

ВЫСОКОЭФФЕКТИВНАЯ ЖИДКОСТНАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ АМИДОВ ЦИНХОНИНОВЫХ КИСЛОТ¹

© 2004 А.В. Воронков, Ю. Воронкова, С.В. Курбатова,² О.Г. Ларионов³

Получены данные о хроматографическом удерживании амидов замещенных цинхониновых кислот в обращенно-фазовом варианте высокоэффективной жидкостной хроматографии. Проанализировано влияние различных электронодонорных и электроноакцепторных заместителей в хинолиновом кольце на хроматографическое поведение производных цинхониновых кислот в условиях ВЭЖХ. Рассчитаны некоторые физико-химические и структурные параметры сорбатов.

Моделирование лекарственных препаратов с заданными свойствами является одной из актуальных задач современных химии и фармакологии. С этой целью исследуют взаимосвязь между строением биологически активных веществ и проявляемыми ими физико-химическими свойствами, и, в частности, хроматографическим удерживанием. Одним из наиболее перспективных методов установления таких соотношений служит хроматография, поскольку известно, что хроматографическое удерживание полностью определяется природой сорбата, сорбента и элюента. Особенно эффективным оказывается жидкостный вариант хроматографии, так как варьирование в широких пределах природы и состава подвижной и неподвижной фаз позволяет выбрать хроматографическую систему, в наибольшей степени характеризующую структуру сорбата [1, 2]. Посредством высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) оказывается возможным анализировать количественные соотношения "структура – свойство" для сложных полифункциональных соединений, какими являются, например, производные цинхониновых кислот.

Многие замещенные цинхониновые кислоты (производные 4-карбокси-хинолина) синтезированы сравнительно недавно, однако они уже привлекли внимание исследователей как потенциальные лекарственные препараты с анестезирующим, противовоспалительным, анальгетическим и проти-

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

²Воронков Андрей Владимирович, Воронкова Юлия, Курбатова Светлана Викторовна (curbatsv@ssu.samara.ru), кафедра общей химии и хроматографии Самарского государственного университета, 443011, Россия, г. Самара, ул. Акад. Павлова, 1.

³Ларионов Олег Георгиевич, Институт физической химии РАН, Россия, г. Москва, Ленинский пр., 31.

вораковым действием [3, 4]. В литературе описаны свойства галоидных, алкильных, тиенильных и некоторых других производных цинхониновых кислот [5, 6]. Нам представлялось интересным исследование соединений, в состав которых входят такие фармакофоры, как хинолиновое кольцо и амидная группа.

В связи с этим целью настоящей работы явилось исследование влияния структуры амидов замещенных 4-хинолинкарбоновых кислот на их хроматографическое поведение в условиях высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

Экспериментальная часть

В работе были исследованы вещества, структурные формулы которых представлены в таблице. Эксперимент проводили на жидкостном хроматографе Милихром А02 "Knauer" с УФ спектрофотометрическим детектором при длине волны $\lambda = 270$ нм в условиях ОФ ВЭЖХ. Для хроматографического разделения использовали стальные насадочные колонки длиной 8 см, внутренним диаметром 2 мм, размер частиц сорбента — 7 мкм. В качестве адсорбента использовали Нуклеосил С18. Элюирование велось в градиентном режиме при объемной скорости 200 мкл мин от смеси ацетонитрил вода-НЗРО₄ (рН=3, 3:7) до ацетонитрила и в изократическом режиме при соотношении ацетонитрил – вода 7:3 и 1:1. Пробу сорбатов готовили растворением кристаллических веществ в этаноле. Удерживание исследованных соединений характеризовали величиной фактора удерживания (k), рассчитанного по формуле

$$k = \frac{t_R - t_M}{t_M},$$

где t_R — время удерживания исследуемого вещества, t_M — время удерживания несорбирующегося компонента (нитрат калия). Полученные величины удерживания приведены в таблице.

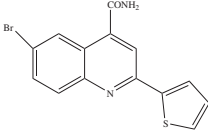
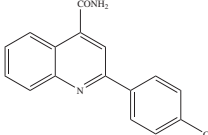
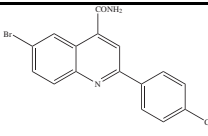
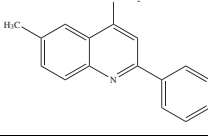
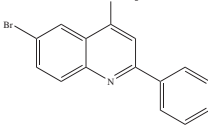
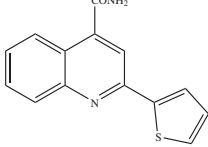
Значения энергии гидратации (E_h), мольного объема (V), коэффициента распределения в системе н-октанол – вода ($\lg P$), поляризуемости (α) и дипольного момента (μ) были рассчитаны полуэмпирическим методом РМЗ с полной оптимизацией геометрии молекул с использованием программы HyperChem 7.0.

