

TARTU ÜLIKOOL
Loodus- ja täppisteaduste valdkond
Keemia instituut
Analüütilise keemia õppetool

Elmo Libek

Kationsete ühendite lipofiilsuse hindamine:
eksperimentaalsed võimalused

Magistritöö (30 EAP)

Juhendaja: Anneli Kruve, PhD

Tartu, 2017

SISUKORD

| | |
|---|----|
| KASUTATUD LÜHENDID | 3 |
| 1. SISSEJUHATUS | 4 |
| 2. KIRJANDUSE ÜLEVAADE | 5 |
| 2.1. Jaotuskoefitsient | 5 |
| 2.2. Ioonide jaotumine | 6 |
| 2.3. $\log P$ rakendused | 7 |
| 2.4. Jaotuskoefitsientide eksperimentaalne määramine | 8 |
| 2.5. Arvutuslikud meetodid jaotuskoefitsiendi määramiseks | 10 |
| 2.6. Sisse- ja väljasoolamine | 11 |
| 2.7. Ioonide solvatatsioon | 12 |
| 3. MATERJALID, APARATUUR JA MEETODID | 14 |
| 3.1. Kasutatud ained | 14 |
| 3.2. Lahused | 15 |
| 3.3. Aparatuur | 15 |
| 3.4. Kaudne HPLC meetod | 15 |
| 3.5. Loksutusmeetod | 16 |
| 3.6. Paardunud iooni elektropihustusionisatsioon | 17 |
| 4. TULEMUSED JA ARUTELU | 18 |
| 4.1. Kaudne HPLC meetod katioonsete ühendite lipofiilsuse hindamiseks | 18 |
| 4.2. Otsese loksutusmeetodiga katioonsete ühendite lipofiilsuse hindamine | 21 |
| 4.3. $\log P_{app}$ väärtuse sõltuvus uuritava ühendi kontsentratsioonist | 21 |
| 4.4. Ioonsete lisandite mõju Pr_4N^+ $\log P_{app}$ väärtusele | 24 |
| 4.5. Kontrollkaart | 26 |
| 4.6. Ioonsete lisandite ja uuritava aine kombineeritud mõju $\log P_{app}$ väärtusele | 28 |
| 4.7. Lisandite mõju tasakaalulisele vee sisaldusele oktanoolis | 30 |
| 4.8. Anioonide tasakaaluline sisaldus oktanoolis | 31 |
| 4.9. Eksperimentaalsete tulemuste sobitamine matemaatiliste mudelitega | 32 |
| 4.10. Tulemuste võrdlus | 34 |
| KOKKUVÕTE | 36 |
| SUMMARY | 37 |
| 5. KASUTATUD KIRJANDUS | 38 |
| LISA | 41 |

KASUTATUD LÜHENDID

| | |
|-------------------------|--|
| oktanool | 1-oktanool |
| $\log P$ | jaotuskoefitsiendi logaritm |
| QSAR | kvantitatiivne struktuur-aktiivsus sõltuvus |
| HPLC | kõrgefektiivne vedelikkromatograafia |
| UV/Vis | ultravioletne ja nähtav kiirgus |
| MS | massispektromeeter või massispektromeetria |
| $\log k$ | mahtuvusfaktori logaritm |
| LFER | lineaarne vabaenergia sõltuvus |
| TATB | tetrafenüülarsoonium-tetrafenüülboraat lähendus |
| t_r | retentsiooniaeg |
| m/z | massi-laengu suhe |
| $\log k_w$ | ekstrapoleeritud mahtuvusfaktori logaritm |
| $B\%$ | orgaanilise solvendi osakaal (%) mobiilfaasis |
| $\log P_{app}$ | näilise jaotuskoefitsiendi logaritm |
| Me_4N^+ | tetrametüülammoonium katioon |
| Et_4N^+ | tetraetüülammoonium katioon |
| Pr_4N^+ | tetrapropüülammoonium katioon |
| Bu_4N^+ | tetrabutüülammoonium katioon |
| R_4N^+ | tetraalküülammoonium katioon |
| $\log P^+$ | kationsete ühendite jaotuskoefitsiendi logaritm |
| s_n | aritmeetilise keskmise standardhälve |
| $\log P^0_{app}$ | näilise jaotuskoefitsiendi logaritm lõpmata lahjadel tingimustel |

1. SISSEJUHATUS

Ainete jaotumine erinevate keskkondade vahel on pälvinud suurt tähelepanu, kuna see kajastab ainete lipofiilseid omadusi. Enamasti vaadeldakse ainete jaotumiskäitumist neutraalsete ühendite korral või ioniseeruvate ühendite korral kontrollitud tingimustel (nt füsioloogilisel pH-l). Selle kõrval on vähe tähelepanu pööratud ionide ja ioniseeruvate ühendite (ioonisel kujul) jaotumiskäitumisele erinevate keskkondade vahel. Suur osa keemilisi protsesse toimub ka ionide vahel ja ioone sisaldavates lahustes, seetõttu võeti töö eesmärgiks leida eksperimentaalseid võimalusi katioonsete ühendite lipofiilsuse hindamiseks. Selle nähtuse uurimine on oluline, kuna aitab paremini mõista katioonsete ühendite käitumist mitmefaasilistes süsteemides ning lipofiilseid omadusi – see võimaldab tulevikus koostada paremaid mudeleid erinevate ionidega seotud protsesside kirjeldamiseks.

Eesmärgi täitmiseks uuritakse erinevaid $\log P$ määramise meetodeid, mida on varem rakendatud neutraalsete ühendite $\log P$ väärtuste hindamiseks ning kohandatakse katioonsetele ühenditele sobilikuks. Täpsemalt uuritakse kaudse HPLC meetodi ja otsese loksutusmeetodi rakendamist katioonide lipofiilsuse hindamiseks. Alati pole ühendid lahustes ioniseerunud ning tihti on lahusesse vaja lisada lisandeid, mis tagavad ühendi püsimise katioonises vormis. Seetõttu on vajalik uurida ka erinevate ionsete lisandite mõju katioonsete ühendite jaotumiskäitumisele. Ioonide uurimisega on seotud mitmed probleemid, mistõttu on selle töö osaks ka ionide jaotumise uurimisega seotud probleemide kaardistamine.

Jaotuskoefitsientide leidmiseks on erinevaid arvutuslikke meetodeid. Samas on teada, et ionsetele ühenditele jaotuskoefitsientide leidmine arvutuslike meetoditega on küllaltki ebatäpne. Olemasolevate arvutuslike meetodite võimekuses veendumiseks võrreldakse mõningate arvutuslike meetoditega saadud tulemusi eksperimentaalsete tulemustega.

Eesmärkide täitmiseks uuriti 13 ühendi käitumist pöördfaaskolonnis, mõistmaks kaudse HPLC meetodi rakendatavust katioonsete ühendite lipofiilsuse hindamiseks. Otsese loksutusmeetodiga uuriti R_4N^+ ionide jaotumiskäitumist oktanool-vesi süsteemis. Erinevate efektide mõistmiseks mõõdeti ligikaudu 400 $\log P_{app}$ väärtust.

2. KIRJANDUSE ÜLEVAADE

2.1. Jaotuskoefitsient

Orgaanilised vedelikud on mingil määral veega, aga ka üksteisega segunevad ning alati ei pruugi segunemine olla täielik. Kui kahe mittesegunenud solvendiga süsteemi lisada veel väikeses koguses kolmandat komponenti, siis see jaotub kahe solvendi vahel, kuni saabub tasakaal. Kolmanda komponendi kontsentratsioonide suhe erinevates faasides sõltub enamasti vaid vähesel määral temperatuurist ja kontsentratsioonist. Jaotuskoefitsiendiks nimetatakse soluudi (lahustis lahustunud aine või osake) tasakaalulist kontsentratsioonide suhet kahes mittesegunevas faasis, kusjuures mõlemas faasis vaadeldakse samasugust molekulaarset osakest, mille kontsentratsioon mõlemas faasis on niivõrd väike, et soluut-soluut interaktsioonide mõju tasakaalule on tühine. [1]

Jaotuskoefitsiendi kirjeldamiseks on kasutatud paljusid erinevaid sümboleid: D , K , P , ja V^* . Tõelise jaotuskoefitsiendi kirjeldamiseks kasutatakse eelistatult sümboleid „ P “ ja „ K “. Kui soluut osaleb ka sekundaarses keemilises tasakaalus, mis võib toimuda kas ühes või mõlemas faasis, nimetatakse seda näiliseks jaotuskoefitsiendiks. Näiteks võib soluut olla osaliselt või täielikult ioniseerunud, agregeerunud või ioonpaardunud. Näilise jaotuskoefitsiendi tähiseks on kas „ D “ või „ P_{app} “. [1,2]

Levinuim mittesegunevate solventidega süsteem koosneb 1-oktanoolist (edaspidi oktanool) ja veest. Selles süsteemis on jaotuskoefitsient (K või P) defineeritud valemiga:

$$K = \frac{c_{i,o}}{c_{i,w}} \equiv P, \quad (1)$$

kus $c_{i,o}$ ja $c_{i,w}$ on soluudi i molaarsed tasakaalulised kontsentratsioonid kahes mittesegunevas faasis: oktanoolis ja vees. Oktanool-vesi jaotuskoefitsiendi puhul kasutatakse tihti Gibbsi energiaga lineaarselt seotud logaritmilist vormi $\log P$ (jaotuskoefitsiendi logaritm), mida kasutatakse ka aine hüdrofoobsuse kvantitatiivseks kirjeldamiseks. [3]

Oktanool-vesi keskkonna $\log P$ väärtusi leidub laialdaselt erinevates kogumikes. Suurimas neist on umbes 61 000 eksperimentaalselt määratud $\log P$ väärtust. [4–7]

Mõningatel juhtudel oleneb jaotuskoefitsient siiski kontsentratsioonist. Näiteks bensoehappe jaotumise suhet benseeni ja vee vahel kirjeldab valem 2:

$$\frac{\sqrt{[X]_{\text{benseen}}}}{[X]_{\text{vesi}}} = \text{konstant.} \quad (2)$$

* „*Verteilungskoeffizient*“ saksa k.

Sel juhul toimub benseenis bensoehappe dimeriseerumine. Lisaks saab toimuda veefaasis soluudi ioniseerumine, mida tuleb arvesse võtta, et kehtiks jaotuskoefitsiendi kontsentratsioonist sõltumatus. [1]

Kuigi valem 2 kirjeldab, et tasakaal saabub assotsiaadiga, siis aja jooksul on tekkinud eelistus kasutada jaotuskoefitsienti, kus vaadeldakse mõlemas faasis samasugust molekulaarset osakest. Isegi kui jaotuv soluut ei assotsieeru ega dissotsieeru solventides, võib esineda jaotuskoefitsiendi kontsentratsioonist sõltuvus. Kuna kõrgema kontsentratsiooni korral muutuvad soluut-soluut interaktsioonid palju tugevamaks, kehtib valem 1 ainult siis, kui lahused on küllaltki lahjad. [1]

Oktanool ja vesi pole üksteisega täielikult mittesegunevad. Vee lahustuvus oktanoolis on $S = 2,46 \text{ mol/l}$ 25°C juures. Oktanooli lahustuvus vees on $S = 3,29 \cdot 10^{-3} \text{ mol/l}$. Vee lahustumisel oktanoolis suureneb polaarsete vesiniksidet andvate solvendi molekulide hulk ning väheneb vähempolaarsete solvendi molekulide osakaal. Siiski on Carr'i jt solvatokroomsed [8] uuringud näidanud, et oktanooli küllastumine veega omab väga väikest mõju oktanooli omadustele, kuna vesi on praktiliselt täielikult assotsieerunud oktanooli hüdroksüülrühmadega. [3]

2.2. Ioonide jaotumine

Paljud neutraalsed ühendid saavad ioniseeruda või assotsieeruda ning see teeb jaotumise protsessi uurimise tunduvalt keerulisemaks. Ioonide jaotumise korral vaadeldes kontsentratsioonide suhet aniooni või katiooni kaudu ei näe me ainult iooni jaotumist, vaid ka ionipaari jaotumist, sest elektrolüüt saab jaotuda orgaanilisse faasi nii ionipaarina kui ka eraldiseivate ionidena. [9,10]

Kui katsed pole läbi viidud lõpmata lahjade lahustega, siis osa elektrolüüdist võib esineda orgaanilises solvendis ionipaarina. Lisaks on vaja teada või hinnata elektrolüüdi ioonide aktiivsuskoeffitsiente orgaanilises faasis (kuigi alati seda ei tehta). Üksiku iooni jaotuskoefitsienti on eksperimentaalselt väga keeruline leida. Lihtsam on leida elektrolüüdi jaotuskoefitsient võttes arvesse nii ionipaarset vormi, kui ka ionset vormi oktanooli faasis ning arvestades ka ioonide aktiivsuskoeffitsiente. [10]

Happelises keskkonnas on aluseline aine B katioonses vormis BH^+ . Antud katioon võib oktanoolis esineda ionipaarina või vaba ioonina ning seetõttu on vaadeldav jaotumine kirjeldatav valemiga:

$$P_{\text{app}} = \frac{[\text{BH}^+\text{X}^-]_{\text{o}} + [\text{BH}^+]_{\text{o}}}{[\text{BH}^+]_{\text{aq}}} \quad (3)$$

Suure ioonpaardumise konstandi korral läheneb $[BH^+]_o$ nullile ning vaadeldav jaotuskoefitsient vastab ioonpaar-ekstraktsioonile mistahes lahuses oleva aniooniga X^- . [10]

Hindamaks ionide jaotuskoefitsiente tuleb esmalt leida neutraalne kombinatsioon ionide jaotuskoefitsientidest $P([BH^+]+[X^-])$. Selleks on vaja teada või hinnata katiooni seostumise konstanti kindla aniooniga ning teha iteratiivseid arvutusi arvutiprogrammi abil. Kui $\log P([BH^+]+[X^-])$ on teada, siis tuleb täiendavalt kasutada ekstratermodünaamilist lähendust, et saada üksikule ioonile vastav väärtus $\log P[BH^+]$. [10]

2.3. $\log P$ rakendused

Jaotuskoefitsienti on korreleeritud orgaaniliste ühendite bioloogilise aktiivsusega. Hammetti parameeter σ ja Tafti steerika parameeter E_s kombineeriti Hansch'i hüdrofoobsuse parameetriga π_x [11], et kirjeldada paremini orgaaniliste molekulide reaktsioonivõimet. Hüdrofoobsuse parameetrit π_x kirjeldab valem:

$$\pi_x = \log P_{o/w}^{C_6H_5X} - \log P_{o/w}^{C_6H_6}, \quad (4)$$

kus $\log P_{o/w}^{C_6H_5X}$ ja $\log P_{o/w}^{C_6H_6}$ on C_6H_5X ja C_6H_6 jaotuskoefitsiendid oktanool-vesi keskkonnas. π_x positiivne väärtus näitab, et asendaja lisamine suurendab ühendi jaotumist oktanooli faasi, negatiivne väärtus näitab aga, et asendaja lisamine suurendab ühendi jaotumist veefaasi. Seda parameetrit on laialdaselt kasutatud kvantitatiivsete struktuur-aktiivsus sõltuvuste (QSAR) uurimisel. [1,3]

Solvendi mõju ensüümide aktiivsusele, stabiilsusele ja selektiivsusele on üritatud korreleerida paljude solvendi füsikokeemiliste omadustega. Enamasti on parimaid korrelatsioone saadud solvendi $\log P$ väärtustega. $\log P$ väärtused on olnud aluseks ka paljudele biokeemia valdkonna artiklitele, mis tegelevad QSAR-ga. Näiteks aitab $\log P$ kirjeldada, kas ravimid on võimelised läbima rakumembraane ning kas nad on võimelised seostuma hüdrofoobsetele pindadele. Pikka aega on teada, et paljude ühendite uimastav (narkootiline) mõju on heas korrelatsioonis nende ühendite jaotuskoefitsiendiga. [3]

Potentsiaalsete ravimikandidaatide otsimisel uuritakse ühendi lipofiilsust jaotuskoefitsiendi kaudu. Toimeaine lipofiilsus aitab hinnata, kas see suudab läbida lipiidset kaksikkihti – ühelt poolt peab ühend olema piisavalt lipofiilne, et tungida lipiidsesse kaksikkihti, samas aga mitte liiga lipofiilne, kuna siis jääks toimeaine püsivalt lipiidsesse kaksikkihti. Lipofiilsus annab infot toimeaine bioloogiliste, metaboolsete ja farmakokineetiliste omaduste kohta. [12]

Lisaks tavalisele $\log P$ väärtusele, võivad olla kasulikud ka jaotuskoefitsiendid, mis on saadud analüüdi oktanooli ja soolalahuse vahelise jaotumise uurimisel. Näiteks aitab selline

parameeter koos Henry konstantidega paremini kirjeldada monoterpeenide emissiooni taimelehtedelt. [13]

2.4. Jaotuskoefitsientide eksperimentaalne määramine

Suures plaanis jagunevad eksperimentaalsed $\log P$ määramise meetodid otsesteks ja kaudseteks meetoditeks. Otsese meetodi puhul määratakse soluudi kontsentratsioon mõlemast mittesegunevast faasist. Kaudse meetodi korral aga ei teostata kontsentratsiooni kvantitatiivset analüüsimist erinevatest faasidest, vaid $\log P$ väärtus korreleeritakse mõne muu aineomaduse põhjal. Olgugi, et $\log P$ määramises on viimasel ajal toimunud arenguid, on loksutusmeetod (inglise k *shake-flask*) endiselt kõige eelistatum ja täpsem. Samas on see ka kõige ebamugavam ja aeganõudvam meetod. [1]

Majanduskoostöö ja Arengu Organisatsioon on kemikaalide $\log P$ väärtuste määramiseks toonud välja kolme erineva meetodi juhised: loksutusmeetod [14], kaudne kõrgefektiivse vedelikkromatograafia (HPLC) meetod [15] ja aeglase segamise meetod [16]. Loksutusmeetod sobib hästi $\log P$ väärtuste leidmiseks, mis jäävad -2 ja 4 vahele. Samas ei ole seda hea kasutada pindaktiivsete ühendite korral ning probleeme tekitab ka oktanooli mikrotilkade sattumine veefaasi. Kaudse HPLC meetodiga saab hästi määrata $\log P$ väärtusi, mis jäävad 0 ja 6 vahele, kuid see meetod vajab referentsainete olemasolu. Aeglase segamise meetodiga on määratud $\log P$ väärtusi kuni 8,2-ni – seega selle meetodiga saab otseselt tuvastada tugevalt hüdrofoobseid ühendeid. [14–16]

2.4.1. Loksutusmeetod

Loksutusmeetod on aeganõudev, tülikas ning tihti segab analüüsimist emulsioonide tekkimine. Praktikas on vaja jälgida, et faaside eraldumine oleks täielik, kuna üks tilk üht faasi teises faasis võib analüüsi tulemust tugevalt muuta. [2]

Algselt kasutati loksutusmeetodis faaside eraldamiseks jaotusletrit. Eraldatud faasidest mõõdeti soluudi kontsentratsioon ning arvutati $\log P$. Tänapäeval on selle meetodi kiirendamiseks üritatud seda erinevatel viisidel automatiseerida ja kasutatavaid ruumalasisid minimeerida. Näiteks on kasutatud 96 süvendiga plaati koos robotiseeritud prooviettevalmistusega. Pärast tasakaalustumist võetakse kummastki faasist proov, mida analüüsitakse enamasti kromatograafiliselt ultravioletse-nähtava kiirguse (UV/Vis) detektori või massispektromeetrilise (MS) detektoriga. Proovide kiire analüüsimine saavutatakse gradientelueerimise abil (kahe faasi analüüsimiseks kulub sageli ca 10 min). Sellised meetodid on tavaliselt limiteeritud detektori dünaamilise ala ulatuse poolt. Sellest tulenevalt jäävad enamasti $\log P$ määramispiirid -2 ja 4 vahele. Selliste kiirete meetodite puhul on põhilisteks

sammudeks proovi ettevalmistamisel loksutamine, faaside eraldumine koos tsentrifuugimisega ning mõlema faasi analüüsimine. Mõlema faasi analüüsimiseks on võimalik kas faasid eraldada või programmeerida proovisisesti võtma proovi kummastki faasist eraldi. [1,2]

