

ЖИДКОСТНАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ НЕКОТОРЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ПЯТИЧЛЕННЫХ ГЕТЕРОЦИКЛОВ¹

© 2002 Н.В. Соловова, С.В. Курбатова² З.П. Белоусова³ Д.М. Осокин⁴

Изучено хроматографическое поведение некоторых производных азолов в условиях высокоэффективной жидкостной хроматографии. Получены значения фактора удерживания исследованных соединений для обращенно-фазного варианта ВЭЖХ. Показано влияние природы заместителя в гетероцикле, а также стерического фактора на хроматографическое удерживание производных азолов.

Большое внимание исследователей к химии пятичленных гетероциклов и их производных в течение десятилетий определяется, главным образом, высокой физиологической активностью многих соединений этого ряда, а также возможностью их использования в качестве моделей для решения ряда задач теоретической органической химии [1,2]. Диазолы, триазолы и их производные различного строения представляют собой весьма важный класс органических соединений, характеризующихся широким спектром биологической активности. На их основе создано большое количество лекарственных препаратов, обладающих адrenoблолирующим, противомикробным и другими видами фармакологического действия. Кроме того, кольцо имидазола, как известно, входит в состав многих важных природных соединений (гистамин, гистидин, аллантион и пр.). Весьма интересными объектами с этой точки зрения являются также имидазолиды сульфокислот, многие из которых обладают противовирусной, противотуберкулезной, противогрибковой и другими видами активности [3]. Данные соединения могут быть использованы в качестве моделей при решении проблемы установления количественных соотношений "структура – свойство" (Quantitative Structure – Property Relationship – QSPR) и "структура – активность" (Quantitative Structure – Activity Relationship – QSAR) [4]. Весьма перспективным методом установления таких соотношений является хроматография, поскольку хроматографические характеристики, достаточно легко определяемые экспериментально, хорошо коррелируют практически со всеми параметрами, рассматриваемыми в различных подходах и методах установления соотношений между структурой, физико-химическими свойствами и активностью соединений. Использование различных вариантов хроматографии, различных подвижных и неподвижных фаз

¹Представлена доктором химических наук профессором Л.А. Онучак.

²Соловова Наталья Валентиновна, Курбатова Светлана Викторовна (curbatsv@ssu.samara.ru), кафедра общей химии и хроматографии Самарского государственного университета, 443011, г. Самара, ул. Акад. Павлова, 1.

³Белоусова Зоя Петровна, кафедра органической химии Самарского государственного университета.

⁴Осокин Дмитрий Михайлович, Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, 119899, г. Москва, Воробьевы горы.

позволяет выявлять типы межмолекулярных взаимодействий, определяемые различиями в структуре соединений, моделировать биохроматографические процессы, происходящие при введении физиологически активных веществ в живой организм. Во многих случаях предполагается сорбционный механизм действия лекарственного препарата или любого биологически активного вещества, поэтому интересным представляется использование сорбционных характеристик таких веществ, получаемых хроматографическим методом. Следует отметить, что сведений о хроматографическом поведении пятичленных гетероциклов и их производных в литературе крайне мало.

Целью настоящей работы явилось исследование влияния структуры производных пятичленных гетероциклов на их хроматографическое поведение в условиях высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Экспериментальная часть

В работе использовали жидкостный хроматограф SpectraSYSTEM фирмы Thermo Separation с быстросканирующим УФ-спектрофотометром UV3000, хроматографическая колонка длиной 250 мм, диаметром 4 мм, сорбент — Диасфер-110-C18, размер частиц 6 мкм. Детектирование осуществляли при длинах волны УФ-детектора 210, 254 и 280 нм. Элюирование проводили в линейном градиентном режиме от 5 до 95% ацетонитрила в 0,1% ТФУК при расходе элюента 1 мл/мин и температуре колонки 20°C. Пробы исследованных соединений готовили растворением кристаллических образцов в соответствующих растворителях.

Удерживание исследованных соединений характеризовали величиной фактора удерживания (k'), рассчитанного по известной методике [5] (несорбирующееся вещество — нитрит натрия), а также относительным удерживанием ($\alpha_{R/ст}$, стандарты — имидазол и бензол). Структура исследованных соединений и полученные для них величины удерживания представлены в табл. 1.

