



УДК 577.543.7

© 1990 г.

*С. В. Галушко, М. В. Григорьева, М. Т. Кольчева,
И. И. Герус, Ю. Л. Ягуольский, В. П. Кухарь*

ОБРАЩЕННО-ФАЗОВАЯ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНАЯ ЖИДКОСТНАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ *n*-ПОЛИФТОРАЛКИЛОКСИ(ТИО)ПРОИЗВОДНЫХ ФЕНИЛАЛАНИНА

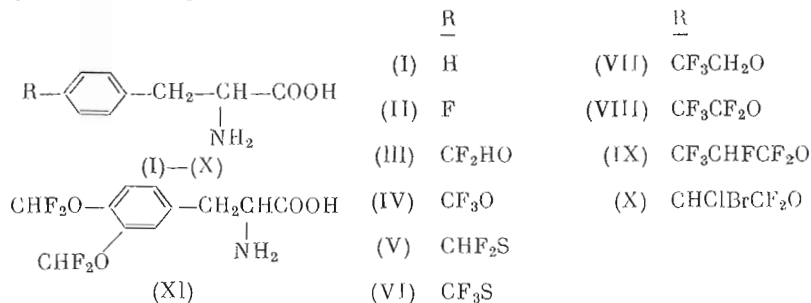
Институт биоорганической химии АН УССР, Киев

Определено влияние различных фторсодержащих группировок на параметры удерживания соединений. Показано, что удерживание коррелирует с величинами констант гидрофобности заместителей (π_x) и констант Гаммета (σ_p). Найдены условия хроматографирования *n*-полифторалкилокси(тио)производных фенилаланина.

Введение различных фторсодержащих заместителей в молекулу обеспечивает возможность регулирования липофильности биологически активных соединений в широких пределах, что позволяет достаточно просто варьировать этот важный параметр при их синтезе. Недавно нами разработан метод синтеза полифторалкилокси(тио)замещенных фенилаланина [1]. Как известно, обращенно-фазовая высокоэффективная жидкостная хроматография (офВЭЖХ) является методом, позволяющим на основании корреляционного анализа быстро и достаточно точно получить количественную характеристику липофильности соединений [2, 3]. Меньше данных о корреляции между удерживанием соединением и константами Гаммета (σ_p) его заместителей [4].

Цель настоящей работы — определение связи между удерживанием полифторалкилокси(тио)производных фенилаланина и константами гидрофобности (π_x) и Гаммета их заместителей.

Изучались следующие соединения:



Применение водно-метанольных элюентов и октадецильного сорбента позволяет успешно осуществлять хроматографирование изучаемых соединений. Как известно, наличие ионизированных группировок в составе молекулы часто приводит к уширению хроматографических пиков в условиях офВЭЖХ. Для изученных соединений использование в составе ПФ фосфатных буферных растворов с концентрацией более $1,8 \cdot 10^{-2}$ М устраняет размывание пиков и обеспечивает высокую эффективность хроматографической системы как в изократическом, так и в градиентном

Сокращения: офВЭЖХ — обращенно-фазовая высокоэффективная жидкостная хроматография, ПФ — подвижная фаза.

Параметры уравнения $\ln k' = A + BC_{\text{MeOH}}$ для соединений (I)–(XI)

Соединение	R	A	$-B \cdot 10^7$	Интервалы изученных концентраций метанола, об. %
I	H	1,15	5,1	10–25
II	F	1,27	4,2	10–30
III	CHF ₂ O	2,67	7,0	15–40
IV	CF ₃ O	4,00	7,9	20–45
V	CHF ₂ S	3,69	7,7	20–50
VI	CF ₃ S	4,86	8,1	35–60
VII	CF ₃ CH ₂ O	3,59	7,4	30–50
VIII	CF ₃ CF ₂ O	5,85	9,0	40–65
IX	CF ₃ CHF ₂ CF ₂ O	6,15	9,3	45–65
X	CHClBrCF ₂ O	2,49	3,9	40–55
XI	2×CHF ₂ O	4,13	8,9	30–50

Таблица 2

Изменение свободной энергии сорбции — $\Delta(\Delta G)$ для различных производных фенилаланина (элюент — 15% MeOH в 0,02 М фосфатном буферном растворе, pH 2,9)

Соединения	$-\Delta(\Delta G)$ *, кДж/моль	Соединения	$-\Delta(\Delta G)$, кДж/моль
I–II	0,65	I–III	3,21
IV–VI	2,30	III–XI	3,10
V–VI	2,80	VIII–IX	0,62
VII–VIII	4,96	IV–VII	1,14
III–IV	2,86		

* $-\Delta(\Delta G) = RT \ln \alpha$, где α — отношение коэффициентов емкости соединений.