Selleks, et jaotuskoefitsiendi eksperimentaalne mõõtmine toimuks kergema vaevaga, kasutatakse enne jaotuskoefitsiendi mõõtmist mõnda arvutuslikku meetodit, et esmalt hinnata selle umbkaudset väärtust. See võimaldab eelnevalt mõõtmistingimusi kohandada. Jaotuskoefitsiendi mõõtmiseks on võimalik analüüsida ka ainult ühte faasi, näiteks võrreldes standardlahuse kontsentratsiooni enne ja pärast tasakaalustumist – teise faasi kontsentratsioon leitakse arvutuslikult. Selliselt ühte faasi analüüsidest pole vaja analüüsida tülikat oktanooli faasi – viskoosne oktanool võib omada väga pikka retentsiooniga, MS signaali maha suruda või väikese poorisuurusega kolonnide korral võib rõhk oluliselt tõusta. [12]

2.4.2. $\log P$ määramine kaudsete eraldusmeetoditega

Kaudsed meetodid põhinevad korrelatsioonimudelite konstrueerimisel. Kromatograafilised ja elektroforeetilised eraldusmeetodid ei vaja kaudsete meetoditega jaotuskoefitsientide määramiseks palju ega puhtaid reagente. Need on tunduvalt kiiremad võrreldes traditsiooniliste meetoditega ning kergesti automatiseeritavad. [2]

Kaudne meetod nõuab esialgset treening-komplekti, mille jaotuskoefitsiendid on teada. Kromatograafilise eraldusmeetodi korral teostatakse nende ühendite kromatograafiline analüüs ning konstrueeritakse võrrand (5):

$$\log P = p + q \cdot \log k, \quad (5)$$

kus $\log k$ on tavaline mahtuvusfaktori logaritmi või sellise mahtuvusfaktori logaritmi, mis on ekstrapoleeritud selliselt, et see vastaks 0% orgaanilise solvendi sisaldusele mobiilfaasis. Kordajad p ja q on vastavalt mudeli vabaliige ja tõus. [2]

Praktikas on oluline, et ühendid, mida kasutati mudeli koostamisel, oleksid struktuurilt uuritavate ühenditega sarnased. Pöördfaaskromatograafias toimub samuti jaotumine kahe erineva faasi vahel (mobiilfaas ja statsionaarne faas), kuid sealne jaotumine ei ole täpselt analoogne oktanool-vesi süsteemiga. Seetõttu võivad erinevad ühenditegrupid tihtipeale erinevatele korrelatsioonivõrranditele alluda. Lisaks võivad pöördfaaskromatograafias esineda spetsiifilised interaktsioonid, mis oktanool-vesi süsteemi puhul puuduvad, näiteks ioonvahetusinteraktsioonid silanoolrühmadega. [2]

Isokraatilise elueerimise korral on elueerimisulatus küllaltki kitsas, mistõttu on ka leitavate $\log P$ väärtuste ulatus kitsas. See tähendab, et mõned ained ei seostu statsionaarse faasiga piisavalt tugevasti, et oleks võimalik $\log k$ väärtust piisavalt täpselt leida. Teistel ainetel on

retentsiooniaeg jällegi liiga pikk, et mõõtmise oleks teostatav optimaalse ajaga. Erinevate pikkustega kolonnide kasutamine või voolukiiruste varieerimine võivad aidata neid probleeme lahendada. [2]

2.5. Arvutuslikud meetodid jaotuskoefitsiendi määramiseks

Ennustamiseks ühendite omadusi paljudes bioloogilistes ja keemilistes süsteemides, on kasutatud erinevaid algoritme, nagu lineaarne vabaenergia sõltuvus (LFER), või QSAR. Enamasti suudavad neis kasutatud deskriptorid kirjeldada ainult neutraalseid ühendeid. Tehtud on ka mõningad uuringud, kus on leitud deskriptoreid ioonidele ja ioonsetele ühenditele, kuid nende rakendamine jaotuskoefitsientide ennustamisele pole andnud vajalikku täpsust. [17]

Hulk *in silico* meetodeid on arendatud $\log P$ hindamiseks lähtudes ühendi keemilisest struktuurist. Neid jagatakse kahte kategooriasse: rühma panuse meetod (*group contribution methods*) ja regressioonimeetod. Rühma panuse meetodid hindavad $\log P$ väärtust tuvastades olulisi alamstruktuure ja aatomi tüüpe eeldefineeritud fragmentatsiooniskeemi abil, määrates iga fragmendi panuse $\log P$ väärtusesse. Need panused on saadud kas multilineaarse regressiooni abil või võrreldes leitud väärtusi fragmentide väärtustega. Avaldatud on palju regressiooni meetodeid, mis põhinevad molekulaarsetel deskriptoritel ja $\log P$ väärtusel. [9]

Üks selline arvutuslik meetod on Abrahami jt [10] arendatud LFER. See võrrand eeldab, et paljud solvatatsiooniomadused, näiteks $\log P$, sõltuvad viiest deskriptorist läbi üldise solvatatsiooni:

$$\log P = c + eE + sS + aA + bB + vV. \quad (6)$$

Väikeste tähtedega tähistatakse võrrandis koefitsiendid (c , e , s , a , b ja v), mis iseloomustavad süsteemi ning on leitud läbi multilineaarse regressiooni. Sõltumatud muutujad/deskriptorid on soluutide omadused ning on tähistatud suurte tähtedega: E on liigne molaarne refraktsioon [$\text{cm}^3 \text{mol}^{-1}/10$], S on kombineeritud dipolaarsuse ja polariseeritavuse deskriptor, A on soluudi üldine vesiniksideme happelisus, B on soluudi vesiniksideme üldine aluselisisus ja V on McGowan'i iseloomulik molekulaarne ruumala [$\text{cm}^3 \text{mol}^{-1}/100$]. Sellist standardset võrrandit on kasutatud kirjeldamiseks neutraalsete molekulide jaotumist veest enam kui 40 erinevasse solventi. [9,10]

Abrahamil jt on õnnestunud koostada ka võrrand 7:

$$\log P = c + eE + sS + aA + bB + vV + j^+J^+ + j^-J^-, \quad (7)$$

mis kirjeldab lisaks ioonide ja ioonsete ühendite jaotumist. Selleks on lisatud eelnevale võrrandile (võrrand 6) 2 deskriptorit: katioonide korral j^+J^+ ning anioonide korral j^-J^- . Kusjuures anioonide korral $J^+ = 0$, katioonide korral $J^- = 0$ ning neutraalsete molekulide korral

on mõlemad nullid. Antud deskriptorid aitavad täiendavalt arvesse võttaioon-solvent interaktsioone. [10]

Et Abrahami jt võrrandit ioonide jaotuskoefitsientide ($\log P^+$ või $\log P^-$) hindamiseks laiendada, tuleb eeldada, et mõlemad ioonid annavad panuse dissotsieerunud ioonide neutraalse kombinatsiooni jaotuskoefitsiendile $\log P^\pm$ vastavalt valemile 8:

$$\log P^\pm = \log P^+ + \log P^- . \quad (8)$$

Selleks kasutatakse levinud ekstratermodünaamilist lähendust TATB (tetrafenüülarsoonium tetrafenüülboraat), kus eeldatakse, et $\log P(\text{Ph}_4\text{As}^+ \text{ või } \text{Ph}_4\text{P}^+) = \log P(\text{Ph}_4\text{B}^-)$. [9,10]

Abrahami jt võrrandi kasutamist ioonide jaotumise ennustamiseks piirab ioone ja ioonseid ühendeid kirjeldavate deskriptorite puudulikkus. Selleks, et ioonide jaoks deskriptoreid leida, on vaja leida uutele ioonidele eksperimentaalsed andmed ning arvutada deskriptorid, kasutades nii uusi kui ka olemasolevaid andmeid. Ainuke arvutuslik süsteem, mis võib olla võimeline ioonseid deskriptoreid arvutama on COSMO-RS (*Conductor-like Screening Model for Real Solvation*) [18]. Näiteks Cho jt [19] on arvutanud esmalt Klampt'i deskriptorid ja seejärel kasutanud Zissimos'i jt [20] võrrandeid, et teisendada need Abrahami parameetriteks. Selline lähenemine aitaks ületada deskriptorite puudumist ioonsetele ühenditele. [17]

HPLC retentsiooniaegade ennustamisel saab samuti lähtuda Abrahami jt LFER-ist. Näiteks on Abrahami valemiga seotud retentsiooniandmed, kuid kuna ioonsete ühendite retentsioon on võrreldes neutraalsete ühenditega keerulisem, siis ei saa ka ennustustäpsus olla parem kui neutraalsete ühendite puhul. Siiski on näha, et HPLC retentsiooniandmed võivad olla kasulikud ioonsetele ühenditele deskriptorite leidmisel. [17]

2.6. Sisse- ja väljasoolamine

Mõõdukalt vees lahustuvate orgaaniliste ühendite lahustuvus soola lisamisel tavaliselt väheneb – seda nimetatakse väljasoolamise efektiks. Siiski on ka mõningaid soolaid, mis põhjustavad orgaaniliste ühendite lahustumise suurenemist vees – seda kutsutakse sissesoolamise efektiks. Kusjuures enamasti väikesed tugevalt hüdraatuvad ioonid (kosmotroobid) põhjustavad väljasoolamist ning suured nõrgalt hüdraatuvad ioonid (kaotroobid) põhjustavad sissesoolamist. [21,22]

Sisse- ja väljasoolamise nähtust kirjeldatakse Setchenovi konstanti, k_s , abil, mis tuleneb järgmisest empiirilisest sõltuvusest:

$$\log \frac{C_A(\text{H}_2\text{O})}{C_A(\text{sool})} = k_s \times C_s, \quad (9)$$

kus $C_A(\text{H}_2\text{O})$ ja $C_A(\text{sool})$ on osakese A molaarne kontsentratsioon vastavalt vees ja soolavesilahuses. C_s on soola molaarne kontsentratsioon soolalahuses. Väljasoolamise korral on k_s väärtus positiivne ning sissesoolamise korral negatiivne. Üldiselt see empiiriline lineaarne suhe kehtib. Setchenovi koefitsientide andmebaase on vähe ning tihti esinevad erinevate allikate korral olulised erinevused. Setchenovi koefitsient oleneb orgaanilise soluudi tüübist ja kasutatavast soolast. [21,23]

Põhiline, kuidas anorgaanilised soolad mõjutavad lahuses orgaaniliste ühendite lahustuvust on see, et ionide ümber moodustub hüdraatkate, mis vähendab vaba vee hulka, mis saaks osaleda orgaanilise ühendi solvateerimises. Kuna kationidel on anioonidest enamasti väiksemioonraadius, siis selle arvelt on katiooni panus väljasoolamisse suurem. Sama aniooni ja katiooniioonraadiuse korral on aniooni poolt tingitud ionide interaktsioonid veega tugevamad ja seetõttu on tihti ka aniooni panus soolaefektidesse suurem. Praktikas vaadeldakse ionsetest lisanditest tingitud efekte erinevatele protsessidele ja seetõttu on kirjanduses arusaamad ja interpretatsioonid erineva laenguga ionide panuse kohta mõneti erinevad. [24,25]

Tetraalküülammooniumbromiidid on soolad, mis põhjustavad sissesoolamist. Nende kationid on suured tetraeedrilised osakesed, mille puhul on leitud, et mida suurem on katiooni alküülalabel ja mida suurem on vaadeldav ühend, mille jaotumist uuritakse, seda suurem on sissesoolamise ulatus. On leitud, et töö, mida tuleb teha lahustuva molekuli suuruse augu tekitamiseks, on vee puhul oluliselt suurem, kui R_4N^+ ioone sisaldava vesilahuse puhul. See tuleneb sellest, et mida suuremad osakesed on vedelikus lahustunud, seda tõenäolisemalt esineb lahuse molekulide vahel väikeseid tühimikke, kuhu võivad mahtuda uuritavad molekulid. [21]

Soolad mõjutavad ka ühendite jaotumise tasakaalu vee ja erinevate faaside vahel (õhk, orgaaniline aine, polümeerid, bioloogilised rakud). Näiteks NaCl mõjul suureneb vee kohesiivne energia, kuna muutuvad interaktsioonid vee dipoolidega. Selle tulemusel muutub vesi viskoossemaks ning orgaaniliste ühendite jaotumine on nihutatud vähempolaarse faasi suunas. Tahtlikult kasutatakse väljasoolamise efekti ekstraheerimise efektiivsuse suurendamiseks analüütilistes protseduurides. [23,24]

2.7. Ioonide solvatatsioon

Suur osa keemilistest protsessidest, nii laboris kui looduses, toimub ioone sisaldavates lahustes. Kuna lahustes esinevad ioonid alati solvateeritult, on oluline mõista ioon-solvent interaktsioone. Polaarsestes solventides toimub kuloniliste interaktsioonide dielektriline varjestamine dipolaarse solvendi molekulide poolt, mis kujutab endast umbes sama tugevat

vastassuunalist jõudu ning seetõttu saavad ioonid olla solvateeritud dissotsieerunud üksustena. Solvendi puudumisel toatemperatuuril esineksid vastaslaenguliste ionide vahel väga tugevad pikavahemaalsed kulonilised interaktsioonid, mis soodustavad nende agregeerumist tahketeks sooladeks (va ioonsed vedelikud). [26,27]

Keeruline on konkreetse iooni omadusi uurida, kuna ioone ei saa lahusesse eraldiseisvalt lisada – elektrolüüt koosneb alati mõlemamärgilistest ionidest selliselt, et see oleks elektroneutraalne. Elektrostaatiline energia hoiab kristalle moodustavaid ioone koos. Esmalt tuleb võreenergia investeerida, et eraldada ioonid lahuses. Võreenergiat kompenseerib solvatatsiooni energia, mis saadakse lahustumisprotsessi käigus. [26]

Ioonide solvatatsiooni on kõige enam uuritud vesikeskkonnas. Kasulik on võrrelda ionide solvatatsiooni vesikeskkonnas ja mõnes teises solvendis. Selle teeb jällegi keeruliseks asjaolu, et vesi on üsna omamoodi solvent ning efektid, mis esinevad vesilahustes, võivad puududa paljudes teistes lahustes. Vees esineb vesiniksidemete struktuur, mida ioonid võivad kas nõrgestada või tugevamaks muuta. Sarnane vaste enamikes teistes solventides puudub. Vastavalt ionide võimele struktureerida vett on neid hakatud klassifitseerima kosmotroopideks (struktuuri tekitajad) ja kaotroopideks (struktuuri lõhkujad). [22,26]

Lisaks esineb vees ka niinimetatud hüdrofoobne interaktsioon, mis kehtibioonsetele ühenditele, millel on pikemad alküülalhelad või aromaatsed tuumad. Sellised interaktsioonid ei kehti mitte ainult mudelioonidele nagu tetrabutüülammoonium kation (Bu_4N^+), vaid ka orgaanilistele ühenditele üldiselt ning eriti valkude ioniseerunud kõrvalahelatele. [26]

Ioonide solvatatsiooni uurimiseks on oluline, et ionidevahelised interaktsioonid oleksid minimaalsed. Ideaalseks olukorraks oleks lahus, mis sisaldaks ainult ühte iooni ja lõpmata suurt hulka lahusti molekule. Kahjuks ei ole võimalik sellist olukorda laboris eksperimentaalselt tekitada, kuid see on võimalik arvutisimulatsioonidega. Arvutisimulatsiooniga saadud tulemusi saab võrrelda eksperimentaalsete tulemustega, kus saadud eksperimentaalsed tulemused on ekstrapoleeritud lõpmatult lahjade lahustele. Siiski on keeruline mõista katiooni ja aniooni eraldiseisvaid panuseid eksperimentaalsetesse tulemustesse. [26]

Reaalses elus pole tegu lõpmata lahjade lahustega. Mida suurem on ionide kontsentratsioon, seda vähem on lahuses solvendi molekule iooni kohta ja seda enam on ionide loomulik solvaatkate lõhutud. Ioon-ioon interaktsioonid hakkavad konkureerima ioon-solvent interaktsioonidega. Lisaks võib tekkida tasakaal iooni ja ioonpaari vahel, mida on samuti vaja arvesse võtta. [26]

3. MATERJALID, APARATUUR JA MEETODID

3.1. Kasutatud ained

Mobiilfaasis orgaanilise solvendina kasutati otsese loksutusmeetodi korral atsetonitriili (Sigma-Aldrich, Iisrael, puhtus $\geq 99,9\%$) ja kaudse HPLC meetodi korral metanooli (Sigma-Aldrich, Prantsusmaa, puhtus $\geq 99,9\%$). Mobiilfaasi veefaasiks kasutati mõlemal juhul atsetaatpuhverlahust, mis sisaldas ammooniumatsetaati (Fluka, Holland, puhtus $\geq 99,0\%$), sipelghapet (Sigma-Aldrich, Saksamaa, puhtus $\geq 98\%$) ning ülipuhast MilliQ vett (eritakistus 18,2 M Ω ·cm, summaarne orgaanilise süsiniku sisaldus < 6 mg/kg), mis valmistati deioniseeritud veest kasutades aparati Millipore Simplicity 185 (Millipore GmbH, Austria).

Loksutusmeetodi korral kasutati standardainetena tetrametüülammooniumkloriidi (Fluka, Holland, puhtus $\geq 99,0\%$), tetraetüülammooniumkloriidi (Sigma, USA, puhtus $\geq 98\%$), tetrapropüülammooniumkloriidi (Fluka, USA, puhtus $\geq 98\%$), tetrapropüülammooniumhüdrosiidi (Sigma-Aldrich, Šveits; 1,0 M vesilahus) ja tetrabutüülammooniumhüdrosiid (Aldrich, USA; 1,0 M metanoolis). Proovide ettevalmistusel kasutati MilliQ vett ning 1-oktanooli (Sigma-Aldrich, USA, puhtus $\geq 99\%$), mis eelnevalt küllastati MilliQ veega.

Kaudse HPLC meetodi korral kasutati standardainetena lisaks ka aniliini (Sigma-Aldrich, Šveits, puhtus $\geq 99,5\%$), 4-nitroaniliini (Sigma-Aldrich, USA, puhtus $\geq 99\%$), etüülamiinhüdrokloriidi (Aldrich, USA, puhtus $\geq 98\%$), dietüülamiini (Fisher, USA, puhtus $\geq 99\%$), trietüülamiini (Aldrich, USA, Puhtus $\geq 99\%$), imidasooli (Aldrich, Saksamaa, puhtus $\geq 99\%$), bensimidasooli (Aldrich, Saksamaa, $\geq 98\%$), püridiini (Fluka, Šveits, puhtus $\geq 99,8\%$) ja piperidiini (Sigma-Aldrich, USA, puhtus $\geq 99,5\%$).

Lisandite mõju uurimisel kasutati NaCl (Fisher, USA, puhtus $\geq 99,6$), KCl (Lach:Ner, Tšehhi, puhtus 100,0%), MgCl₂ (Sigma, Hiina, puhtus $\geq 98\%$), NH₄Cl (Tšerkasskij keemiliste reaktiivide tehas, Ukraina, puhtus: standard), NaNO₃ (kingitus prof. Ilometsalt, puhas), NaOH (Reagecon, Iirimaa, 1,0 M vesilahus) HCl (Reagecon, Iirimaa, 1,0 M vesilahus) ja HNO₃ (Sigma Aldrich, USA, 65% vesilahus).

Anioonide kontsentratsioonide määramisel kasutati 1,9-nonaandiüül-bis(3-metüül-imidasoolium)difluoriidi (Fluka, Šveits; 0,005 M lahus metanooli ja vee segus (1:1), puhtus $\geq 97,0\%$). Karl Fischeri titraatori reagentiks oli Hydranal Coulomat AD (Riedel-de Haën, Saksamaa).