В методе ТСХ для получения воспроизводимых результатов хроматографирование осуществляли следующим образом: камеру насыщали парами растворителя, применяли стандартные пластины силуфол. На линию старта на расстоянии 10–15 мм между центрами пятен микрошприцем наносили по 0,04 мл (1 мг/мл) раствора изучаемых соединений в ацетоне. После нанесения образца пластину высушивали на воздухе и помещали в хроматографическую камеру (угол наклона 60°) и хроматографировали 30–35 мин восходящим методом. В качестве подвижной фазы использовали смесь "бензол – ацетон – метанол" (6:1:0,1). Визуализацию осуществляли в парах иода. Расчет хроматографической подвижности (R_f , R_m), фактора удерживания и ВЭТТ проводили обычным способом [5].

Значения мольного объема, дипольного момента, поляризуемости, энергии гидратации и коэффициента распределения в системе "н-октанол-вода" были рассчитаны полуэмпирическим методом АМ 1 с полной оптимизацией геометрии молекул с использованием программы Nureg Chem (табл. 2).

Обсуждение результатов

Основным структурным фрагментом исследованных соединений являются имидазол, бензимидазол, 1, 2, 3- или 1, 2, 4-триазол, относящиеся к ароматическим π-дефицитным гетероциклическим соединениям. Об ароматичности этих соединений

можно судить по виду их спектров ПМР, где все сигналы протонов расположены в области слабых полей [2]. Полагают, что именно развитая π -электронная структура является причиной высокой биологической активности многих гетероциклических молекул, поэтому изучение особенностей электронного строения может дать информацию о взаимосвязи между структурой и биологической активностью исследованных соединений. Молекула триазола так же, как имидазола, представляет собой планарную 6π -электронную ароматическую систему с некоторыми искажениями за счет наличия аннулярных атомов азота. Молекулы обоих соединений плоские [2].

Известно, что введение в молекулу пиррола одного или более "пиридиновых" атомов азота значительно изменяет свойства соединения. Если "пиррольный" атом азота в молекуле не замещен, то такие соединения существуют в кристаллическом виде с довольно высокими температурами кипения и плавления. Такие соединения, как правило, хорошо растворимы в полярных, но плохо в неполярных растворителях. Растворимость в воде обусловлена способностью к образованию водородной связи, наиболее выраженной у имидазола. Замещение атома азота в положении 1 приводит к снижению температур плавления и кипения (табл. 3) и изменению (как правило, обращению) характеристик растворимости. Имидазол, кроме того, за счет образования водородных связей способен к образованию ассоциатов в парах. В полярных растворителях и диоксане ассоциаты разрушаются, так же как и при замещении "пиррольного" атома водорода алкильной или арильной группой [1,2].

Как известно, увеличение числа атомов азота в гетероцикле при переходе от имидазола к триазолу и тетразолу приводит к существенному перераспределению электронной плотности в гетероцикле. Так, имидазол — довольно сильное основание ($pK_b = 1,1 \cdot 10^{-7}$) и в то же время обладает кислотными свойствами за счет связи $-N-H$. 1,3,4-триазол основные свойства проявляет в значительно меньшей степени ($pK_b = 2 \cdot 10^{-12}$). Тетразол обладает слабокислотными свойствами, при этом атом водорода способен перемещаться по атомам азота. Соединение это ароматично и вполне устойчиво.

Обладающие основными свойствами N-гетероциклы характеризуются высокой адсорбционной способностью по отношению к сорбентам, содержащим электронодонорные группы. Во многих случаях сильное сродство к таким адсорбентам, обусловленное наличием свободной электронной пары у атома азота, затрудняет разделение этих веществ вследствие медленной десорбции.

В табл. 3 представлены некоторые хроматографические характеристики исследованных соединений, полученные в условиях ТСХ. Как известно, в N-гетероциклических системах вклад атомов азота в энергию адсорбции изменяется в зависимости от типа заместителей, особенно если они находятся в α -положении к атому азота. Как следует из таблицы, с удлинением углеродной цепи N-алкила хроматографическая подвижность алкилимидазолов растет, что соответствует литературным данным, согласно которым для соединений одного гомологического ряда R_f возрастает при увеличении числа неполярных групп [5]. В этом же направлении изменяется гидрофобность соединений. Зависимость величины R_m от гидрофобных констант заместителей в алкилимидазолах может быть описана уравнением

$$R_m = -0,273 + 0,218 \cdot K_h$$

(величина среднего квадратичного отклонения 0,01).

