



УДК 543.544

Влияние структуры бензимидазолов на их удерживание октадецилсиликагелем в условиях ОФ ВЭЖХ

Шафигулин Р.В., Буланова А.В.

*Федеральное государственное автономное учреждение высшего образования
«Самарский национальный исследовательский университет имени академика С.П. Королева» (национальный исследовательский университет), Самара*

Поступила в редакцию 31.01.2017 г.

В работе изучено влияние структуры бензимидазолов на их хроматографическое поведение в условиях обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии (ОФ ВЭЖХ). Методом линейного регрессионного анализа получены одно- и многопараметрические уравнения, позволяющие прогнозировать факторы удерживания близких по структуре бензимидазолов.

Ключевые слова: обращенно-фазовая высокоэффективная жидкостная хроматография, бензимидазолы, взаимосвязь «структура-удерживание», линейный регрессионный анализ

Influence of the structure of benzimidazoles on their retention by octadecyl silica gel under conditions RP HPLC

Shafigulin R. V., Bulanova A.V.

Samara National Research University, Samara

The identification of the relationship «structure-property» is one of the priority areas of physics and chemistry, as the results of such studies allow to predict properties of new compounds and conduct their directed synthesis. The most relevant such studies for compounds having biological activity and which are the main components of new or existing drugs. On the basis of such studies by regression analysis are the correlation «structure-retention-property», allowing to predict the properties of compounds. To improve the predictive ability of these equations using multivariable linear regression models. In the work with the use of reversed-phase high-performance liquid chromatography (RP HPLC) to study the effect of structure of some. their chromatographic retention on octadecylsilane of water-methanol eluent. It is shown that the sorption volume of the benzimidazole molecules strongly affects the conformational mobility of these structures. Using linear regression analysis of the obtained one-, two - and three-parameter correlation equations; it is shown that the most complete chromatographic retention can be described with the use of three-parameter equations containing volume, the surface area of the molecule and principal moment of inertia of the molecules along the Z-axis (I_{zz}). The obtained results can be used to predict the retention of substances belonging to this class of organic compounds.

Keywords: reversed-phase high-performance liquid chromatography, benzimidazole., relationship «structure-retention», linear regression analysis

Введение

Выявление взаимосвязи «структура-свойство» является одним из приоритетных направлений физикохимии, так как результаты таких исследований позволяют

прогнозировать свойства новых соединений и проводить их направленный синтез. Кроме того, взаимосвязь структуры соединения с его хроматографическим удерживанием позволяет характеризовать в целом механизм сорбции. Наиболее актуальны такие исследования для соединений, обладающих биологической активностью и являющимися основными компонентами новых или уже существующих лекарственных препаратов. На основании таких исследований методом регрессионного анализа находятся соотношения «структура-удерживание-свойство», позволяющие прогнозировать свойства соединений [1-3]. Для повышения прогностической способности таких уравнений используют многопараметрические линейные регрессионные модели [4-7].

Целью настоящей работы явилось изучение взаимосвязи структуры некоторых бензимидазолов с их хроматографическим удерживанием на октадецилсиликагеле из водно-метанольного элюента в условиях обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии (ОФ ВЭЖХ).

Эксперимент

Объектами исследования являлись бензимидазол и его производные (табл. 1). Чистота и структура бензимидазолов подтверждены методами ТСХ, ИК- и ^{13}C ЯМР-спектроскопии.

Таблица 1. Структура бензимидазолов и их название

№ сорбата-(название)	Структура	№сорбата-название	Структура
1-(бензимидазол)		8-(1-Бензилбензимидазол)	
2-(1-Гидроксиметилбензимидазол)		9-(1-(4-Бензилоксибензил)бензимидазол)	
3-(4-[(2-Метил-1Н-бензимидазол-1-ил)метил]фенол)		10-(2-аминобензимидазол)	
4-(2-[(2-Метил-1Н-бензимидазол-1-ил)метил]фенол)		11-(2-[(4,6-динитробензимидазол-1-ил)метил]фенол)	
5-(4-[(1Н-Бензимидазол-1-ил)метил]фенол)		12-(4-[(2-бензил-бензимидазол-1-ил)метил]фенол)	
6-(2-Гидроксиметилбензимидазол)		13-(2-[(2-бензил-бензимидазол-1-ил)метил]фенол)	
7-(2-Бензилбензимидазол)		14-(1-гидроксиметил-2-фенилметил-1Н-бензимидазол)	
15-(2-бензил-1-(3-фенилпропил)-1Н-бензимидазол)			

