DOI: 10.17117/na.2015.03.152

Поступило в редакцию: 12.03.2015

<http://ucom.ru/doc/na.2015.03.152.pdf>

Тырина Е.В., Курбатова С.В., Пурьгин П.П. Удерживание производных таурина в условиях обращеннофазовой жидкостной хроматографии

Tyrina E.V., Kurbatova S.V., Purygin P.P.
**Retention of taurine derivatives under condition
of yigh resolution liquid chromatography**

Исследовано хроматографическое удерживание производных таурина в условиях ОФ ВЭЖХ на сорбентах различной химической природы. Изучено влияние строения молекул и состава элюента
Ключевые слова: ОФ ВЭЖХ, таурин, состав элюента, удерживание

Chromatographic retention of taurine derivatives was investigated under condition of RP HPLC. The influence of molecular structure and composition of the eluent were studied
Key words: RP-HPLC, taurine, eluent composition, retention

Курбатова Светлана Викторовна
Доктор химических наук, профессор, декан
Самарский государственный университет
г. Самара, ул. Академика Павлова, 1

Kurbatova Svetlana Victorovna
Doctor of Chemical Sciences, Professor, Dean
Samara state university
Samara, Academica Pavlova st., 1

Пурьгин Петр Петрович
Доктор химических наук, профессор, заведующий кафедрой
Самарский государственный университет
г. Самара, ул. Академика Павлова, 1

Purygin Petr Petrovitch
Doctor of Chemical Sciences, Professor, Head of Department
Samara state university
Samara, Academica Pavlova st., 1

Тырина Екатерина Владимировна
Аспирант
Самарский государственный университет
г. Самара, ул. Академика Павлова, 1

Tyrina Ekaterina Vladimirovna
Postgraduate
Samara state university
Samara, Academica Pavlova st., 1

Работа выполнена при поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации в рамках государственного задания по гранту №4.110.2014/К.

Введение

Интерес исследователей к производным таурина вызван важной биологической ролью самого таурина, участвующего в различных физиологических процессах [1, с. 265]. Известно, что это вещество обладает противосудорожной активностью, способен оказывать кардиотропное действие, выполняет роль нейромедиаторной аминоксилоты, а также проявляет ряд полезных с практической точки зрения свойств биологически активного вещества. Таурин играет

существенную роль в пренатальном развитии плода, по его концентрации в крови можно судить о различного рода патологических отклонениях [2, с. 7279]. В связи с этим таурин в настоящее время широко используется в медицине и пищевой промышленности как биомаркер, лекарственное средство или биологически активная добавка [3, с.203, 4, с.537].

С точки зрения химических свойств таурин является аминосульфоновой кислотой, содержащей кислую сульфогруппу и основную аминогруппу $\text{HO}_3\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ и, таким образом, является амфолитом. При значении pH, близком к 7, существует практически в виде цвиттер-иона. Все это приводит к тому, что таурин, в отличие от α -аминокарбоновых кислот, представляющих собой структурные единицы белков, обладает некоторыми особыми свойствами. В целом физико-химические свойства производных таурина исследованы, на наш взгляд, недостаточно. В литературе приведены данные о хроматографическом исследовании производных таурина, полученных его дериватизацией с помощью фторонитробензофуразана [4, с.538] или других производных [5, с. 627, 6, с.296]. Для анализа таких соединений рекомендуют капиллярный электрофорез, ионообменную хроматографию, в меньшей степени – жидкостную хроматографию, как правило, с различными преколоночными процедурами [7, с.1632, 8, с.1253].

Целью настоящей работы явилось исследование хроматографического поведения некоторых производных таурина в условиях обращеннофазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии (ОФ ВЭЖХ).

Экспериментальная часть

Эксперимент проводили на жидкостном хроматографе «Varian Pro Star» с УФ-детектором ProStar 325 и плунжерным насосом ProStar 210. Детектирование проводили при длине волны 254 нм. В качестве подвижной фазы применяли водно-ацетонитрильную смесь с различным содержанием ацетонитрила. Сорбенты – модифицированный кремнезем диасфер-110 (размеры хроматографической колонки 4.0x150 мм, размер частиц сорбента 5 мкм), нейтральный сверхсшитый полистирол (размеры хроматографической колонки 4.6x150 мм, размер частиц сорбента 3.2 мкм), сульфированный сверхсшитый полистирол с диаметром частиц 3 мкм (размер колонки 4,6x150 мм) и пористый графитированный углерод – гиперкарб (размеры колонки 50x3 мм, размер зерен сорбента 5 мкм). Сорбенты на основе сверхсшитого полистирола были синтезированы и упакованы в колонку в лаборатории стереохимии сорбционных процессов ИНЭОС РАН.

Растворы сорбатов готовили растворением индивидуальных веществ в соответствующей подвижной фазе; объем вводимой пробы составлял 20 мкл. Регистрацию хроматограмм и их обработку выполняли с помощью программы хроматографического анализа “Z-Лаб” (ЗАО “НТФ Бинар”) и Galaxie Control. Удерживание характеризовали величиной фактора удерживания (k), рассчитанного по известным формулам [9, с.190].

Значения дипольного момента (μ), поляризуемости (α), липофильности (lgP), энергии гидратации ($E_{\text{гидр}}$), площади поверхности молекул (S_w) и мольного объема (V) исследованных сорбатов рассчитаны с использованием про-

граммы HyperChem 8 Professional. Значения физико-химических параметров представлены в таблице 1.

