш.Ш. Барабадзе, Л.Д. Меликадзе, А.Г. Сирюк. «Кристаллические ароматические углеводороды высококипящей части норийской нефти», *Ученые записки АГУ* **3–4**, 53, (1975).

83. А.Г. Сирюк, Ш.Ш. Барабадзе. «Выбор метода для определения состава ароматических углеводородов в высококипящих нефтяных фракциях», *Химия и технология топлив и масел* **10**, 54–55 (1977).

84. Е.С. Бродский, Ш.Ш. Барабадзе, А.Г. Сирюк, И.М. Лукашенко, В.Г. Лебедевская, Г.Д. Шнырев. «Исследование кристаллов, выделеннвых из высококипящих нефтяных фракций», *Химия и технология топлив и масел* **2**, 53–57(1975).

85. M.E. Fitzgerald, I.L. Moirano, H. Morgan, V.A. Cirillo «Characterization of gas oil stocks an integrated analysis», *J. Appl. Spectroscopy* **24**, 106–114 (1970).

86. Л.Д. Меликадзе, Э.Г. Леквейшвили, М.Н. Тевдорашвили, Ш.Ш. Барабадзе. «Реакция фотоконденсации фенантреновых углеводородов с малеиновым ангидридом как способ выделения нефтяных углеводородов фенантренового ряда», *Изв. АН ГССР, Сер. хим.* **4**, 121–124 (1978).

87. Э.Г. Леквейшвили, Л.Д. Меликадзе, М.Н. Тевдорашвили, Э.В. Картвелишвили, «К изучению фенантреновых углеводородов нефти», *Нефтехимия* **19**, 689–692 (1979).

88. Э.Г. Леквейшвили, Л.Д. Меликадзе, М.Н. Тевдорашвили, Э.В. Картвелишвили, «К изучению фенантреновых углеводородов нефти», Тез. докл. 1 нефтехимического симпозиума соц. стран, Баку, 1978, с.72.

89. Э.Г. Леквейшвили, Ш.Ш. Барабадзе, М.Н. Тевдорашвили, Э.В. Картвелишвили, Н.И. Табашидзе. «Исследование реакции фотоконденсации фенантреновых углеводородов с малеиновым ангидридом и ее применение для выделения и изучения указанных углеводородов из нефти», Тез. докл. Всесоюзн. конф. «Химический состав нефтей и нефтепродуктов», Тбилиси, 1984, с.4.

90. Л.Д. Меликадзе, Э.Г. Леквейшвили, М.Н. Тевдорашвили, К.Д. Джапаридзе, «Выделение и изучение фенантреновых углеводородов из высококипящих масляных фракций мирзаанской нефти фотоконденсацией с малеиновым ангидридом», *Сообщ. АН ГССР* **119**, 309–312 (1985).

91. М.Н. Тевдорашвили, Э.Г. Леквейшвили, «Фенантреновые углеводороды и их бензологи в нефтях Грузии», Тез. докл. Всесоюзн. конф. по химии нефти, Томск, 1988, с.168.

92. М.Н. Тевдорашвили, Э.Г. Леквейшвили, «Фенантреновые углеводороды и их бензологи в нефтях Грузии», в сб. *Проблемы химии нефти* (ред. Г.Ф. Большаков), Наука, Новосибирск, 230–234(1992).

93. D. Bryce–Smith, B. Vickery, «Addition of maleic anhydride to phenanthrene», *Chem. Ind.* **14**, 429 (1961).

94. Л.Д. Меликадзе, Э.Г. Леквейшвили, *Фотохимическая конденсация малеинового ангидрида с углеводородами фенантренового ряда,* Мецниереба, Тбилиси, 1977.

95. Э.Г. Леквейшвили. «Разделение ароматических углеводородов и сернистых соединений полугудрона смешанной сернистой нефти», *Сообщ. АН ГССР* **134**, 113–116(1989).

96. Э.Г. Леквейшвили. «Исследования в области синтетических и природных углеводородов фенантренового ряда», Дис. докт. хим. наук, Тбилисский гос. ун-т им. Ив. Джавахишвили, Тбилиси, 1999.

97. Э.Г. Леквейшвили, М.Н. Тевдорашвили, Э.В. Картвелишвили, Л.П. Асатиани, И.Л. Эдилашвили, «Исследование фенантреновых углеводородов и их бензологов некоторых грузинских нефтей», *Хим. журн. Грузии* **5**, 456–458 (2005).