Хроматографическое исследование бензимидазолов проводили в условиях обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии (ОФ ВЭЖХ). Использовали микроколоночный жидкостный хроматограф «Миличром А-02» с УФ-спектрофотометрическим детектором. Детектирование осуществляли при длинах

волн 210, 254 и 300 нм. Использовали хроматографическую колонку (75x2 мм), заполненную сорбентом - октадецилсиликагелем ProntoSil 120-5-C18 AQ. Размер зерен сорбента 5 мкм. Удельная площадь поверхности сорбента - 300 м²/г. Температура колонки поддерживалась с помощью твердотельного электрического термостата. Рабочие температуры – 35-55°C (±0.3°C) с шагом 10°C. Перед проведением хроматографического эксперимента колонку термостатировали и промывали элюентом в течение 15 минут. Элюирование осуществляли в изократическом режиме. В качестве элюента применяли смесь метанола (MeOH) с водой (H₂O) в объемном соотношении 65/35 об.%. Перед проведением анализа элюент дегазировали на установке марки УЗДН–2Т и фильтровали. Объемная скорость элюента составляла 50 мкл/мин.

На основании экспериментальных данных определяли факторы удерживания k (1):

$$k = \frac{t_R - t_M}{t_M} \quad (1)$$

где t_R – время удерживания исследуемого бензимидазола, мин; t_M - время несорбирующегося соединения (нитрит калия). Среднее значение факторов удерживания рассчитывали из 5 параллельных хроматографических экспериментов.

В работе с использованием программного пакета Gaussian 09 проведена оптимизация геометрии производных бензимидазола и рассчитаны поляризуемости и дипольные моменты, а также проведено распределение электронной плотности для изучаемых молекул методом функционала плотности в базисе 6-311++G(d,p) с использованием гибридного функционала B3LYP. На основе результатов о распределении электронной плотности определены объемы и площади поверхности молекул бензимидазолов. Из полученных геометрий рассчитаны главные моменты инерции (I_{xx} , I_{yy} и I_{zz}) молекул бензимидазолов. Полученные молекулярные дескрипторы представлены в табл. 2.

Таблица 2. Некоторые молекулярные дескрипторы бензимидазолов*

№	Объем, (Å ³)	Площадь поверхности молекулы, (Å ²)	Дип.момент (μ), (Debye)	Поляризуемость (α), (Bohr ³)	Тензор инерции I_{xx} , (a.m.u. Å ²)	Тензор инерции I_{yy} , (a.m.u. Å ²)	Тензор инерции I_{zz} , (a.m.u. Å ²)
1	129.12	140.53	3.5441	92.45	128.288	301.453	429.741
2	158.91	168.64	2.5100	110.37	296.023	713.730	892.943
3	263.55	259.17	2.8621	192.62	930.282	2457.402	2846.161
4	263.31	257.82	5.2188	191.28	1020.505	2141.548	2611.551
5	243.95	243.52	3.5141	179.53	578.970	2328.160	2459.352
6	158.59	170.17	2.1302	112.45	236.478	852.728	1000.681
7	234.83	237.51	3.7064	176.49	517.948	2167.319	2369.837
8	235.08	234.54	3.9941	173.01	633.405	1675.342	1875.489
9	350.11	341.30	4.5359	262.78	1172.376	5008.442	5374.857
10	142.90	155.08	4.6264	105.10	146.234	651.578	797.812
11	293.24	285.89	10.0903	214.68	1132.988	2303.205	3025.845
12	348.95	326.03	3.1310	260.32	2272.395	3014.030	4491.222
13	346.60	332.20	4.9940	260.07	2389.459	2615.770	4379.186
14	263.61	257.25	2.8402	192.32	742.294	2219.027	2398.978
15	381.01	351.92	3.6785	277.44	2149.608	4133.169	5368.488

* Номера соединений в данной таблице соответствуют нумерации, приведенной в табл. 1.

Обсуждение результатов

Для характеристики механизмов сорбции соединений различной структуры в хроматографической системе «водно-органический элюент - октадецилсиликагель» целесообразно было рассмотреть взаимосвязь структурных характеристик исследуемых бензимидазолов с их факторами удерживания. На рис. 1 представлена зависимость между факторами удерживания и площадью поверхности молекул бензимидазолов.

