

На правах рукописи

Харитонова

Харитонова Ольга Валериевна

**ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ ЗАКОНОМЕРНОСТИ УДЕРЖИВАНИЯ
НЕКОТОРЫХ ПРОИЗВОДНЫХ АЗОТСОДЕРЖАЩИХ
ГЕТЕРОЦИКЛОВ В ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ**

02.00.04 – физическая химия

Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата
химических наук



Самара – 2009

Работа выполнена в ГОУ ВПО «Самарский государственный университет»

Научный руководитель:

доктор химических наук, профессор

Курбатова Свеклана Викторовна

Официальные оппоненты:

доктор химических наук, профессор

Панкратов Алексей Николаевич

доктор химических наук, профессор

Лобачев Анатолий Леонидович

Ведущая организация:

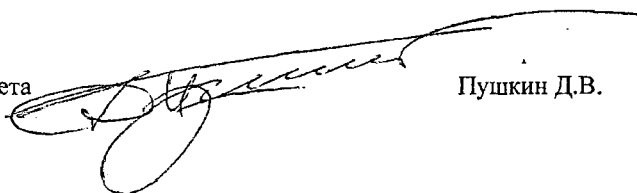
Учреждение РАН "Институт физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина", г. Москва

Защита состоится «21» октября 2009 г. в 15⁰⁰ часов на заседании диссертационного совета Д212.218.04 при ГОУ ВПО «Самарский государственный университет» по адресу: 443011, г. Самара, ул. Академика Павлова, 1, зал заседаний.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке ГОУ ВПО «Самарский государственный университет».

Автореферат разослан «17» сентября 2009 года

Ученый секретарь
диссертационного совета



Пушкин Д.В.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность работы. Возрастающий в последнее время интерес исследователей к ароматическим пятичленным гетероциклам обусловлен широким спектром их возможного применения. Азолы и их производные различного строения, проявляющие различные виды биологической активности, уже нашли широкое применение в качестве лекарственных препаратов с аденоблолирующим, антигипертензивным, противомикробным и другими видами фармакологического действия. Весьма интересным представляется использование производных имидазола для создания материалов с нелинейными оптическими свойствами при разработке фотонных технологий и биосенсоров в электронике, оптике и других отраслях техники. Исследуется возможность применения некоторых азолов в качестве ионных жидкостей с уникальным набором свойств.

В связи с высокими потенциальными возможностями технологического и биотехнологического применения органических гетероциклов весьма перспективным в настоящее время является изучение их физико-химических свойств, при этом значительная роль в исследовании азолов отводится высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

Азолы различного строения используются, кроме того, в качестве моделей при решении проблемы установления количественных соотношений "строение - свойство", "строение - активность", а также «строение – хроматографическое удерживание». Взаимосвязь между строением и хроматографическим удерживанием ароматических гетероциклов в газовой хроматографии достаточно подробно представлена в литературе. В меньшей степени исследовано удерживание подобных соединений в условиях высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

Следует также отметить, что бурное развитие биотехнологических производств ужесточает требования к чистоте получаемых продуктов, поэтому расширение базы данных по хроматографическому удерживанию азолов позволит не только более полно раскрыть механизм сорбции этих соединений, но и разработать методики контроля, облегчить процедуру идентификации новых, впервые синтезированных соединений.

Целью работы явилось установление физико-химических особенностей хроматографического удерживания некоторых гетероциклических азотсодержащих соединений в условиях обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии, изучение влияния физико-химических характеристик хроматографической системы на хроматографическое поведение азолов.

В соответствии с поставленной целью определены основные **задачи работы:**

- получение экспериментальных данных о хроматографическом удерживании азолов различного строения в условиях обращенно-фазовой ВЭЖХ;
- установление влияния строения сорбатов, их физико-химических параметров на удерживание в выбранной хроматографической системе;

- анализ влияния природы и состава элюента на термодинамические характеристики сорбции азолов;
- исследование кислотно-основного равновесия и электрической проводимости азолов в водно-органической среде (подвижной фазе) с целью определения условий хроматографирования.

Научная новизна

1. Исследовано и охарактеризовано хроматографическое поведение 16 впервые синтезированных азотсодержащих гетероциклов в условиях обращенно-фазовой ВЭЖХ.
2. Проведено систематическое исследование кислотно-основного равновесия в водно-ацетонитрильной подвижной фазе, показано его влияние на процесс хроматографического удерживания.
3. Выявлен ряд закономерностей, связывающих строение новых азотсодержащих гетероциклов, их удерживание и физико-химические параметры хроматографической системы.
4. Исследовано влияние природы элюента с учетом кислотно-основного равновесия в водно-органическом растворителе (система «сорбат-элюент») на удерживание азолов в условиях обращенно-фазовой ВЭЖХ.

Практическая значимость работы. Полученные экспериментальные данные по удерживанию азолов и установленные физико-химические закономерности позволяют прогнозировать их хроматографическое поведение, а также оптимизировать условия разделения и идентификации исследованных соединений в сложных смесях. Результаты анализа влияния кислотно-основного равновесия азотсодержащих гетероциклов в хроматографической системе на их удерживание позволят более обоснованно подойти к выбору элюентов для осуществления хроматографических разделений полифункциональных соединений.

На защиту выносятся:

- сравнительная характеристика хроматографического удерживания 27 производных азотсодержащих гетероциклов (16 из них синтезированы впервые) в условиях ОФ ВЭЖХ при различных составах подвижной фазы;
- результаты потенциометрического и кондуктометрического исследования растворов элюата, анализ кислотно-основного равновесия растворов и электрической проводимости сорбатов в водно-органической среде;
- результаты систематического исследования влияния физико-химических характеристик хроматографической системы на удерживание ароматических гетероциклов.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 12 печатных работ, в том числе 4 статьи и тезисы 8 докладов.

Апробация работы. Материалы диссертационной работы докладывались на X Международной конференции «Теоретические проблемы химии поверхности, адсорбции и хроматографии» (г. Москва, 24-28 апреля 2006 г), на Всероссийском симпозиуме «Хроматография и хроматографические приборы» (г.

