



УДК 543.544

Особенности сорбции некоторых производных хинолина из водноацетонитрильных растворов в условиях высокоэффективной жидкостной хроматографии

Савченкова А.С.¹, Курбатова С.В.¹, Земцова М.Н.²¹Самарский государственный университет, Самара²Самарский государственный технический университет, Самара

Поступила в редакцию 24.10.2013 г.

Аннотация

Исследованы особенности сорбции некоторых производных хинолина из водноацетонитрильных растворов в условиях высокоэффективной жидкостной хроматографии, проявляющиеся в существовании экстремальных зависимостей между факторами удерживания и составом раствора. Высказано предположение о влиянии процессов ассоциации и сольватации в водноацетонитрильном растворе производных хинолина на их сорбцию, проиллюстрированное соответствующим изменением величин pH и электрической проводимости.

Ключевые слова: обращенно-фазовая высокоэффективная жидкостная хроматография, ацетонитрил, состав подвижной фазы, производные хинолина

Sorption features of quinoline derivatives from water-acetonitrile solution under condition of RP HPLC was investigated. This features manifested in the existence of extreme dependence between the retention factors and the composition of the solution. It was suggested that the processes of association and solvation in water-acetonitrile solution of quinoline derivatives affect on their sorption, it was illustrated by a corresponding change in pH and electrical conductivity.

Keywords: reversed-phase high performance liquid chromatography, acetonitrile, mobile phase composition, quinoline derivatives

Введение

Подвижная фаза в высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ), как известно, не только осуществляет транспортные функции, но и влияет на смещение равновесий в хроматографической колонке, поэтому от природы элюента существенным образом зависят константы сорбционного равновесия в хроматографической системе, а, следовательно, и характеристики удерживания аналитов [1]. При этом молекулы хроматографируемых веществ, взаимодействуя с подвижной фазой, способны к образованию ассоциатов различного состава, сорбционные свойства которых могут существенно отличаться от сорбционных свойств неассоциированных молекул [2].

Среди водноорганических растворов, используемых в ВЭЖХ в качестве подвижных фаз, наиболее широкое распространение получила смесь вода – ацетонитрил с различным содержанием ацетонитрила. Несмотря на то, что этот

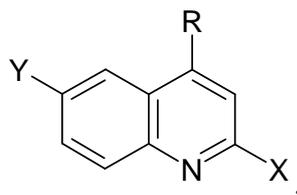
элюент используется в жидкостной хроматографии уже в течение длительного времени, свойства самого ацетонитрила и водноацетонитрильных растворов (как, впрочем, и свойства других водноорганических смесей) исследованы недостаточно. В литературе, посвященной водно-ацетонитрильным растворам, наиболее часто обсуждаются вопросы, связанные с возможностью образования в них гомо- и гетероассоциатов в связи со сравнительно высокими донорно-акцепторными способностями ацетонитрила [3-5], при этом указывается, что гетеромолекулярные ассоциаты могут образовываться как за счет атомов азота нитрильной группы, так и за счет участия радикала $-\text{CH}_3$ молекулы ацетонитрила [4].

Предполагается, что именно наличие значительной доли ассоциатов разного состава – от гомоассоциатов молекул ацетонитрила до гетероассоциатов ацетонитрила и воды приводит к возникновению многих аномалий физико-химических свойств водноацетонитрильных растворов [6, 7]. Определенные аномалии, в частности, наблюдаются при хроматографировании некоторых органических соединений в условиях обращенно-фазовой (ОФ) ВЭЖХ с водноацетонитрильным элюентом. Так, ранее нами было показано, что поведение многих производных пятичленных ароматических гетероциклов, являющихся многофункциональными соединениями, не всегда укладывается в рамки известных и общепринятых моделей удерживания [8]. Установлено, в частности, что на графиках зависимости фактора удерживания некоторых азолов от состава подвижной фазы (ацетонитрил - вода) наблюдаются точки экстремумов, в то время как для большинства соединений и элюентов эти зависимости, как известно, линейны. Аналогичные экстремальные зависимости получены и при исследовании электрической проводимости водноацетонитрильных растворов некоторых азолов [9].