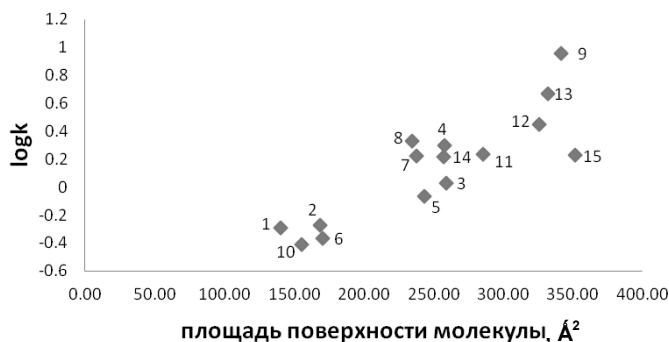


Рис. 1. Взаимосвязь между фактором удерживания и площадью поверхности молекулы (элюент – вода/метанол, 35/65, об.%).

Линейной корреляционной зависимости не наблюдается, но тенденция характерная для удерживания сорбатов в ОФ ВЭЖХ соблюдается, т.е. с увеличением площади поверхности молекул бензимидазолов в целом факторы удерживания возрастают. Изучаемая выборка бензимидазолов содержит изомерные соединения (сорбаты № 12, 13, 3, 4), что и приводит к ухудшению линейной корреляционной зависимости. Аминопроизводное (сорбат №10) и 2- гидроксипроизводное (сорбат №6) бензимидазола элюируют из колонки раньше бензимидазола. По-видимому, это связано со склонностью этих сорбатов к сильным специфическим (ориентационным) взаимодействиям с компонентами водно-метанольного элюента, а также реализации водородных связей. Присутствие в молекуле бензимидазола гидрофобных заместителей приводит к усилению их удерживания на октадецилсиликагеле из водно-метанольного элюента (например, сорбаты № 9, 12, 13). Это связано с усилением процесса гидрофобного выталкивания этих сорбатов из сильно ассоциированного водно-метанольного раствора в фазу октадецилсиликагеля. Аномально удерживается объемный сорбат №15, т.к. его фактор удерживания значительно ниже, чем должен быть исходя из расчетных значений объема и площади поверхности молекулы. Молекула бензимидазола №15 является конформационно подвижной объемной структурой (рис. 2). По-видимому, реализуется такая конформация при которой площадь соприкосновения с поверхностью октадецилсиликагеля будет меньшей, чем предполагается из теоретических расчетов.

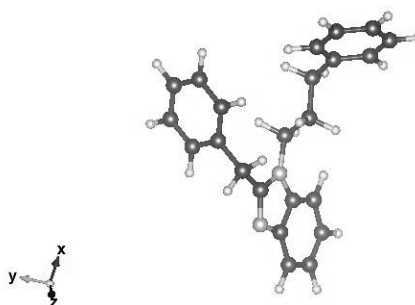


Рис. 2. Трехмерная структура молекулы №15, оптимизированная в программе Gaussian 09 (базис 6-311++G(d,p) с использованием гибридного функционала B3LYP).

Геометрические изомеры (например, сорбаты № 12 и 13) полностью разделяются, но при этом есть некоторые особенности их хроматографического поведения. *Орто*-изомер элюирует из колонки медленнее *пара*-изомера, но при этом дипольный момент *орто*-изомера ($\mu=4.9940$) выше, чем у *пара*-изомера ($\mu=3.1310$). Такой порядок элюирования этих сорбатов связан с реализацией определенных конформаций в водно-метанольном растворе. На рис.3 представлены наиболее вероятно реализуемые структуры этих молекул, характеризующиеся глобальным минимумом энергии.

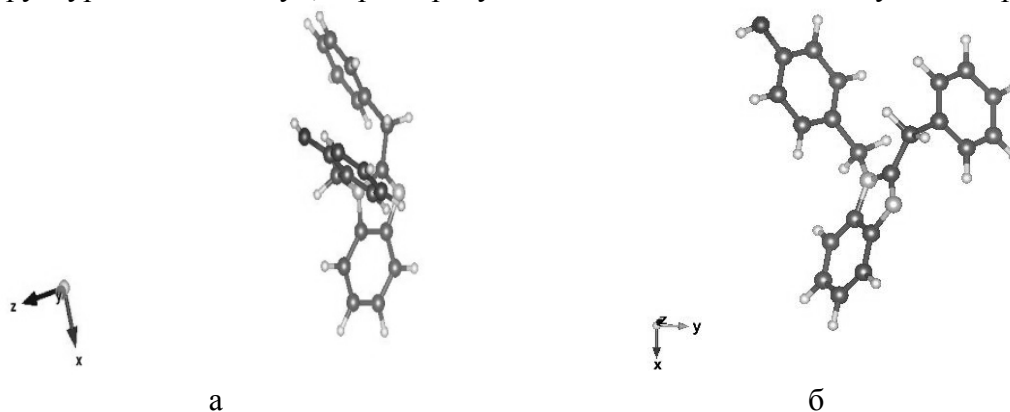


Рис. 3. Трехмерные структуры молекул №12 (б) и 13(а), оптимизированные в программе Gaussian 09 (базис 6-311++G(d,p) с использованием гибридного функционала B3LYP).