Москва, 23-27 апреля 2007 г), на XVI Международной конференции по химической термодинамике в России (г. Суздаль, 1-6 июля 2007г), на Всероссийской конференции «Теория и практика хроматографии. Хроматография и нанотехнологии» (г. Самара, 6-10 июля 2009 г).

Структура и объем работы. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, экспериментальной части, обсуждения результатов, выводов и списка цитируемой литературы, включающего 137 наименований, и приложения. Материал диссертационной работы изложен на 154 страницах машинописного текста, содержит 48 рисунков и 23 таблицы (в том числе 4 рисунка и 11 таблиц в приложении).

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении обосновывается актуальность исследования, сформулированы цель и задачи, отражены научная новизна и практическая значимость работы, перечислены положения, выносимые на защиту.

Первая глава представляет собой обзор литературы, в котором отражены основные физико-химические характеристики азолов и особенности их хроматографического поведения в жидкостной хроматографии. Особое внимание уделено вопросам влияния строения азотсодержащих гетероциклов и природы подвижной фазы на хроматографическое удерживание азолов. Описан широкий спектр различных видов биологической активности, проявляемой производными азолов.

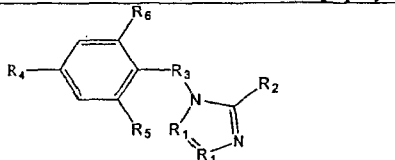
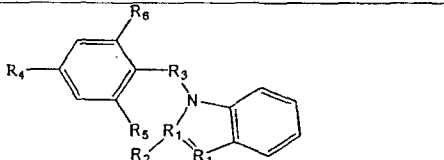
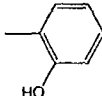
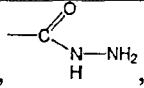
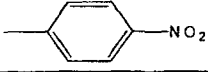
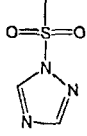
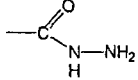
Вторая глава посвящена описанию объектов и методов исследования. В качестве объектов исследования были выбраны пятичленные ароматические гетероциклы с различным числом атомов азота, формулы которых представлены в таблице 1.

Исследованные соединения синтезированы на кафедре органической химии Самарского государственного университета под руководством к.х.н. Белосусовой З.П. Структура и чистота исследованных образцов подтверждена данными ИК- и ЯМР спектроскопии, а также элементным анализом.

Методы исследования. Для решения поставленных задач использовали обращенно-фазовую высокоэффективную жидкостную хроматографию, потенциометрию и кондуктометрию.

Исследование хроматографического поведения веществ проводили на жидкостном хроматографе Biotronik Chromatographiesystem BT 8100 HPLC-Pump с применением спектрофотометрического быстросканирующего ультрафиолетового детектора марки BT 8200 HPLC-UV/VIS Detektor. Детектирование осуществляли при длинах волн 220 нм, 254 нм, 280 нм. Использовали колонку длиной 150 мм, внутренним диаметром 4 мм, заполненную сорбентом Diaspher-100-C₁₈. Размер зерен сорбента 6 мкм, масса сорбента 1 грамм. Удельная площадь поверхности сорбента составляла 360 м²/г.

Общая формула исследованных соединений

	
$R_1 = \text{N}, \text{CH}$	$R_4 = \text{H}, \text{CH}_3, \text{OH}, (\text{CH}_3)_2\text{CH},$  
$R_2 = \text{H}, \text{CH}_3, \text{Ph},$ 	$R_5 = \text{H}, \text{OH}, (\text{CH}_3)_2\text{CH}$
$R_3 = \text{H}, \text{CH}_2, \text{SO}_2, \text{CH}_3\text{-SO}_2,$ 	$R_6 = \text{H}, (\text{CH}_3)_2\text{CH},$ 

Элюирование осуществляли в изократическом режиме. В качестве подвижной фазы применяли смесь ацетонитрил - вода (1:1, 9:7, 5:3 и 3:1 по объему). Подвижную фазу перед проведением анализа дегазировали на установке марки УЗДН-2Т и отфильтровывали. Объемная скорость потока элюента составляла 300 ± 30 мкл/мин. Растворы сорбатов готовили растворением сухих индивидуальных веществ в подходящих растворителях. Ввод пробы в колонку осуществляли при помощи дозирующей петли объемом 20 мкл. Анализ проводили из 5 параллельных измерений. Расчет величин фактора удерживания (k), относительного удерживания (r), разности дифференциальных мольных энергий сорбции Гиббса для пары рассматриваемых соединений ($\delta(\Delta G)_{i, st}$), энергии сорбции (ΔG), удельного удерживаемого объема, отнесенного к единице массы сорбента (V_g^T), удерживаемого объема, отнесенного к единице площади поверхности сорбента (V_s^T), проводили по известным формулам [1]. Полученные значения представлены в таблице 2.

Потенциометрическое исследование проводили на преобразователе ионометрическом И-500 «Аквилон» со стеклянным электродом марки ЭС-11,7. Исследовали растворы производных азолов при различных составах ацетонитрил - вода (1:1, 9:7, 5:3 и 3:1 по объему) и разных концентрациях исследуемых веществ (0,005М, 0,0025М, 0,001М и 0,0001М).

Таблица 2

Характеристики удерживания исследованных производных гетероциклов
(элюент вода-ацетонитрил 1:1 по объему)