3.2. Lahused

Standardainete emalahused valmistati standardainetest kaalumise teel MilliQ vette ning säilitati väikeste kogustena -20 °C juures või kuni kuu 4 °C juures. Soolade 1,0 M lahuste valmistamiseks kaaluti kindel kogus soola mõõtkolbi, kuhu hiljem lisati kindla ruumalani vett. Edasised lahjendused tehti pipeteerimise teel ruumala järgi.

3.3. Aparatuur

Kaudse HPLC meetodi korral kasutati HPLC/MS instrumenti firmalt Shimadzu (USA). Instrument koosnes järgnevatest osadest: degasaator DGU-20A_{5R}, pump LC-20ADXR, automaatne proovisisestussüsteem SIL-30AC, kolonni termostaat CTO-20AC, UV/Vis fotodiodrividetektor SPD-M20A, kvadruupoolmassianalüsaator elektropihustusionisatsiooni allikaga LCMS-2020, mille pihustus- ja kuivatusgaasiks kasutati lämmastikku. Instrumenti kasutati koos analüütilise kolonniga Phenomenex Gemini C18 mõõtmetega 150×4,6 mm, poorisuurusega 110 Å, osakeste suurusega 5 µm.

Loksutusmeetodi korral kasutati proovide analüüsimiseks HPLC/MS instrumenti firmalt Agilent. Instrument koosnes järgmistest osadest: Agilent 1100 seeria vaakumdegasaator, binaarne pump solvendi valiku klapiga, automaatne proovisisestussüsteem, kolonni termostaat, UV/Vis diodrividetektor jaioonlõks-massispektromeeter Agilent LC/MSD Trap XCT. HPLC ja MS vaheliseks liideseks oli elektropihustusionisatsiooni allikas, mille pihustus- ja kuivatusgaasiks kasutati lämmastikku. Massianalüsaatori lõksustus- ja pörkegaasiks oli heelium puhtusega 6.0 (Linde Gas, Saksamaa). Instrumenti kasutati koos analüütilise kolonniga Zorbax Eclipse XDB-C18 mõõtmetega 150×4,6 mm, poorisuurusega 80 Å, osakeste suurusega 5 µm ja eelkolonniga Eclipse XDB-C18 mõõtmetega 12,5×4,6 mm, poorisuurusega 80 Å, osakeste suurusega 5 µm.

Proovide ettevalmistamisel kasutati veel erineva suurusega automaatpipette firmalt Eppendorf (Saksamaa) ja labori loksutit Elpan 358S (Poola). Oktanoolis veesisalduse määramiseks kasutati kulonomeetrist Karl Fischeri titraatorit Mettler Toledo DL32 (Šveits).

3.4. Kaudne HPLC meetod

Valitud ühenditele leiti erinevatel isokraatilistel elueerimistingimustel, varieerides orgaanilise solvendi sisaldust mobiilfaasis, $\log k$ väärtused vastavalt valemile 10:

$$\log k = \log \left(\frac{t_r - t_0}{t_0} \right), \quad (10)$$

kus t_r on ühendi retentsiooniaeg ning t_0 on kromatograafilise süsteemi surnud aeg, mis antud mõõtmiste korral oli 1,5 min. Mobiilfaas koosnes metanoolist ja 5,0 mM

atsetaatpuhverlahusest (pH = 3,5), mobiilfaasi voolukiirus oli 0,8 ml/min. Ainete retentsiooniaeg tuvastati MS detektoriga molekulaariooni järgi. Kasutatud massi-laengu suhte (m/z) väärtused on toodud lisas tabelis L1.

Isokraatilistes elueerimistingimustes varieeriti orgaanilise eluendi osakaalu selliselt, et oleks võimalik leida ühendite $\log k$ väärtust, mis vastaks olukorrale, kus mobiilfaasiks on ainult veefaas. Sellist mahtuvusfaktorit tähistame edaspidi $\log k_w$ ning kutsume ekstrapoleeritud mahtuvusfaktoriks. See on leitud polünoomse (valem 12) või lineaarse (valem 11) regressiooni abil:

$$\log k = \log k_w - q \cdot B\%, \quad (11)$$

$$\log k = \log k_w - q \cdot B\% - r \cdot B\%^2 \quad (12)$$

kus $B\%$ on orgaanilise solvendi osakaal mobiilfaasis, q ja r on regressioonikordajad. Lineaarset regressiooni (valem 11) kasutati juhul, kui ekstrapoleerimiseks oli kasutada ainult kaks andmepunkti. Polünoomset regressiooni (valem 12) kasutati, kui ekstrapoleerimiseks oli kasutada enam kui kahte andmepunkti. Leitud $\log k_w$ väärtused on toodud tabelis L1.

MS parameetrid kaudse meetodi korral olid järgnevad: kuivatusgaasi voolukiirus 20 l/min, pihustusgaasi voolukiirus 1,5 l/min, kuumutusbloki temperatuur 200 °C, desolvateerimiskapillaari temperatuur 275 °C.

3.5. Loksutusmeetod

Loksutusmeetodil näilise jaotuskoefitsiendi logaritmiliste ($\log P_{app}$) väärtuste määramiseks valmistati proovid ette otse HPLC viaalidesse. Proovi ettevalmistuseks kasutati MilliQ vett, MilliQ veega küllastatud oktanooli, uuritava aine vesilahust ning lisandi mõju uurimisel ka dissotsieeruva lisandi (hape, alus või sool) vesilahust. Esmalt lisati otsepipeteerimise teel veefaasis lahustatud ained uuritavas vahekorras selliselt, et veefaasi summaarne ruumala oli 500 µl, seejärel lisati veega küllastatud oktanooli faasi 500 µl pöördpipeteerimise teel. Kinniseid viaale loksutati loksutil kiirusega umbes 160 cpm vähemalt 30 minutit 45-90 kraadise nurga all, et kiirendada tasakaalu saabumist. Kiiret loksutamist ei kasutatud, et vältida emulsiooni teket. Seejärel lasti proovidel viaalides vähemalt 2 h (kuni 4 päeva) vertikaalselt seista, et püstituks lõplik tasakaal.

Loksutusmeetodi proovide korral on prooviettevalmistusel lisatud lisandi ja uuritava aine kontsentratsioonid esitatud tasakaalustumiseelsete veefaasi kontsentratsioonidena.

Loksutusmeetodis kasutati gradientelueerimist atsetonitriili ja 5,0 mM atsetaatpuhverlahusega (pH = 5). $\log P_{app}$ määramiseks sisestati analüüdilahus kasutades HPLC automaatset proovisisestussüsteemi. Vee ja oktanooli faasist proovide võtmiseks kasutati vastavalt HPLC

süstimissüsteemi nõela kõrguseid 0,0 mm ja 8,0 mm viaali põhjast. Süsti suurus veefaasist oli 0,5-1 µl ning oktanooli faasist oli süsti suurus 1-100 µl. Eluendi voolukiiruseks oli 0,8 ml/min, kolonni temperatuur oli 30 °C.

Tetrametüülamooniumkatiooni (Me_4N^+), tetraetüülamooniumkatiooni (Et_4N^+) ja tetrapropüülamooniumkatiooni (Pr_4N^+) $\log P_{\text{app}}$ väärtuseid uurides kasutati elueerimise gradientprogrammi: 0 min $B\% = 5\%$, 7 – 9 min $B\% = 100\%$, 10 – 15 min $B\% = 5\%$. Tetrabutüülamooniumkatiooni (Bu_4N^+) korral kasutati elueerimise gradientprogrammi: 0 min $B\% = 50\%$, 8 – 10 min $B\% = 100\%$, 11 – 14 min $B\% = 50\%$.

Ühendid tuvastati MS detektoriga molekulaariooni kujul kasutades samu m/z väärtusi nagu kaudse HPLC meetodi korral (tabel L1). Tetraalküülamooniumkatioonide (R_4N^+) retentsiooniajad olid järgnevad: Me_4N^+ $t_r = 2,1$ min, Et_4N^+ $t_r = 4,0$ min, Pr_4N^+ $t_r = 6,5$ min, Bu_4N^+ $t_r = 6,6$ min.

$\log P_{\text{app}}$ väärtused arvutati vastavalt valemile (13):

$$\log P_{\text{app}} = \log \left(\frac{m_o^{\text{süst}}}{m_w^{\text{süst}}} \cdot \frac{v_w^{\text{süst}}}{v_o^{\text{süst}}} \right) = \log \left(\frac{C_o}{C_v} \right), \quad (13)$$

kus $m_o^{\text{süst}}$ ja $m_w^{\text{süst}}$ on kalibreerimisgraafikult interpoleerimise teel leitud analüüdi mass, mis vastab süsti suurusele vastavalt oktanooli- või veefaasist. Valemist osa $\frac{v_w^{\text{süst}}}{v_o^{\text{süst}}}$ võtab arvesse süstide suuruse erinevusi oktanooli- ja veefaasist, et saada logaritmilist kontsentratsioonide suhet.

MS parameetrid loksutusmeetodi korral olid järgnevad: kuivatusgaasi voolukiirus 12,0 l/min, kuivatusgaasi temperatuur 350 °C, lämmastiku rõhk 50 psi (345 kPa).

3.6. Paardunud iooni elektropihustusionisatsioon

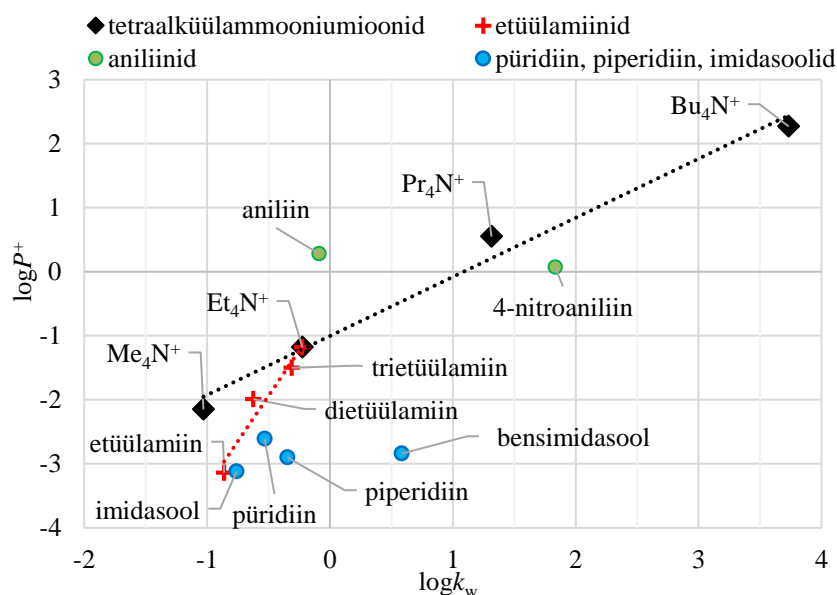
Oktanooli jaotunud anioonide kontsentratsiooni määramiseks kasutati paardunud iooni elektropihustusionisatsiooni meetodit [28]. Antud meetod kasutab ioonpaarreagendina mitmelaengulisi katioone – need moodustavad elektropihustuse käigus uuritava aniooniga kompleksi ning tuvastatakse elektropihustusionisatsiooni positiivse režiimiga. Ioonpaarreagendina kasutati 1,9-nonaandiüül-bis(3-metüülimidiasoolium) katiooni (40 µM metanoolis). Kloriidioon tuvastati elektropihustusionisatsiooni positiivses režiimis ioonpaarina, mille $m/z = 325$, nitraatioon tuvastati ioonpaarina, mille $m/z = 352$. Kontsentratsiooni leidmiseks koostati kalibratsioonigraafik, mille abil tulemus interpoleeriti.

4. TULEMUSED JA ARUTELU

4.1. Kaudne HPLC meetod katioonsete ühendite lipofiilsuse hindamiseks

Üheks töö eesmärgiks oli uurida, kas katioonsete ühendite lipofiilsuse hindamiseks on võimalik ja mõistlik rakendada kaudset HPLC meetodit. Abraham jt [10] on omistanud mõningate ainete katioonsetele osakestele jaotuskoefitsiendi logaritmilised ($\log P^+$) väärtused (tabel L1). Neid väärtusi saab rakendada kontrollimaks, kas katioonsete ühendite retentsiooniandmed annavad korreleeruvaid tulemusi. 13 ainele, millele Abraham jt [10] olid omistanud $\log P^+$ väärtused, leiti eksperimentaalselt ekstrapoleeritud mahtuvusfaktorid $\log k_w$ kasutades valemit 11 või 12. Leitud $\log k_w$ väärtusi korreleeriti $\log P^+$ väärtustega. Korrelatsioonigraafik on toodud joonisel 1.

Me_4N^+ iooni retentsioon oli kasutatud kromatograafilises süsteemis nõrk, mistõttu õnnestus mõõta vaid üks mahtuvusfaktori väärtus. Seetõttu pole selle aine puhul kasutatud ekstrapoleeritud mahtuvusfaktori väärtust, vaid mahtuvusfaktorit, mis saadi kõrge veesisaldusega (98%) mobiilfaasi korral. Kõrge veesisalduse tõttu käsitleti antud mahtuvusfaktorit teistega võrreldavalt (hinnanguline erinevus vastavast $\log k_w$ väärtusest on umbes 0,1 ühikut).



Joonis 1. Ekstrapoleeritud mahtuvusfaktorite $\log k_w$ korreleerimine $\log P^+$ [10] väärtustega. Erinevad ained on grupeeritud vastavalt legendis märgitule. Punktiiridega lineaarsed jooned on toodud, et viidata grupisisesele trendile.

Joonisel 1 toodud korrelatsioonigraafikul on näha, et läbiv korrelatsioon puudub. Küll aga on näha korrelatsiooni analoogsete ühendite vahel, mistõttu võiks antud viisil $\log P^+$ [10] väärtusi ennustada vaid analoogsete ühendite korral. R_4N^+ katioonid omavad korrelatsioonigraafikul

hoopis teistsugust trendi kui erineva asendajate arvuga etüülamiinid, kuigi need kaks ühenditegrupp on omadustelt üsna sarnased – alifaatsete süsivesinikahela(te)ga lämmastikühendid.

Aniliinide näitel on näha, et olulist rolli mängib mobiilfaasis veefaasi pH. Veefaasiks oli 5,0 mM ammooniumatsetaatpuhver, mille pH = 3,5. Valitud veefaasi pH tagab, et enamik aineid on veefaasis katioonses vormis, kuid pole siiski piisavalt happeline, et tagada 4-nitroaniliini puhul katioonset vormi (ainete pK_a väärtused on toodud tabelis L1). Seda on näha ka tulemustest – olgugi, et Abraham jt [10] on omistanud 4-nitroaniliinile natuke madalama $\log P^+$ väärtuse, kui aniliinile, siis mahtuvusfaktor on ikkagi 4-nitroaniliinil tunduvalt suurem, kui aniliinil. 4-nitroaniliinil osaleb kromatograafilises jaotumises hoopis neutraalne vorm, mis retendeerub kolonnis tugevamalt, kui vastav ioon, ning seetõttu pole 4-nitroaniliini ja aniliini tulemused omavahel võrreldavad.

Ioniseeruvate ühendite jaotumise puhul on oht, et happelise veefaasiga tasakaalulises faasis (käesoleval juhtumil statsionaarse faasi alküülahelate vahel) pole happelisuus piisav, et aluselised ühendid oleks katioonsel kujul. Üldiselt ei ole teada täpne mehhanism, kuidas antud ühendid mudelkeskkonnas ehk pöördfaaskromatograafia kolonnis jaotuvad, kuid võib arvata, et sarnaselt jaotumisega orgaanilistesse solventidesse, võivad ka kromatograafias jaotumist statsionaarse ja mobiilfaasi vahel mõjutada ioonpaardumine, dissotsiatsioon jms.

Lihtsate meetoditega pole võimalik uurida, kas meid huvitav aluseline ühend on mobiilfaasiga tasakaalulisse statsionaarsesse faasi jaotunud katioonina või neutraalse ühendina. Kirjeldatud olukorda saab lihtsamini uurida lahustes, kuna sageli on neutraalse ühendi UV/Vis spekter erinev katioonses vormis ühendi spektrist. Vähem aluseliste ühendite – aniliin ja 4-nitroaniliin – korral kontrolliti, millises vormis esineb antud ühend happevesilahusega tasakaalulises oktanooli faasis. Mõõdetud spektreid võrreldi andmebaasis [29] olevate spektritega, et visuaalse võrdlemise teel hinnata, millises vormis ühend esineb.

Joonisel L1 on toodud aniliini ja 4-nitroaniliini spektrid oktanoolis, mis on tasakaalustatud erinevate hapete vesilahustega. Aniliini korral täheldati, et nõrgemate hapetega – 1% äädikhappega ja 1 M sidrunhappega – on tasakaalulises oktanoolifaasis aniliin neutraalses vormis. 1 M oblikhappe, 1 M HNO_3 ja 1 M $HClO_4$ korral esines aniliin tasakaalulises oktanoolifaasis põhiliselt katioonses vormis. 4-nitroaniliin, mille pK_a väärtus vees on 1,0; polnud tasakaalulises oktanoolifaasis katioonses vormis isegi, kui oktanool oli tasakaalustatud 1 M tugevate hapetega.

Eeldusel, et sarnane analoogia kehtib ka mobiilse faasiga tasakaalulises statsionaarses faasis, on küllaltki keeruline tagada, et pöördfaaskromatograafia käigus jaotuksid vähem aluselised

ühendid statsionaarsesse faasi üksikute ionidena. R_4N^+ ionid saavad jaotuda statsionaarsesse faasi ionpaarina või üksiku ionina, aluselised ühendid saavad lisaks eelpool nimetatud võimalustele statsionaarsesse faasi jaotuda ka neutraalses vormis ühendina.

Ioonide korral, erinevalt neutraalsetest ühenditest, on tugevamad ka igasugused sekundaarsed interaktsioonid kolonniga – näiteks interaktsioon vabade silanoolrühmadega. Leitud korrelatsiooni põhjal võib järeldada, et kaudse meetodiga suudab pöördfaaskromatograafia vaid osaliselt jäljendada kationide jaotumist oktanol-vesi keskkonnas. Ka neutraalsete ühendite puhul on leitud, et pöördfaaskromatograafia ei suuda ideaalselt jäljendada oktanol-vesi keskkonda [2], kuid ionsete ühendite puhul ilmneb segavate sekundaarsete interaktsioonide mõju veel enam.

Kaudse HPLC meetodi rakendamise ionide jaotuskoefitsientide määramiseks teeb keeruliseks ka väikeste hüdrofiilsete ionide nõrk retentsioon kolonnis isegi kõrgetel veesisaldustel. Seetõttu pole antud meetod väikeste ionide jaotuskoefitsientide määramiseks sobilik. Suuremad ionid omavad jällegi mõistlikku retentsiooniga kolonnis, kui mobiilfaas on tunduvalt kõrgema orgaanilise solventi sisaldusega. Võrreldavate tulemuste jaoks on mõistlik kasutada ekstrapoleeritud mahtuvusfaktoreid $\log k_w$, kuid siin tuleb silmas pidada, et erineva lipofiilsusega ionide mahtuvusfaktorid on mõõdetud kasutades erineva orgaanilise solventi sisaldusega mobiilfaasi. Ekstrapoleerimisel saadud $\log k_w$ väärtus on ennustus, milline oleks mahtuvusfaktor tingimustel, kus mobiilfaasiks oleks ainult veefaas. Ennustuse täpsus oleneb sellest, millise mobiilfaasi koostisega on leitud ekstrapoleerimiseks kasutatavad mahtuvusfaktorid.

