



УДК 543.544.5

Удержание некоторых производных индола в условиях обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии

Шафигулин Р.В., Буланова А.В., Туманин А.Н., Пурьгин П.П.

ГОУ ВПО «Самарский государственный университет», Самара

Поступила 11.12.2008

Аннотация

Исследованы закономерности удерживания некоторых производных индола в условиях обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии (ОФ ВЭЖХ). Показана частичная применимость сольвофобной теории Хорвата в жидкостной хроматографии для азольных производных индола.

Ключевые слова: Высокоэффективная жидкостная хроматография, производные индола, хроматографическое удержание.

Laws of keeping of some derivatives indole in the reversed-phase highly performance liquid chromatography (RP HPLC) are investigated. Partial applicability is shown the keeping theory Horvath in a liquid chromatography forazole derivatives indole.

Key words: Highly performance liquid chromatography, derivatives indole, chromatographic retention.

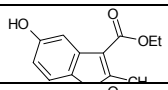
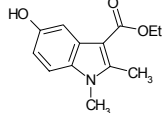
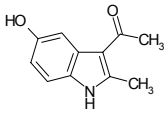
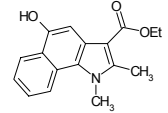
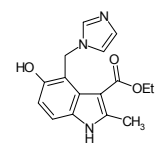
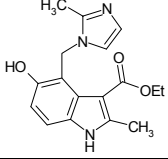
Введение

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 химии [1, 2]. Производные индола различного строения представляют собой весьма важный класс органических соединений, характеризующихся широким спектром биологической активности. Кроме того, индольное кольцо, как известно, входит в состав многих важных соединений, таких как триптофан, триптамин, серотонин, β -индолилуксусная кислота. Поэтому производные индола могут служить в качестве модельных соединений при определении количественных соотношений "структура – свойство" (Quantitative Structure – Property Relationship – QSPR) [3] и "структура – активность" (Quantitative Structure – Activity Relationship – QSAR) [4, 5]. Этот регрессионный метод, основанный на нахождении корреляционных уравнений, позволяющих связать свойство со структурой, широко используется в мировой практике. Эффективным физико-химическим методом для

установления таких соотношений является хроматография. Хроматографические методы позволяют выявлять типы межмолекулярных взаимодействий, в частности количественные характеристики свойств соединений для веществ, принадлежащих к одному классу соединений, но имеющих различные заместители.

Целью настоящей работы являлось исследование закономерностей хроматографического удерживания впервые синтезированных производных индола в условиях обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии (ОФ ВЭЖХ). Структурные формулы и названия этих соединений приведены в таблице 1. Структура и чистота синтезированных индолов подтверждены ИК- и ЯМР- методами.

Таблица 1. Названия и структурные формулы исследованных соединений

№	Название	Формула
1	этиловый эфир 5-гидрокси-2-метил-1 <i>H</i> -индол-3-карбоновой кислоты	
2	этиловый эфир 5-гидрокси-1,2-диметил-1 <i>H</i> -индол-3-карбоновой кислоты	
3	3-ацил-5-гидрокси-2-метил-индол	
4	этиловый эфир 5-гидрокси-1,2-диметил-1 <i>H</i> -бензо[<i>g</i>]индол-3-карбоновой кислоты	
5	этиловый эфир 5-гидрокси-2-метил-4-(1 <i>H</i> -имидазол-1-илметил)-1 <i>H</i> -индол-3-карбоновой кислоты	
6	этиловый эфир 5-гидрокси-2-метил-4-(2-метил-1 <i>H</i> -имидазол-1-илметил)-1 <i>H</i> -индол-3-карбоновой кислоты	

Эксперимент

Хроматографический эксперимент выполнен на жидкостном хроматографе «Милихром-1» (г. Орел, Россия) со шприцевым насосом, с УФ-спектрофотометрическим детектором с диапазоном длин волн 190 – 360 нм. В качестве сорбента использовали кремнезем Диасорб 130С16Т (размеры хроматографической колонки: 80х2 мм) с размером частиц 7 мкм. Для обработки результатов применяли программу “МультиХром”, версия 1,47b (Ampersand Ltd.).

Квантово-химические расчеты были осуществлены с использованием программы *HyperChem 7 Professional* в рамках метода PM3 с полной оптимизацией геометрии молекул. Определены значения молекулярного объема с учетом ван-дер-ваальсовых расстояний (V), поляризуемости (α), площади поверхности молекул (S),

значения дипольных моментов (μ), молекулярной рефракции (RM), логарифма коэффициента распределения в системе н-октанол-вода ($\log P$). Результаты расчета представлены в таблице 2.