Видно, что у *орто*-изомера возможно внутримолекулярное специфическое взаимодействие между гидроксильной группой и электронной системой фенильного ароматического кольца (рис. 3а). Это приведет к некоторому снижению специфических взаимодействий этой молекулы с компонентами водно-метанольного раствора. Напротив, у *пара*-изомера гидроксильная группа свободна и может усилить специфические взаимодействия, а также образовывать водородные связи с компонентами элюента (рис.3б). Нитропроизводное бензимидазола (сорбат №11) характеризуется очень высоким дипольным моментом ($\mu=10$ D), но его фактор удерживания сопоставимым с факторами удерживания гораздо менее полярных сорбатов. Это связано с тем, что в молекуле нитропроизводного бензимидазола реализуется внутримолекулярная водородная связь между нитрогруппой и одной из гидроксильных групп (рис.4). Таким образом, вклад специфических взаимодействий для этой молекулы с элюентом несколько снижается, что и приводит к более сильному удерживанию его на октадецилсиликагеле.

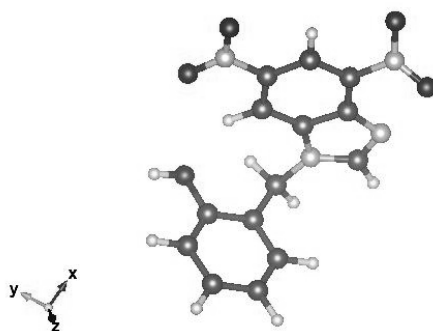


Рис. 4. Трехмерная структура молекулы №11, оптимизированная в программе Gaussian 09 (базис 6-311++G(d,p) с использованием гибридного функционала B3LYP).

Показано, что сорбаты с атомом водорода в первом положении (№ 6 и 7) элюируют из колонки быстрее соответствующих сорбатов с иными заместителями у пиррольного атома азота (№ 2 и 8).

Для выявления роли различных молекулярных дескрипторов в удерживании целесообразно рассмотреть линейные регрессионные модели, связывающие факторы удерживания с некоторыми физико-химическими характеристиками молекул бензимидазолов. В работе проведен линейный регрессионный анализ и получены одно- и многопараметрические уравнения. Полученные уравнения представлены в табл. 3.

Таблица 3. Одно- и многопараметрические корреляционные уравнения (элюент: метанол/вода - 65/35, об.%), полученные при разных температурах

Температура, °C	Регрессионные уравнения	R ²
35	$\log k = 0.004S - 1.064$	0.750
	$\log k = -2.11 + 0.03683V - 0.02743S$	0.850
	$\log k = -2.12 - 0.00533V + 0.0375S - 0.028\mu$	0.850
	$\log k = 0.030 + 0.00211V + 0.0019S - 0.001925416I_{zz}$	0.912
45	$\log k = 0.004S - 1.093$	0.744
	$\log k = -2.07 + 0.03473V - 0.0258S$	0.837
	$\log k = -2.09 - 0.00770V + 0.0357S - 0.027\mu$	0.840
	$\log k = 0.031 + 0.002121V + 0.001833S - 0.001903674I_{zz}$	0.908
55	$\log k = 0.004S - 1.127$	0.736
	$\log k = -2.106 + 0.03432V - 0.0255S$	0.832
	$\log k = -2.125 - 0.01280V + 0.0359S - 0.027\mu$	0.834
	$\log k = 0.031 + 0.00193V + 0.0017S - 0.001762037I_{zz}$	0.905

Показано, что однопараметрические уравнения характеризуются низкими коэффициентами детерминированности для всей изучаемой выборки бензимидазолов. Увеличение числа независимых параметров привело к росту коэффициента детерминированности и повышению прогностических возможностей линейных уравнений в оценке факторов удерживания. Для изучаемых конформационно подвижных бензимидазолов значимыми физико-химическими параметрами явились объем и площадь поверхности молекул. Показано, что наличие дипольного момента в трехпараметрическом уравнении практически не повышает коэффициента детерминированности. Для конформационно подвижных объемных молекул бензимидазолов важным молекулярным дескриптором явился главный момент инерции молекул по оси Z (I_{zz}). Наличие этого параметра в трехпараметрических уравнениях привело к резкому увеличению коэффициента детерминированности, и, соответственно, к повышению их прогностических способностей в определении факторов удерживания ($R^2=0.912$). Другие главные моменты инерции молекул (I_{xx} и I_{yy}) не улучшали линейную регрессионную модель. Показано, что с увеличением температуры прогностическая способность линейных корреляционных уравнений ухудшается.