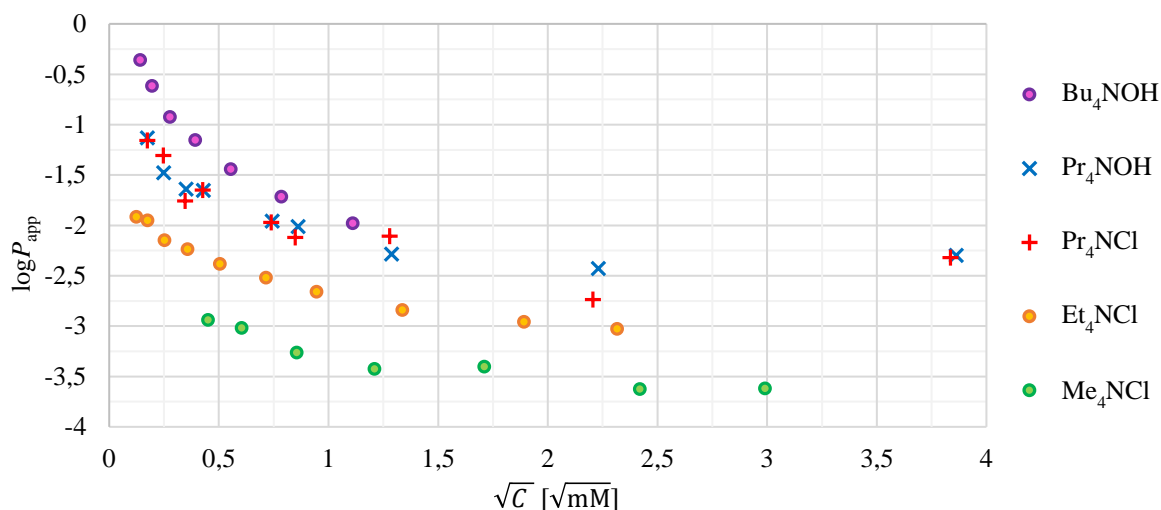
Tundmatuiooni uurimiseks on vaja teha palju ajakulukaid mõõtmisi erinevatel kromatograafilistel tingimustel. Üks võimalus ajakulu vähendamiseks on leida optimaalsed tingimused, kus huvipakkuvate ionide retentsioon kolonnis on piisav, ning kasutada korreleerimiseks ühest mõõtmisest saadud $\log k$ väärtust. See jällegi seab piirid uuritavate ühendite hüdrofoobsuste vahemikule ja loob eksperimendi käigus mittekontrollitavaid eeldusi. Töös kasutatud meetodi rakendamine $\log P^+$ väärtuste ennustamiseks võib olla teostatav vaid väga sarnaste ühendite korral ning kindlasti pole niivõrd hästi rakendatav kui neutraalsete ühendite korral. Küll aga võiks saada ekstrapoleeritud mahtuvusfaktorite väärtuseid kasutada, et leida pöördfaaskromatograafia protsessile Abrahami deskriptorid ja seejärel on võimalik $\log k_w$ väärtuste abil leida aluseliste ühendite Abrahami parameetrid [17]. Kuid ka sellise rakendusviisi puhul on aluseliste ühendite korral keeruline tagada, et retentsioon kolonnis toimiks ainult ühendi ioonise vormiga.

4.2. Otsese loksutusmeetodiga kationsete ühendite lipofiilsuse hindamine

Otsese loksutusmeetodiga mõõdeti ligikaudu 400 $\log P_{\text{app}}$ väärtust, et uurida kationsete ühendite jaotumist oktanool-vesi keskkonnas. Uuringu käigus ei eristatud, millises vormis toimub uuritava osakese jaotumine ja seetõttu on mõõtetulemused käsitletavad näilise jaotuskoefitsiendi logaritmina – $\log P_{\text{app}}$. Tulemuste graafilisel esitamisel on x-teljel kasutatud kontsentratsiooni ruutjuurt, kuna sellisel esitusviisil on tulemused paremini jälgitavad ning tulemusi on lihtsam matemaatilise mudeliga siduda. Prooviettevalmistusel lisatud lisandi ja uuritava aine kontsentratsioonid on esitatud tasakaalustumiseelsete veefaasi kontsentratsioonidena.

4.3. $\log P_{\text{app}}$ väärtuse sõltuvus uuritava ühendi kontsentratsioonist

Me_4N^+ , Et_4N^+ , Pr_4N^+ ja Bu_4N^+ kationide korral uuriti, kuidas mõjutab vastavat R_4N^+ iooni sisaldava aine kontsentratsioon jaotumist oktanool-vesi keskkonnas. Tulemused on toodud joonisel 2 ning andmed on tabelis L2.



Joonis 2. R_4N^+ ionide $\log P_{\text{app}}$ väärtuste sõltuvus vastava aine kontsentratsiooni ruutjuurest.

Pr_4N^+ $\log P_{\text{app}}$ väärtusi uuriti kasutades kahte erinevat vastasiooni: ühel juhul kasutati Pr_4NCl ja teisel juhul Pr_4NOH . Mõlema vastasiooni korral saadi sarnaseid Pr_4N^+ $\log P_{\text{app}}$ väärtused erinevatel aine kontsentratsioonidel. See viitab olukorrale, et Cl^- ja OH^- ei anna olulist panust sissesoolamiseefekti[†] võrreldes katiooniga või mõlema aniooni korral on mõju sarnane. Kuna

[†] Kontekst erineb tavapärasest sisse-/väljasoolamiseefektist, kus vaadeldakse lahustuvuse muutumist olenevalt lisandite hulgast. Kahefaasilise süsteemi puhul tuleb sisse-/väljasoolamist vaadelda ühe kindla faasi suhtes. Selles töös vaatleme neid efekte veefaasi suhtes ja edaspidi on sissesoolamise all mõeldud kontsentratsiooni suurenemist veefaasis ning väljasoolamise alla on mõeldud kontsentratsiooni vähenemist veefaasis.

Pr₄NCl ja Pr₄NOH puhul olulist erinevust ei esinenud, siis eeldame, et Bu₄NOH mõõtetulemused on võrreldavad ainete tulemustega, mis on mõõdetud ainult Cl⁻ soolana.

Jooniselt 2 on näha, et R₄N⁺ ionide log*P*_{app} väärtus sõltub oluliselt uuritava aine kontsentratsioonist. Eriti ilmeks on see muutus Bu₄NOH puhul, kus muutes kontsentratsiooni vahemikus 0,020 mM kuni 1,2 mM väheneb log*P*_{app} väärtus 1,62 ühikut – esineb ulatuslik sissesoolamisefekt. Eriti tundlik on R₄N⁺ log*P*_{app} väärtus just madalate ainekontsentratsioonide juures ning visuaalsel hindamisel tundub, et mida pikem on R₄N⁺ alküülahel, seda tugevamini avaldab R₄N⁺ kontsentratsioon mõju log*P*_{app} väärtusele.

Olgugi, et mõõtmised viidi läbi madalatel kontsentratsioonidel (vahemikus 0,020-15 mM), on näha, et R₄N⁺ ionide jaotumine on tugevasti mõjutatud vastava aine kontsentratsioonist. See muudab katioonsete ühendite jaotumise eksperimentaalse uurimise keeruliseks. Ioonsetele ühenditele tõeliste jaotuskoefitsientide omistamiseks tuleks mõõtmised läbi viia niivõrd madalatel kontsentratsioonidel, et soluut-soluut interaktsioonid ei mõjutaks jaotuskoefitsiendi väärtust. Tavapäraselt pole aga analüütilises keemias kasutatavate instrumentide määramispiir sellisteks mõõtmisteks piisavalt madal.

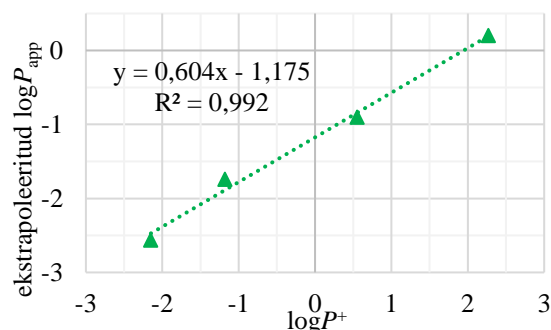
Kuigi lõpmata lahjades lahustes pole mõõtmisi võimalik läbi viia, saab eksperimentaalseid mõõtmistulemusi ekstrapoleerida selliselt, et need vastaks lõpmata lahjale lahusele. Mõõtetulemuste ekstrapoleerimiseks lähendati mõõtetulemused ruutvõrrandile, kasutades Microsoft Excel programmis lisandmoodulit „Solver“. Tulemuste ruutvõrrandile lähendamiseks minimeeriti ennustatud ja eksperimentaalse tulemuse kaalutud erinevuste ruutude summat. Kaalutud polünoomset regressiooni otsustati kasutada, et suurendada ruutvõrrandi ennustatäpsust madalate kontsentratsioonipunktide juures. Mõõtepunkti kaal oli võrdeline lisatud R₄N⁺ iooni kontsentratsiooni ruutjuure pöördväärtusega. Ekstrapoleerimise teel saadi järgnevad log*P*_{app} väärtused: Me₄NCl log*P*_{app} = -2,56; Et₄NCl log*P*_{app} = -1,74; Pr₄NCl log*P*_{app} = -0,89; Pr₄NOH log*P*_{app} = -0,92; Bu₄NOH log*P*_{app} = 0,20.

Üldine tendents näitab, et mida pikem on katiooni alküülahel, seda enam on katioon oktanooli jaotunud. Kui tulemusi võrrelda log*P*⁺ [10] väärtustega (tabel L1), siis tulemused küll korreleeruvad, kuid ei lange kokku. Vastav korrelatsioonigraafik on toodud joonisel 3.

Me₄N⁺ korral on log*P*⁺ [10] väärtus 0,41 ühikut väiksem eksperimentaalselt mõõdetud ja ekstrapoleeritud log*P*_{app} väärtusest ning Bu₄N⁺ korral 2,07 ühikut väiksem. Erinevus on ühesuunaline ja suureneb alküülahela suurenedes. Olenemata absoluutväärtuste erinevusest on tulemustevaheline korrelatsioon väga hea (*R*² = 992).

Siiski tuleb silmas pidada, et võrdlemiseks kasutati Abrahami jt [10] log*P*⁺ väärtusi, mis on saadud arvutuslikult kasutades LFER võrrandit 7 ning need tulemused vastavad

ekstratermodünaamilisele TATB[‡] eeldusele. Katioonide $\log P^+$ väärtused on leitud vastavalt valemile 8, mis eeldab, et vastav anioon ja kation annavad võrdse panuse soola dissotsieerunud ionide neutraalse kombinatsiooni jaotumiskoeffitsiendile $\log P^\pm$.



Joonis 3. R_4N^+ ionide ekstrapoleeritud $\log P_{app}$ väärtuste korrelatsioonigraafik $\log P^+$ [10] väärtustega.

On leitud, et ka TATB lähenduses kasutatavate ionide korral on veest mittepolaarsesse solventi ülemineku Gibbsi vabaenergiad katiooni ja aniooni puhul erinevad, kuna erineva laengu korral asetuvad vee molekulid vastavate ionide ümber hoopis teisiti [25]. Seetõttu käituvad Ph_4As^+ ja Ph_4P^+ hüdrofoobsemalt, kui Ph_4B^- [25] ning tuleb arvestada, et TATB lähendus on kõigest eeldus ning ei saa anda lõplikult tõeselt võetavaid tulemusi.

Töös leitud ekstrapoleeritud $\log P_{app}$ väärtuste puhul tehakse aga eeldus, et tegemist on lõpumata lahja lahusega, kus uuritava katiooni jaotumist vastasioon enam ei mõjuta. Kuna ekstrapoleeritud $\log P_{app}$ väärtuste korral ja $\log P^+$ väärtuste korral on tehtud erinevaid eeldusi, siis ei pea tulemused omavahel kokku langema, kuid hea korrelatsioon erinevate käsitluste vahel näitab, et kahe erineva käsitlusega saadud tendentsid on aineklassi piires omavahel kooskõlas.

R_4N^+ ionid on hüdrofoobse olemusega katioonid ja nende puhul on tähendatud, et võib esineda hüdrofoobne interaktsioon [30]. See tähendab, et vesikeskkonnas võib esineda molekulidevaheline hüdrofoobne assotsieerumine. Mida suurem on R_4N^+ ionide kontsentratsioon, seda suurem osa molekulidest esineb veefaasis mitsellilaadsete assotsiaatidena, mis võib olla üheks väljasoolamisnähtuse põhjuseks. Mida pikem on R_4N^+ iooni alküülalabel, seda tugevamini osalevad R_4N^+ ionid hüdrofoobsetes interaktsioonides [30]. See võib seletada, miks pikema alküülahela korral on sissesoolamise efekt suurem. Ühtlasi peetakse R_4N^+ ioone ka kaatroopseteks ionideks [25], mis parandavad orgaaniliste ühendite solvatatsiooni veefaasis, kuna soodustavad lahustuva molekuli suuruse augu tekkimist solventi [21].

[‡] TATB eeldust on selgitatud kirjanduse ülevaates lk 11 peatükk 2.5.

Pikema alküülahelaga pindaktiivsetel ioonsetel ühenditel on elektropihustusionisatsiooni ionisatsiooniefektiivsus suurem. Seetõttu on nendega võimalik mõõtmisi läbi viia madalamatel kontsentratsioonidel. Samuti jaotuvad pikema alküülahelaga R_4N^+ ioonid suuremal määral ka oktanooli faasi, mistõttu ei takista mõõtmist instrumentaalne määramispiir. Sellest tingituna on Me_4N^+ $\log P_{app}$ väärtuse ekstrapoleerimine ebatäpsem, kuna on võimalik, et madalamatel kontsentratsioonidel muutub $\log P_{app}$ väärtuse sõltuvus kontsentratsioonist teisiti kui olemasolevate punktide abil ennustatud sõltuvus.

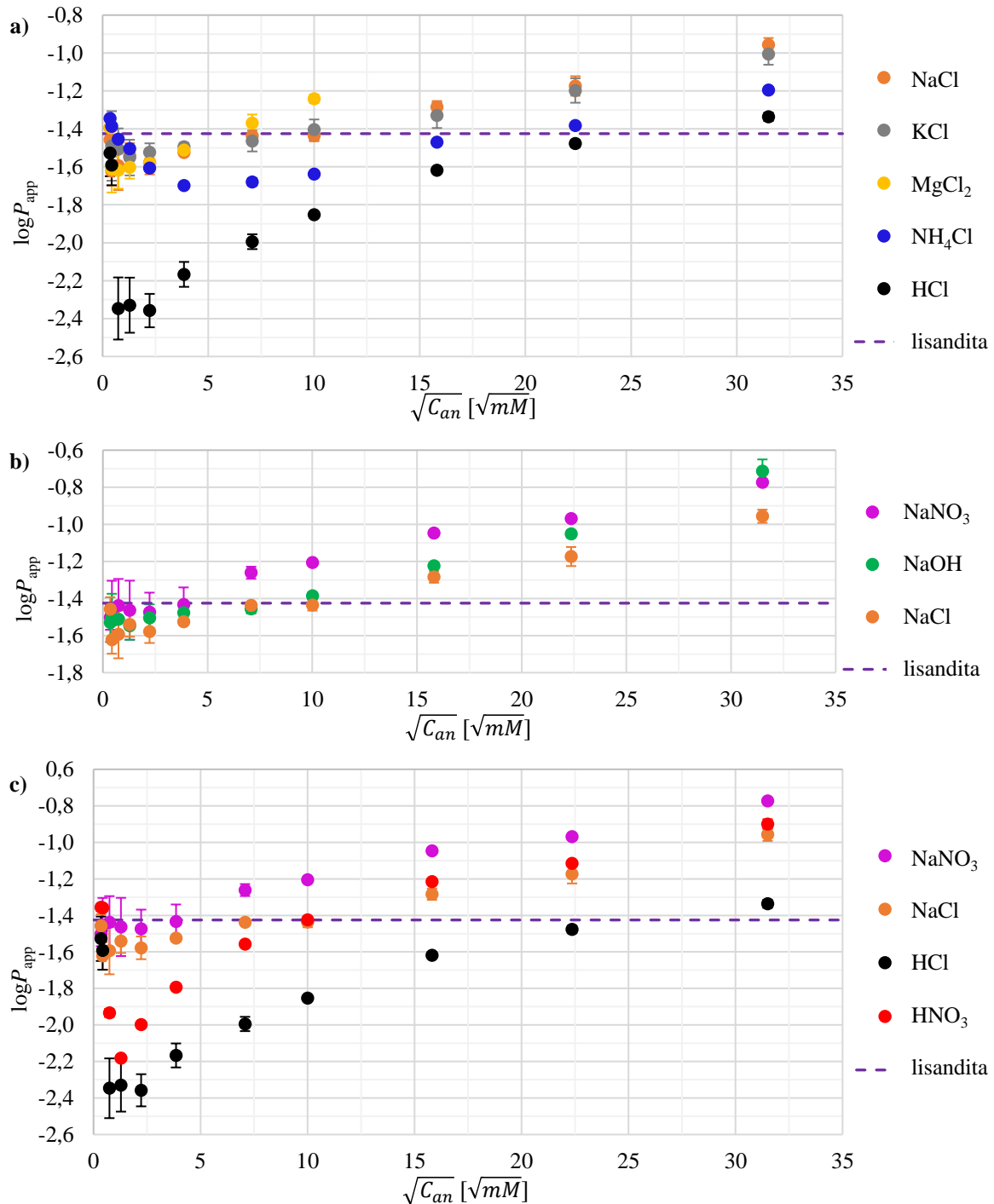
4.4. Ioonsete lisandite mõju Pr_4N^+ $\log P_{app}$ väärtusele

Kõik ühendid ei ole lahustes alati ioonsel kujul nagu seda on soolad. Juhul kui uuritav ühend on alus, siis tihti on vaja lahusesse lisada hapet või on vaja lahust puhverdada, et tagada ühendi püsimine katioonses vormis. Seetõttu uuriti ka erinevate lisandite mõju Pr_4N^+ $\log P_{app}$ väärtusele. Lisanditena kasutati NaCl, KCl, $MgCl_2$, NH_4Cl , HCl, HNO_3 , $NaNO_3$ ja NaOH, mille mõju uuriti kuni kontsentratsioonini 1 M (aniooni kontsentratsiooni järgi), Pr_4N^+ kontsentratsioon oli mõõtmistes konstantne, 0,12 mM. NaCl, KCl, $MgCl_2$, NH_4Cl ja HCl kasutati, et uurida erinevate katioonide mõju Pr_4N^+ $\log P_{app}$ väärtusele (joonis 4 a). NaOH, $NaNO_3$ ja NaCl lisandite abil uuriti erinevate anioonide mõju Pr_4N^+ $\log P_{app}$ väärtusele (joonis 4 b). HNO_3 , $NaNO_3$, NaCl ja HCl lisandite abil võrreldi, kuidas mõjutavad Pr_4N^+ $\log P_{app}$ väärtust samasuguse aniooniga soolad ja happed (joonis 4 c). Keskmistatud mõõtmistulemused koos mõõtmiste arvuga n ja aritmeetilise keskmise standardhälbega s_n on toodud tabelis L3.

Võrreldes joonise 4 a ja b graafikuid, selgub, et kui lisandite katioon on sama ning anioonid varieeruvad (b), siis saame erinevate lisandite korral tunduvalt paremini kokkulangevad tulemused kui katioonide varieerimisel (a). Sellest võib järeldada, et põhilise erinevuse erinevate lisandite vahel põhjustab just katioonist tingitud mõju. Kuna katioonid on enamasti väiksema ioonraadiuse ja seetõttu suurema laengutihedusega kui anioonid, siis selle arvelt on ka nende panus soolaefektidesse suurem [24].