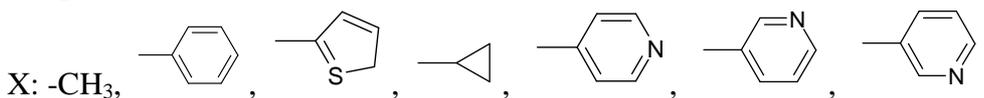
Целью настоящей работы явилось исследование зависимости хроматографического удерживания некоторых производных хинолина в условиях ОФ ВЭЖХ от содержания ацетонитрила в водноацетонитрильном элюенте.

Эксперимент

Объектами исследования были производные 4-амино- и 4-карбоксихинолина с общей формулой



где R: $-\text{NH}_2$, $-\text{COOH}$; Y: $-\text{H}$, $-\text{CH}_3$, $-\text{Cl}$;



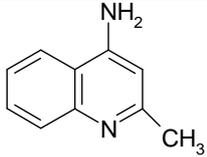
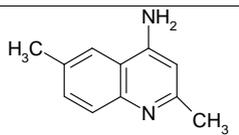
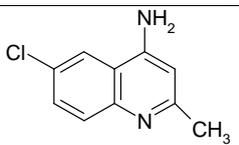
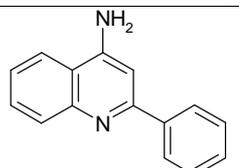
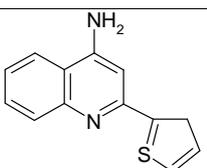
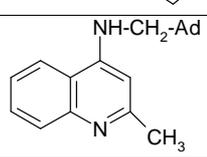
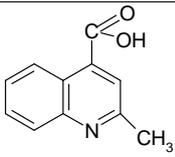
Хроматографическое исследование проводили на жидкостном хроматографе «Varian ProStar» с УФ-спектрофотометрическим детектором ProStar при длине волны 254 нм. Адсорбент – октадецилированный силикагель фирмы Waters (размеры колонки 3,9×150 мм, размер частиц сорбента 5 мкм). В качестве элюента применяли смесь ацетонитрил – вода в различных объемных соотношениях при объемной скорости элюента 0,5 мл/мин. Пробу сорбата готовили растворением

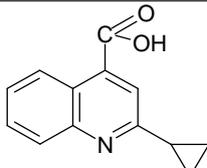
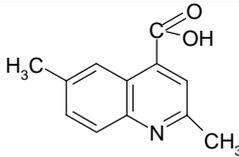
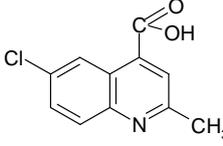
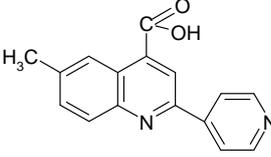
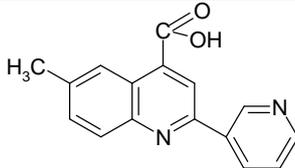
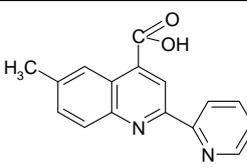
кристаллического вещества в соответствующей подвижной фазе. Удерживание исследованных соединений характеризовали величиной фактора удерживания (k), рассчитанного по формуле

$$k = t_R - t_M / t_M,$$

где t_R - время удерживания исследуемого вещества, t_M - время удерживания несорбирующегося вещества (нитрат натрия). Полученные экспериментально значения фактора удерживания, а также рассчитанные использованием программы HyperChem 8 Professional величины дипольного момента (μ), поляризуемости (α) и мольного объема (V) представлены в таблице 1.