98. Э.Г. Леквейшвили, М.Н. Тевдорашвили. «Исследование ароматических углеводородов высококипящих фракций норийской, мирзаанской и самгорской нефтей методом ультрафиолетовой спектроскопии», *Сообщ. АН ГССР* **130**, 329–332 (1988).

99. Э.Г. Леквейшвили, М.Н. Тевдорашвили, Э.В. Картвелишвили, И.Л. Эдилашвили, Л.П. Асатиани, М.К. Чарквиани, О.П. Сванидзе, Т.Н. Шатакишвили, «Изучение ароматических углеводородов высококипящих фракций самгорской нефти методом ультрафиолетовой спектроскопии», *Georg. Eng. News* **2**, 171–173 (2003).

100. Т.А. Алексеева, Э.Г. Леквейшвили, М.Н. Тевдорашвили, Т.А Теплицкая, Л.Д. Меликадзе, «Спектрофлуориметрическое изучение ароматических углеводородов норийской нефти», *Сообщ. АН ГССР* **96**, 93–96 (1979).

101. В.С. Марушкевич, Г.Г. Козлова, Э.Г. Леквейшвили, М.Н. Тевдорашвили. «Исследование ароматических углеводородов высококипящих фракций мирзаанской нефти люминесцентным методом», *Сообщ. АН ГССР* **132**, 517–520 (1988).

102. А.А. Полякова, М.Н. Тевдорашвили, Э.Г. Леквейшвили, Л.Д. Меликадзе. Р.Н. Семанюк, Л.О. Коган, «Изучение ароматических углеводородов норийской нефти методом масс– и хроматомасс–спектрометрии», *Сообщ. АН ГССР* **105**, 65–68 (1982).

103. Э.Г. Леквейшвили, Л.Д. Меликадзе. А.А. Полякова, М.Н .Тевдорашвили, Л.О. Коган, Р.Н. Семанюк, М.И. Токарев, «Выделение фенантреновых углеводородов из высококипящих фракций нефтей», *Нефтехимия* **28**, 602–605 (1988).

104. М.Н. Тевдорашвили, Э.Г. Леквейшвили, Л.Д. Меликадзе, А.А. Полякова, «Выявление оптимальных условий фотохимического взаимодействия малеинового ангидрида с фенантреновыми углеводородами», *Сообщ. АН ГССР* **133**, 317–320 (1989).

105. Э.Г. Леквейшвили, М.Н. Тевдорашвили, Л.О. Коган, Р.Н. Семанюк, М.И. Токарев, «Масс–спектральные исследования фенантреновых углеводородов и их бензологов нефтей Грузии», Тез. докл. 8-ой Международ. конф. стран-членов СЭВ «Петромасс 88», Таллин, 1988, с.77.

106. Э.Г. Леквейшвили, М.Н. Тевдорашвили,Э.В. Картвелишвили, И.Л. Эдилашвили, Л.П. Асатиани, М.К. Чарквиани, О.П. Сванидзе, А.А. Полякова, «Исследование ароматических углеводородов высококипящих фракций самгорской нефти методом масс–спектрометрии», *Хим. журн. Грузии* **3**, 128–131 (2003).

107. Э.Г. Леквейшвили, М.Н. Тевдорашвили, Э.В. Картвелишвили, И.Л. Эдилашвили, А.А. Полякова, «Изучение состава и строения фенантреновых углеводородов некоторых грузинских нефтей», *Хим.журн. Грузии* **6**, 506–510 (2006).

108. Т.Н. Чарквиани, «К характеристике мирзаанской нефти», в Трудах Института химии им. П.Г. Меликишвили АН ГССР, **15**, 227–233 (1961).

109. Л.Ф. Топуридзе., Г.Ш. Хитири, Л.Д. Меликадзе. «Исследование самгорской нефти», *Изв. АН ГССР, сер. хим.* **5**, 63–66 (1979),

110. М.С. Хоц, Ю.Б. Кияш, А.А. Попов, «Расчет моноизотопных масс–спектров низкого разрешения для сложных смесей органических соединений», *Журн. аналит. химии* **33**, 1077–1081 (1978),

111. М.С. Хоц, М.Р. Ярмарков, А.А. Полякова, «Масс–спектрометрический анализ сложных смесей органических соединений с использованием кривых молекулярно–массового распределения», *Журн. аналит. химии* **34**, 2022–2027 (1979).