Таблица 3

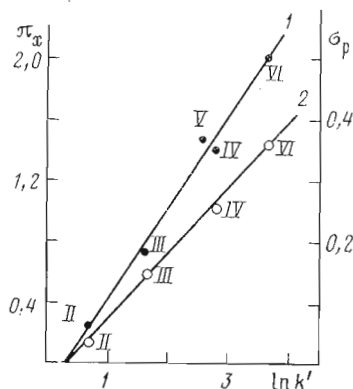
Значение констант π_x заместителей соединений (II)–(XI)

R	π_x	R	π_x
F	0,14 [6] 0,13 [8] 0,14	CF ₃ CH ₂ O	0,93
CHF ₂ O	0,58 [6] 0,57	CF ₃ CF ₂ O	1,80
CF ₃ O	1,04 [6] 1,21 [8] 1,06	CF ₃ CH ₂ CF ₂ O	1,90
CHF ₂ S	0,95	CHClBrCF ₂ O	0,69
CF ₃ S	1,44 [6] 1,58 [8] 1,43		

режимах. Величина логарифма коэффициента емкости соединений ($\ln k'$) линейно уменьшается с увеличением содержания метанола в ПФ. Параметры зависимости $\ln k' = A + BC_{\text{MeOH}}$ (C_{MeOH} — концентрация метанола в ПФ, об. %) для различных соединений приведены в табл. 1.

Представляло интерес оценить влияние различных атомов и группировок на изменение свободной энергии сорбции соединений на гидрофобной поверхности. Расчеты проводили для ПФ, содержащей 15% метанола. При этих условиях для большинства соединений либо имеются экспериментальные значения коэффициента емкости, либо область экстраполяции составляет 5–15% метанола в ПФ. Для соединений с очень малыми или очень большими значениями k' коэффициенты емкости рассчитывали, используя параметры, приведенные в табл. 1.

Как видно из табл. 2, замена атома водорода в *n*-положении фенильного кольца фенилаланина на атом фтора вызывает изменение свободной



Корреляция между $\ln k'$ производных фенилаланина (II)–(VI) и константами σ_p (1) и π_x (2) заместителей ароматического цикла

энергии сорбции ($\Delta(\Delta G)$) на $-0,65$ кДж/моль (соединения I и II), а замена атома водорода на атом фтора в дифторметоксигруппе приводит к более чем 4-кратному увеличению значения $\Delta(\Delta G)$ ($\Delta(\Delta G) = -2,86$ кДж/моль, соединения III и IV). Замена атома водорода в группе CHF_2S на атом фтора (соединения V и VI) дает близкое этому значение $\Delta(\Delta G) = -2,80$ кДж/моль. Если сравнить соединения с $\text{CF}_3\text{CH}_2\text{O}$ - и $\text{CF}_3\text{CF}_2\text{O}$ -группировками (VII и VIII), то видно, что замена двух атомов водорода на атомы фтора вызывает изменение ΔG на $-4,96$ кДж/моль. Таким образом, изменение свободной энергии сорбции при переходе от частично фторированных алкильных радикалов к полностью фторированным и при введении атома фтора в *n*-положение фенильного ядра фенилаланина характеризуется различными значениями инкрементов ΔG в пересчете на один атом фтора (2,5–2,9 и 0,65 кДж/моль соответственно). Интересно, что изменение свободной энергии сорбции по мере последовательного введения дифторметоксигруппы CHF_2O в ароматическое ядро фенилаланина (соединения I и III, а также III и XI) практически идентично и составляет $-3,2$ и $-3,1$ кДж/моль. Закономерно увеличение свободной энергии сорбции при замене атома кислорода на более гидрофобный и более объемистый атом серы, $\Delta(\Delta G) = -2,3$ кДж/моль (соединения IV и VI). Весьма интересен также факт большей гидрофобности соединения (IV) по сравнению с (VII). Известно, что при введении метиленовой группы удерживание соединений на гидрофобных сорбентах возрастает [5]. В нашем случае имеет место обратный эффект. Группа CF_3O обладает большей гидрофобностью, чем группа $\text{CF}_3\text{CH}_2\text{O}$. По всей видимости, для соединения (IV) сильная электроотрицательность трифторметиленовой группы приводит к значительному уменьшению электронной плотности на атоме кислорода и, как следствие этого, к понижению его способности формировать водородные связи. Уменьшение взаимодействия с подвижной фазой приводит к повышению удерживания этого соединения.