Обсуждение результатов

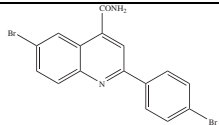
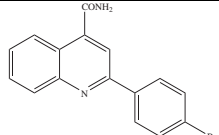
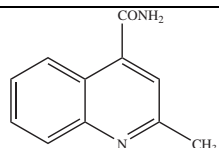
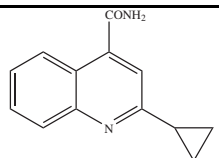
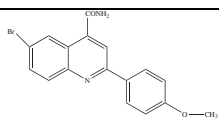
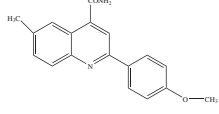
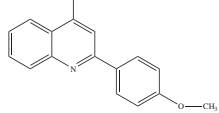
Как известно, хроматографическое удерживание в жидкостной хроматографии определяется совокупностью межмолекулярных взаимодействий в системе "сорбат – сорбент – элюент", которые, в свою очередь, связаны с характером распределения электронной плотности в молекулах – участниках процесса. Исследованные вещества представляют собой полифункциональ-

Таблица

**Фактор удерживания и физико-химические характеристики амидов
цинхониновых кислот**

№ П/П	Соединение	К ОФ, 1:1	E_h , ккал/моль	V, Å ³	lgP	M_R	α	μ
1		2.233	-8.29	781.34	3.14	79.78	32.8	3.415
2		1.785	-8	774.82	3.57	78.13	31.85	1.668
3		4.721	-7.68	836.58	4.36	85.75	34.48	2.928
4		0.767	-7.28	785.6	3.52	78.37	31.76	2.157
5		2.273	-7.93	800.16	3.84	80.95	32.55	1.857
6		1.127	-9.13	722.05	2.34	72.16	30.18	2.662

Окончание таблицы

№ П/П	Соединение	К ОФ, 1:1	E_h , ккал/моль	V, Å ³	lgP	M_R	α	μ
7		6.233	-7.85	869.46	4.64	88.57	35.18	2.816
8		2.527	-8.14	807.99	3.84	80.95	32.55	3.451
9		0.107	-6.84	589.78	1.62	53.46	22.1	2.747
10		0.093	-6.29	665.28	1.99	60.65	25	2.823
11		0.100	-9.83	884.7	3.59	87.41	35.02	3.17
12		0.893	-9.04	875.88	0.27	84.83	34.23	3.243
13		0.38	-10.14	823.05	2.8	79.79	32.4	3.141

ные соединения, основным структурным фрагментом которых является хинолиновое ядро. Наличие нескольких различных по природе заместителей, вступающих в сопряжение с хинолиновым фрагментом, сказывается на характере распределения электронной плотности в молекуле замещенной цинхониновой кислоты.

В ОФ варианте ВЭЖХ взаимодействие молекул сорбата с неполярной гидрофобной поверхностью неподвижной фазы определяется главным образом дисперсионными силами, величина которых, в свою очередь, зависит от таких физико-химических и структурных характеристик молекул, как поляризуемость, объем, молярная рефракция и гидрофобность. При наличии полярных групп в молекуле сорбата осуществляются специфические межмолекулярные взаимодействия с элюентом, в результате которого удерживание неполярным сорбентом уменьшается. Значительную роль играют также размеры молекул сорбата, их геометрия и относительное расположение функциональных групп в основном структурном фрагменте [1].

Хроматографическое удерживание сложных по химической природе сорбатов можно анализировать на основе аддитивных схем, в соответствии с которыми вклад отдельных структурных фрагментов в величину фактора удерживания является более или менее постоянной величиной, не зависящей от строения остальной части молекулы. Основность атома азота в амидной группе изменяется при переходе от алифатических к ароматическим амидам. В ароматических соединениях появляется возможность дополнительной делокализации электронной плотности за счет сопряжения с π -системой безольного кольца или гетероцикла, что дополнительно понижает основные свойства.