112. Э.А. Ушараули, Л.М. Кортава, Л.Д. Меликадзе, Л.О. Коган, «Масс-спектральный анализ гидропиролизатов полициклических ароматических углеводородов», *Сообщ. АН ГССР* **127**, 293–296 (1987).

113. Э.А. Ушараули, Л.М. Кортава, Л.О. Коган, Е.С. Бродский, «Гидропиролитическое определение ароматических фрагментов высококипящих соединений нефти», *Нефтехимия* **27**, 481–488 (1987).

114. Л.М. Кортава, Э.А. Ушараули, Л.Д. Меликадзе, М.И. Токарев, «Масс-спектральный анализ высококипящих ароматических углеводородов норийской нефти и их гидропиролизатов», *Сообщ. АН ГССР* **129**, 85–88 (1988).

115. Е.С. Бродский, «Масс-спектрометрический анализ углеводородов и гетероатомных соединений нефти», в сб. Методы исследования состава органических соединений нефти и битумоидов (ред. Г.Д. Гальперн), Наука, Москва, 1985.

116. Э.А. Ушараули, Л.М. Кортава, Э.Н. Топурия, И.Л. Эдилашвили, Н.Т. Хецуриани, Р.Н. Ахобадзе, И.Дж. Мчедлишвили, «К исследованию кристаллических ароматических углеводородов высококипящих фракций норийской нефти», *Хим. журн. Грузии* **4**, 222–225 (2004).

117. Л.Д. Меликадзе, Э.А. Ушараули, Л.М. Кортава, Б.Г. Купрашвили, Ш.Ш. Барабадзе, «К изучению ароматических фрагментов смолисто–асфальтеновых веществ нефти», *Сообщ. АН ГССР* **115**, 293–296 (1984).

Методики выполнения измерений массовой концентрации веществ с использованием масс-спектрометрии

1. Методика выполнения измерений массовой концентрации *трет*-бутилового спирта в морской воде методом газовой хроматографии/масс-спектрометрии. ММГУ–03-2007**.**

Разработчик: Химический факультет
МГУ им. М.В. Ломоносова,
e-mail: lebedev@org.chem.msu.ru,
тел./факс (495)9391407.

Методика предназначена для определения *трет*-бутилового спирта методом газовой хроматографии/масс-спектрометрии в морской воде соленостью до 35 ‰ при его массовой концентрации от 0.005 до 1 мг дм$^{-3}$. При анализе проб с массовой концентрацией вещества, превышающий верхний предел данного диапазона, необходимо разбавление исходной пробы морской воды искусственной морской водой. Методика может применяться в организациях и предприятиях, осуществляющих контроль химического загрязнения морских вод.

Измерение концентрации *трет*-бутилового спирта в пробах морской воды осуществляется методом газовой хроматографии/масс-спектрометрии с введением образца в хроматограф методом «выдувание-улавливание». Идентификацию вещества проводят по времени его удерживания при хроматографировании и масс-спектру. Количественное определение *трет*-бутилового спирта проводят, измеряя площадь пика (S_a) *трет*-бутилового спирта на масс-хроматограмме, построенной по току характеристического фрагментного иона с *m/z* 59 и площадь пика (S_{is}) внутреннего стандарта (дейтерохлороформа) на масс-хроматограмме, построенной по току характеристического фрагментного иона с *m/z* 84. Находят отношение этих величин $S = S_a/S_{is}$ и по предварительно построенной аналогичным образом градуировочной характеристике $S = ac + b$ вычисляют массовую концентрацию *трет*-бутилового спирта c.

Градуировку проводят с помощью серии растворов определяемого вещества заданной концентрации.

2. Методика выполнения измерений массовой концентрации препарата GEM CP в морской воде методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием. ММГУ–04-2007**.**

Разработчик: Химический факультет
МГУ им. М.В. Ломоносова,
e-mail: lebedev@org.chem.msu.ru,
тел./факс (495)9391407.

Методика предназначена для определения массовой концентрации вещества GEM CP в морской воде при его массовой концентрации от 0.1 до 2 мг дм$^{-3}$ методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (**ВЭЖХ**) с масс-спектрометрическим детектированием. При анализе проб с массовой концентрацией вещества, превышающей верхний предел данного диапазона, для использования данной методики необходимо разбавление приготовленной пробы морской водой.