Таблица 2. Физико-химические параметры производных индола

№	μ , D	α , Å ³	V , Å ³	MR , см ³	$\lg P$	M_r
1	2,213	23,19	664,63	61,20	0,77	219,24
2	4,38	25,02	708,12	66,09	1,01	233,27
3	4,33	20,72	574,28	55,23	0,94	189,21
4	4,59	31,21	808,84	84,87	0,08	283,33
5	7,29	31,85	843,20	84,66	-0,23	299,33
6	6,95	33,68	891,74	88,73	-0,02	313,36

Примечание. Номера соединений в таблице соответствуют нумерации, приведенной в таблице 1.

Для изучения влияния состава подвижной фазы на хроматографическое удерживание брали смесь ацетонитрила с водой в разных объемных соотношениях (90/10, 80/20, 70/30, 60/40, 50/50, 40/60).

Времена и факторы удерживания исследованных соединений представлены в таблице 3.

Таблица 3. Времена и факторы удерживания исследованных сорбатов при использовании подвижных фаз разного состава

№	Состав подвижных фаз (ацетонитрил/вода, об. %)											
	90/10		80/20		70/30		60/40		50/50		40/60	
	$t_{R,c}$	k	$t_{R,c}$	k	$t_{R,c}$	k	$t_{R,c}$	k	$t_{R,c}$	k	$t_{R,c}$	k
1	105,3	0,167	108,1	0,273	116,6	0,402	132,2	0,583	155,6	0,880	207,9	1,262
2	111,3	0,234	118,2	0,391	130,6	0,571	156,9	0,878	201,5	1,435	313,9	2,416
3	111,7	0,238	118,3	0,392	130,8	0,573	158,0	0,892	200,4	1,422	314,9	2,427
4	126,3	0,358	145,3	0,717	179,8	1,151	261,9	1,967	454,4	3,972	947,5	9,897
5	377,3	3,146	226,0	1,607	206,0	1,557	194,9	1,391	202,2	1,424	221,7	1,549
6	385,0	3,230	227,4	1,623	208,0	1,583	203,1	1,491	207,5	1,487	241,9	1,782

Примечание. Номера соединений в данной таблице соответствуют их нумерации, приведенной в таблице 1.

С увеличением содержания воды в подвижной фазе происходит возрастание времен удерживания для первых четырех соединений, что объясняется сольвофобной теорией удерживания. Наличие имидазольного и метилимидазольного заместителей (соединения 5 и 6) обуславливает уменьшение удерживания этих сорбатов с увеличением объемной доли воды в элюенте с 10 % до 40 % об. Это можно объяснить тем, что эти соединения не являются планарными и ориентированы индольными кольцами на неполярную поверхность сорбента, а имидазольные заместители обращены в подвижную фазу. Вследствие этого азольные производные индолов склонны образовывать ассоциаты с молекулами воды за счет имидазольных колец, т. к. имидазол является органическим основанием и может образовывать водородные связи с молекулами воды за счет пары электронов на атоме азота. Квантово-химические расчеты показали, что для 5 и 6 соединений факторы гидрофобности отрицательны (табл. 2), что свидетельствует о их хорошей растворимости в воде. Именно этот факт может частично объяснить то, что при увеличении объемной доли воды с 10 до 40 % об. в элюенте удерживание

этих соединений уменьшается. При дальнейшем увеличении объемной доли воды, удерживание азольных производных индола начинает подчиняться сольвофобной теории удерживания в жидкостной хроматографии. По-видимому, при дальнейшем увеличении концентрации воды в элюенте склонность к ассоциации «сорбат – вода» уменьшается за счет увеличения числа ассоциатов «вода – вода»; вследствие этого сорбату энергетически выгоднее неспецифически взаимодействовать с неполярной неподвижной фазой, а не участвовать в специфических взаимодействиях с молекулами воды.

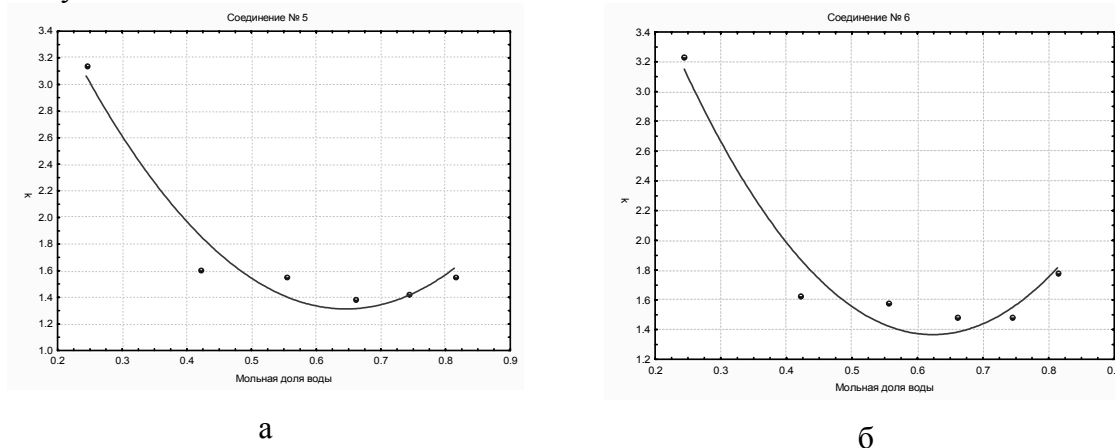


Рис. 1. Зависимость фактора удерживания от мольной доли воды в элюенте для:

а) соединения № 5; б) соединения № 6.