№	Название вещества	k	г	$\delta\Delta G$ кДж/ моль	$-\Delta G$ кДж/ моль	V_g^T см ³ /г	V_s^T ·10 ³ см ³ /м ²
1	Бензол	4.216	1.000	0.000	6.597	4.275	11.87
2	Имидазол	0.296	0.070	6.748	0.119	0.299	0.83
3	2-((1Н-Имидазол-1-ил)метил)фенол	14.089	3.342	-2.939	9.536	14.287	39.69
4	2-Метил-1Н-имидазол	0.515	0.122	5.125	1.472	0.522	1.45
5	4-((2-Метил-1Н-имидазол-1-ил)метил)фенол	1.243	0.295	2.974	3.623	1.261	3.50
6	2-((1Н-Имидазол-1-ил)метил)-бензогидразид	1.213	0.288	3.032	3.565	1.231	3.42
7	4-((1Н-Имидазол-1-ил)метил)-бензогидразид	0.355	0.084	6.034	0.563	0.359	0.99
8	1-(4-Метилфенилсульфонил)-1Н-имидазол	0.550	0.130	4.969	1.627	0.556	1.54
9	1-(2,4,6-Триизопропилфенилсульфонил)-1Н-имидазол	7.432	1.763	-1.381	7.978	7.537	20.94
10	1-Фенилсульфонил-1Н-имидазол	0.550	0.130	4.969	1.627	0.556	1.54
11	1-Фенилсульфонилбензимидазол	0.527	0.125	5.066	1.531	0.534	1.48
12	2-Метилбензимидазол	0.601	0.143	4.738	1.859	0.611	1.70
13	1-(2,4,6-Триизопропилфенилсульфонил)бензимидазол	0.541	0.128	5.008	1.589	0.547	1.52
14	1-Метилсульфонил-2-метилбензимидазол	1.453	0.345	2.592	4.004	1.475	4.10
15	1-Метилсульфонилиндол	1.269	0.301	2.925	3.672	1.287	3.57
16	1-Фенилсульфонилиндол	0.589	0.139	4.807	1.790	0.594	1.65
17	Индол	2.746	0.651	1.046	5.551	2.783	7.73
18	4-(5-Метил-1Н-1,2,4-триазол-1-ил)фенол	0.467	0.111	5.355	1.242	0.475	1.32
19	1-(2,4,6-Триизопропилфенилсульфонил)-1Н-1,2,4-триазол	12.704	3.013	-2.687	9.284	12.881	35.78
20	1-Фенилсульфонил-1Н-1,2,4-триазол	2.817	0.668	0.983	5.614	2.856	7.93
21	1-(1Н-1,2,4-Триазол-1-илсульфонил)-1Н-1,2,4-триазол	0.148	0.035	8.166	-1.570	0.150	0.42
22	Бензтриазол	0.373	0.088	5.921	0.676	0.376	1.04
23	1-Фенилсульфонил-1Н-1,2,3-бензтриазол	8.086	1.918	-1.587	8.183	8.199	22.77
24	1-(2,4,6-Триизопропилфенилсульфонил)-1Н-1,2,3-бензтриазол	0.538	0.128	5.008	1.589	0.547	1.52
25	1-(4-Метилфенилсульфонил)-1Н-1,2,3-бензтриазол	11.219	2.661	-2.384	8.981	11.376	31.60
26	4-((1Н-1,2,3-Бензтриазол-1-ил)метил)фенол	1.159	0.275	3.145	3.452	1.176	3.27
27	5-(4-Нитрофенил)-1Н-тетразол	1.278	0.303	2.909	3.688	1.295	3.60
28	5-Фенил-1Н-тетразол	0.574	0.129	4.989	1.608	0.551	1.53

Измерение электрической проводимости растворов исследованных соединений проводили на кондуктометре типа ОК Ю2/1. Готовили растворы соответствующих соединений различных концентраций в смеси ацетонитрил – вода и этанол – вода в соотношении 1:1, 9:7, 5:3 и 3:1 по объему.

С использованием программы HyperChem версии 7.0 полуэмпирическим методом AM1 с полной оптимизацией геометрии молекул рассчитаны мольный объем (V , Å³), дипольный момент (μ , D), поляризуемость (α , Å³), молярная рефракция (MR, см³/моль) и коэффициент распределения в системе *n*-октанол – вода ($\log P$), значения которых представлены в таблице 3.

Таблица 3

Физико-химические характеристики некоторых исследованных азолов

Номер соединения	V , Å ³	$\log P$	MR, см ³ /моль	α , Å ³	μ , D
2	269	-0.04	19.95	7.60	3.60
3	561	1.96	50.18	19.86	2.67
4	325	-0.77	24.08	9.43	1.37
5	615	2.24	54.63	21.69	4.60
6	666	1.06	61.56	23.84	3.86
7	674	1.06	61.56	23.84	3.86
8	634	1.55	58.01	20.23	6.89
9	968	4.92	94.57	35.04	4.92
10	592	-0.11	57.78	18.40	5.11
13	1045	5.62	110.56	42.31	5.45
14	580	-0.97	58.56	18.59	3.48
18	552	1.01	49.86	19.15	4.34
19	965	4.45	94.54	34.33	4.52
20	567	0.87	51.97	17.81	4.76
21	507	2.72	45.36	14.39	1.84
24	1036	5.79	11.16	41.60	7.93
25	739	2.68	43.63	26.92	6.12
26	681	2.35	66.47	26.42	4.44
27	521	3.13	51.85	17.68	3.23
28	460	3.18	44.52	15.84	5.74

В *третьей главе*, состоящей из 4 частей, представлено обсуждение полученных результатов.

ВЛИЯНИЕ СТРОЕНИЯ ИССЛЕДОВАННЫХ АЗОТСОДЕРЖАЩИХ ГЕТЕРОЦИКЛОВ НА ИХ ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЕ УДЕРЖИВАНИЕ

Разработка эффективных методик хроматографического анализа сложных органических соединений базируется, как правило, на исследовании взаимосвязи между строением этих веществ и их хроматографическим удерживанием. Однако установление такой взаимосвязи в условиях ВЭЖХ осложнено невоз-

возможностью полного учета всего спектра межмолекулярных взаимодействий в хроматографической системе [1]. В связи с этим при исследовании влияния строения веществ на их хроматографическое удерживание используют разнообразные модели, базирующиеся на уже известных представлениях о механизмах сорбции в аналогичных хроматографических системах.

Поскольку в обращенно-фазовом варианте ВЭЖХ взаимодействие молекул сорбата с неполярной гидрофобной поверхностью неподвижной фазы определяется, главным образом, дисперсионными силами, существенное влияние на удерживание оказывают такие физико-химические характеристики сорбатов, как поляризуемость, объем и липофильность, определяемая как коэффициент распределения в системе *n*-октанол – вода. Удерживание азолов, как правило, возрастает с увеличением перечисленных параметров (если не сказывается влияние других факторов). Введение в молекулу азолов алкильных радикалов, приводящее к увеличению липофильности соединений, способствует росту удерживания. Так, фактор удерживания 1-фенилсульфонил-1Н-1,2,4-триазола (вещество № 20), равный 2.817, оказывается значительно меньше значения фактора удерживания 1-(2,4,6-триизопропилфенилсульфонил)-1Н-1,2,4-триазола (вещество № 19), фактор удерживания которого равен 12.704, в то время как значения липофильности для данных соединений составляют 0.87 и 4.45 соответственно.