Измерение концентрации определяемого вещества проводится методом высокоэффективной жидкостной хроматографии в обращеннофазовом варианте с масс-спектрометрическим детектированием с предварительной экстракцией и концентрированием. Идентификацию вещества осуществляют по времени удерживания и наличию пиков ионов с *m/z* 525, 539, 569, 583, 613, 627, 657, 671, 715, 729, 759, 773 в масс-спектре отрицательных ионов. Количественный анализ проводят на основе зависимости площади пика вещества на масс-хроматограмме, построенной по указанным ионам, от массовой концентрации определяемого вещества в градуировочных растворах. Градуировку проводят с помощью серии растворов вещества заданной концентрации.

3. Методика выполнения измерений массовой концентрации препарата DRILL N SLIDE в морской воде методом газовой хроматографии/масс-спектрометрии. ММГУ–02-2007.

Разработчик: Химический факультет
МГУ им. М.В. Ломоносова,
e-mail: lebedev@org.chem.msu.ru,
тел./факс (495)9391407.

Методика предназначена для определения препарата DRILL N SLIDE методом газовой хроматографии–масс-спектрометрии в морской воде соленостью до 35 ‰ при его массовой концентрации от 0.5 до 50 мг дм$^{-3}$. При анализе проб с массовой концентрацией вещества, превышающей верхний предел данного диапазона, необходимо разбавление исходной пробы искусственной морской водой. Методика может применяться в организациях и предприятиях, осуществляющих контроль химического загрязнения морских вод.

Измерения массовой концентрации препарата DRILL N SLIDE выполняют методом газовой хроматографии/масс-спектрометрии. Предварительно

воду фильтруют и проводят экстракцию с помощью дихлорметана. Идентификацию основного компонента препарата DRILL N SLIDE – 2-этилгексиллаурата – проводят по времени удерживания и масс-спектру. Количественный анализ проводят на основе зависимости площади пика на масс-хроматограмме, построенной по току характеристического фрагментного иона 2-этилгексиллаурата с *m/z* 112, от массовой концентрации определяемого вещества в градуировочных растворах. Градуировку проводят с помощью серии растворов определяемого вещества заданной концентрации.

4. Методика выполнения измерений массовой концентрации полигексаметиленгуанидина в пробах поверхностной, грунтовой и питьевой воды методом ВЭЖХ с флуорометрическим и масс-спектрометрическим детектированием. ММГУ–42-2005.
Разработчик: Химический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова, e-mail: lebedev@org.chem.msu.ru, тел./факс (495)9391407.

Методика предназначена для определения концентрации полигексаметиленгуанидина в пробах поверхностной, грунтовой и питьевой воды при его массовой концентрации от 0.050 мг дм$^{-3}$ до 1.0 мг дм$^{-3}$ методом ВЭЖХ. При анализе проб с массовой концентрацией вещества, превышающей верхний предел данного диапазона, для использования данной методики необходимо разбавление приготовленной пробы водой.

Измерение концентрации полигексаметиленгуанидина проводится методом ВЭЖХ в обращеннофазовом варианте с флуорометрическим и масс-спектрометрическим детектированием путем анализа производного, образующегося при взаимодействии продукта щелочного гидролиза анализируемого вещества с дансилхлоридом. Идентификацию вещества осуществляют по времени удерживания соответствующего производного и наличию в масс-спектре положительных ионов с величиной *m/z* 350. Количественный анализ проводят на основе зависимости площади пика соединения от массовой концентрации определяемого вещества в градуировочных растворах. Градуировку проводят с помощью серии растворов анализируемого вещества заданной концентрации.

5. Методика выполнения измерений массовой концентрации полипропиленоксида и его бутилового эфира в морской воде методом высокоэффективной жидкостной хроматографии/масс-спектрометрии. ММГУ–57-2005.
Разработчик: Химический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова, e-mail: lebedev@org.chem.msu.ru, тел./факс (495)9391407.

Методика предназначена для определения концентрации полипропиленоксида (молекулярная масса 294) и бутилового эфира полипропиленоксида в морской воде при его массовой концентрации от 0.05 мг дм$^{-3}$ до 1 мг дм$^{-3}$ методом высокоэффективной жидкостной хроматографии–масс-спектрометрии. При анализе проб с массовой концентрацией вещества, превышающей верхний предел данного диапазона, для использования данной методики необходимо разбавление приготовленной пробы морской водой.