Заключение

Таким образом, в работе с применением обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии (ОФ ВЭЖХ) изучено влияние структуры некоторых бензимидазолов на их хроматографическое удерживание на октадецилсиликагеле из водно-метанольного элюента. Показано, что на сорбцию объемных молекул бензимидазола сильно влияет конформационная подвижность этих структур. Мето-

дом линейного регрессионного анализа получены одно-, двух- и трехпараметрические корреляционные уравнения; показано, что наиболее полно хроматографическое удерживание можно описать с применением трехпараметрического уравнения, содержащее объем, площадь поверхности молекулы и главный момент инерции молекул по оси Z (Izz). Полученные результаты могут быть использованы для прогнозирования удерживания веществ, относящихся к этому классу органических соединений.

Работа поддержана грантом РФФИ №16-33-00707 мол_a

Список литературы

1. Осипова В.В., Шафигулин Р.В., Константинова А.В., Туманин А.Н. и др. // *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2012. Т.12. № 5. С. 739-745.
2. Тырина Е.В., Долгаева А.Г., Курбатова С.В., Финкельштейн Е.Е. // *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2016. Т.16. № 2. С. 200-211.
3. Шафигулин Р.В., Егорова К.В., Буланова А.В. // *Журн. физ. химии*. 2010. Т. 84. № 8. С. 1561-1567.
4. Константинов А.В., Шафигулин Р.В., Склюев П.В., Буланова А.В. и др. // *Физико-химия поверхности и защита материалов*. 2013. Т. 49. № 6. С. 597-599.
5. Шафигулин Р.В., Сафронова И.А., Буланова А.В. // *Журн. физ. химии*. 2015. Т. 89. № 9. С. 1455-1460.
6. Макаренко Н.П., Глухова Т.А., Федюшкин И.Л., Ланин С.Н. и др. // *Журн. физ. химии*. 2005. Т. 79. № 8. С. 1499-1504.
7. Jiskra J., Claessens H.A., Cramers C.A., Kaliszan R. // *Journal of Chromatography A*. 2002. Vol. 977. pp. 193-206.

References

1. Osipova V.V., Shafigulin R. V., Konstantinov A. V., Tumanin A.N. et al., *Sorbtsionnye I khromatograficheskie protsessy*, 2012, Vol. 12, No 5, pp. 739-745.
2. Tyrina E.V., Dolgaeva A.G., Kurbatova S.V., Finkelstein E.E., *Sorbtsionnye I khromatograficheskie protsessy*, 2016, Vol. 16, No 2, pp. 200-211.
3. Shafigulin R. V., Egorova K.V., Bulanova A. V., *J. Phys. Chem.*, 2010, V.84, № 8, pp. 1561-1567.
4. Konstantinov A.V., Shafigulin R.V., Sklyuev P.V., Bulanova A.V. et al., *Protection of Metals and Physical Chemistry of Surfaces*, 2013, Vol. 49, No 6, pp. 597-599.
5. Shafigulin R. V., Safronova I.A., Bulanova A. V., *J. Phys. Chem.*, 2015, V.89, № 9, pp. 1455-1460.
6. Makarenko N.P., Glukhova T.A., Fedyushkin I.L., Lanin S.N. et al., *J. Phys. Chem.*, 2005, V.79, № 8, pp. 1499-1504.
7. Jiskra J., Claessens H.A., Cramers C.A., Kaliszan R., *J. Chromatog. A*, 2002, Vol. 977, pp. 193-206.

Шафигулин Роман Владимирович – к.х.н., доцент кафедры физической химии и хроматографии федерального государственного автономного учреждения высшего образования «Самарский национальный исследовательский университет имени академика С.П. Королева» (национальный исследовательский университет), Самара

Буланова Анджела Владимировна – д.х.н., профессор кафедры физической химии и хроматографии федерального государственного автономного учреждения высшего образования «Самарский национальный исследовательский университет имени академика С.П. Королева» (национальный исследовательский университет), Самара

Shafigulin Roman V. - candidate of chemical sciences, associate professor of department of physical chemistry and chromatography Samara National Research University, Samara, shafiro@mail.ru

Bulanova Andzela V. - Dr. Sc. Chem., the professor of department of physical chemistry and chromatography Samara National Research University, Samara