Наличие заместителей в непосредственной близости к атому азота также приводит к понижению энергии адсорбции, что связано, очевидно, со стерическими препятствиями. В основном это касается алкильных заместителей, которые, находясь

в α -положении к основному атому азота, препятствуют образованию водородной связи, причем влияние на удерживание в значительной степени зависит от объема заместителей [6]. Однако влияние α -алкильных заместителей на взаимодействие алкилимидазолов с адсорбционными центрами менее значительно, чем в случае N-алкилов. Аналогичная картина наблюдается при газохроматографическом исследовании алкилимидазолов. В условиях ГЖХ авторами [7] установлено существование α -эффекта, заключающегося в значительном уменьшении вклада алкильной группы, находящейся рядом с гетероатомом в цикле, в общую энергию сорбции соединения по сравнению с удаленным от гетероатома алкилом. По-видимому, этот эффект проявляется и в случае ТСХ. Как следует из табл. 4, значения R_f для 4-метилимидазола несколько ниже, чем для 2-метилимидазола. В этом случае можно предположить влияние стерического фактора на взаимодействие 2-метилимидазола с сорбентом, однако для 4,5-диметилимидазола величина R_f оказывается также меньше по сравнению с подвижностью 2,4-диметилимидазола в связи с тем, что α_{NN} -эффект для незамещенных по атому азота алкилимидазолов выше, чем α_N .

В соответствии с [6] для N-алкилимидазолов вклад CH_3 -группы в положении 5 в удерживание выше, чем в положении 4. Именно этим фактом, очевидно, можно объяснить более высокую подвижность 1, 2, 4-триметилимидазола по сравнению с 1, 2, 5-триметилимидазолом. Кроме того, величины R_f триметилимидазолов, несмотря на большее количество алкилов в молекуле, оказываются меньше, чем для соответствующих диметилимидазолов. Увеличение количества атомов углерода в цепи алкила и введение такого же числа метильных групп в различные положения гетероцикла по-разному сказываются на энергии адсорбции: значения R_m 1, 3, 5-триметилимидазола оказываются меньше, чем подвижность 1-н-пропилимидазола, что свидетельствует о менее сильном взаимодействии последнего с адсорбционными центрами.

Увеличение количества атомов азота в молекуле гетероцикла при переходе от имидазола к триазолу и тетразолу приводит к возрастанию подвижности, очевидно, в результате изменения кислотно-основных свойств соединений, в результате чего уменьшается энергия взаимодействия соединений с гидроксильной поверхностью силикагеля.

В работе [8] показано, что изменение величин удерживания в ГЖХ у гомологических рядов описывается универсальным уравнением

$$Z = \alpha + \beta \cdot m + \gamma \cdot \frac{\lg m}{m} + \frac{\zeta}{(m-2)^2 + 0,1},$$

где m — номер гомолога, α , β , γ , ζ — коэффициенты, постоянные для данных условий анализа и изучаемого гомологического ряда. Авторы [9] показали применимость его для расчета значений коэффициентов емкости в условиях обращенно-фазовой хроматографии. Нами это уравнение применено для описания поведения гомологического ряда алкилимидазолов в условиях ТСХ.

В обращенно-фазовом варианте, как известно, молекулы удерживаются на неполярной гидрофобной поверхности за счет сил неспецифического межмолекулярного взаимодействия с адсорбентом, наличие полярных групп в молекуле сорбата приводит к усилению специфического межмолекулярного взаимодействия с элюентом и, таким образом, к уменьшению удерживания. При исследовании закономерностей удерживания исследованных соединений в условиях ОФ ВЭЖХ важным является выявление специфических межмолекулярных взаимодействий с подвижной фазой.

В качестве модификатора подвижной фазы в работе использован ацетонитрил, имеющий высокое сродство к исследуемым соединениям. Как следует из данных,

0.05pt

Таблица 1
Структурные формулы и факторы удерживания исследованных соединений

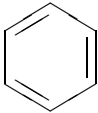
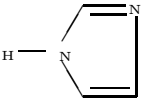
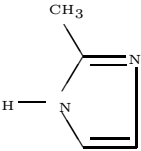
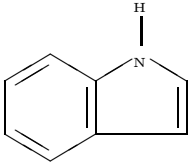
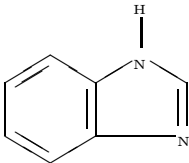
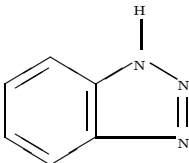
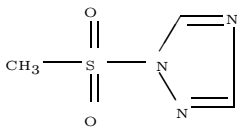
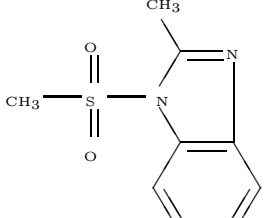
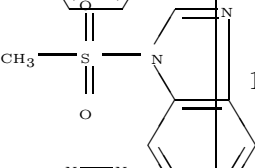
№п/п	Соединение	Структурная формула	Мол.масса	k'	k' [10]
1	Бензол			2,09	
2	Имидазол		68,08	0,34	0,58
3	2-метилимидазол			0,54	—
4	Индол		117,15	5,93	—
5	Бензимидазол		118,14	2,24	—
6	Бензотриазол		119,13	3,35	—
7	1,2,4-триазолид метансульфонокислоты		147,15	3,35	0,33
8	2-метилбензимидазолид метансульфонокислоты			4,73	0,62
9	Бензимидазолид метансульфонокислоты		196,22	4,67	0,62