Существенное влияние на удерживание, кроме того, оказывают поляризуемость и объем молекул сорбатов. Удерживание азолов, как правило, возрастает с увеличением этих параметров. Так, в частности, фактор удерживания 1-(4-метилфенилсульфонил)-1Н-имидазола (№ 8) составляет 0.550, для 1-(2,4,6-триизопропилфенилсульфонил)-1Н-имидазола (№ 9) эта величина равна 7.432, в то время как значения объема и поляризуемости молекул данных соединений составляют 634 \AA^3 и 20.23 \AA^3 соответственно для соединения № 8 и 968 \AA^3 и 35.04 \AA^3 для соединения № 9.

Известно, что введение второго и третьего атомов азота в молекулы азолов приводит к ослаблению взаимодействия сорбатов с неполярной неподвижной фазой и, таким образом, уменьшению удерживания. Такие закономерности установлены нами для разных составов подвижной фазы и соединений с различными заместителями: при увеличении количества атомов азота в основном структурном фрагменте характеристики удерживания производных азолов уменьшаются вне зависимости от характера заместителя или радикала, с которым связан гетероцикл. Так, фактор удерживания 2-((1Н-имидазол-1-ил)метил)фенола (№ 3) равен 14.089, что значительно выше значения фактора удерживания 4-(5-метил-1Н-1,2,4-триазол-1-ил)фенола (№ 18), составляющего 0.467. Уменьшение фактора удерживания наблюдается и при переходе от 1-фенилсульфонил-1Н-1,2,4-триазола (вещество № 20, $k=2.817$) к 1-(1Н-1,2,4-триазол-1-ил-сульфонил)-1Н-1,2,4-триазолу (вещество № 21, $k=0.148$).

Следует отметить, что вклад дополнительного атома азота в ароматическом кольце оказывается, по-видимому, более существенным, чем введение до-

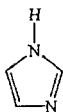
полнительного фенильного радикала в сопряжение системы. Так, переход от 4-((2-метил-1H-имидазол-1-ил)метил)фенола (№ 5) к 4-((1H-1,2,3-бензтриазол-1-ил)метил)фенолу (№ 26) приводит к увеличению таких параметров соединений, как липофильность, объем, поляризуемость (таблица 3), однако, удерживание имидазольного производного оказывается тем не менее несколько большим, чем удерживание аналогичного производного бензтриазола. Так, фактор удерживания для соединения № 5 составляет 1.243, а для соединения № 26 - 1,159.

Практически все изученные соединения имеют значительные величины дипольных моментов, которые, безусловно, должны сыграть существенную роль во взаимодействии сорбатов с компонентами хроматографической системы. Поскольку в качестве модификатора подвижной фазы в работе использован ацетонитрил, дипольный момент которого составляет 3.51 D, вклад ориентационной составляющей в общую энергию взаимодействия сорбатов с элюентом должен быть весьма существенным. Этот факт подтверждает сопоставление значений фактора удерживания и дипольного момента 1-(2,4,6-триизопропилфенилсульфонил)бензимидазола (№ 13) и 1-метилсульфонил-2-метилбензимидазола (№ 14), составляющих 0.541 и 5.45 D соответственно для вещества № 13 и 1.453 и 3.48 D для вещества № 14. Из сопоставления этих значений следует, что с увеличением дипольного момента молекул характеристики удерживания снижаются, несмотря на увеличение объема и поляризуемости. Данная зависимость наблюдается для различных составов подвижной фазы.

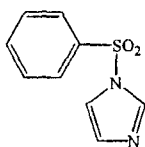
Влияние дипольного момента иллюстрирует также изменение удерживания при переходе от 5-фенил-1H-тетразола (№ 27) к 5-(4-нитрофенил)-1H-тетразолу (№ 28). Добавление нитрогруппы к фенилу изменяет дипольный момент молекулы сорбата ($\mu=5.74$ D для № 27 и $\mu=3.23$ D для № 28), поэтому при близких значениях остальных характеристик факторы удерживания 5-фенил-1H-тетразола и 5-(4-нитрофенил)-1H-тетразола оказываются различными ($k=0.547$ для № 27 и $k=1,278$ для № 28).

Удерживание азотсодержащих гетероциклов определяется как природой, так и положением заместителя в гетероцикле. Так, в частности, при переходе от имидазола к его производным с заместителем непосредственно у атома азота наблюдается возрастание удерживания за счет ослабления взаимодействия с элюентом.

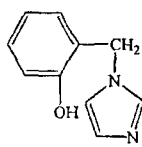
Такая закономерность имеет место вне зависимости от природы группы, замещающей атом водорода у «пиррольного» азота. Значительное возрастание удерживания 2-((1H-имидазол-1-ил)метил)фенола (№ 3) обусловлено, вероятно, его большей липофильностью по сравнению с имидазолом (№ 2) и 1-фенилсульфонил-1H-имидазолом (№ 10), связанной с заменой сульфогруппы на метил в том же положении.



$k=0,296$
(вещество № 2)



$k=0,550$
(вещество № 10)



$k=14,089$
(вещество № 3)

Существенное влияние на удерживание азолов оказывает также положение заместителей в бензольном кольце, соединенном с гетероциклом. Так, удерживание сорбатов при наличии групп, связанных с гетероциклом и содержащих заместители в *орто*-положении, оказывается более значительным по сравнению с *пара*-производными. Например, фактор удерживания 2-((1H-имидазол-1-ил)метил)фенола (№ 3) равен 14.089, а 4-((2-метил-1H-имидазол-1-ил)метил)фенол (№ 5) 1.243, значения же дипольных моментов для данных соединений составляют 2.67 D и 4.60 D соответственно.