Измерение концентрации полипропиленоксида и бутилового эфира полипропиленоксида проводится методом масс-спектрометрии с ионизацией электрораспылением при вводе фиксированного объема пробы с использованием насосов и устройства для закола хроматографа. Идентификацию вещества осуществляют по массе ионов, соответствующих комплексам полипропиленоксида и его бутилового эфира с катионами натрия (*m/z* 273 и 329 соответственно) в масс-спектре, полученном в условиях ионизации электрораспылением («электроспрей») в режиме регистрации положительных ионов. Количественный анализ проводят на основе зависимости площади пиков на масс-хроматограмме, построенной по току ионов с *m/z* 273 и 329, от массовой концентрации определяемых веществ в градуировочных растворах. Градуировку проводят с помощью серии растворов полипропиленоксида и его бутилового эфира заданной концентрации.

6. Методика выполнения измерений массовой концентрации монобутилового эфира полиэтиленгликоля в морской воде методом высокоэффективной жидкостной хроматографии/масс-спектрометрии. ММГУ–56-2005.
Разработчик: Химический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова, e-mail: lebedev@org.chem.msu.ru, тел./факс (495)9391407.

Методика предназначена для определения концентрации монобутилового эфира полиэтиленгликоля в морской воде при его массовой концентрации от 0.1 мг дм$^{-3}$ до 5 мг дм$^{-3}$ методом высокоэффективной жидкостной хроматографии–масс-спектрометрии. При анализе проб с массовой концентрацией вещества, превышающей верхний предел данного диапазона, для использования данной методики необходимо разбавление приготовленной пробы морской водой.

Измерение концентрации эфира полиэтиленгликоля в диапазоне концентраций от 0.1 мг дм$^{-3}$ до 5 мг дм$^{-3}$ проводится методом ВЭЖХ в обращеннофазовом варианте с масс-спектрометрическим детектированием (ионная ловушка). Идентификацию вещества осуществляли по массе комплекса вещества с катионами Na (*m/z* 229, 273, 317, 361, 405) в масс-спектре, полученном в условиях ионизации электрораспылением («электроспрей») в режиме регистрации положительных ионов. Количественный

анализ проводят на основе зависимости площади пика соединения на масс-хроматограмме, построенной по току ионов с величинами *m/z* 229, 273, 317, 361, 405 от массовой концентрации определяемого вещества в градуировочных растворах. Градуировку проводят с помощью серии растворов эфира полиэтиленгликоля заданной концентрации.

7. Методика выполнения измерений массовой концентрации лития в морской воде масс-спектральным методом с ионизирующим источником индуктивно-связанной плазмы. ММГУ–55-2005.
Разработчик: Химический факультет
МГУ им. М.В. Ломоносова,
e-mail: lebedev@org.chem.msu.ru,
тел./факс (495)9391407.

Настоящая методика предназначена для количественного определения концентрации лития в морской воде соленостью до 33 ‰ масс-спектральным методом с ионизацией атомов в индукционной высокочастотной аргоновой плазме.

Нижняя граница определяемых концентраций лития составляет 0.005 мг дм$^{-3}$. Верхняя граница определяемых концентраций лития составляет 5 мг дм$^{-3}$. При необходимости определения более высоких концентраций лития в морской воде проводится предварительное разбавление отобранных проб чистой морской водой.

Измерения массовых концентраций лития в пробах морской воды проводят масс-спектральным методом с ионизацией атомов в индукционной высокочастотной аргоновой плазме. Распыленные с помощью специального распылителя пробы вместе с потоком аргона поступают в плазменную горелку, где происходит распад молекул на атомы и их ионизация. Образовавшиеся ионы попадают в вакуумную камеру, где происходит их фокусировка с помощью ионных линз. Далее, ионный пучок попадает в неоднородное электромагнитное поле, где происходит пространственное разделение ионов по массам. Ионы с одинаковым отношением массы к его заряду регистрируются ионным детектором. Величина электрического сигнала измеряется электронным блоком прибора и обрабатывается компьютерной системой.

Градуировку масс-спектрометра проводят с помощью градуировочных стандартных растворов, приготовленных на основе морской воды и аттестованных при их приготовлении. В качестве нулевой точки градуировочного графика принимается аналитический сигнал от «холостой» пробы.