Таблица 2
Электронные и структурные параметры исследованных соединений

Соединение	E, ккал/моль	V, Å ³	log P	M _R , Å ³	α, Å ³	S(Gr), Å ³	μ, D
1	–	86,13	2,047	26,06	16,80	168,75	–
2	-896,35	269,58	-0,04	19,95	7,60	205,13	3,599
4	-1789,89	414,73	0,23	42,22	14,49	282,89	1,884
5	-1667,94	400,71	-0,71	40,76	13,78	277,24	3,139
6	-1520,82	388,01	0,33	42,34	13,07	268,81	3,655
7	-1280,90	428,53	-0,53	31,94	9,86	298,47	2,950
9	-2186,97	553,95	-1,27	54,00	16,75	359,40	3,364
10	-2042,79	546,11	-0,09	55,88	16,04	356,91	3,595
11	-2341,06	592,74	-0,11	57,78	18,40	381,54	6,103
12	-3112,93	709,91	0,41	73,78	24,58	442,71	4,760
13	-2950,60	670,13	1,59	75,66	23,87	409,29	7,501
14	-2614,61	634,22	1,55	58,01	20,23	403,46	6,892
15	-2484,94	632,15	1,62	56,76	19,52	402,74	5,028
16	-34,99	743,66	1,82	80,28	27,12	449,26	4,650
17	-3379,03	730,43	0,88	78,82	26,41	444,27	6,648

Таблица 3
Некоторые физико-химические параметры ароматических гетероциклов

Соединение	T _{пл.} , °C	T _{кип.} , °C	μ, D (в бензоле)	pK _{осн}	pK _{кисл}
Имидазол	90	256	3,806	6,95	14,52
4-метилимидазол	56	264	–	7,61	–
1-метилимидазол	-6	198	3,598	–	–
1,2,3-триазол	23	203(739)	1,753	1,17	9,4
1-метил-1,2,3-триазол	15–16	228(752)	–	1,25	–
2-метил-1,2,3-триазол	21,5–22	89–90(714)	–	–	–
1,2,4-триазол	20	178	3,140	2,2	10
4-метил-1,2,4-триазол	90	–	–	3,4	–
Пиррол	–	130	–	–	16,5
Пиридин	–	–	–	5,2	–
Бензимидазол	–	–	–	5,5	13,2

представленных в табл. 1, переход от имидазола к 2-метилимидазолу и затем к бензимидазолу увеличивает удерживание, по-видимому, за счет усиления дисперсионного взаимодействия молекулы сорбата с октадецильными группами сорбента. В табл. 1 представлены также данные авторов [10], полученные при использовании в качестве элюента абсолютизированного этанола. Из сравнения полученных нами и литера-

Таблица 4

Хроматографические характеристики производных имидазола

№ п/п	Соединение	R_f	K'	R_m
1	Имидазол	0.15	5.67	0.75
2	1-метилимидазол	0.49	1.05	0.019
3	1-этилимидазол	0.56	0.79	-0.10
4	1-н-пропилимидазол	0.65	0.55	-0.26
5	1-н-бутилимидазол	0.72	0.39	-0.41
6	2-метилимидазол	0.37	1.63	0.21
7	4-метилимидазол	0.32	2.12	0.33
8	1,2-диметилимидазол	0.58	0.72	-0.14
9	1,4-диметилимидазол	0.59	0.69	-0.16
10	4,5-диметилимидазол	0.37	1.70	0.23
11	2,4-диметилимидазол	0.42	1.38	0.14
12	1,2,5-триметилимидазол	0.49	1.05	0.019
13	1,2,4-триметилимидазол	0.56	0.79	-0.10
14	1,3,4-триазол	0.35	1.86	0.27
15	Тетразол	0.51	0.96	-0.017

Примечание. Погрешность определения величины $R_f = 0,02$.