Таблица 1. Некоторые характеристики производных хинолина

№ п/п	Вещество	Название	k, состав АЦН-вода		V, А ³	α , см ³ /моль	μ , D
			70:30	60:40			
1	2	3	4	5	6	7	8
1		2-метилхинолин-4-амин	1.88	16.35	527.9	20.20	3.503
2		2,6-диметилхинолин-4-амин	2.95	28.48	579.7	22.00	3.584
3		2-метил-6-хлорохинолин-4-амин	0.95	19.37	570.3	22.10	3.330
4		2-фенилхинолин-4-амин	0.69	1.44	709.9	27.50	0.981
5		2-(тиофен-2-ил)хинолин-4-амин	0.15	0.27	657.3	28.30	3.105
6		2-метилхинолин-4-N-(1-адамантилметил)амин	2.28	-	872.9	38.04	2.863
7		2-метилхинолин-4-карбоновая кислота	0.27	0.27	566.5	21.39	1.215

1	2	3	4	5	6	7	8
8		2-циклопропил хинолин-4- карбоновая кислота	0.17	0.34	645.2	24.28	1.129
9		2,6- диметилхинолин- 4-карбоновая кислота	0.13	0.15	618.7	23.22	0.913
10		2-метил-6- хлорохинолин-4- карбоновая кислота	0.22	0.20	608.9	23.32	2.076
11		6-метил-2- (пиридин-4- ил)хинолин-4- карбоновая кислота	0.35	0.43	762.9	30.34	1.912
12		6-метил-2- (пиридин-3- ил)хинолин-4- карбоновая кислота	0.29	0.91	762.6	30.34	1.348
13		6-метил-2- (пиридин-2- ил)хинолин-4- карбоновая кислота	0.19	0.32	762.6	30.34	1.717

Примечание: k – фактор удерживания, V – объем молекулы, α – поляризуемость, μ – дипольный момент.

Потенциометрическое исследование проводили на преобразователе ионометрическом И-500 «Аквилон» с использованием стеклянного электрода ЭС-11. Исследовали растворы производных хинолина в водно-органическом растворителе при различных составах смеси ацетонитрил – вода (40:60; 50:50; 60:40; 70:30 по объему) и разных концентрациях исследуемых веществ. Калибровку рН-метра осуществляли по стандартным буферным растворам: использовали раствор буры с концентрацией 0.05 моль/л (рН при 25 °С 9.18) и раствор калия фталиевокислого с концентрацией 0.1 моль/л (рН при 25°С 4.01).

Измерение электрической проводимости растворов исследованных соединений проводили на кондуктометре фирмы HANNA, HI 8733. Значения молярной и удельной электрической проводимости рассчитывали по известным формулам [10].

Обсуждение результатов

Особенностью электронного строения молекул ароматических гетероциклов является, как известно, выраженное взаимодействие электронных систем

циклической структуры и неподеленных пар электронов гетероатома, что приводит к неравномерному распределению электронной плотности в молекулах гетероциклов по сравнению с бензолом. В исследованных нами соединениях основным адсорбционным центром для условий ОФ ВЭЖХ является π -электронная система ароматического гетероцикла, в то же время наличие заместителей (алкил, арил, гетарил и атом хлора) будет влиять на перераспределение электронной плотности в молекулах и приводить к изменению характера взаимодействия аналитов как с сорбентом, так и с компонентами подвижной фазы. Так, в частности, радикал $-\text{CH}_3$ способен к проявлению положительного индуктивного эффекта и эффекта гиперконъюгации (слабый положительный мезомерный эффект), фенил может быть донором либо акцептором π -электронной плотности в зависимости от природы связанного с ним фрагмента молекулы. Тиенил, содержащий электроотрицательный атом серы, по электронному строению близок к фенилу, поэтому его влияние на характеристики, определяемые электронным строением, должно быть аналогичным влиянию фенила [4]. Природа растворителя также влияет на внутримолекулярные электронные эффекты, проявляющиеся, в частности, в изменении констант ионизации, что иллюстрируют приведенные в таблице 2 данные для 4-карбоксихинолина.