NaCl ja KCl mõju Pr_4N^+ $\log P_{app}$ väärtusele on küllaltki sarnane, kuna mõlemal juhul on katioonid sama laengu ja lähedase suurusega. $MgCl_2$ korral on tegu kahelaengulise katiooniga. Kuna x-teljel on anioonide summaarse kontsentratsiooni (uuritav aine + lisand) ruutjuur, siis seetõttu on $MgCl_2$ kontsentratsioon teiste lisandite võrdväärsete mõõtepunktidega võrreldes poole väiksem. Isegi poole väiksema kontsentratsiooni korral panustab Mg^{2+} tugevamini väljasoolamisefekti võrreldes teiste Cl^- aniooni sisaldavate lisandite katioonidega. Vaadates joonis 4 a $MgCl_2$ mõõtmisandmeid, võib tähendada, et kolme kõrgema kontsentratsioonipunkti mõõtmisandmed puuduvad. Nende mõõtmispunktide proovide korral oli peale

tasakaalustumist kahe faasi vahel näha valget sadet, mis viitab sellele, et MgCl_2 on proovidest mõningal määral välja sadenenud. Küllastumise esinemisel ei tõuse enam lisandi kontsentratsioon proovis võrdväärset lisatud lisandi kogusega ja seetõttu on kõrgematel kontsentratsioonidel mõõtmisandmed analüüsist kõrvale jäetud.



Joonis 4. Pr_4N^+ $\log P_{app}$ väärtuse sõltuvus anioonide summaarse kontsentratsiooni ruutjuurest erinevate lisandite korral (legendis). Pr_4N^+ kontsentratsioon oli 0,12 mM.

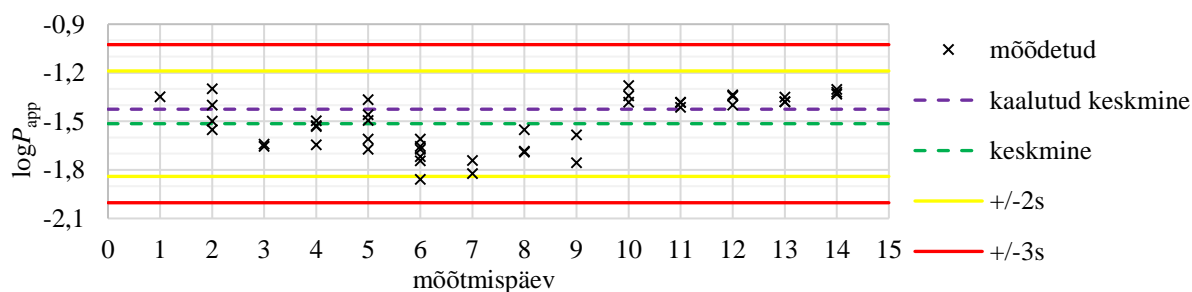
Hapete korral on näha tugevat sissesoolamise efekti madalatel lisandi kontsentratsioonidel (joonis 4 c). Pr_4N^+ $\log P_{\text{app}}$ väärtus on kõige väiksem, kui uuritavas proovis on lisaks 0,12 mM Pr_4NCl -le H^+ sisaldavat lisandit (HNO_3 või HCl) 1,5-4,8 mM. Sellisel juhul on $\log P_{\text{app}}$ väärtus vähenenud kuni 0,93 ühikut võrreldes lisandita proovide kaalutud keskmise väärtusega. Peale maksimaalse sissesoolamise efekti saabumist (graafikul miinimum) hakkab lisandi kontsentratsiooni edasisel suurenemisel $\log P_{\text{app}}$ väärtus suurenema – toimub väljasoolamine. Hapete eriliselt tugeva sissesoolava mõju kohta väga madalatel kontsentratsioonidel kirjanduslik info puudub, mistõttu väärrib antud nähtus tulevikus põhjalikumalt uurimist.

Ka NH_4Cl korral on näha madalatel kontsentratsioonidel selget sissesoolamise efekti. See võib olla põhjustatud nii kaotroopsest NH_4^+ katioonist [25], kui ka H^+ katioonist, mis on tekkinud NH_4^+ hüdrolüüsist veefaasis.

Olgugi, et joonise 4 a ja b tulemuste põhjal saab öelda, et suurema panuse Pr_4N^+ $\log P_{\text{app}}$ väärtusele annavad lisandis olevad katioonid, siis joonisel 4 b on näha, et siiski mõningal määral mõjutavad Pr_4N^+ $\log P_{\text{app}}$ väärtust ka lisandis olevad anioonid. Seda on näha ka joonisel 4 c, kus ilmneb, et NO_3^- aniooni korral on Pr_4N^+ $\log P_{\text{app}}$ väärtused suuremad kui Cl^- aniooni korral võrreldavatel kontsentratsioonidel sama katiooni korral. Cl^- ja NO_3^- anioonide mõju on lähemalt uuritud peatükis 4.8.

4.5. Kontrollkaart

Pr_4N^+ $\log P_{\text{app}}$ korratavuse kontrollimiseks koostati kontrollkaart, kuhu märgiti kõik mõõtetulemused, kus Pr_4N^+ kontsentratsioon oli 0,12 mM ja lisandeid ei kasutatud. Kontrollkaardis kasutati lisandita Pr_4N^+ $\log P_{\text{app}}$ väärtusi, kuna antud mõõteandmeid koguti kõige rohkem nii mõõtepäevade siseselt kui pikaajaliselt – see annab hea võimaluse kontrollida tulemuste korrasolekut, jälgida trende, märgata võimalikke ohukohti ning annab üldiselt märku, kas meetodiga on kõik korras. Kontrollkaart on toodud joonisel 5.



Joonis 5. Pr_4N^+ $\log P_{\text{app}}$ väärtuste kontrollkaart. Kontrollkaardil on toodud erinevatel mõõtmispäevadel saadud tulemused, kõikide mõõtmistulemuste aritmeetiline keskmine ning mõõtmistulemuste kaalutud keskmine. Lisaks on toodud kahekordse ja kolmekordse standardhälbe piirid aritmeetilise keskmise suhtes, mis on legendis tähistatud vastavalt +/-2s ja +/-3s. Pr_4N^+ kontsentratsioon on mõõtmistes on 0,12 mM.

Kontrollkaardilt on näha, et alates 10. mõõtmispäevast on mõõtetulemuste päevadesisene korratavus tunduvalt parem, kui eelnevatel päevadel. 1. – 9. mõõtmispäeval oli proovide loksutusjärgne ooteaeg enne analüüsimist 2 tundi kuni 1 ööpäev, hilisematel proovidel oli loksutusjärgne ooteaeg enne analüüsimist vähemalt 2 ööpäeva. Kuna pikem loksutusjärgne ooteaeg on oluliselt parandanud tulemuste päevasisest kokkulangevust, siis on võimalik, et eelnevate mõõtmiste käigus polnud tasakaal täielikult saabunud ja sellest tingituna oli tulemuste korratavus madalate lisandi kontsentratsioonide korral kehvem. Suuremate lisandi kontsentratsioonide korral oli tulemuste kokkulangevus erinevate mõõteseeriade vahel hea ka siis, kui loksutusjärgne ooteaeg enne proovi analüüsimist oli vaid mõned tunnid. See viitab sellele, et suuremas kontsentratsioonis lisandid parandavad Pr_4N^+ jaotumise kineetikat ning tasakaal saabub kiiremini.

Üksikute mõõteseeriade siseselt oli näha, et madalate lisandi kontsentratsioonide korral ei järgi mõõtetulemused niivõrd regulaarset trendi, kui kõrgematel lisandi kontsentratsioonidel. Kuna erinevate mõõteseeriade vahel langesid kõrgematel lisandikontsentratsioonidel mõõtetulemused hästi kokku (kontsentratsioonidel 15 – 990 mM oli $\log P_{\text{app}}$ kogutud s_n väärtus 0,023-0,046 ühikut), siis oli enne kontrollkaardi koostamist keeruline kahtlustada, et proovides pole tasakaal saabunud. Kirjanduses on välja toodud, et 30 minutit loksutamist on piisav tasakaalu saabumiseks [1,31]. Seetõttu tekkis kahtlus, et madala lisandi kontsentratsiooni korral tekib proovi loksutusjärgselt kergemini mikroemulsioon, mis põhjustab kehva tulemuste korratavuse. Ka kordusmõõtmised kinnitasid, et tulemuste korratavus oli kehvem madalamate lisandi kontsentratsioonide korral või kui lisandit polnud lisatud. Madalamatel kontsentratsioonidel (<15 mM) suurenes $\log P_{\text{app}}$ kogutud s_n väärtus kontsentratsiooni vähenedes ning oli maksimaalselt 0,12 ühikut.

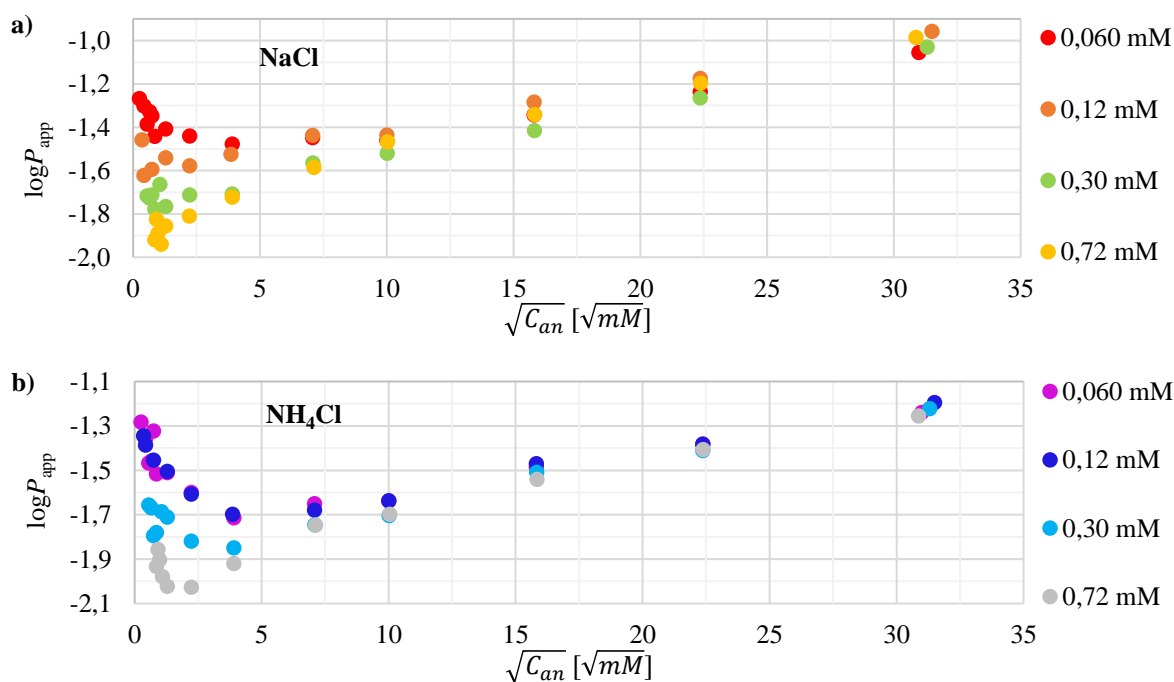
Kontrollkaardilt on näha, et hilisematel mõõtmispäevadel, kui on kasutatud pikemat loksutusjärgset ooteaega, langevad mõõtetulemused paremini kokku nii päevadesiseselt kui ka päevadevaheliselt. Seetõttu võib eeldada, et nendes proovides on tasakaal saabunud ning on seetõttu lähemal tõesele väärtusele. Pr_4N^+ $\log P_{\text{app}}$ väärtuse parima hinnangu leidmiseks kontsentratsioonil 0,12 mM otsustati kasutada kaalutud aritmeetilist keskmist, kus kaalud omistati vastavalt päevadesisese kaalutud standardhälbe pöördväärtusele. Pr_4N^+ $\log P_{\text{app}}$ kaalutud aritmeetilise keskmise väärtuseks on -1,43 ning see on toodud violetse katkendliku joonega kõikidel joonistel, kus on kujutatud lisandi mõju Pr_4N^+ $\log P_{\text{app}}$ väärtusele kui Pr_4N^+ kontsentratsioon on 0,12 mM.

Lisaks tasakaalustumisele on veel faktoreid, mis võivad põhjustada $\log P_{\text{app}}$ väärtuste hälbumist just madalatel lisandite kontsentratsioonidel. Teatud ioonsed lisandid võivad põhjustada

madalatel kontsentratsioonidel tugevat sissesoolamise efekti (peatükk 4.4.). See seab $\log P_{app}$ väärtuste uurimisel kasutatavate solventide puhtusele ranged nõuded. Antud mõõtmiste juures kasutati ülipuhast MilliQ vett, mille puhtusparameetreid jälgiti, kuid sellest olenemata võib ka ülipuhast MilliQ vee kvaliteet päevade lõikes kõikuda. Lisaks võivad soovimatud lisandid pärineda ka laboritarvikutest ning kasutatavast oktanoolist. Mõlemasse solvents võib lahustuda CO_2 , mis muudab uuritava keskkonda happelisemaks – tekivad H^+ ioonid, mis $\log P_{app}$ väärtust tugevalt mõjutavad.

4.6. Ioonsete lisandite ja uuritava aine kombineeritud mõju $\log P_{app}$ väärtusele

Peatükis 4.3. oli näha, et Pr_4N^+ kontsentratsioon avaldab madalatel kontsentratsioonidel suhteliselt suurt mõju tema enda $\log P_{app}$ väärtusele ning peatükis 4.4. oli näha, et ka ioonised lisandid mõjutavad Pr_4N^+ $\log P_{app}$ väärtust. Seetõttu uuriti, kuidas erinevatel Pr_4N^+ kontsentratsioonidel avaldavad lisandid NaCl ja NH_4Cl mõju Pr_4N^+ $\log P_{app}$ väärtusele (joonis 6, a) NaCl ja b) NH_4Cl , andmed on tabelis L4).



Joonis 6. Pr_4N^+ $\log P_{app}$ väärtuse sõltuvus anioonide summaarse kontsentratsiooni ruutjuurest erinevate lisandite, NaCl ja NH_4Cl , korral. Varieeriti ka Pr_4NCl kontsentratsiooni, mille konstantne väärtus erinevate seeriade korral on toodud legendis.

Kui lisandiks on NH_4Cl , siis madalaima uuritud Pr_4NCl kontsentratsiooni (0,060 mM) korral toimub lisandi lisamisel sissesoolamine veefaasi ulatuslikumalt kui kõrgeima uuritud Pr_4NCl kontsentratsiooni (0,72 mM) korral. Esimesel juhul esineb suurim sissesoolamise efekt 0,43 ühikut (võrreldes lisandita $\log P_{app}$ väärtusega), kui NH_4Cl on lisatud 15 mM, teisel juhul on suurim sissesoolamise efekt 0,10 ühikut, kui NH_4Cl on lisatud 4,2 mM.

Sarnaselt Pr_4N^+ ioonile on ka NH_4^+ väikse laengutihedusega kaotroopne ioon [25] ning seetõttu soodustab see väikse kontsentratsiooni korral Pr_4N^+ solvatatsiooni veefaasis. Samas NH_4^+ võib hüdrolüüsi käigus tekitada kergelt happelise keskkonna ning nagu joonisel 4 c näha, on väikestes kontsentratsioonides H^+ ioonil tugev sissesoolav mõju.

NaCl korral pole tulemuste korratavus madalatel lisandi kontsentratsioonidel niivõrd hea kui NH_4Cl korral. Seetõttu ei saa madalamatel NaCl kontsentratsioonidel teha rangeid järeldusi lisandi lisamise mõju kohta Pr_4N^+ jaotumisele. 0,060 mM Pr_4NCl kontsentratsiooni korral on näha, et ka 15 mM NaCl lisandi puhul esineb Pr_4N^+ sissesoolamise efekt 0,21 ühikut. 0,72 mM Pr_4NCl kontsentratsiooni korral pole madalatel NaCl kontsentratsioonidel kehva tulemuste korratavuse tõttu võimalik kindlaks teha, kas sissesoolamise efekt esineb. Kuid kui see esineb, siis ei saa see efekt olla eriti suur. Saab teha järelduse, et ka NaCl kontsentratsioonist tingitud sissesoolamise efekt väheneb Pr_4NCl kontsentratsiooni suurenedes.

0,060 mM ja 0,12 mM Pr_4NCl korral on näha sissesoolamise efekti, kui proovis esineb väikeses koguses NaCl . Na^+ ioon korral pole see efekt nii suur, kui NH_4^+ iooni korral ning kõige suurem efekt sissesoolamisele esines R_4N^+ ioonide korral. Sellest võib järeldada, et katioonidest tingitud sissesoolamise efekt on seotud katioonide laengutihedusega – mida kaotroopsem on katioon, seda suurem on sissesoolamise efekt. Kuna ka H^+ korral esineb ulatuslik sissesoolamise efekt, siis võib püstitada hüpoteesi, et H^+ esineb madalatel kontsentratsioonidel lahuses suure kaotroopse üksusena, mis vajab edasiuurimist.

Joonisel 4 on näha kergelt sissesoolamise efekti praktiliselt kõigi lisandite korral, mistõttu võib järeldada, et enamikel sooladel on väikeses kontsentratsioonis stabiliseeriv efekt Pr_4N^+ solvatatsioonile veefaasis. Kuivõrd see stabiliseeriv efekt avaldub, oleneb uuritava ühendi kontsentratsioonist, kuna ka uuritav ühend avaldab sarnast mõju.

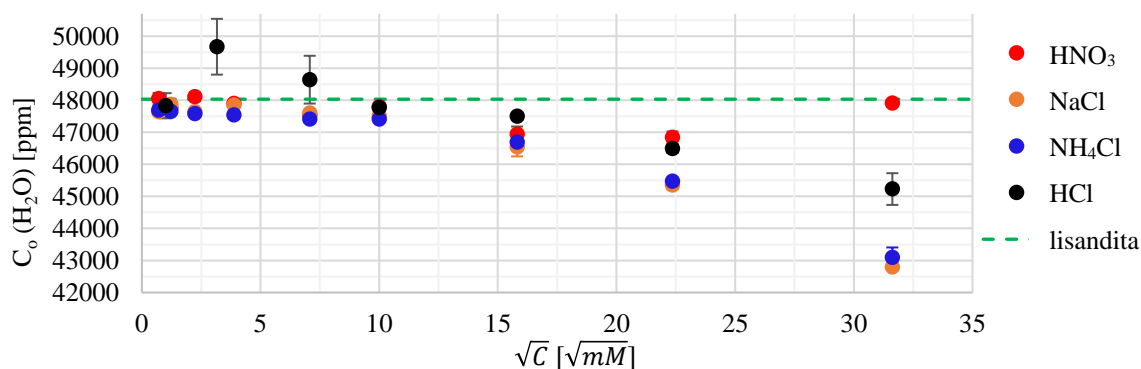
Joonisel 6 on näha sarnaselt joonisele 2, et mida suurem on Pr_4NCl kontsentratsioon mõõtmisseries, seda negatiivsem on $\log P_{\text{app}}$ väärtus madalatel lisandi kontsentratsioonidel või kui lisandit pole üldse lisatud. Seega madalatel lisandi kontsentratsioonidel on Pr_4N^+ $\log P_{\text{app}}$ väärtus mõjutatud pigem Pr_4NCl kontsentratsioonist. Kõrgematel lisandi kontsentratsioonidel (alates 100 mM ehk joonisel $10\sqrt{\text{mM}}$), kuid erinevatel Pr_4NCl kontsentratsioonidel, langevad Pr_4N^+ $\log P_{\text{app}}$ väärtused erinevate seeriade vahel suhteliselt hästi kokku. Seega pärinevad mõjud Pr_4N^+ $\log P_{\text{app}}$ väärtustele kahest erinevast faktorist: aine kontsentratsioon ja lisandi kontsentratsioon. Olenevalt faktorite panusest saab teostatud mõõtmised liigitada kolme piirkonda, kus esinevad erinevad mõjud: 1) vaadeldava aine kontsentratsiooni mõju tema

$\log P_{app}$ väärtusele; 2) vaadeldava aine ja lisandi kombineeritud mõju vaadeldava aine $\log P_{app}$ väärtusele; 3) lisandi domineeriv mõju vaadeldava aine $\log P_{app}$ väärtusele.