Переход от *орто*- к *пара*-производным приводит, прежде всего, к существенному изменению дипольного момента, способствующему усилению взаимодействия с элюентом. Однако, для *пара*-изомеров важную роль в межмолекулярных взаимодействиях в хроматографической системе, вероятно, играет также образование водородных связей с элюентом. Так, у соответствующих изомерных гидразидов при близких значениях дипольного момента, липофильности и объема молекул факторы удерживания различаются: для 2-((1H-имидазол-1-ил)метил)бензогидразида (№ 6) $k= 1.213$, а для 4-((1H-имидазол-1-ил)метил)бензогидразида (№ 7) $k= 0,355$.

Таким образом, из представленных данных следует, что в условиях ОФ ВЭЖХ удерживание производных азолов определяется совокупностью физико-химических факторов, связанных, прежде всего, со строением сорбатов. Наличие функциональных групп и заместителей, их природа и положение относительно гетероцикла приводят к изменению характеристик молекул и, прежде всего, их объема, липофильности, поляризуемости и дипольного момента, что, в свою очередь, способствует усилению взаимодействия сорбата либо с неподвижной фазой, либо с элюентом.

ВЛИЯНИЕ СОСТАВА ЭЛЮЕНТА НА ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЕ УДЕРЖИВАНИЕ АЗОЛОВ

Как известно, в обращенно-фазовом варианте ВЭЖХ удерживание осуществляется в результате конкурирующих взаимодействий молекул сорбата с неполярной гидрофобной поверхностью сорбента и специфических взаимодействий с полярным элюентом. Поскольку в отличие от газохроматографических систем подвижная фаза в ВЭЖХ (особенно в ее обращенно-фазовом варианте) играет вполне активную роль, взаимодействуя с молекулами разделяемых ве-

ществ, ее состав и свойства будут оказывать весьма существенное влияние на процессы распределения в хроматографической колонке и, следовательно, на значения характеристик удерживания.

Взаимосвязь между величинами удерживания и количественным составом подвижной фазы представлена различными моделями и наиболее часто аппроксимирована зависимостями вида [1]

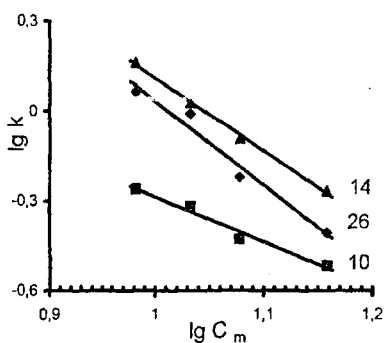
$$\lg k = a - bC \quad (1),$$

$$\lg k = a_1 - b_1 \lg C \quad (2),$$

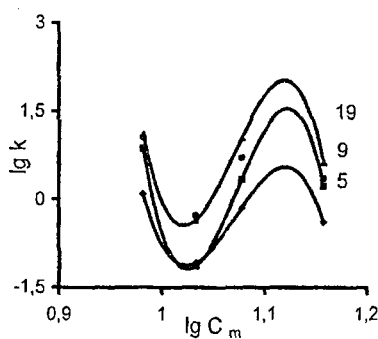
$$\lg k = a_2 - b_2 C + pC^2 \quad (3),$$

где k – фактор удерживания, C – концентрация органического компонента, a , b , p – коэффициенты.

В целом удерживание производных пятичленных азотистых гетероциклов уменьшается при повышении концентрации ацетонитрила в связи с усилением специфических взаимодействий с органическим компонентом подвижной фазы. Для ряда исследованных производных азолов зависимость между фактором удерживания и содержанием ацетонитрила в подвижной фазе является линейной и может быть описана уравнениями вида (1) или (2). Графическая интерпретация данной зависимости представлена на рисунке 1(а).



а



б

Рис. 1. Зависимости удерживания некоторых производных азолов от молярной концентрации ацетонитрила в подвижной фазе (нумерация на этом и последующих графиках приведена в соответствии с таблицей 2).

В то же время для некоторых соединений наблюдаются существенные отклонения от указанных зависимостей. Следует отметить, что многие из исследованных нами веществ, имея в составе атомы азота с неподеленными электронными парами, проявляют свойства оснований Льюиса. Такие соединения, как известно, составляют особую группу веществ с точки зрения зависимости удерживания от концентрации органического растворителя, характеризуясь параболическим видом зависимости $\lg k = f(c)$ [1].

Как следует из рис. 1б, параболический характер соответствующей зависимости на графиках выражен совершенно явно. Более сложный характер этой зависимости может быть обусловлен и тем обстоятельством, что производные азолов в растворителях различной химической природы и при различных значениях рН могут находиться в ассоциированном, молекулярном или протонированном виде. Из рисунка 2 следует, что величина рН растворов бензтриазола и 2-метил-1Н-имидазола изменяется в зависимости от концентрации ацетонитрила в растворе, что свидетельствует о смещении протолитических равновесий в системе. При этом соответствующие графики имеют экстремальный характер с координатой точки экстремума, отвечающей составу элюента ацетонитрил - вода 9:7.

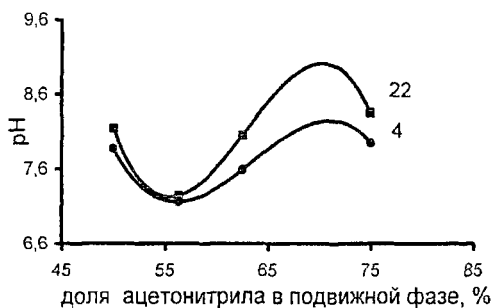


Рис. 2. Зависимость рН растворов бензтриазола и 2-метил-1Н-имидазола от концентрации ацетонитрила в подвижной фазе.

Известно, что для близких по строению соединений при рассмотрении зависимости параметров удерживания от полярности (или состава) элюента обнаруживается явление, аналогичное эффекту компенсации энтропии и энтальпии. При наличии такого эффекта семейства графиков, характеризующих зависимость фактора удерживания от полярности органического компонента, при экстраполяции должны пересечься в одной области координатной плоскости.