Таблица 2. Значения K_a 4-карбоксихинолина в системе органический растворитель – вода (50:50)

Растворитель	$K_a \cdot 10^6$
Ацетон	8.67
Ацетонитрил	7.92
Пропанол-1	5.64
Пропанол-2	8.81
Этанол	8.89

Прежде чем перейти к непосредственному хроматографированию производных хинолина с водноацетонитрильным элюентом, проводилось потенциометрическое исследование этих растворов. При этом было установлено, что величина рН соответствующих растворов существенно меняется с изменением концентрации ацетонитрила в растворе (рис.1 а, б). При общем характере зависимости и положении точек экстремумов, соответствующих ~ 50 и 60% ацетонитрила в элюенте, вид экстремума (максимум или минимум) определяется природой как самих аналитов, так и природой заместителя в молекуле растворенного вещества. Существование таких зависимостей, вероятно, можно объяснить лишь наличием сложных равновесий, возникающих при растворении производных хинолина в смеси вода - ацетонитрил, которые, безусловно, должны оказать влияние на хроматографическое поведение этих веществ.

О присутствии ионизированных частиц в водноацетонитрильных растворах производных 4-карбоксихинолина свидетельствуют также данные, полученные при кондуктометрическом исследовании этих растворов. В таблице 3 приведены значения электрической проводимости водноацетонитрильных растворов производных хинолина, из которых следует, что в целом электрическая проводимость смеси вода – ацетонитрил существенно возрастает при растворении в ней указанных аналитов. При этом характер зависимости электрической проводимости от состава раствора определяется как концентрацией ацетонитрила, так и строением растворяемого вещества. Так, в частности, значения электрической проводимости раствора 4-карбокси-2-метилхинолина несколько уменьшаются с

ростом концентрации ацетонитрила. Для 4-карбоксит-2,6-диметилхинолина величина κ сначала несколько уменьшается, а затем возрастает, для 4-карбоксит-2-метил-6-хлорхинолина значения электрической проводимости остаются практически неизменными. Можно предположить, что разный характер этих изменений связан с различной полярностью молекул аналитов и, следовательно, с различной степенью смещения равновесий в их растворах.