В качестве элюента нами использован ацетонитрил, имеющий высокое сродство к исследуемым соединениям. В качестве оптимального состава подвижной фазы было выбрано соотношение ацетонитрил – вода 1:1. Вне зависимости от строения молекул амидов замещенных цинхониновых кислот основной вклад в их межмолекулярные взаимодействия с сорбентом и элюентом вносит хинолиновый фрагмент с неподеленной электронной парой атома азота, наличие которого приводит к возникновению в молекулах значительного дипольного момента. Как следует из данных, представленных в таблице, практически все из рассмотренных соединений обладают большим дипольным моментом, особенно возрастающим при наличии заместителей разной природы в положениях 2 и 6 хинолинового кольца.

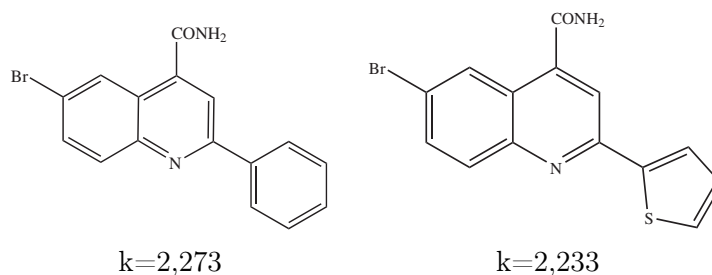
На характер межмолекулярных взаимодействий, безусловно, будет оказывать существенное влияние и атом азота амидной группы. Как известно, в амидной группе имеет место значительное взаимодействие между неподеленной электронной парой атома азота и π -электронной системой двойной связи $C=O$. Атомы амидной группировки $C(CO)N$ находятся в одной плоскости, образуя сопряженную систему связей, что приводит к изменению распределения электронной плотности и характера связей $C-N$ и $C=O$. В результате этого способность атома азота NH_2 -группы к специфическим

взаимодействиям уменьшается [7]. С другой стороны, по сравнению с молекулами, содержащими карбоксильную группу, основность атома азота гетероцикла увеличивается за счет меньшего электроноакцепторного действия амидной группы [8].

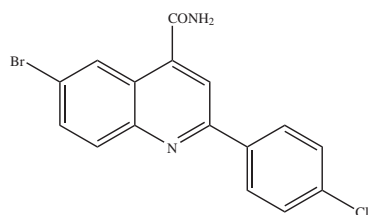
В результате наличия указанных электронных эффектов амиды проявляют способность к образованию водородных связей с донорами и акцепторами электронов, а также при самоассоциации, что позволяет рассматривать их как амфотерные соединения.

Присутствие других различных по природе заместителей, вступающих в сопряжение с хинолиновым фрагментом, также оказывает влияние на характер распределения электронной плотности в молекуле замещенной цинхониновой кислоты и, следовательно, на характер взаимодействия с сорбентом и элюентом.

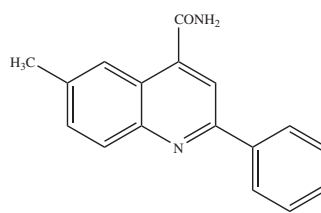
Известно, что наибольшее влияние на адсорбционную активность производных цинхониновых кислот оказывают заместители в положениях 2 и 4 хинолинового ядра, для которых максимально сопряжение с атомом азота. Электроноакцепторные заместители при этом приводят к понижению электронной плотности на атоме азота и снижению энергии адсорбции; наличие электронодонорных групп повышает величину основности атома азота [7]. Наличие фенильного или тиенильного заместителя, проявляющих отрицательный мезомерный эффект, в положении 2 хинолинового ядра приводит к понижению основности атома азота гетероцикла, уменьшению его специфического взаимодействия с молекулами ацетонитрила, и, таким образом, к увеличению удерживания амидов. В целом факторы удерживания таких соединений в условиях ОФ ВЭЖХ достаточно близки.



Введение атома галогена в фенильный радикал (переход от фенила к о-хлорфенилу) увеличивает фактор удерживания почти в 2 раза, а замена атома брома в положении 6 на метильную группу значительно снижает удерживание:

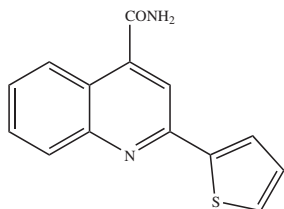


k=4,721

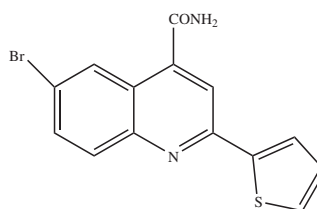


k=0,767

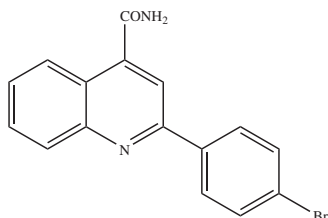
В целом введение в молекулу амидов атома брома приводит к возрастанию фактора удерживания вне зависимости от места введения галогена: из приведенных ниже примеров следует, что фактор удерживания увеличивается при введении атома брома и в положение 6, и при его введении в структуру заместителя, находящегося в положении 2:



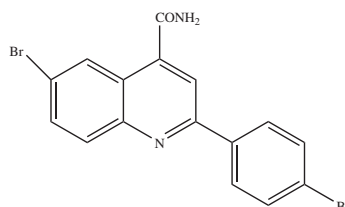
k=1,127



k=2,233



k=2,527



k=6,233

Следовательно, при изучении закономерностей хроматографического удерживания сложных полифункциональных соединений, какими являются амиды замещенных цинхониновых кислот, необходимо учитывать влияние заместителей и в других положениях хинолинового кольца. В частности, для положения 6, несмотря на то, что заместитель расположен во втором ароматическом кольце по отношению к реакционному центру и, таким образом, не задействован в сопряжении, влияние его природы на хроматографическое удерживание оказывается существенным.

Таким образом, характер удерживания исследованных соединений определяется как распределением электронной плотности в молекуле (индуктивный и мезомерный эффекты), так и стерическим фактором, при этом

оценить конкретный вклад каждого из проявляемых эффектов достаточно сложно. Однако из сопоставления величин удерживания исследованных соединений и их электронных характеристик (поляризуемости, объема, дипольного момента и пр.) следует, что, по-видимому, преобладающую роль играют электронные факторы.

Литература

- [1] Шатц В.Д., Сахартова О.В. Высокоэффективная жидкостная хроматография. Рига: Зинатне, 1988. 390 с.
- [2] Современное состояние жидкостной хроматографии / Под ред. Д. Киркланда. М.: Мир. 1974. 325 с.
- [3] Черноус В.А., Братенко М.Я, Вовк М.В. и др. Синтез и антимикробные свойства гидразидов пиразол-4-карбоновых кислот и N-(4-пиразоил)гидразонов ароматических и гетероароматических альдегидов // Хим.-фарм. журнал. 2001. №4. С. 26.
- [4] Глушков В.А., Филитис Л.Н., Марданова Л.Г. Синтез и туберкуло-статическая активность арилгидразидов α -функционализированных α -алкилкарбоновых кислот // Хим.-фарм. журнал. 2001. №3. С. 11–13.
- [5] Григорьева О.Б., Курбатова С.В., Земцова М.Н. и др. Жидкостная хроматография некоторых производных цинхониновых кислот // Журн. физич. химии. 2001. №11. С. 2048–2053.
- [6] Григорьева О.Б., Курбатова С.В., Ларионов О.Г. и др. Связь строения замещенных цинхониновых кислот с их удерживанием в условиях обращенно-фазового варианта ВЭЖХ // Журн. физич. химии. 2002. №5. С. 927–931.
- [7] Джилкрист Т. Химия гетероциклических соединений. М.: Мир, 1996. 463 с.
- [8] Нейланд О.Я. Органическая химия. М: Мир, 1974. 378 с.

Поступила в редакцию 12/I/2005;
в окончательном варианте — 12/I/2005.

HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY OF CINCHONA ACID AMIDES⁴

© 2004 A.V. Voronkov, Y. Voronkova, S.V. Kurbatova⁵ O.G. Larionov⁶

Some cinchona acid amides (4-carboxyquinoline derivatives) behaviour is investigated under conditions of liquid sorption chromatography. Its retention factor is determined in reversed-phase (RP) high performance liquid chromatography (HPLC). The effect of different electron donor and electron acceptor factors is analysed. The physical, chemical and structural sorbate characteristics are estimated.

Paper received 12/I/2004.

Paper accepted 12/I/2004.

⁴Communicated by Dr. Sci. (Chem.) Prof. L.A. Onuchak.

⁵Voronkov Andrey Vladimirovitch, Voronkova Yulia, Kurbatova Svetlana Viktorovna (curbatsv@ssu.samara.ru), Dept. of General Chemistry and Chromatography, Samara State University, Samara, 443011, Russia.

⁶Larionov Oleg Georgievitch, Institute of Physical Chemistry of RAS, Moscow, Russia.