Esimest mõju vaatasime lähemalt peatükis 4.3. ning see on vaadeldav ainult juhul, kui proovis lisaks uuritavale ainele teisi lisandeid ei esine. Teine mõju ilmneb juhul, kui lisaks uuritavale ainele on proovi lisatud vähesel määral ka lisandit (kuni 100 mM). See mõjupiirkond on kõige keerulisemalt mõistetav, kuna Pr_4N^+ $\log P_{app}$ väärtust mõjutavad erineva panusega nii uuritava aine kontsentratsioon, kui ka lisandi kontsentratsioon. Kolmas mõju ilmneb juhul, kui lisandit on üle 100 mM. Sellisel juhul on domineeriv panus Pr_4N^+ $\log P_{app}$ väärtusele tingitud lisandi kontsentratsioonist ja ei ole vahet, milline on uuritava aine kontsentratsioon, kuna see on lisandi kõrval tühiselt väike.

4.7. Lisandite mõju tasakaalulisele vee sisaldusele oktanoolis

Pr_4N^+ jaotumisel põhjustasid HCl ja HNO_3 madalatel lisandi kontsentratsioonidel tugevat sissesoolamisefekti (joonis 4 c). HCl korral oli sissesoolamisefekt suurem. Kõrgematel lisandi kontsentratsioonidel, kus ilmnes väljasoolamine, olid HCl korral Pr_4N^+ $\log P_{app}$ väärtused püsivalt väiksemad. Antud nähtuse kirjeldamiseks uuriti, kuidas HCl ja HNO_3 mõjutavad lisandina veesisaldust veega tasakaalulises oktanoolifaasis ja võrreldi soolade NaCl ja NH_4Cl mõjuga veesisaldusele, et näha, kas jaotumiskäitumine võib olla seotud vee tasakaalulise sisaldusega oktanoolifaasis. Tulemused on toodud joonisel 7 ja andmed on tabelis L5.



Joonis 7. Tasakaaluline veesisaldus oktanoolis sõltuvalt lisandi kontsentratsiooni ruutjuurest veefaasis.

Tasakaaluline veesisalduse uurimine oktanoolis annab aimu, kas $\log P_{app}$ väärtuse muutus lisandite olemasolul võib olla tingitud veesisalduse muutusest veefaasiga tasakaalulises oktanoolis. Kui oktanoolis suureneks polaarsete vesiniksidet andvate veemolekulide hulk, siis võiks arvata, et see tingib Pr_4N^+ katiooni parema solvatatsiooni oktanoolifaasis. Kuid nagu joonisel 7 näha, siis tulemused olid vastupidised. Suurematel lisandi kontsentratsioonidel, kus Pr_4N^+ $\log P_{app}$ väärtus on suurem, on veesisaldus oktanoolis pigem madalam. Madalamatel lisandi kontsentratsioonidel, kus hapete ja NH_4Cl korral esines Pr_4N^+ $\log P_{app}$ väärtuse

miinimum, pole olulist muutust oktanooli veesisalduses näha. Seetõttu saab öelda, et uuritud piirkonnas puudub oktanooli veesisaldusel mõju $\text{Pr}_4\text{N}^+ \log P_{\text{app}}$ väärtusele. See läheb kokku ka Carr'i jt [8] tulemustega, et oktanooli veesisaldusel puudub oluline efekt oktanooli solvatatsioonimadustele.

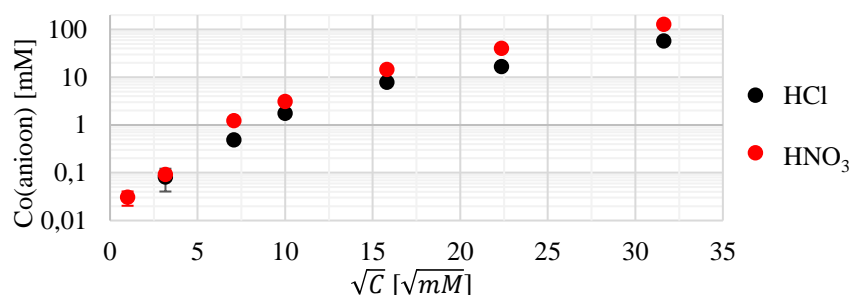
Kõrgematel lisandi kontsentratsioonidel võib tasakaalulise veesisalduse vähenemine oktanoolis olla tingitud sellest, et lisandist tulenevad ioonid on põhiliselt lahustunud veefaasi, kus kõrgest ionide kontsentratsioonist tingituna osaleb suur osa veest ionide solvateerimises. Kui ionide kontsentratsiooni veefaasis täiendavalt tõsta, siis on osa oktanoolifaasis olevast veest sunnitud veefaasi ümber jaotuma. Teisalt on ioonid üha enam sunnitud ümber jaotuma oktanoolifaasi, kuna veefaasis on vaba vee defitsiidi tõttu solvatatsioon raskendatud. See seletab ka, miks kõrgematel lisandi kontsentratsioonidel esineb väljasoolamiseefekt.

4.8. Anioonide tasakaaluline sisaldus oktanoolis

HCl ja HNO₃ korral uuriti, kui suures ulatuses jaotub vastav anioon oktanoolifaasi. Tulemused on toodud joonisel 8 ja andmed tabelis L6.

NO₃⁻ sisaldavate lisandite korral on $\text{Pr}_4\text{N}^+ \log P_{\text{app}}$ väärtused suuremad kui sama katiooni, kuid Cl⁻ iooni sisaldavate lisandite korral. Seda nähtust võib aidata kirjeldada anioonide tasakaalulise kontsentratsiooni uurimine oktanoolis, sest mida suurem on Pr_4N^+ vastasioonide hulk oktanoolis, seda enam võib Pr_4N^+ jaotumine oktanooli olla soodustatud läbi ionpaardumise.

Lisandist tulenevate anioonide tasakaalulised kontsentratsioonid oktanoolis jälgivad $\text{Pr}_4\text{N}^+ \log P_{\text{app}}$ väärtustega sarnast trendi. Selgub, et ka anioonide jaotumine oktanooli faasi suureneb ioonse lisandi kontsentratsiooni suurenedes. Seetõttu vaatleme ka anioonide tasakaalulist kontsentratsiooni oktanoolis logaritmilises skaalas sarnaselt $\log P_{\text{app}}$ väärtustele.



Joonis 8. Kloriidiooni ja nitraatiooni tasakaaluline kontsentratsioon oktanoolis $C_o(\text{anioon})$ (logaritmilises skaalas) sõltuvalt lisandi kontsentratsiooni ruutjuurest veefaasis. Lisanditeks kasutati HCl ja HNO₃, mille tähistused on toodud legendis.

Võrreldavatel lisandi kontsentratsioonidel jaotus NO_3^- iooni oktanoolifaasi umbes poole rohkem kui Cl^- iooni. Tendents, et NO_3^- ioon jaotub oktanooli paremini, seletab ka miks Pr_4N^+ $\log P_{\text{app}}$ väärtus on NO_3^- ioone sisaldavate lisandite korral suurem kui Cl^- ioone sisaldavate lisandite korral. Kuna NO_3^- ioonid jaotuvad meelsamini oktanooli, siis on ka Pr_4N^+ ionide jaotumine oktanooli soodustatud, kuna oktanoolis on enam vastaslaenguga ioone, mis saavad Pr_4N^+ ionide solvatatsiooni oktanoolis soodustada läbiioonpaardumise.

4.9. Eksperimentaalsete tulemuste sobitamine matemaatiliste mudelitega

Tavapäraselt kirjeldatakse sisse- ja väljasoolamisefekti valemiga 9, mis viitab, et uuritava aine lahustuvuse logaritmi suhe puhtas vees ja soolalahuses on lineaarses sõltuvuses soola kontsentratsioonist lahuses. $\log P_{\text{app}}$ väärtus oleneb nii uuritava aine kontsentratsioonist kui ka ioonse lisandi kontsentratsioonist, kuid siinkohal pole need sõltuvused kindlasti mitte lineaarsed. $\log P_{\text{app}}$ väärtuseid uurides selgus, et kõige mõistlikum on tulemusi graafiliselt kujutada selliselt, et x-teljel on ruutjuur kontsentratsioonist. Sarnane ruutjuursõltuvus esineb ka Debye-Hückel'i võrrandis ja selle võrrandi laiendustes, mis kirjeldavad elektrolüüdilahuse keskmise aktiivsuskoeffitsiendi sõltuvust ionsest jõust (I) ning viitavad elektrolüüdilahuste mitteideaalsele käitumisele [32]. Analooži tõttu kasutatakse ka selles töös matemaatiliste mudelite koostamisel ionset jõudu, mis on 1:1 elektrolüütide korral kontsentratsiooniga võrdne.

Kui vaadata joonisel 4 lisandite NaCl, KCl, MgCl_2 , NaNO_3 ja NaOH mõju Pr_4N^+ $\log P_{\text{app}}$ väärtustele, siis on see peaaegu lineaarne ja seda võiks kirjeldada valemiga 14:

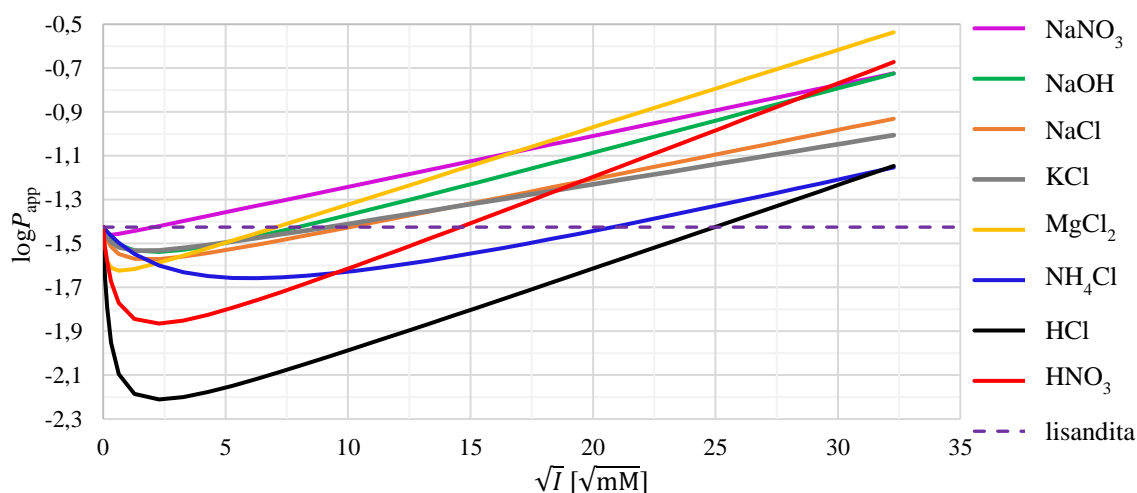
$$\log P_{\text{app}} = \log P_{\text{app}}^0 + k \cdot \sqrt{I}, \quad (14)$$

kus $\log P_{\text{app}}$ väärtus sõltub lineaarselt lisandi ioonse jõu ruutjuurest ning vabaliige $\log P_{\text{app}}^0$ viitab $\log P_{\text{app}}$ väärtusele, kus pole lisandit lisatud. Tõus k iseloomustab soolaefektide tugevust. Siiski on selline valem liiga lihtsustatud ega kajasta madalatel lisandi kontsentratsioonidel esinevat sissesoolamisefekti. Nagu joonisel 6 näha, siis eelnimetatud sissesoolamisefekt on seda suurem, mida väiksem on Pr_4N^+ kontsentratsioon. Valem 14 võib hästi kehtida 0,30 mM Pr_4N^+ kontsentratsiooni korral, kui lisandiks on NaCl (joonis 6 a), kuid enamasti esineb siiski nii-öelda esmane sissesoolamisefekt, mida matemaatiline mudel võiks suuta arvestada. Valem 14 võib kehtida olukordades, kus lisandist tingitud efekte $\log P_{\text{app}}$ väärtusele ei võrrelda $\log P_{\text{app}}$ väärtustega, mis on saadud kasutades ülipuhast MilliQ vett, vaid hoopis tavalist kraanivett.

Laiendatud Debye-Hückel'i valemi põhjal koostati sarnane võrrand 15:

$$\log P_{\text{app}} = \log P_{\text{app}}^0 + \frac{A \cdot \sqrt{I}}{1+B \cdot \sqrt{I}} + C \cdot \sqrt{I}, \quad (15)$$

kus parameetrid A ja B on võrrandi sobitusparameetrid, mis võimaldavad kirjeldada nii madalatel kontsentratsioonidel toimuvaid sissesoolamisefekte, ning sobitusparameeter C võimaldab kirjeldada kõrgematel kontsentratsioonidel suhteliselt lineaarset suhet. Seda valemit on võimalik sobitada peaaegu kõigi eksperimentaalsete tulemustega, mis kirjeldavad lisandi mõju Pr_4N^+ $\log P_{\text{app}}$ väärtusele. Sobitatud võrrandi järgi ennustatud tulemused on erinevate lisandite korral toodud joonisel 9 ja sobitusparameetrid (A , B , C) koos R^2 väärtustega on toodud tabelis L7. Võrrandi sobitamiseks kasutati Microsoft Excel programmi lisandmoodulit „Solver“. Tulemuste võrrandile lähendamiseks minimeeriti ennustatud ja eksperimentaalse tulemuse erinevuste ruutude summat ning varieeriti parameetreid A , B , C . $\log P_{\text{app}}^0$ väärtuseks kasutati kõikide võrrandi sobituste korral lisandita mõõdetud Pr_4N^+ kaalutud keskmist ($\log P_{\text{app}}^0 = -1,43$).

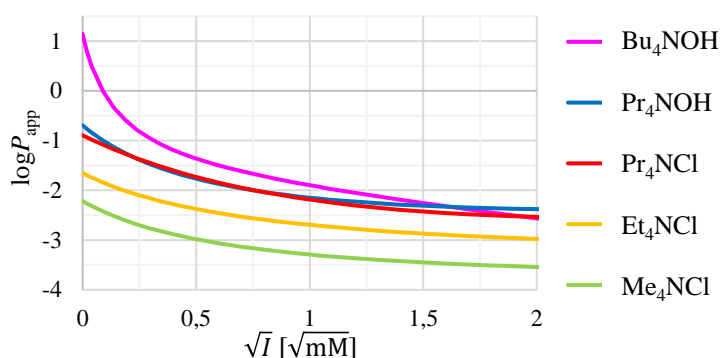


Joonis 9. Lisandi ioonse jõu ruudu mõju Pr_4N^+ $\log P_{\text{app}}$ väärtustele [$C(\text{Pr}_4\text{N}^+) = 0,12 \text{ mM}$]. Joonisel on esitatud valemiga 15 sobitatud võrrandite kujud legendis toodud lisandite korral. Violetse katkendliku joonega on toodud Pr_4N^+ $\log P_{\text{app}}$ väärtuste pikaajaline kaalutud keskmine.

Uuritud lisandite korral kirjeldab valem 15 hästi uuritud soolade mõju Pr_4N^+ $\log P_{\text{app}}$ väärtustele, kuid hapete (HCl ja HNO_3) korral ei suuda see valem lisandi mõju piisavalt hästi kirjeldada, kuna peale sissesoolamisefekti maksimumi esinemist ei ole sõltuvus lisandi ioonse jõu ruutjuurest lineaarselähedane. Juhul kui soovitakse uurida aluselisi ühendeid katioonisel kujul, oleks kõige olulisem teada, kuidas happelised lisandid katioonse ühendi jaotumist mõjutavad. Seetõttu oleks tulevikus mõistlik keskenduda happelistele lisanditele ja interpreteerida nende mõju katioonsete ühendite jaotumisele.

Valem 15 kirjeldab hästi ka R_4N^+ ionide $\log P_{app}$ väärtuste sõltuvust uuritava aine enda ionsest jõust. Sellel juhul $\log P_{app}^0$ tähistab $\log P_{app}$ väärtust lõpmata lahjadel tingimustel ning selle väärtus leitakse eksperimentaalsete andmete sobitamise teel võrrandiga 15. Võrrandiga sobitatud tulemused on toodud joonisel 10 ja sobitusparameetrid (A , B , C) koos $\log P_{app}^0$ ning R^2 väärtustega on toodud tabelis L8. Kuna valem kirjeldab hästi eksperimentaalseid andmeid, siis on valemit 15 sobilik kasutada R_4N^+ ionide eksperimentaalsete $\log P_{app}$ väärtuste ekstrapoleerimiseks lõpmata lahja lahuse tingimustele.

Peatükis 4.6. selgus, et esineb ka lisandi ja uuritava aine vaheline koosmõju. Tulevikus oleks mõistlik leida matemaatiline interpretatsioon erinevate ionsete ühendite koosmõju kirjeldamiseks.



Joonis 10. Tetraalküülammooniumsoola ionse jõu ruudu mõju vastava R_4N^+ iooni $\log P_{app}$ väärtustele. Joonisel on esitatud valemiga 15 sobitatud võrrandite kujud legendis toodud tetraalküülammooniumsoolade korral.

4.10. Tulemuste võrdlus

Töös uuritud R_4N^+ ionidele leiti jaotuskoefitsientide väärtused ka COSMOtherm arvutusprogrammi abil[§]. Võrdlusesse kaasame ka tulemused allikast [9], kus on R_4N^+ ionidele leitud $\log P$ programmiga BioByte V4.0 (tähistatakse $ClogP$), Abrahami jt [10] $\log P^+$, valemiga 15 leitud $\log P_{app}^0$ väärtused ning peatükis 4.3. ruutvõrrandi abil ekstrapoleeritud $\log P_{app}$ väärtused. Andmed võrdlemiseks on toodud tabelis 1.

Tabel 1. R_4N^+ ionide jaotuskoefitsientide võrdlus.

| R_4N^+ | Abraham jt $\log P^+$ [10] | BioByte $ClogP$ [9] | COSMOtherm $\log P$ | valem 15 $\log P_{app}^0$ | ekstrapoleeritud $\log P_{app}$ |
|-----------|-------------------------------|------------------------|------------------------|------------------------------|------------------------------------|
| Me_4N^+ | -2,15 | -4,86 | 1,46 | -2,21 | -2,56 |
| Et_4N^+ | -1,18 | -3,14 | 3,53 | -1,65 | -1,74 |
| Pr_4N^+ | 0,55 | -1,02 | 5,94 | -0,79 | -0,90 |
| Bu_4N^+ | 2,27 | 1,09 | 7,98 | 1,14 | 0,20 |

[§] Kasutati varem optimeeritud struktuure [33]

Tulemuste võrdluse käigus selgus, et kõik tulemused on omavahel heas korrelatsioonis, kuid absoluutväärtuste poolest erinevad. See on tingitud asjaolust, et $\log P^+$ [10] väärtuste ja selles töös leitud ekstrapoleeritud $\log P_{\text{app}}$ või $\log P_{\text{app}}^0$ korral on kasutatud erinevaid lähendusi.

Ruutvõrrand eeldab, et eksperimentaalselt mõõdetud punktidest madalamatel kontsentratsioonidel allub R_4N^+ ionide jaotumine sarnasele ruutsõltuvusele nagu mõõdetud kontsentratsioonidel. Ruutvõrrand aga ei suuda eksperimentaalseid andmeid terviklikult kirjeldada, seetõttu oli regressioonil madalama kontsentratsiooniga punktidele antud suurem kaal. Võrrand 15 kirjeldab eksperimentaalseid andmeid laiemas ulatuses, mistõttu ei pea madalama kontsentratsiooniga mõõtepunktidele suuremat kaalu omistama ja võib arvata, et valem 15 kirjeldab tulemusi paremini ka lõpmata lahjadel tingimustel.

Sellegipoolest korreleeruvad teiste tulemustega kõige kehvemini $\log P_{\text{app}}^0$ väärtused ($R^2 = 0,92$ kuni $0,96$; kui $\log P_{\text{app}}^0$ väärtused välja jätta, siis on erineval viisil saadud tulemuste $R^2 \geq 0,99$).