8. Методика выполнения измерений массовой концентрации фенпироксимата в воде методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием. ММГУ–30-2005.
Разработчик: Химический факультет
МГУ им. М.В. Ломоносова,
e-mail: lebedev@org.chem.msu.ru,
тел./факс (495)9391407.

Методика предназначена для определения общей концентрации фенпироксимата в воде при его массовой концентрации от 5.0 нг дм$^{-3}$ до 100 нг дм$^{-3}$ методом высокоэффективной жидкостной хроматографии/масс-спектрометрии. При анализе проб с массовой концентрацией вещества, превышающей верхний предел данного диапазона, для использования методики необходимо разбавление приготовленной пробы водой.

Измерение концентрации фенпироксимата проводится методом ВЭЖХ в обращеннофазовом варианте с масс-спектрометрическим детектированием. Идентификацию вещества осуществляют по времени удерживания, регистрируя ион с *m/z* 422 в масс-спектре при работе в режиме положительных ионов. Количественный анализ проводят на основе зависимости площади пика соединения на масс-хроматограмме по ионам с *m/z* 422 и 444 от массовой концентрации определяемого вещества в градуировочных растворах. Градуировку проводят с помощью серии растворов определяемого вещества заданной концентрации.

9. Методика выполнения измерений массовой концентрации несимметричного диметилгидразина (НДМГ) в пробах поверхностной, грунтовой и питьевой воды методом хромато-масс-спектрометрии. ММГУ−26-2005.
Разработчик: Химико-аналитический центр института экспериментальной метеорологии ГУ НПО «Тайфун»,
e-mail: Samsonov@typhoon.obninsk.ru,
тел./факс (48439)43920.

Настоящая методика предназначена для идентификации наличия и определения концентраций несимметричного диметилгидразина (НДМГ) в пробах воды в области концентраций от 0.002 до 2.0 мг л$^{-1}$ При анализе проб с массовой концентрацией вещества, превышающей верхний предел данного диапазона, для использования данной методики необходимо разбавление приготовленной пробы дистиллированной водой.

В основе реализации разработанной методики лежит перевод НДМГ в анализируемую форму гидразона реакцией с *n*-нитробензальдегидом, выделение анализируемого продукта из реакционной смеси методом капиллярной газожидкостной хроматографии, идентификация и количественное определение НДМГ методом масс-спектрометрии. Идентификацию анализируемого гидразона проводят по полному масс-спектру.

Вводимый для контроля прохождения процесса дериватизации внутренний стандарт – N-аминопиперидин (АПП) − реагирует с *n*-нитробензальдегидом, давая соответствующее производное. Определению не мешает присутствие других аминов.

Измерение концентрации НДМГ в воде производят методом ГХ/МС с предварительной дериватиза-

цией НДМГ и переводом этого соединения в анализируемую форму – гидразон *п*-нитробензальдегида. Для контроля полноты дериватизации и последующих количественных расчетов в пробу воды вносят суррогатный стандарт – N-аминопиперидин, также вступающий в реакцию с *п*-нитробензальдегидом. Дериватизацию НДМГ и введенного суррогатного стандарта проводят непосредственно в анализируемой пробе воды путем реакции с *п*-нитробензальдегидом. Полученные производные выделяют путем экстракцией *н*-гептаном. Качественное и количественное определение концентрации НДМГ проводят методом хроматомасс-спектрометрии. Идентификацию анализируемого продукта и суррогатного стандарта проводят по временам удерживания и полному масс-спектру. Для количественных расчетов используют соотношение площадей пиков гидразона НДМГ и гидразона N-аминопиперидина, определенных на реконструированных масс-хроматограммах, построенных по характеристическим ионам аналита и суррогатного стандарта. В качестве характеристического иона гидразона НДМГ используют ион с массой 193, а для производного суррогатного стандарта – ион с массой 233.

10. Методика выполнения измерений массовой концентрации (динонилнафталин)сульфоната бария в морской воде методом высокоэффективной жидкостной хроматографии/масс-спектрометрии. ММГУ–24-2005.

Разработчик: Химический факультет
МГУ им. М.В. Ломоносова,
e-mail: lebedev@org.chem.msu.ru,
тел./факс (495)9391407.