Из рис. 1 видно, что зависимости фактора удерживания от мольной доли воды носят экстремальный характер, на которых наблюдается минимальное удерживание имидазольных производных индола при определенных объемных концентрациях воды в элюенте.

Анализируя таблицу 3 видно, что при постоянной концентрации ацетонитрила в элюенте удерживание производных индола сильно зависит от природы заместителей и от их взаимного расположения. Рассмотрим состав элюента с 70 % - ым содержанием ацетонитрила. Введение метильного заместителя непосредственно к атому азота в соединении № 2 резко увеличивает значение фактора удерживания по сравнению с соединением № 1. Это, очевидно, связано с тем, что возникает стерический эффект и блокируется свободная электронная пара “пиррольного” атома азота и, таким образом, ослабевают специфические взаимодействия с компонентами подвижной фазы. Замечено, что производное бензиндола (соединение № 4) выходит из колонки медленнее производных индола. Это объясняется тем, что молекула бензиндола содержит дополнительную π – электронную систему, вследствие чего увеличивается его дисперсионное взаимодействие с неполярными октадецильными группами неподвижной фазы. Добавление имидазольного (соединение №5) и метилимидазольного (соединение №6) заместителей в структуру сорбатов также приводит к увеличению их удерживания. По-видимому, это связано с увеличением объема молекулы и поляризуемости молекул этих соединений (табл. 2), вследствие чего усиливаются их дисперсионные взаимодействия с неполярной неподвижной фазой. Метилимидазольное производное элюирует из колонки медленнее имидазольного. Это связано с наличием в молекуле метильной группы, и как следствие, увеличением гидрофобности. Такая закономерность удерживания

нарушается при увеличении объемной концентрации воды в подвижной фазе (с 40% об. до 60 % об.). Это может быть обусловлено тем, что с увеличением полярности элюента в целом, определяющую роль в удерживании будет играть дипольный момент молекул сорбата, который у азольных производных индола значительно выше по сравнению с другими четырьмя соединениями.

Таким образом, в настоящей работе исследованы зависимости удерживания некоторых производных индола от состава подвижной фазы и от наличия в молекулах сорбатов различных заместителей. Показано что введение гидрофобных заместителей в молекулу сорбатов увеличивает их хроматографическое удерживание. Однако порядок выхода производных индола меняется в зависимости от состава подвижной фазы. Удерживание азольных производных индола не может быть описано с помощью сольвофобной теории в широком диапазоне концентраций воды в элюенте.

Список литературы

1. Зефиоров Н.С., Палюлин В.А. Материалы I международной конференции «Химия и биологическая активность азотистых гетероциклов и алколоидов». М., 2001. С.80-85.
2. Юнусов М.С. // Рос. хим. журнал. 2006. Т. L. № 2. С. 203-210.
3. Ponac R., Amat L., Carbo – Dorca R. Molecular basis of quantitative structure – properties relationships (QSPR): A quantum similarity approach // J. Computer – Aided Molecular Design. 1999. № 13. P. 259 – 270.
4. Duchowicz R., Vitale G., Castro A., Fernandez M., Caballero J. QSAR analysis for heterocyclic antifungals // Bioorganic&Medicinal Chemistry. 2007. № 15. P. 2680 – 2689.
5. Smith R. M., Perlman P. S. In QSAR and Molecular Modelling. Concepts, Computational Tools and Biological Applications // J. R. Prous Science Publishers. Barcelona. 1995. P. 222.

Шафигулин Роман Владимирович - к.х.н., ассистент кафедры общей химии и хроматографии, Самарский государственный университет, тел. (846)334-54-47, факс (846)334-54-17

Буланова Анджела Владимировна – д.х.н., профессор кафедры общей химии и хроматографии, Самарский государственный университет, г. Самара, тел. (846)334-54-47 (раб.)

Туманин Александр Николаевич - ассистент кафедры органической химии, Самарский государственный университет, г. Самара

Пурьгин Петр Петрович – д.х.н., профессор кафедры органической химии Самарский государственный университет, Самара

Shafigulin Roman V. - Candidate of science Chemistry, assistant of department general chemistry and chromatography, Samara State University, E-mail: shafiro@mail.ru

Bulanova Andgela V. - doctor of science Chemistry, professor of department general chemistry and chromatography, Samara State University, Samara

Tumanin Alexander N. - assistant of department organic chemistry, Samara State University, Samara

Purigin Petr P. - doctor of science Chemistry, professor of department organic chemistry, Samara State University, Samara