Valemiga 15 saadud tulemuste korreleerimisel teiste meetoditega saadud tulemustega oli hälbivaks $Bu_4N^+ \log P_{\text{app}}^0$ väärtus (hälbimine suuremate väärtuste suunas). Uuritud ühenditest sõltub $Bu_4N^+ \log P_{\text{app}}$ väärtus kõige tugevamini vastava aine kontsentratsioonist – seetõttu on ka selle ekstrapoleerimine erinevate meetoditega kõige ebatäpsem. Selleks, et valemi 15 ennustusvõimet veel parandada, tasuks tulevikus uurida, millistest keemilise ühendi omadustest sõltuvad võrrandi sobitusparameetrid (A , B , C).

Arvutuslike meetodite korral aga puuduvad deskriptorid, mille abil oleks võimalik ionide jaotumist piisavalt täpselt ennustada [17] – see seletab ka, miks COSMO $_{\text{therm}}$ programmi abil saadud tulemused absoluutväärtuste poolest eksperimentaalsetest tulemustest oluliselt erinevad. Arvutuslike tulemuste ning ekstrapoleeritud $\log P_{\text{app}}$ väärtuste vahel on hea korrelatsioon, kuid tuleb silmas pidada, et see võrdlus on teostatud nelja väga sarnase ühendiga, mistõttu ei anna see olukorrast terviklikku ülevaadet.

KOKKUVÕTE

Töö eesmärgiks oli uurida eksperimentaalseid võimalusi katioonsete ühendite lipofiilsuse hindamiseks. Levinuim keemiliste ühendite lipofiilsust kirjeldav mõõde on $\log P$ väärtus, mis kirjeldab ühendite jaotumist oktanooli ja vee vahel. Seda nähtust on aga küllaltki vähe uuritud katioonsete ühendite korral.

Töö käigus uuriti kaudse HPLC meetodi rakendatavust katioonide $\log P$ väärtuste hindamiseks. Selgus, et see korrelatsioonimeetod on äärmisel juhul rakendatav vaid väga sarnaste ühendite korral, kuna ionide retentsioonil pöördfaaskolonnis esinevad erinevad sekundaarsed interaktsioonid, mis ei võimalda HPLC süsteemil oktanool-vesi süsteemi piisavalt hästi jäljendada. Lisaks ei pruugi statsionaarse faasi tasakaaluline happelisus alküülhelate vahel olla piisav, et tagada aluseliste ühendite jaotumist statsionaarsesse faasi katioonsel kujul.

Otsese loksutusmeetodi uurimisel teostati ligikaudu 400 $\log P_{app}$ väärtuse mõõtmist. Selgus, et R_4N^+ $\log P_{app}$ väärtused sõltuvad isegi väga madalatel kontsentratsioonidel uuritava aine kontsentratsioonist – esineb sissesoolamise efekt. Seetõttu pakuti selles töös välja $\log P_{app}$ väärtuste hindamiseks ekstrapoleerimise meetod. Ekstrapoleerimise meetod ennustab katioonide $\log P_{app}$ väärtusi tingimustel, kus puuduvad interaktsioonid teiste lahustunud ionidega. Ekstrapoleerimiseks saab kasutada töös välja toodud matemaatilisi lähenemisviise. Ekstrapoleeritud tulemused korreleerusid hästi kirjanduslike ja arvutuslike tulemustega.

Lisaks uuritava aine kontsentratsioonile olenesid katioonide $\log P_{app}$ väärtused ka lisandist ja selle kontsentratsioonist. Töö käigus uuriti, kuidas matemaatiliselt kirjeldada lisandist või uuritava aine kontsentratsioonist tingitud mõju $\log P_{app}$ väärtusele. Kui aga leida moodus kombineeritud mõju kirjeldamiseks, saaks tööd edasi arendada aluseliste ühendite katioonsete vormide lipofiilsuse hindamiseks. Lisaks oleks vaja täpsemalt uurida oktanooli tasakaalulise happelisuse nähtust, et osata eksperimentaalsete tingimuste valikuga tagada aluseliste ühendite jaotumine oktanooli katioonsel kujul.

Antud nähtuse uurimine võimaldab tulevikus paremini kirjeldada erinevaid ionidega seotud protsesse nagu elektropihustusionisatsioon, pöördfaaskromatograafia, elektroforeetilised protsessid, ravimite passiivtransport jne.

SUMMARY

Lipophilicity of cationic compounds: experimental approaches

Lipophilicity is compound's property that provides information about its different properties like reactivity, pharmacokinetics, biological activity etc. Lipophilicity is quantitatively measured by the logarithm of partition coefficient $\log P$, which describes compound's ability to partition between organic and water phases. This partitioning phenomenon is widely studied in the case of neutral and ionisable compounds, but has achieved little attention when it comes to compounds in their ionic form. As considerable amount of chemical processes take part between ions and in ion-containing solutions, it is also important to understand ionic compounds' lipophilic properties.

The aim of this work was to explore experimental approaches to estimate cationic compounds' lipophilicity. Therefore, compatibility of indirect HPLC method and direct shake-flask method were studied to estimate cationic compounds' lipophilicity.

It was found out that indirect HPLC method is applicable in only very limited scope. This is because there are a lot of secondary effects that affect retention of cationic compounds. Furthermore, acidity between alkyl chain of the stationary phase might not be sufficient to ensure that basic compounds partition to stationary phase in cationic form.

To evaluate applicability of direct shake-flask method, approximately 400 $\log P_{\text{app}}$ values were measured. It was found, that the behaviour of cationic compounds in octanol-water systems is notably complex. R_4N^+ $\log P_{\text{app}}$ values are strongly affected by solute-solute and solute-additive interactions even in very low concentrations. In order to achieve reasonable estimates of lipophilicity, it is necessary to extrapolate the results using relevant mathematical approaches. It was studied how to separately describe cationic solute and additive effects on R_4N^+ $\log P_{\text{app}}$ values mathematically, but there was also combined effect of solute and additive. If we could mathematically describe this combined effect, then this method could be developed further to estimate lipophilicity of basic compounds in cationic form. Also, equilibrium acidity phenomenon of octanol phase should be further studied to know how to choose experimental condition for evaluating basic compounds' lipophilicity.

Research of this phenomenon enables better description of different processes where ions are involved, like electrospray ionisation, reversed phase chromatography, electrophoretic processes, passive drug transport etc.

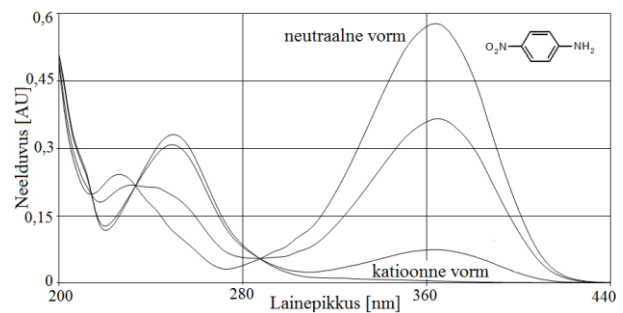
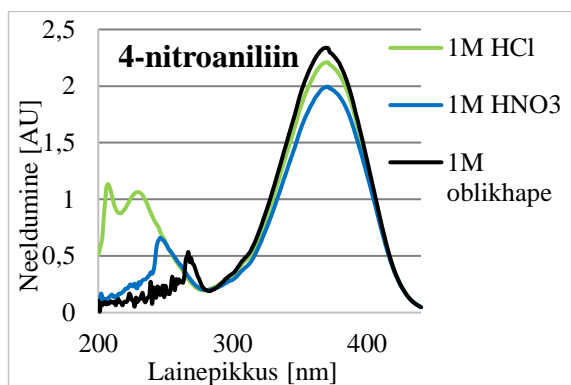
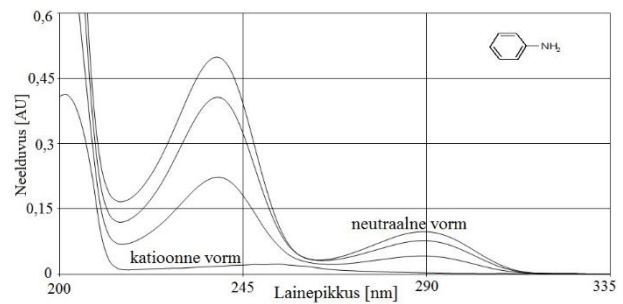
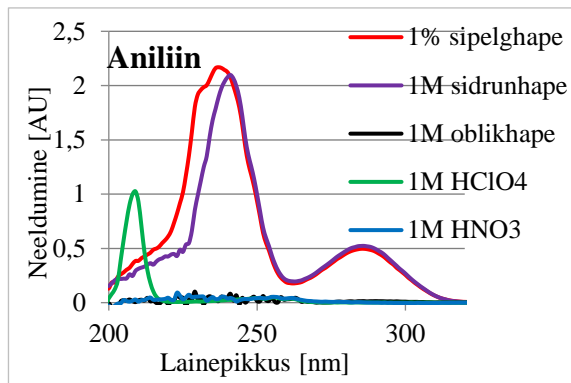
5. KASUTATUD KIRJANDUS

1. Sangster, J. *Octanol-Water Partition Coefficients: Fundamentals and Physical Chemistry*; Wiley: Chichester; New York, 1997, p. 170.
2. Poole, S. K.; Poole, C. F. Separation Methods for Estimating Octanol–water Partition Coefficients. *J. Chromatogr. B* **2003**, 797 (1–2), 3–19.
3. Reichardt, C. *Solvents and Solvent Effects in Organic Chemistry*, 3rd ed.; VCH: Weinheim, 2002, pp. 399-400.
4. Hansch, C.; Leo, A.; Hoekman, D. *Exploring QSAR: Hydrophobic, Electronic, and Steric Constants*; American Chemical Society: Washington, DC, 1995, p. 348.
5. Sangster, J. Octanol-Water Partition Coefficients of Simple Organic Compounds. *J. Phys. Chem. Ref. Data* **1989**, 18 (3), 1111–1227.
6. *Technical Database Services* <http://www.tds-tds.com/> viimati alla laetud 17.05.2017.
7. *Daylight Chemical Information Systems* <http://www.daylight.com/products/medchem.html> viimati alla laetud 17.05.2017.
8. Dallas, A. J.; Carr, P. W. A Thermodynamic and Solvatochromic Investigation of the Effect of Water on the Phase-Transfer Properties of Octan-1-ol. *J. Chem. Soc. Perk. T. 2* **1992**, No. 12, 2155–2161.
9. Zhao, Y. H.; Abraham, M. H. Octanol/Water Partition of Ionic Species, Including 544 Cations. *J. Org. Chem.* **2005**, 70 (7), 2633–2640.
10. Abraham, M. H.; Acree, Jr, W. E. The Transfer of Neutral Molecules, Ions and Ionic Species from Water to Wet Octanol. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2010**, 12 (40), 13182.
11. Williams, A. *Free Energy Relationships in Organic and Bio-Organic Chemistry*; RSC: Cambridge, 2003, pp. 17-40.
12. Andrés, A.; Rosés, M.; Ràfols, C.; Bosch, E.; Espinosa, S.; Segarra, V.; Huerta, J. M. Setup and Validation of Shake-Flask Procedures for the Determination of Partition Coefficients (logD) from Low Drug Amounts. *Eur. J. Pharm. Sci.* **2015**, 76, 181–191.
13. Copolovici, L.; Niinemets, Ü. Salting-in and Salting-out Effects of Ionic and Neutral Osmotica on Limonene and Linalool Henry's Law Constants and Octanol/Water Partition Coefficients. *Chemosphere* **2007**, 69 (4), 621–629.
14. OECD. *Test No. 107: Partition Coefficient (N-Octanol/Water): Shake Flask Method*; Organisation for Economic Co-operation and Development: Paris, 1995, p. 4.
15. OECD. *Test No. 117: Partition Coefficient (N-Octanol/Water), HPLC Method*; Organisation for Economic Co-operation and Development: Paris, 2004, p. 11.

16. OECD. *Test No. 123: Partition Coefficient (1-Octanol/Water): Slow-Stirring Method*; Organisation for Economic Co-operation and Development: Paris, 2006, p.15.
17. Abraham, M. H.; Acree, W. E. Descriptors for Ions and Ion-Pairs for Use in Linear Free Energy Relationships. *J. Chromatogr. A* **2016**, *1430*, 2–14.
18. Eckert, F.; Klamt, A. Fast Solvent Screening via Quantum Chemistry: COSMO-RS Approach. *AIChE J.* **2002**, *48* (2), 369–385.
19. Cho, C.-W.; Preiss, U.; Jungnickel, C.; Stolte, S.; Arning, J.; Ranke, J.; Klamt, A.; Krossing, I.; Thöming, J. Ionic Liquids: Predictions of Physicochemical Properties with Experimental and/or DFT-Calculated LFER Parameters to Understand Molecular Interactions in Solution. *J. Phys. Chem. B* **2011**, *115* (19), 6040–6050.
20. Zissimos, A. M.; Abraham, M. H.; Klamt, A.; Eckert, F.; Wood, J. A Comparison between the Two General Sets of Linear Free Energy Descriptors of Abraham and Klamt. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* **2002**, *42* (6), 1320–1331.
21. Graziano, G. On the Salting in Effect of Tetraalkylammonium Bromides. *Chem. Phys. Lett.* **2011**, *505* (1–3), 26–30.
22. Hribar, B.; Southall, N. T.; Vlachy, V.; Dill, K. A. How Ions Affect the Structure of Water. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124* (41), 12302–12311.
23. Endo, S.; Pfennigsdorff, A.; Goss, K.-U. Salting-Out Effect in Aqueous NaCl Solutions: Trends with Size and Polarity of Solute Molecules. *Environ. Sci. Technol.* **2012**, *46* (3), 1496–1503.
24. Saab, J.; Bassil, G.; Abou Naccoul, R.; Stephan, J.; Mokbel, I.; Jose, J. Salting-out Phenomenon and 1-Octanol/Water Partition Coefficient of Metalaxyl Pesticide. *Chemosphere* **2011**, *82* (6), 929–934.
25. Bastos-González, D.; Pérez-Fuentes, L.; Drummond, C.; Faraudo, J. Ions at Interfaces: The Central Role of Hydration and Hydrophobicity. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* **2016**, *23*, 19–28.
26. Marcus, Y. *Ions in Solution and Their Solvation*; John Wiley & Sons, 2015, pp. 1-5.
27. Hunenberger, P.; Reif, M. *Single-Ion Solvation: Experimental and Theoretical Approaches to Elusive Thermodynamic Quantities*, 1 ed.; RSC: Cambridge, 2011, pp. 1-2.
28. Breitbach, Z. S.; Berthod, A.; Huang, K.; Armstrong, D. W. Mass Spectrometric Detection of Trace Anions: The Evolution of Paired-Ion Electrospray Ionization (PIESI). *Mass Spectrom. Rev.* **2016**, *35* (2), 201–218.
29. *Spektrite kogumik* <http://lisa.chem.ut.ee/~karl/SpecDB/> viimati alla laetud 17.05.2017.

30. Marcus, Y. Tetraalkylammonium Ions in Aqueous and Non-Aqueous Solutions. *J. Solut. Chem.* **2008**, *37* (8), 1071–1098.
31. Hitzel, L.; Watt, A. P.; Locker, K. L. An Increased Throughput Method for the Determination of Partition Coefficients. *Pharm. Res.* **2000**, *17* (11), 1389–1395.
32. Salis, A.; Ninham, B. W. Models and Mechanisms of Hofmeister Effects in Electrolyte Solutions, and Colloid and Protein Systems Revisited. *Chem. Soc. Rev.* **2014**, *43* (21), 7358–7377.
33. Oss, M.; Krueve, A.; Herodes, K.; Leito, I. Electrospray Ionization Efficiency Scale of Organic Compounds. *Anal. Chem.* **2010**, *82* (7), 2865–2872.
34. Walba, H.; Isensee, R. W. Acidity Constants of Some Arylimidazoles and Their Cations. *J. Org. Chem.* **1961**, *26* (8), 2789–2791.

LISA



Joonis L1. Aniliini ja 4-nitroaniliini spektrid. Vasakul on erinevate happeliste vesilahustega tasakaalustunud oktanoolis registreeritud spektrid. Paremalt on võrdluseks spektrid andmebaasist, kust on näha, milline on vastavate ainete neutraalse ja katioonse vormi spekter.

ANDMETE TABELID

Tabel L1. Kaudse HPLC meetodi rakendamisel kasutatud ühendid, retentsiooniaegade tuvastamiseks kasutatud molekulaarioonide m/z väärtused, Abrahami poolt [10] kationidele omistatud $\log P^+$ väärtused ning kirjanduslikud neutraalsetele vormidele vastavad $\log P^n$ väärtused, kirjandusest leitud pK_a väärtused ning eksperimentaalselt leitud ekstrapoleeritud mahtuvusfaktorid $\log k_w$.

| nr | Aine | m/z | $\log P^+$ | $\log P$ | pK_a | $\log k_w$ |
|----|-----------------------|-------|--------------------|--------------------|-------------------|--------------------|
| 1 | tetrametüülammoonium | 74 | -2,15 ^a | - | 29,9 ^b | -1,03 [*] |
| 2 | tetraetüülammoonium | 130 | -1,18 ^a | - | 33,9 ^b | -0,22 |
| 3 | tetrapropüülammoonium | 186 | 0,55 ^a | - | 32,6 ^b | 1,32 |
| 4 | tetrabutüülammoonium | 242 | 2,27 ^a | - | 34,4 ^b | 3,73 |
| 5 | etüülamiin | 46 | -3,14 ^a | -0,13 ^a | 10,6 ^b | -0,86 |
| 6 | dietüülamiin | 74 | -1,99 ^a | 0,58 ^a | 10,7 ^b | -0,62 |
| 7 | trietüülamiin | 102 | -1,50 ^a | 1,45 ^a | 10,7 ^b | -0,31 |
| 8 | aniliin | 94 | 0,28 ^a | 0,90 ^a | 4,6 ^b | -0,09 |
| 9 | 4-nitroaniliin | 139 | 0,07 ^a | 1,39 ^a | 1,0 ^b | 1,83 |
| 10 | imidasool | 69 | -3,12 ^a | -0,08 ^a | 7,1 ^c | -0,76 |
| 11 | bensimidasool | 119 | -2,84 ^a | 1,32 ^a | 5,6 ^c | 0,58 |
| 12 | püridiin | 80 | -2,61 ^a | 0,65 ^a | 5,3 ^b | -0,53 |
| 13 | piperidiin | 86 | -2,90 ^a | 0,84 ^a | 11,1 ^b | -0,35 |

^a viide [10], ^b viide [33], ^c viide [34], ^{*} $\log k$ väärtus, kui mobiilfaasi koostis on 98% vesi.