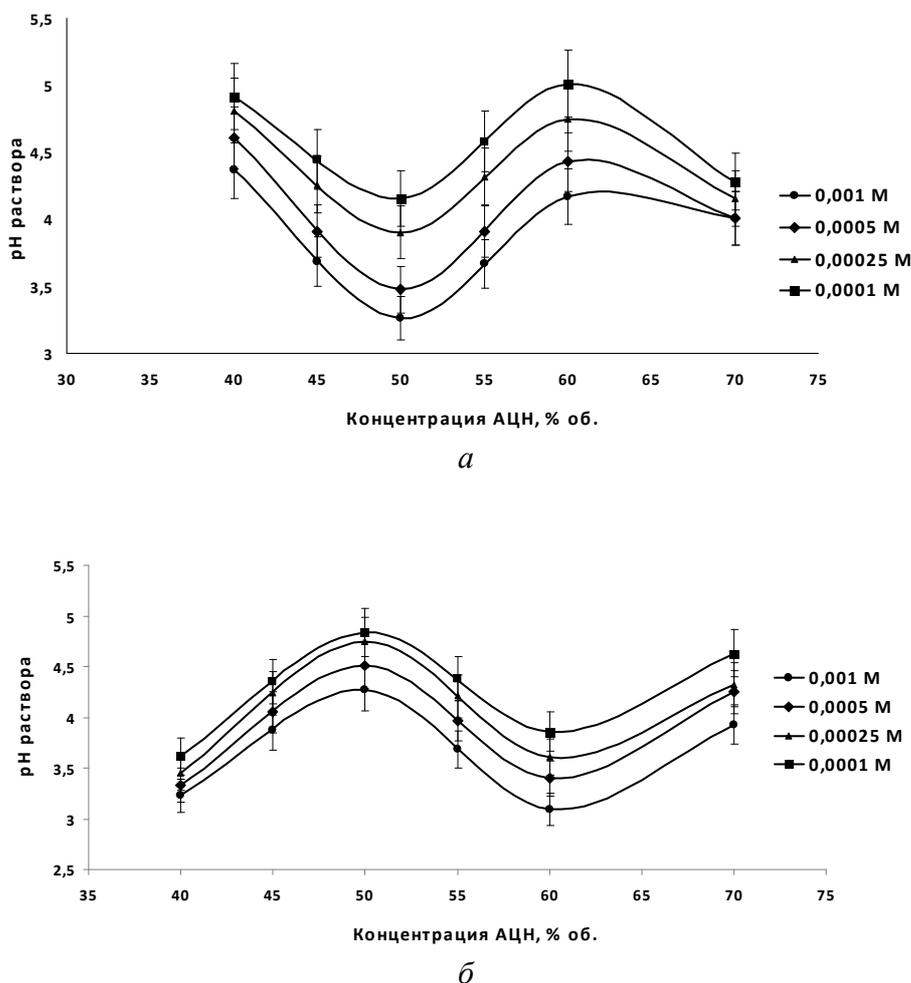


Рис. 1. Графики зависимости рН водноацетонитрильных растворов 4-карбоксит-2,6-диметилхинолина (а) и 4-карбоксит-2-метил-6-хлорхинолина (б) от концентрации ацетонитрила при различных концентрациях аналитов.

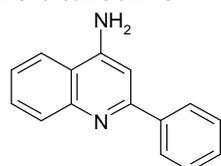
Таблица 3. Удельная электрическая проводимость растворов производных 4-карбокситхинолина в зависимости от концентрации ацетонитрила

Концентрация ацетонитрила, % (об.)	Удельная электрическая проводимость растворов $\kappa \cdot 10^5 \text{ Ом}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$			
	4-карбоксит-2,6-диметилхинолин	4-карбоксит-2-метилхинолин	4-карбоксит-2-метил-6-хлорохинолин	Ацетонитрил - вода
40	5.35	10.89	3.01	0.10
50	2.88	18.26	2.34	0.06
60	3.73	16.57	2.36	0.04
70	9.32	13.30	2.17	0.03

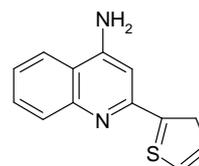
*(концентрация веществ 0.001 моль/л)

Хроматографическое поведение исследованных соединений в существенной степени определяется строением молекул сорбатов. Из данных таблицы 1 следует, что производные 4-карбоксихинолина в выбранных условиях хроматографирования практически не сорбируются в связи с наличием сильных взаимодействий с компонентами подвижной фазы. Удерживание аминохинолинов оказывается более существенным и зависит от природы заместителей, в целом возрастающая с уменьшением содержания ацетонитрила в элюенте.

Так, в частности, замена фенила на тиенил в приведенных ниже примерах существенно уменьшает удерживание в связи с усилением взаимодействия тиенилпроизводного с элюентом



$$k=1.44$$



$$k=0.27$$

Для 4-амино-2,6-диметилхинолина введение метильного радикала в положение 6 приводит к увеличению удерживания соответствующего производного по сравнению с 4-амино-2-метилхинолином. В литературе встречаются сведения, согласно которым азот существенно влияет на π -систему только в пределах того ароматического кольца, в котором он находится [11]. Заместители в положении 6 не должны ощущать влияние атома азота, поэтому их роль в удерживании объясняется другими причинами. Возможно, увеличение удерживания 4-амино-2,6-диметилхинолина объясняется эффектом гиперконъюгации, проявляемым метильным радикалом в положении 6 хинолина. Введение атома галогена в положение 6 хинолинового фрагмента приводит к неоднозначным результатам. При концентрации ацетонитрила 70% удерживание 4-амино-2-метил-6-хлорхинолина значительно меньше, чем удерживание 4-амино-2-метилхинолина, тогда как при меньшей концентрации ацетонитрила значения факторов удерживания для этих веществ сопоставимы. Вероятно, такой результат можно объяснить возможностью ассоциации молекул элюента при определенной концентрации ацетонитрила. Факт образования ассоциатов экспериментально подтвержден в работе [6], авторами которой было показано, что ассоциаты молекул ацетонитрила и воды образуются при содержании ацетонитрила в элюенте в 50% об. и 70% об. и, таким образом, могут существенно влиять на хроматографическое удерживание аналитов. Кроме того, процессы, протекающие при хроматографировании соединений, содержащих основной атом азота, осложняются возможностью их специфических взаимодействий с остаточными силанольными группами модифицированного силикагеля, использованного нами в качестве сорбента. Можно предположить, что именно эти факты приводят к необычному характеру зависимостей фактора удерживания от состава элюента для производных 4-амино- и 4-карбоксихинолина, что иллюстрируют графики, представленные на рис. 2.