Как следует из рис. 3, для некоторых производных азолов графики, описываемые уравнениями (1) или (2), стремятся к изопараметрической точке. Аналитическим выражением условия существования такой точки пересечения

прямых $y = a + bx$, как известно, является соотношение $\frac{a_1}{1 - b_1} = \frac{a_2}{1 - b_2} = K = const$,

где a и b – коэффициенты уравнения [2]. Ее физический смысл в соответствии с сольвофобной теорией Хорвата определяется такими параметрами компонентов хроматографической системы, как мольный объем, дипольный момент, поляризуемость и пр. Интервал значений K для исследованных нами сорбатов изменяется в зависимости от величины перечисленных параметров и лежит в пределах 0.14 – 1.99 или 0.34 – 1.04 при использовании коэффициентов уравнения (1) или (2) соответственно.

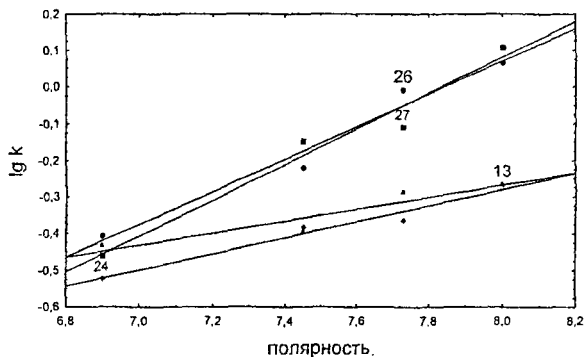


Рис. 3. Зависимость удерживания некоторых производных азолов от полярности подвижной фазы.

В целом же существование компенсационного эффекта свидетельствует о близости механизмов удерживания соответствующих соединений. Подтверждением данного факта является представленная на рис. 4 корреляция между факторами удерживания исследованных соединений при различных соотношениях воды и органического компонента в элюенте. Обычно такие зависимости используют для сравнения удерживания на двух сорбентах, получая уравнение вида $\lg k_A = a + b \cdot \lg k_B$, где k_A и k_B – факторы удерживания на сорбентах А и В соответственно. При этом принято, что значения коэффициента b указывают на степень термодинамической близости процессов в двух системах.

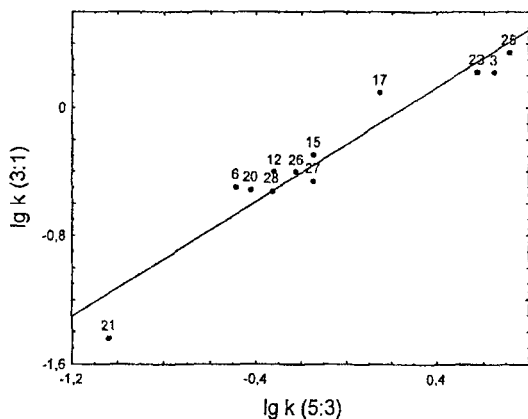


Рис. 4. Корреляция между логарифмами факторов удерживания ряда исследованных соединений для разных составов ПФ ацетонитрил – вода
 $\lg k (3:1) = -0,229 + 0,939 \lg k (5:3)$.

ПОТЕНЦИОМЕТРИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ РАСТВОРОВ АЗОЛОВ

Известно, что имидазол проявляет как основные, так и кислотные свойства за счет связи $-N-H$. Основность 1,3,4- триазола выражена в значительно меньшей степени, для тетразола характерны слабокислотные свойства, поэтому в их водно-органических растворах возможно существование различных протолитических равновесий. Предполагается, кроме того, что азолы, обладающие основными свойствами, могут образовывать протонированные формы в результате, например, взаимодействия с остаточными силанольными группами сорбента. Известно также, что фактор держивания зависит от pH элюента, который в водно-ацетонитрильных растворах азолов может определяться как природой, так и концентрацией орбата и амфипротного модификатора.

Дифференцирующее действие ацетонитрила иллюстрируют графики зависимости pH растворов исследованных соединений от концентрации ацетонитрила, представленные на рисунке 5.

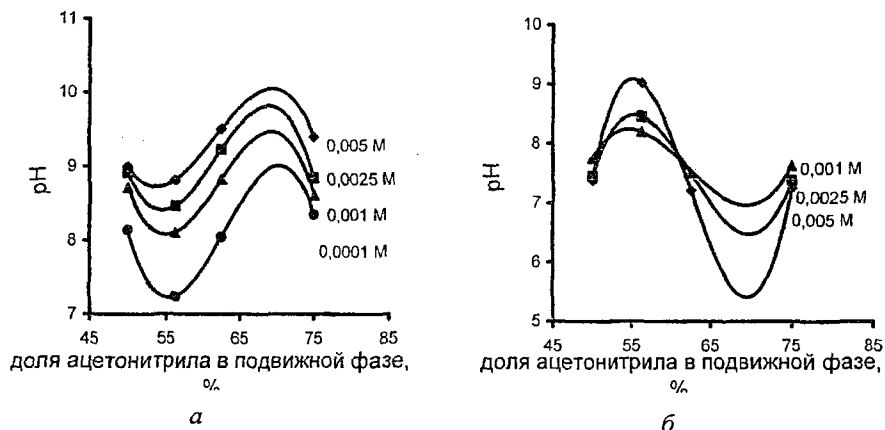


Рис. 5. Зависимость pH растворов бензтриазола (а) и 2-метил-1Н-имидазола (б) от доли ацетонитрила в подвижной фазе.

Из рисунка следует, что на соответствующих графиках для бензтриазола (слабая кислота) имеется минимум, а для 2-метил-1Н-имидазола (слабое основание) — максимум, что согласуется с литературными данными, в соответствии которыми зависимости рК азотсодержащих соединений от концентрации модификатора характеризуются наличием точки экстремума.

Таким образом, изменение концентрации модификатора в подвижной фазе оказывает существенное влияние на кислотно-основное равновесие в водно-органических растворах азолов.