Методика предназначена для определения концентрации динонилнафталинсульфоната бария (далее – динонилнафталинсульфоната) в морской воде при его массовой концентрации от 0.10 до 10.0 мг дм$^{-3}$ методом высокоэффективной жидкостной хроматографии/масс-спектрометрии. При анализе проб с массовой концентрацией вещества, превышающей верхний предел данного диапазона, для использования данной методики необходимо разбавление приготовленной пробы морской водой.

Измерение концентрации динонилнафталинсульфоната проводится методом ВЭЖХ в обращеннофазовом варианте с масс-спектрометрическим детектированием. Идентификацию вещества осуществляют по массе аниона динонилнафталинсульфоновой кислоты (*m/z* 459) в масс-спектре, полученном в условиях ионизации электрораспылением («электроспрей») в режиме регистрации отрицательных ионов. Количественный анализ проводят на основе зависимости площади пика аниона на масс-хроматограмме, построенной по току ионов с *m/z* 459, от массовой концентрации определяемого вещества в градуировочных растворах. Градуировку проводят с помощью серии растворов определяемого вещества заданной концентрации.

Подписка на 2008 год

ВНИМАНИЕ!
Журнал «Масс-спектрометрия» включен в каталог агентства «Роспечать» «Газеты. Журналы» на 1 полугодие 2008 года. Индекс издания – 20000.
На весь 2007 год вы можете оформить редакционную подписку, а также приобрести отдельные архивные и текущие номера.

Редакционная подписка на 2008 год
для юридических лиц

Вы можете оформить годовую подписку на весь 2008 год.

Поставщик: Всероссийское масс-спектрометрическое общество
Адрес: 117628, г. Москва, ул. Знаменские Садки,
Адрес для корреспонденции: 119234, г. Москва, а/я 51.

Образец заполнения платежного поручения

ИНН 7727268148	КПП 772701001		
Получатель: Всероссийское масс-спектрометрическое общество		Сч. №	40703810700750021532
Банк получателя: ЗАО «ГЛОБЭКСБАНК», г. Москва		БИК	044525243
		Сч. №	30101810000000000243

Счет № _____
от _____

Заказчик: **_____**
Плательщик: _____

№	Наименование	Кол-во экз.	Цена за 1 номер, руб.	Сумма, руб.
1	Подписка на журнал «Масс-спектрометрия» на 2008 год (4 номера) с учетом почтовых расходов на доставку по России	1	300=00	1200=00
			Итого:	1200=00
			Итого НДС 10%:	120=00
			Всего к оплате:	1320=00

Всего к оплате: одна тысяча триста двадцать рублей 00 копеек, в том числе НДС 10 % сто двадцать рублей 00 копеек.

Президент Главный бухгалтер

Внимание!
Указанные цены действуют с 01.08.2007 г. до 31.12.2007 г. В стоимость подписки входит доставка журнала заказными бандеролями по России. К каждому журналу прилагается счет-фактура и товарная накладная.

Вы можете подписаться на любое количество номеров.
Стоимость одного номера в этом случае 360 руб. 00 коп., плюс НДС 10 % 36 рублей 00 коп.

После оплаты отправьте копию платежного поручения с указанием вашего почтового адреса по факсу (495) 939-14-07 или заполните и вышлите нам Бланк-заказ с указанием номеров, за которые производилась оплата.

Редакционная подписка
для физических лиц

Уважаемые коллеги, специалисты в области масс-спектрометрии и все, кто интересуется данным методом!

Подписаться на наш журнал очень легко! Все, что от Вас требуется – заполнить бланк в Сбербанке. При заполнении Бланка укажите требуемую сумму.

После оплаты обязательно сообщите нам свой адрес, номера, которые вы хотите получить, заполнив Бланк-Заказ, и перешлите Бланк-Заказ на оформление подписки в редакцию (письмом, факсом, e-mail). Сохраняйте квитанцию об оплате до получения подтверждения об оплате, на платежных поручениях, оплачиваемых через Сбербанк, часто отсутствует наименование плательщика.

Стоимость подписки на 2008 год (с учетом пересылки по России и всех налогов)*:

	Для физических лиц членов ВМСО	**Для прочих физических лиц**
1 номер	**88 руб. 00 коп.**	**220 руб. 00 коп.**
Подписка на 4 номера	**250 руб. 80 коп.**	**770 руб. 00 коп.**

* указанные цены действуют с 01 августа 2007 года

Вы также можете оплатить и получить номера журнала, вышедшие до 2008 года. Со стоимостью и порядком приобретения архивных номеров журнала можно ознакомиться в редакции журнала.