Возможность существования аналогичных зависимостей, в частности, для пептидов описана в ставшей уже классической монографии В.Д. Шатца и О.В. Сахартовой [1], в которой показано, что некоторые органические основания составляют особую группу веществ, характеризующуюся параболическим видом зависимости удерживания от концентрации органического растворителя.

Нам не удалось найти удовлетворительного объяснения наличия общей точки пересечения на графиках зависимости удерживания от состава элюента для производных 4-карбоксихинолина. Единственный пример аналогичного графика

приведен в работе [12] для зависимости коэффициента сжимаемости смеси вода – ацетонитрил от концентрации ацетонитрила, при этом существование такой точки пересечения авторы объяснили возможным образованием клатратных структур в водноацетонитрильном растворе.

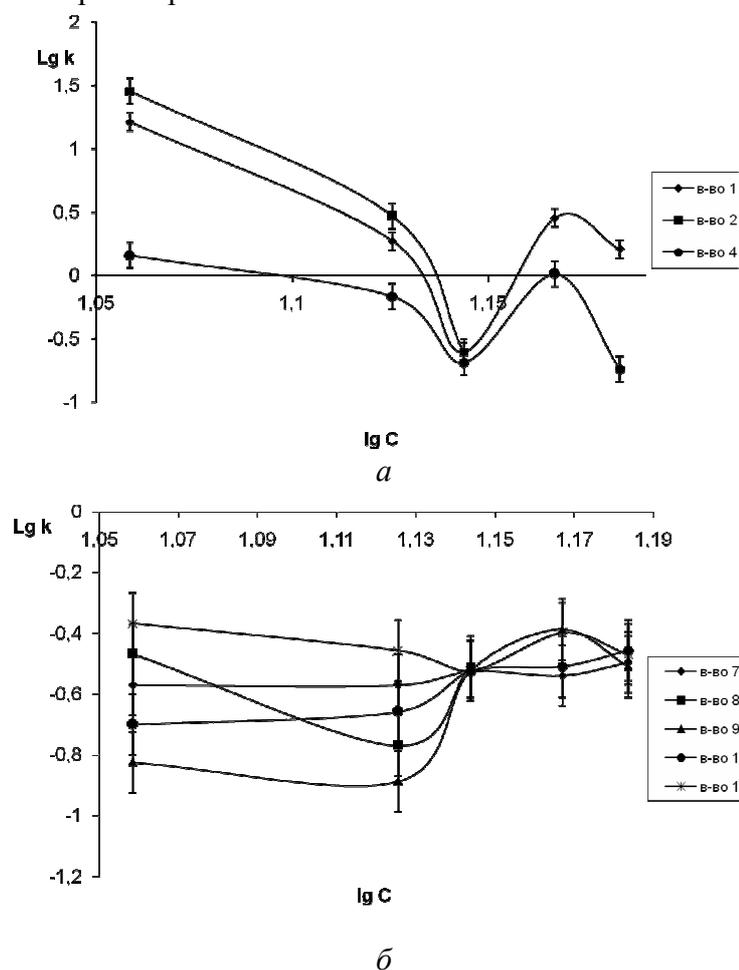


Рис. 2. Зависимость удерживания от состава подвижной фазы для 4-аминохинолинов (а) и 4-карбоксихинолинов (б)

Таким образом, на основании полученных нами результатов можно заключить, что при растворении производных азотсодержащих ароматических гетероциклов в смешанных водноорганических растворителях протекают процессы, приводящие к смещению кислотно-основных равновесий, изменению pK растворенных веществ и pH растворов, что необходимо учитывать при хроматографировании веществ с амфипротными свойствами в условиях ВЭЖХ.