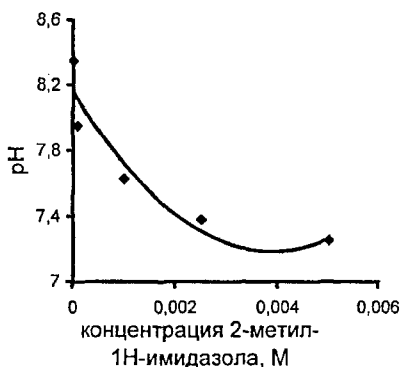
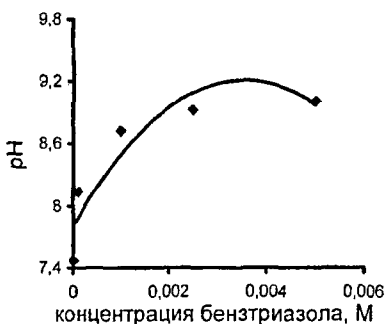


Рис. 6. Зависимость pH растворов бензтриазола (а) и 2-метил-1Н-имидазола (б) от концентрации элюата в смеси вода-ацетонитрил (1:1) (а) и (3 :1) (б).

В то же время величина pH водно-ацетонитрильных растворов исследованных соединений существенно зависит от их строения и концентрации. Поскольку исследованные соединения являются слабыми основаниями и кислотами, величина pH их водно-ацетонитрильных растворов с ростом концентрации изменяется незначительно, увеличиваясь для бензтриазола (рис.6 а) и уменьшаясь для 2-метил-1Н-имидазола (рис.6 б).

ИССЛЕДОВАНИЕ ЭЛЕКТРОПРОВОДНОСТИ АЗОЛОВ В РАСТВОРЕ ПОДВИЖНОЙ ФАЗЫ

В литературе показано, что электрическая проводимость неводных растворов имидазола и некоторых его производных является результатом их взаимодействия с молекулами растворителя и существенным образом зависит от строения молекул аналита, а ее зависимость от концентрации нередко носит сложный характер.

Из полученных результатов следует, что на графиках зависимости удельной электропроводности от концентрации гетероциклов в водно-органической среде наблюдаются точки экстремума (рис. 7).

Возрастание электрической проводимости с ростом концентрации, как известно, отвечает в начале увеличению числа ионизированных частиц в растворе, затем усилению взаимодействия этих частиц, приводящего к замедлению их движения, а также к ассоциации. Кроме того, для некоторых органических оснований сложный вид зависимости электрической проводимости от концентрации в литературе объясняется наличием неустойчивых кинетических

ориентаций ассоциируемых молекул в смеси вода-ацетонитрил. При этом координаты точки экстремума определяются строением молекул азолов.

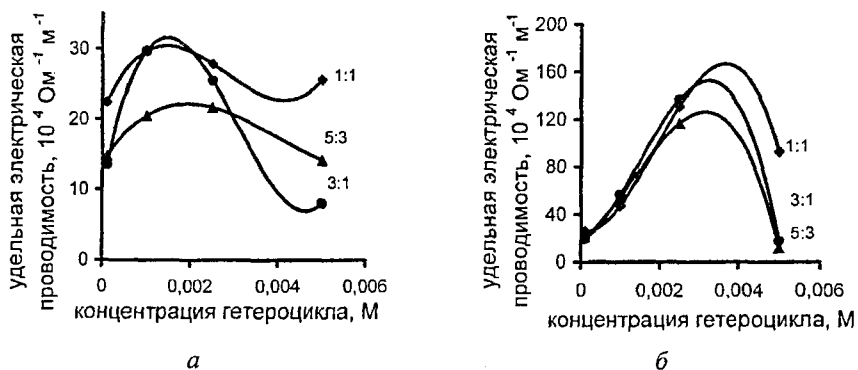


Рис. 7. Зависимость удельной электрической проводимости растворов бензотриазола (а) и 1-(4-метилфенилсульфонил)-1H-1,2,3-бензотриазола (б) от их концентрации в смеси вода-ацетонитрил.

В то же время для некоторых производных эта зависимость носит линейный характер (рис.8)

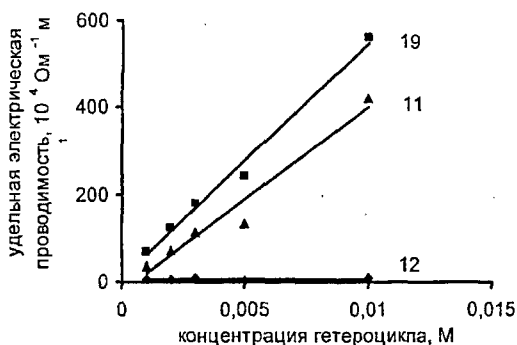


Рис.8. Зависимость удельной электрической проводимости от концентрации гетероциклов.

Ввиду сравнительно высокой диэлектрической постоянной ацетонитрила на графиках зависимости электрической проводимости растворов гетероциклов от концентрации ацетонитрила наблюдаются как максимумы, так и минимумы (рис.9). Сложный характер этой зависимости, вероятно, определяется образованием протонированных молекул и процессами ассоциации в растворе.

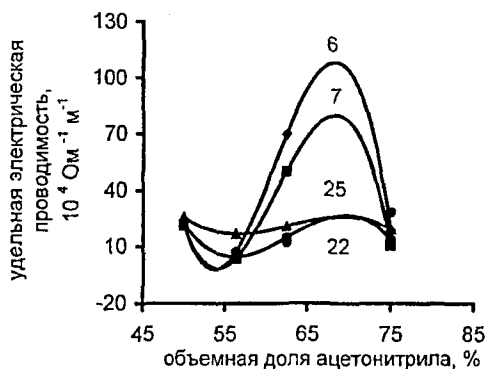


Рис. 9. Зависимость удельной электрической проводимости растворов некоторых гетероциклов от объемной доли ацетонитрила (концентрация гетероциклов 0,0001M).

Зависимость молярной электрической проводимости от концентрации некоторых гетероциклов представлена на рис. 10.

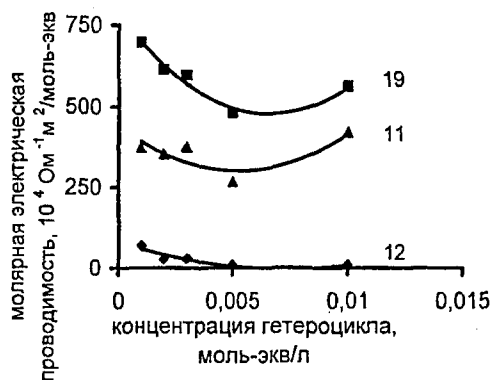


Рис.10. Зависимость молярной электрической проводимости от концентрации гетероциклов.