Тел. для справок по приобретению журнала: (495) 939-14-07.
Контактное лицо – секретарь редакции Хрущева Мария Леонидовна

БЛАНК-ЗАКАЗ

Куда: 119234, г.Москва, а/я 51
Кому: Общероссийская общественная организация «Всероссийское масс-спектрометрическое общество»
Или по e-mail: mail@vmso.ru; или по факсу: (495) 939-14-07

_____
(название организации или ФИО)
заказываю журнал «Масс-спектрометрия»**Т.1** № 1,2,3; **Т.2** № 1,2,3,4; **Т.3**, № 1,2,3, 4; **Т.4**, № 1,2,3,4; **Т.5** № 1,2,3,4
(вычеркнуть лишнее)

в кол-ве_____экз.

адрес: _____
_____e-mail:_____

телефон_____факс_____

Для оплаты редакционной подписки можно использовать квитанции и формы платежного поручения со стр. 231, 233.

Внимание!
Стоимость подписки, указанная в квитанции, действительна только при оформлении подписки членами ВМСО в количестве 1 экземпляр. Для оформления подписки лицами, не являющимися членами ВМСО, либо членами ВМСО в количестве более 1 экземпляра, обращайтесь в редакцию журнала. Проверяйте правильность указанного в документах периода и стоимости подписки!

<table>
<tr><td rowspan="4">ИЗВЕЩЕНИЕ

КАССИР</td><td colspan="3">Форма № ПД-4
Общероссийская общественная организация
«Всероссийское масс-спектрометрическое общество»
ИНН 7727268148, КПП 772701001
Р/с 40703810700750021532 в ЗАО «ГЛОБЭКСБАНК» г. Москва,
корр. счет № 30101810000000000243
БИК 044525243, ИНН 7744001433, код ОКПО 09317031
Ф.И.О. плательщика:

Адрес:</td></tr>
<tr><td colspan="2">Назначение платежа</td><td>Сумма всего (в том числе НДС 10%)</td></tr>
<tr><td rowspan="2">Подписка на журнал «Масс-спектрометрия» на 2008 год члена ВМСО</td><td>Кол-во номеров</td><td rowspan="2">250 рублей 80 копеек</td></tr>
<tr><td>4</td></tr>
<tr><td colspan="3">Подпись _____ «____» _____ 200__ г.</td></tr>
<tr><td rowspan="4">КВИТАНЦИЯ

КАССИР</td><td colspan="3">Форма № ПД-4
Общероссийская общественная организация
«Всероссийское масс-спектрометрическое общество»
ИНН 7727268148, КПП 772701001
Р/с 40703810700750021532 в ЗАО «ГЛОБЭКСБАНК» г. Москва,
корр. счет № 30101810000000000243
БИК 044525243, ИНН 7744001433, код ОКПО 09317031
Ф.И.О. плательщика:

Адрес:</td></tr>
<tr><td colspan="2">Назначение платежа</td><td>Сумма всего (в том числе НДС 10%)</td></tr>
<tr><td rowspan="2">Подписка на журнал «Масс-спектрометрия» на 2008 год члена ВМСО</td><td>Кол-во номеров</td><td rowspan="2">250 рублей 80 копеек</td></tr>
<tr><td>4</td></tr>
<tr><td colspan="3">Подпись _____ «____» _____ 200__ г.</td></tr>
</table>

Подписка на электронную версию журнала. На сайте www.elibrary.ru вы можете подписаться на электронный вариант журнала «Масс-спектрометрия» с предоставлением доступа к полным текстам журналов или отдельным статьям.

Учредитель и издатель: «Всероссийское масс-спектрометрическое общество» ©
Свидетельство о регистрации СМИ: ПИ № ФС77-19426 от 28.01.2005
Выпускающий редактор: *В.Г. Заикин*
Редактор: *Е.И. Хрущева*
Верстка: *К.А. Мордвинцев*
Дизайн обложки: *А.Н. Соловьева*
Менеджер по реализации рекламной площади: *М.Л. Хрущева*
Издание отпечатано в типографии ООО ИПФ «Гарт»
Заказ № Тираж 500 экз.
Перепечатка материалов или их фрагментов допускается только по согласованию с редакцией в письменной форме. Редакция не несет ответственности за содержание рекламы.