Список литературы

1. Шатц В.Д., Сахартова О.В. Высокоэффективная жидкостная хроматография. Рига: Зинатне. 1988. 390 с.
2. Espinosa S., Bosch E., Roses M. Retention of ionizable compounds in high-performance liquid chromatography 14. Acid-base pK values in acetonitrile-water mobile phases // J. Chromatogr. A. 2002. V. 964. P. 55–66.

3. Acosta J., Arce A., Rodil E., Soto A. Thermodynamic study on binary and ternary mixture of acetonitrile – water – butyl acetate // *Fluid Phase Equilib.* 2002. V. 203. N 1-2. P. 83-98.
4. Структурная самоорганизация в растворах и на границе раздела фаз / Отв. ред. А.Ю. Цивадзе. М.: Изд-во ЛКИ. 2008. 544 с.
5. Jerie K., Baranowski A., Koziol S., et al. Structure of water + acetonitrile solutions from acoustic and positron annihilation measurements // *Chem. Phys.* 2005. V. 309. P. 277-282.
6. Монахова Ю.Б., Муштакова С.П., Колесникова С.С., Грибов Л.А. Спектрохемометрическое и квантово-химическое изучение системы вода-ацетонитрил // *Журн аналит. химии.* 2011. Т.66. №1. С.56-62.
7. Gritti F., Santos Pereira A., Sandra P., Guiochon G. Comparison of the adsorption mechanisms of pyridine in hydrophilic interaction chromatography and in reversed-phase aqueous liquid chromatography // *J. Chromatogr. A.* 2009. V. 1216. P. 8496-8504
8. Парамонова А.С., Курбатова С.В., Колосова Е.А., Земцова М.Н. Потенциометрия и кондуктометрия водно-ацетонитрильных растворов производных хинолина // *Бутлеровские сообщения.* 2011. Т.26. №12. С.65-71.
9. Курбатова С.В., Харитонова О.В., Финкельштейн Е.Е. Особенности удерживания некоторых азолов в обращенно-фазовой жидкостной хроматографии // *Журн. физич. химии.* 2008. Т. 82. № 11. С. 2147-2153.
10. Дамаскин Б.Б., Петрий О.А., Цирлина Г.А. *Электрохимия.* М.: «Химия». 2006. 670 с.
11. Григорьева О.Б. Жидкостная хроматография замещенных цинхониновых кислот и их производных: дисс. канд. хим. наук. СГУ. Саратов. 2003. 168 с.
12. Cabaleiro-Lago E.M., Hermida-Ramon J.M., Pena-Gallego A., et al. Intermolecular interactions and cooperative effects in acetonitrile clusters. An ab initio molecularorbital study// *Theochem.* 2000. V. 498. P. 21-28.

Савченкова Анна Сергеевна - аспирант кафедры физической химии и хроматографии Самарского государственного университета, Самара

Курбатова Светлана Викторовна – д.х.н., проф., декан химического факультета Самарского государственного университета, Самара

Земцова Маргарита Николаевна – к.х.н., доцент кафедры органической химии Самарского государственного технического университета, Самара

Savchenkova Anna S. – post-graduate student at the department of physical chemistry and chromatography, Samara State University, Samara

Kurbatova Svetlana V. – dean of the chemical faculty, PhD, professor, Samara State University, Samara, E-mail: curbatsv@samsu.ru

Zemtsova Margarita N. - associate professor at the department of organic chemistry, PhD, Samara State Technical University, Samara