Полученные результаты позволяют оценить роль кислотно-основных равновесий в водно-органических растворах гетероциклов растворе.

ВЫВОДЫ

1. Экспериментально определены величины хроматографического удерживания и термодинамические характеристики сорбции 27 исследованных соединений для различных составов подвижной фазы. Установлены основные физико-химические закономерности удерживания азотсодержащих ароматических гетероциклов в условиях обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии.

2. Исследовано влияние строения сорбатов на хроматографическое удерживание. Показано, что несмотря на преобладающую роль дисперсионных сил в удерживании азолов, существенное влияние на разделение в хроматографической системе оказывают величины дипольного момента в результате усиления взаимодействия полярных сорбатов с компонентами подвижной фазы. Полученные величины факторов удерживания и анализ их зависимости от строения молекул сорбатов свидетельствуют о существенной роли природы и положения заместителей и функциональных групп в хроматографическом поведении производных азолов.

3. Проанализировано влияние состава подвижной фазы на хроматографическое поведение азолов. Показано, что это влияние определяется также строением молекул сорбата. При этом для некоторых производных азолов зависимость между фактором удерживания и составом подвижной фазы является линейной и может быть аппроксимирована уравнениями вида $\lg k = a - bC$ или $\lg k = a - b \lg C$.

4. Установлено, что для близких по строению производных азолов зависимость параметров удерживания от концентрации органического модификатора характеризуется явлением, аналогичным эффекту компенсации энтропии и энтальпии. При этом координаты изопараметрической точки могут быть определены из коэффициентов уравнений соответствующих зависимостей.

5. Методами потенциометрии и кондуктометрии установлено, что некоторые исследованные гетероциклы в водно-ацетонитрильной среде проявляют амфипротные свойства. Этот факт приводит к усложнению зависимости удерживания от состава элюента вплоть до появления экстремумов на соответствующих графиках.

Список использованных источников

1. Шатц В.Д., Сахартова О.В. Высокоэффективная жидкостная хроматография. Рига: Зинатне, 1988. 390 с.
2. Kaliszan R. Quantitative Structure-Chromatographic Retention Relationships. N.-Y.: Wiley, 1987. 303 p.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Список публикаций в ведущих рецензируемых научных журналах, определенных ВАК

1. Курбатова С.В., Харитоновна О.В. Влияние состава элюента на фактор удерживания азолов в обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии. // Журн. прикладной химии. 2008. Т. 81. Вып. 3. С. 420-424.
2. Курбатова С.В., Паршикова (Харитоновна) О.В., Белоусова З.П. Взаимосвязь строения и хроматографического удерживания некоторых производных азолов. // Журн. прикладной химии. 2008. Т. 81. Вып. 4. С. 614-620.
3. Курбатова С.В., Харитоновна О.В., Финкельштейн Е.Е. Особенности удерживания некоторых азолов в обращенно-фазовой жидкостной хроматографии. // Журн. физической химии. 2008. Т. 82. №11. С. 2147-2153.

Список публикаций в журналах и сборниках тезисов конференций

1. Курбатова С.В., Паршикова (Харитоновна) О.В., Белоусова З.П. Физико-химические закономерности хроматографического удерживания производных пятичленных гетероциклов. // Бултеровские сообщения. 2006. Т.9. №4. С. 40-88.
2. Kharitonova O.V., Kurbatova S.V. Nitrogen containing heterocycles structure influence on the chromatographic retention thermodynamic under condition of RP-HPLC. // XVI International Conference of chemical Thermodynamic in Russia (RCCТ 2007). Suzdal. 2007. V.1. P.2/S-188.
3. Шумская Н.Ю., Курбатова С.В., Паршикова (Харитоновна) О.В. ВЭЖХ некоторых карбо- и гетероциклов. // Тезисы докладов X Международной конференции «Теоретические проблемы химии поверхности, адсорбции и хроматографии». Москва. 2006. С. 322.
4. Курбатова С.В., Харитоновна О.В., Колосова Е.А., Финкельштейн Е.Е. Тополого-хроматографический анализ азотсодержащих гетероциклов. // Тезисы докладов XVIII Менделеевского съезда по общей и прикладной химии. Москва. 2007. Т.4. С. 174.
5. Курбатова С.В., Харитоновна О.В. Термодинамика удерживания производных азотистых гетероциклов в высокоэффективной жидкостной хроматографии. // Тезисы докладов XVIII Менделеевского съезда по общей и прикладной химии. Москва. 2007. Т.4. С. 175.
6. Паршикова О.В., Курбатова С.В., Белоусова З.П. Влияние строения производных азолов на их удерживание в условиях обращенно-фазовой ВЭЖХ. // Тезисы докладов Всероссийского симпозиума «Хроматография

- в химическом анализе и физико-химических исследованиях». Москва. 2007. С. 11.
7. Курбатова С.В., Сайфутдинов Б.Р., Мешковая В.В., Паршикова О.В. Влияние природы гетероатома на удерживание производных ароматических гетероциклов в ОФ ВЭЖХ. // Тезисы докладов Всероссийского симпозиума «Хроматография в химическом анализе и физико-химических исследованиях». Москва. 2007. С. 59.
 8. Харитонова О.В., Курбатова С.В., Финкельштейн Е.Е. Влияние рН элюента на хроматографическое поведение пятичленных ароматических гетероциклов в условиях ВЭЖХ. // Тезисы докладов Всероссийской конференции «Теория и практика хроматографии. Хроматография и нанотехнологии». Самара. 2009. С. 64.
 9. Харитонова О.В., Курбатова С.В., Колосова Е.А. Влияние топологии молекул азолов на их хроматографическое удерживание в условиях ВЭЖХ. // Тезисы докладов Всероссийской конференции «Теория и практика хроматографии. Хроматография и нанотехнологии». Самара. 2009. С. 225.

Подписано в печать 10 сентября 2009 г.
Формат 60x84/16. Бумага офсетная. Печать оперативная.
Объем 1 печ. л. Тираж 100 экз. Заказ № 430
443022, г. Самара. пр. Кирова, 26
Отпечатано ООО «Прана-бланк»