Tabel L2. R₄N⁺ ionide log*P*_{app} väärtuste sõltuvus vastava aine kontsentratsioonist C. Pr₄NCl ja Pr₄NOH korral on esitatud *n* mõõtmise aritmeetiline keskmine log*P*_{app} väärtus, mille aritmeetiliste keskmiste standardhälbed jäid vahemikku 0,03-0,26 ühikut.

| Me ₄ NCl | | Et ₄ NCl | | Bu ₄ NOH | |
|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| C(Me ₄ NCl) [mM] | log <i>P</i> _{app} | C(Et ₄ NCl) [mM] | log <i>P</i> _{app} | C(Bu ₄ NOH) [mM] | log <i>P</i> _{app} |
| 0,20 | -2,94 | 0,015 | -1,92 | 0,020 | -0,36 |
| 0,37 | -3,02 | 0,031 | -1,95 | 0,039 | -0,62 |
| 0,73 | -3,26 | 0,064 | -2,15 | 0,077 | -0,93 |
| 1,5 | -3,42 | 0,13 | -2,24 | 0,15 | -1,15 |
| 2,9 | -3,40 | 0,26 | -2,38 | 0,31 | -1,44 |
| 5,9 | -3,63 | 0,51 | -2,52 | 0,62 | -1,71 |
| 8,9 | -3,62 | 0,89 | -2,66 | 1,2 | -1,98 |
| - | - | 1,8 | -2,84 | - | - |
| - | - | 3,6 | -2,96 | - | - |
| - | - | 5,4 | -3,03 | - | - |
| Pr ₄ NCl | | | Pr ₄ NOH | | |
| C(Pr ₄ NCl) [mM] | log <i>P</i> _{app} | <i>n</i> | C(Pr ₄ NOH) [mM] | log <i>P</i> _{app} | <i>n</i> |
| 0,030 | -1,16 | 1 | 0,030 | -1,13 | 1 |
| 0,061 | -1,31 | 2 | 0,061 | -1,48 | 3 |
| 0,12 | -1,76 | 1 | 0,12 | -1,64 | 3 |
| 0,18 | -1,65 | 2 | 0,18 | -1,65 | 3 |
| 0,54 | -1,97 | 2 | 0,55 | -1,96 | 3 |
| 0,72 | -2,12 | 1 | 0,74 | -2,01 | 3 |
| 1,6 | -2,11 | 2 | 1,7 | -2,28 | 3 |
| 4,9 | -2,74 | 1 | 5,0 | -2,43 | 3 |
| 15 | -2,32 | 2 | 15 | -2,30 | 3 |

Tabel L3. Pr₄N⁺ logP_{app} väärtus olenevalt summaarsest anioonide kontsentratsioonist C_{an} ja selle ruutjuurest $\sqrt{C_{an}}$. Tabelis toodud Pr₄N⁺ logP_{app} väärtus on n mõõtmise aritmeetiline keskmine, lisaks on esitatud vastavate mõõtmiste aritmeetilise keskmise standardhälve s_n. Pr₄NCl või Pr₄NOH kontsentratsioon oli 0,12 mM.

| | | NaCl | | | KCl | | | MgCl ₂ | | | NH ₄ Cl | | |
|----------------------|--|---------------------|----------------|---|---------------------|----------------|---|---------------------|----------------|---|---------------------|----------------|----|
| C _{an} [mM] | $\sqrt{C_{an}}$ [$\sqrt{\text{mM}}$] | logP _{app} | s _n | n | logP _{app} | s | n | logP _{app} | s _n | n | logP _{app} | s _n | n |
| 0,12 | 0,35 | -1,46 | 0,06 | 5 | -1,39 | 0,04 | 7 | -1,39 | 0,04 | 7 | -1,34 | 0,01 | 6 |
| 0,18 | 0,43 | -1,62 | 0,08 | 3 | -1,49 | 0,18 | 2 | -1,61 | 0,12 | 2 | -1,39 | 0,00 | 2 |
| 0,55 | 0,74 | -1,59 | 0,13 | 3 | -1,51 | 0,11 | 2 | -1,62 | 0,10 | 2 | -1,45 | 0,01 | 2 |
| 1,6 | 1,3 | -1,54 | 0,07 | 3 | -1,55 | 0,09 | 2 | -1,60 | 0,06 | 2 | -1,50 | 0,01 | 2 |
| 4,9 | 2,2 | -1,58 | 0,06 | 3 | -1,52 | 0,05 | 2 | -1,58 | 0,03 | 2 | -1,61 | 0,01 | 2 |
| 15 | 3,9 | -1,52 | 0,02 | 3 | -1,49 | 0,02 | 2 | -1,51 | 0,02 | 2 | -1,70 | 0,00 | 2 |
| 50 | 7,1 | -1,44 | 0,02 | 3 | -1,46 | 0,05 | 2 | -1,37 | 0,04 | 2 | -1,68 | 0,02 | 2 |
| 100 | 10 | -1,44 | 0,03 | 2 | -1,40 | 0,05 | 2 | -1,24 | 0,02 | 2 | -1,64 | 0,00 | 2 |
| 250 | 16 | -1,28 | 0,03 | 3 | -1,33 | 0,07 | 2 | - | - | - | -1,47 | 0,00 | 2 |
| 500 | 22 | -1,17 | 0,05 | 3 | -1,20 | 0,06 | 2 | - | - | - | -1,38 | 0,00 | 2 |
| 990 | 31 | -0,96 | 0,04 | 3 | -1,01 | 0,06 | 2 | - | - | - | -1,19 | 0,01 | 2 |
| | | NaOH | | | NaNO ₃ | | | HNO ₃ | | | HCl | | |
| C _{an} [mM] | $\sqrt{C_{an}}$ [$\sqrt{\text{mM}}$] | logP _{app} | s _n | n | logP _{app} | s _n | n | logP _{app} | s _n | n | logP _{app} | s _n | n |
| 0,12 | 0,35 | -1,53 | 0,10 | 5 | -1,50 | 0,07 | 6 | -1,36 | 0,02 | 6 | -1,53 | 0,12 | 14 |
| 0,18 | 0,43 | -1,50 | 0,13 | 2 | -1,46 | 0,15 | 2 | -1,36 | 0,02 | 2 | -1,59 | 0,11 | 3 |
| 0,55 | 0,74 | -1,51 | 0,08 | 2 | -1,44 | 0,14 | 2 | -1,93 | 0,02 | 2 | -2,35 | 0,16 | 3 |
| 1,6 | 1,3 | -1,55 | 0,08 | 2 | -1,46 | 0,16 | 2 | -2,18 | 0,00 | 2 | -2,33 | 0,15 | 2 |
| 4,9 | 2,2 | -1,50 | 0,07 | 2 | -1,47 | 0,10 | 2 | -2,00 | 0,01 | 2 | -2,36 | 0,09 | 2 |
| 15 | 3,9 | -1,48 | 0,05 | 2 | -1,43 | 0,09 | 2 | -1,79 | 0,01 | 2 | -2,17 | 0,07 | 3 |
| 50 | 7,1 | -1,46 | 0,03 | 2 | -1,26 | 0,03 | 2 | -1,56 | 0,01 | 2 | -1,99 | 0,04 | 3 |
| 100 | 10 | -1,39 | 0,02 | 2 | -1,21 | 0,00 | 2 | -1,42 | 0,00 | 2 | -1,85 | 0,01 | 3 |
| 250 | 16 | -1,22 | 0,01 | 2 | -1,05 | 0,01 | 2 | -1,22 | 0,00 | 2 | -1,62 | 0,01 | 3 |
| 500 | 22 | -1,05 | 0,02 | 2 | -0,97 | 0,01 | 2 | -1,11 | 0,01 | 2 | -1,48 | 0,02 | 3 |
| 990 | 31 | -0,71 | 0,06 | 2 | -0,77 | 0,00 | 2 | -0,90 | 0,03 | 2 | -1,34 | 0,02 | 3 |

Tabel L4. Lisandi ja Pr₄NCl kontsentratsioonide kombineeritud mõju Pr₄N⁺ log*P*_{app} väärtustele. Tabelis on toodud vastav lisand, Pr₄NCl konstantne kontsentratsioon mõõtmisseries, anioonide summaarne kontsentratsioon proovis (uuritavast ainest ning lisandist) ning vastava proovi log*P*_{app} väärtus.

| NaCl | | NaCl | | NaCl | |
|-------------------------------|-----------------------------|------------------------------|-----------------------------|------------------------------|-----------------------------|
| 0,0600 mM Pr ₄ NCl | | 0,300 mM Pr ₄ NCl | | 0,720 mM Pr ₄ NCl | |
| <i>C</i> _{an} [mM] | log <i>P</i> _{app} | <i>C</i> _{an} [mM] | log <i>P</i> _{app} | <i>C</i> _{an} [mM] | log <i>P</i> _{app} |
| 0,060 | -1,27 | 0,30 | -1,72 | 0,72 | -1,92 |
| 0,18 | -1,30 | 0,42 | -1,73 | 0,84 | -1,82 |
| 0,30 | -1,39 | 0,54 | -1,71 | 0,96 | -1,89 |
| 0,43 | -1,33 | 0,73 | -1,78 | 1,2 | -1,94 |
| 0,55 | -1,35 | 1,1 | -1,66 | 1,6 | -1,85 |
| 0,73 | -1,44 | 1,6 | -1,77 | 4,9 | -1,81 |
| 1,6 | -1,41 | 4,9 | -1,71 | 15 | -1,72 |
| 4,9 | -1,44 | 15 | -1,71 | 51 | -1,58 |
| 15 | -1,48 | 50 | -1,56 | 100 | -1,47 |
| 50 | -1,45 | 100 | -1,52 | 250 | -1,34 |
| 100 | -1,46 | 250 | -1,42 | 500 | -1,20 |
| 250 | -1,34 | 500 | -1,26 | 950 | -0,99 |
| 500 | -1,24 | 980 | -1,03 | - | - |
| 960 | -1,05 | - | - | - | - |
| NH ₄ Cl | | NH ₄ Cl | | NH ₄ Cl | |
| 0,0600 mM Pr ₄ NCl | | 0,300 mM Pr ₄ NCl | | 0,720 mM Pr ₄ NCl | |
| <i>C</i> _{an} [mM] | log <i>P</i> _{app} | <i>C</i> _{an} [mM] | log <i>P</i> _{app} | <i>C</i> _{an} [mM] | log <i>P</i> _{app} |
| 0,060 | -1,28 | 0,30 | -1,66 | 0,72 | -1,93 |
| 0,18 | -1,36 | 0,42 | -1,67 | 0,84 | -1,86 |
| 0,30 | -1,47 | 0,54 | -1,79 | 0,96 | -1,90 |
| 0,43 | -1,46 | 0,73 | -1,78 | 1,2 | -1,98 |
| 0,55 | -1,32 | 1,1 | -1,69 | 1,6 | -2,02 |
| 0,73 | -1,52 | 1,6 | -1,71 | 4,9 | -2,03 |
| 1,6 | -1,51 | 4,9 | -1,82 | 15 | -1,92 |
| 4,9 | -1,60 | 15 | -1,85 | 51 | -1,75 |
| 15 | -1,71 | 50 | -1,75 | 100 | -1,70 |
| 50 | -1,65 | 100 | -1,70 | 250 | -1,54 |
| 100 | -1,64 | 250 | -1,51 | 500 | -1,41 |
| 250 | -1,49 | 500 | -1,41 | 950 | -1,25 |
| 500 | -1,38 | 980 | -1,22 | - | - |
| 960 | -1,24 | - | - | - | - |

Tabel L5. Veesisaldus oktanoolis $C_o(H_2O)$ olenevalt lisandist ja lisandi algsest kontsentratsioonist veefaasis $C(\text{lisand})$. Tabelis toodud veesisaldus on n mõõtmise aritmeetiline keskmine, lisaks on esitatud vastavate mõõtmiste aritmeetilise keskmise standardhälve s_n .

| HCl | | | | HNO ₃ | | | |
|----------------------------|----------------------|-------|-----|----------------------------|----------------------|-------|-----|
| $C(\text{lisand})$ [mM] | $C_o(H_2O)$ [ppm] | s_n | n | $C(\text{lisand})$ [mM] | $C_o(H_2O)$ [ppm] | s_n | n |
| 1000 | 45229 | 495 | 3 | 1000 | 47910 | 100 | 3 |
| 500 | 46500 | 140 | 3 | 500 | 46840 | 190 | 3 |
| 250 | 47497 | 82 | 3 | 250 | 46940 | 240 | 3 |
| 100 | 47770 | 150 | 3 | 100 | 47800 | 100 | 3 |
| 50 | 48640 | 750 | 3 | 50 | 47550 | 120 | 3 |
| 10 | 49670 | 870 | 3 | 15 | 47901 | 12 | 3 |
| 1,0 | 47830 | 390 | 3 | 5,0 | 48110 | 140 | 3 |
| - | - | - | - | 1,5 | 47760 | 150 | 3 |
| Lisandita | 48030 | 100 | 10 | 0,50 | 48050 | 180 | 3 |
| NH ₄ Cl | | | | NaCl | | | |
| $C(\text{lisand})$ [mM] | $C_o(H_2O)$ [ppm] | s_n | n | $C(\text{lisand})$ [mM] | $C_o(H_2O)$ [ppm] | s_n | n |
| 1000 | 43090 | 310 | 2 | 1000 | 42794 | 27 | 2 |
| 500 | 45473 | 16 | 2 | 500 | 45350 | 130 | 2 |
| 250 | 46700 | 220 | 2 | 250 | 46540 | 290 | 2 |
| 100 | 47413 | 20 | 2 | 100 | 47507 | 79 | 2 |
| 50 | 47417 | 47 | 2 | 50 | 47604 | 53 | 2 |
| 15 | 47540 | 120 | 2 | 15 | 47854 | 28 | 2 |
| 5,0 | 47584,41 | 0,40 | 2 | 5,0 | 47643,1 | 5,6 | 2 |
| 1,5 | 47648 | 38 | 2 | 1,5 | 47870 | 100 | 2 |
| 0,50 | 47690 | 140 | 2 | 0,50 | 47643 | 95 | 2 |

Tabel L6. Anioonide tasakaaluline kontsentratsioon oktanoolis $C_o(Cl^-)$ ja $C_o(NO_3^-)$ olenevalt lisandist ja lisandi algsest kontsentratsioonist veefaasis $C(\text{lisand})$. Tabelis toodud anioonide tasakaaluline kontsentratsioon on n mõõtmise aritmeetiline keskmine, lisaks on esitatud vastavate mõõtmiste aritmeetilise keskmise standardhälve s_n .

| HCl | | | | HNO ₃ | | | |
|----------------------------|---------------------|-------|-----|----------------------------|-----------------------|--------|-----|
| $C(\text{lisand})$ [mM] | $C_o(Cl^-)$ [mM] | s_n | n | $C(\text{lisand})$ [mM] | $C_o(NO_3^-)$ [mM] | s_n | n |
| 1000 | 57,4 | 3,2 | 3 | 1000 | 128 | 11 | 3 |
| 500 | 16,5 | 1,3 | 3 | 500 | 40,0 | 1,0 | 3 |
| 250 | 7,82 | 0,18 | 3 | 250 | 14,58 | 0,14 | 3 |
| 100 | 1,75 | 0,22 | 6 | 100 | 3,100 | 0,021 | 3 |
| 50 | 0,482 | 0,015 | 3 | 50 | 1,234 | 0,015 | 3 |
| 10 | 0,081 | 0,041 | 3 | 10 | 0,0918 | 0,0049 | 3 |
| - | - | - | - | 1,0 | 0,030 | 0,010 | 3 |

Tabel L7. Lisandi kontsentratsiooni mõju Pr_4N^+ $\log P_{\text{app}}$ väärtusele. Tabelis on toodud sobitusparameetrid (A , B ja C), mis on saadud eksperimentaalsete andmete sobitamisel võrrandiga 15. Tabelis on esitatud ka vastavad R^2 väärtused. Pr_4N^+ kontsentratsioon kõikide mõõtmiste korral oli 0,12 mM. $\log P_{\text{app}}^0$ väärtusena kasutati Pr_4N^+ kaalutud keskmist $\log P_{\text{app}}$ väärtust proovidel, kuhu polnud lisandit lisatud.

| Lisand | A [mM ^{-0,5}] | B [mM ^{-0,5}] | C [mM ^{-0,5}] | $\log P_{\text{app}}^0$ | R^2 |
|--------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|-------------------------|-------|
| NaCl | -0,503 | 2,11 | 0,0226 | -1,43 | 0,946 |
| KCl | -0,398 | 2,26 | 0,0184 | -1,43 | 0,990 |
| MgCl ₂ | -2,77 | 11,0 | 0,0353 | -1,43 | 0,992 |
| NH ₄ Cl | -0,159 | 0,239 | 0,0268 | -1,43 | 0,907 |
| NaOH | -0,241 | 0,894 | 0,0298 | -1,43 | 0,973 |
| NaNO ₃ | -1,01 | 20,7 | 0,0232 | -1,43 | 0,996 |
| HNO ₃ | -1,37 | 2,11 | 0,0432 | -1,43 | 0,770 |
| HCl | -3,79 | 3,90 | 0,0385 | -1,43 | 0,806 |

Tabel L8. Tetraalküülammooniumsoola kontsentratsiooni mõju vastava R_4N^+ iooni $\log P_{\text{app}}$ väärtusele. Tabelis on toodud sobitusparameetrid (A , B ja C) ja $\log P_{\text{app}}^0$ väärtused, mis on saadud eksperimentaalsete andmete sobitamisel võrrandiga 15. Tabelis on esitatud ka vastavad R^2 väärtused.

| R_4N^+ | A [mM ^{-0,5}] | B [mM ^{-0,5}] | C [mM ^{-0,5}] | $\log P_{\text{app}}^0$ | R^2 |
|------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|-------------------------|-------|
| Me ₄ NCl | -2,68 | 1,37 | 0,0514 | -2,21 | 0,962 |
| Et ₄ NCl | -2,38 | 1,26 | 0,0121 | -1,65 | 0,997 |
| Pr ₄ NCl | -2,82 | 0,525 | 0,553 | -0,89 | 0,919 |
| Pr ₄ NOH | -4,03 | 1,45 | 0,192 | -0,69 | 0,979 |
| Bu ₄ NOH | -19,8 | 6,78 | -0,491 | 1,14 | 0,999 |

INFOLEHT

Kationsete ühendite lipofiilsuse hindamine: eksperimentaalsed võimalused

Keemilise ühendi lipofiilsus on omadus, mis annab infot ühendi bioloogiliste, farmakokineetiliste jt omaduste kohta. Kvantitatiivselt kirjeldab seda jaotuskoefitsiendi logaritmi ($\log P$), mis kajastab ühendite omadust jaotuda orgaanilise faasi ja vesilahuse vahel. Sellist jaotumisnähtust on küllaltki vähe uuritud ionsete ühendite korral. Töö eesmärk oli uurida eksperimentaalseid võimalusi kationsete ühendite lipofiilsuse hindamiseks. Selgus, et kationsete ühendite käitumine mitmefaasilistes süsteemides on erakordselt kompleksne isegi väga madalatel kontsentratsioonidel. Selleks, et soluut-soluut ja soluut-lisand interaktsioone kõrvaldada on vaja tulemusi ekstrapoleerida lõpmata lahja lahuse tingimustele kasutades sobivaid matemaatilisi lähenemisviise.

Märksõnad: $\log P$, jaotuskoefitsient, lipofiilsus, katioonid, tetraalküülammoonium, sissesoolamine, väljasoolamine, oktanool.

CERCS kood: P300 – analüütiline keemia

Lipophilicity of cationic compounds: experimental approaches

Lipophilicity is compound's property that provides information about its biological, pharmacokinetic etc. properties. It is expressed quantitatively by the logarithm of partition coefficient ($\log P$), which describes compounds' ability to partition between organic and water phases. Such phenomenon has achieved little attention when it comes to compounds in their ionic form. The aim of this work was to explore experimental approaches to estimate cationic compounds' lipophilicity. It was found, that the behaviour of cationic compounds in biphasic systems is notably complex even in very low concentrations. To achieve reasonable estimates of lipophilicity, it is necessary to extrapolate the results using relevant mathematical approaches.

Keywords: $\log P$, partition coefficient, lipophilicity, cations, tetraalkylammonium, salting-in, salting-out, octanol.

CERCS code: P300 – analytical chemistry

Lihtlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja lõputöö üldsusele kättesaadavaks tegemiseks

Mina, **Elmo Libek**,

1. annan Tartu Ülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) enda loodud teose „**Katioonsete ühendite lipofiilsuse hindamine: eksperimentaalsed võimalused**“, mille juhendaja on **Anneli Kruve**,
 - 1.1.reprodutseerimiseks säilitamise ja üldsusele kättesaadavaks tegemise eesmärgil, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace-is lisamise eesmärgil kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni;
 - 1.2.üldsusele kättesaadavaks tegemiseks Tartu Ülikooli veebikeskkonna kaudu, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace'i kaudu kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni.
2. olen teadlik, et punktis 1 nimetatud õigused jäävad alles ka autorile.
3. kinnitan, et lihtlitsentsi andmisega ei rikuta teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse seadusest tulenevaid õigusi.

Tartus, **22.05.2017**