Как известно, для определения липофильности соединений одного класса можно использовать общее выражение, связывающее коэффициент емкости и коэффициент распределения в системе октанол — вода (P) [2]:

$$\ln P = \ln k' + n.$$

Часто наблюдается линейная связь $\ln k'$ с π_x -константами гидрофобности Ганча заместителей [2, 4, 6]. Параметры корреляционного уравнения $\ln k' = a + b\pi_x$ для F-содержащих заместителей имеют следующие значения: $a = 0,30 \pm 0,04$; $b = 2,34 \pm 0,04$ ($r = 0,95$) (рисунок). На основании полученного уравнения вычислены константы π_x других заместителей (табл. 3). Как видно из табл. 3, введение F-содержащих заместителей позволяет варьировать липофильность аминокислот в широких пределах. Гидрофобность заместителей изменяется в следующем порядке: $\text{CF}_3\text{CHF}_2\text{CF}_2\text{O} > \text{CF}_3\text{CF}_2\text{O} > \text{CF}_3\text{S} > \text{CF}_3\text{O} > \text{CHF}_2\text{S} \approx \text{CF}_3\text{CH}_2\text{O} > \text{CHBrClCF}_2\text{O} > \text{CHF}_2\text{O} > \text{F}$.

Достаточно хорошая корреляция наблюдается также между $\ln k'$ и σ_p -константами Гаммета заместителей [6] (рисунок). Корреляционное уравнение имеет вид: $\ln k' = 0,32 (\pm 0,14) + 6,7 (\pm 0,4) \sigma_p$ ($r = 0,95$). Изученные аминокислоты находятся в ионизированном состоянии во всем диапазоне рН, используемом в офВЭЖХ (2—8). Известно, что в условиях офВЭЖХ даже небольшое изменение степени диссоциации ионогенного вещества может значительно повлиять на его удерживание [7]. Можно предположить, что корреляция между значениями констант σ_p и удерживанием происходит вследствие влияния заместителей на константы ионизации изученных соединений.

Экспериментальная часть

В работе использовали жидкостный хроматограф ЛКВ (Швеция), состоящий из насоса 2150, контроллера 2152, спектрофотометрического детектора 2140, термостата колонок 2155, инжектора 2154, интегратора 2220 и колонки (0,46 × 25 см), заполненной октадецильным сорбентом Si100-Poliol-C18, 5 мкм (Serva, ФРГ). Подвижная фаза смеси метанол — 0,02 М фосфатный буферный раствор, рН 2,9. Объемная скорость потока 0,5 мл/мин, температура 35° С. Длина волны детектирования 220 нм.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Кольчева М. Т., Ягупольский Ю. Л., Герус И. И., Годунова Л. Ф., Кузарь В. И. // Журн. орган. химии. 1989. Т. 26. № 6. С. 1306—1311.
2. Rekker R. F. The hydrophobic fragmental constant. Amsterdam: Elsevier, 1977.
3. Braurmann T. // J. Chromatogr. 1986. V. 373. № 1. P. 191.
4. Шатц В. Д., Сазартова О. В. Высокоэффективная жидкостная хроматография. Рига: Зинатне, 1988.
5. Melander W., Horvath C. // Chromatographia. 1982. V. 15. № 2. P. 86.
6. Hanch C., Leo A. Substituent constants for correlation analysis in chemistry and biology. N. Y.: Wiley, 1979.
7. Horvath C., Melander W., Molnar I. // Analyt. Chem. 1977. V. 49. № 1. P. 142.
8. Новое в технологии соединений фтора / Ред. Исикава Н. М.: Мир, 1984. С. 503..

Поступила в редакцию
11.IX.1989

После доработки
13.XII.1989

S. V. GALUSHKO, M. V. GRYGORIEVA, M. T. KOLYTCHEVA,
I. I. GERUS, Yu. L. YAGUPOLSKY, V. P. KUHAR

REVERSED-PHASE HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY OF *p*-POLYFLUOROALKOXY(THIO)DERIVATIVES OF PHENYLALANINE

Institute of Bioorganic Chemistry, Academy of Sciences of Ukrainian SSR, Kiev

The chromatographic behaviour of some *p*-polyfluoroalkoxy(thio)derivatives of phenylalanine on an octadecyl stationary phase was studied. The influence of different fluorine-containing groups on the retention parameters and their correlation with the hydrophobicity constants of the substituents were found.