турных данных следует, что, по-видимому, способные к образованию водородных связей с этанолом имидазолиды сульфокислот практически не удерживаются неполярным сорбентом в условиях ОФ ВЭЖХ. Использование ацетонитрила в качестве модификатора приводит к ослаблению водородных связей и увеличению удерживания октадецильными группами. По-видимому, в случае азолидов сульфокислот образование водородных связей с соответствующим элюентом играет определяющую роль в их хроматографическом поведении. В то же время для производных имидазола также важно взаимодействие молекул сорбата с элюентом, которое в этом случае осуществляется за счет неподеленной электронной пары атома азота имидазольного ядра, способной вступать в донорно-акцепторные взаимодействия с $-CN$ группой подвижной фазы [11]. Сила этих взаимодействий зависит от основности атома азота, на величину которой влияют заместители.

Окончательные выводы о влиянии природы сорбента и элюента на поведение производных пятичленных гетероциклов в условиях ВЭЖХ можно будет сделать при использовании нормально-фазного варианта ЖХ и элюентов разной полярности.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке ФЦП "Интеграция", код темы ИО588.

Литература

- [1] Наметкин С.С. Гетероциклические соединения. М.: Наука, 1981. С. 259–263.

- [2] Органическая химия/ Под ред Н.К.Кочеткова. М.: Химия. 1985. 750 с.
- [3] Досон Р., Эллиот Д., Эллиот У. и др. Справочник биохимика. М.: Мир. 1991. 342 с.
- [4] Ханч К. Об использовании количественного соотношения структура–активность (КССА) при конструировании лекарств// Хим.-фарм. журн. 1980. № 10. С. 15–29.
- [5] Руководство по современной тонкослойной хроматографии / Под ред. проф. О.Г. Ларионова М.: ИС РАН по хроматографии. 1994. 310 с.
- [6] Григорьева Д.Н., Васильев А.В., Головня Р.В. Влияние внутримолекулярных взаимодействий на изменение свободной энергии сорбции в гомологических рядах бифункциональных соединений// Журн. аналит. химии. 1991. Т. 46. № 2. С. 283–291.
- [7] Журавлева И.Л., Головня Р.В., Теренина М.Б., Григорьева Д.Н. Газохроматографическое поведение некоторых несимметричных третичных аминов// Журн. аналит. химии. 1981. Т.36. № 5. С. 968–975.
- [8] Головня Р.В., Григорьева Д.Н., Семина Л.А. Новый вид корреляционной зависимости изменения липофильности в гомологических рядах органических соединений// Хим.-фарм. журнал. 1991. № 5. С. 53–55.
- [9] Андерсон А.А. Жидкостная хроматография аминсоединений. Рига: Зинатне, 1984. 295 с.
- [10] Полякова Ю.Л., Буланова А.В., Егорова К.В. и др. Связь энергетических характеристик и индекса Рандича имидазола и некоторых азолидов сульфокислот с хроматографическим удерживанием// Известия РАН. Сер. хим. 2000. № 8. С. 1401–1404.
- [11] Григорьева О.Б., Курбатова С.В., Земцова М.Н. и др. Влияние строения замещенных цинхониновых кислот на их удерживание в условиях обращенно-фазовой ВЭЖХ// Журн. физич. химии. 2002. Т. 76. № 5. С. 927–931.

LIQUID CHROMATOGRAPHY OF SOME FIVEMEMBER HETEROCYCLES DERIVATIVES⁵

© 2002 N.V. Solovova, S.V. Kurbatova,⁶ Z.P. Belousova,⁷ D.M. Osokin⁸

Chromatographic behaviour of some azoles derivatives is investigated using high resolution liquid chromatography. Retention factor's values are obtained for the reverse phase variant of liquid chromatography. Influence of nature of substitute at heterocycles and steric factor on the chromatographic retention is shown.

Поступила в редакцию 31/X/2002.

⁵Communicated by Dr. Sci. (Chemistry) Prof. L.A. Onuchak.

⁶Solovova Natalia Valentinovna, Kurbatova Svetlana Victorovna (curbatsv@ssu.samara.ru), Dept. of General Chemistry and Chromatography, Samara State University, Samara, 443011, Russia.

⁷Belousova Zoya Petrovna, Dept. of Organic Chemistry, Samara State University.

⁸Osokin Dmitry Mikhailovich, Moscow State University, Moscow, 119899, Russia.