Таблица 1. Некоторые физико-химические характеристики исследованных веществ

№	Формула	μ , D	α , Å ³	lgP	V, Å ³	Sa, Å ²	-Es
1		6.87	19.57	0.75	649.8	389.3	59.20
2		7.41	21.59	1.04	689.0	415.4	58.48
3		5.81	26.61	0.47	783.5	377.8	76.55
4		5.38	25.90	0.80	769.9	364.1	84.45
5		5.01	28.45	0.76	830.1	403.0	71.81
6		5.15	32.85	1.16	926.7	446.6	60.89

Обсуждение результатов

Метод ВЭЖХ, как известно, является мощным средством анализа органических соединений различной химической природы и, в частности, аминокислот и их производных, при анализе которых, как уже отмечено выше, в литературе рекомендуется предварительная процедура их дериватизации [7]. Поскольку в качестве объектов исследования нами выбраны производные таурина, содержащие заместители у сульфо- и аминогруппы $RO_2SCH_2CH_2NR_2$, дериватизация этих соединений не требуется.

В соответствии с закономерностями обращенно-фазового варианта ВЭЖХ удерживание исследованных соединений определяется конкурирующими взаимодействиями сорбатов: дисперсионными – с неполярной неподвижной фазой и специфическими – с полярным элюентом. При этом физико-химическими

параметрами сорбатов, ответственными за дисперсионные взаимодействия с неподвижной фазой, как известно, являются объем молекул, поляризуемость и липофильность.

Из представленных данных следует, что значения липофильности данных соединений весьма незначительны и мало изменяются в ряду исследованных соединений. Для производных таурина характерны большие значения величины дипольного момента, способствующие взаимодействию с компонентами подвижной фазы, и объема молекул, усиливающие дисперсионные взаимодействия с сорбентом.

В таблице 2 приведены значения фактора удерживания исследованных соединений для различных сорбентов.

Таблица 2. Факторы удерживания исследованных веществ на различных сорбентах

№	Значения фактора удерживания (k) при различной концентрации ацетонитрила в элюенте (%)								
	ОДС			S-ССПС		ССПС	ПГУ		
	60	70	80	60	70	80	60	70	80
1	0,87	0,91	0,95	4,45	5,17	2,8	18,04	9,84	5,91
2	1,31	1,1	0,64	11,83	6,48	4,5	43,32	20,21	13,43
3	1,38	0,7	0,68	3,83	4,54	2,02	1,00	6,96	1,42
4	1,29	1	0,76	4,53	4,53	3,19	18,78	11,58	6,83
5	-	-	-	-	-	-	-	1,18	1,65
6	1,58	1,24	0,76	8,03	7,33	4,03	-	25,5	15,01

В целом, как следует из представленных в таблицах 1 и 2 данных, удерживание исследованных веществ осуществляется в соответствии с закономерностями ОФ ВЭЖХ – характеристики удерживания возрастают с увеличением липофильности, объема и поляризуемости аналитов. В то же время различная природа заместителей, связанных с сульфогруппой, приводит к проявлению особенностей удерживания каждого аналита и определяет хроматографическое поведение этих веществ.

Так, замена атома фтора на хлор при переходе от вещества 1 к веществу 2 приводит к существенному возрастанию значений фактора удерживания на всех исследованных сорбентах, вероятно, в связи с некоторым увеличением объема и поляризуемости молекул сорбатов. Переход от имидазольного производного (3) к триазольному (4) лишь незначительно увеличивает удерживание на ССПС и существенно – на ПГУ. Единственным объяснением данного факта, на наш взгляд, является присутствие в молекуле вещества 4 трех атомов азота со свободными электронными парами, способными взаимодействовать с поверхностью ПГУ, так как остальные характеристики указанных двух веществ вполне сопоставимы.

В целом на ОДС значения фактора удерживания всех исследованных соединений невелики. При этом минимальное удерживание характерно для соединений, имеющих большие значения дипольного момента и, таким образом, вступающих в сильные межмолекулярные взаимодействия с полярным элюен-

том. Однако, на ССПС и ПГУ значения фактора удерживания для всех исследованных соединений существенно возрастают вне зависимости от состава элюента. Этот факт, вероятно, обусловлен свойствами особенностями данных сорбентов, связанными с их природой. Как известно, особенностью ПГУ является значительное удерживание полярных соединений, обусловленное взаимодействием молекул аналита, имеющих свободную электронную пару или ароматическую систему, и свободными электронами («электронами проводимости») ПГУ [10, с.1691]. При этом известно, что плоские молекулы сорбатов, способные подходить к поверхности пористого графитированного углерода на меньшие расстояния, удерживаются на нем гораздо лучше неплюских.

Свойством сверхсшитого полистирола является заметный дополнительный вклад π -взаимодействий в удерживание, в наибольшей степени проявляющийся для сорбатов с электронодефицитными или электроноизбыточными плоскими ароматическими фрагментами, кратными связями, вакантными d-орбиталями или неподеленными парами электронов [11, с.70].

При сорбции производных таурина на поверхности ССПС, вероятно, начинают играть роль π -взаимодействия ароматических систем аналитов и сорбента, дополнительные к дисперсионным, несколько увеличивающие удерживание.

Сорбция на ПГУ, очевидно, сопровождается проявлением эффекта полярного удерживания, благодаря которому удерживание производных таурина возрастает в значительной степени по сравнению с удерживанием на октадецилсиликагеле и сверхсшитом полистироле. Однако, столь значительный рост удерживания, вероятно, обусловлен и дополнительным влиянием фактора стереохимии производных таурина. Как следует из рис. 1, на котором представлены оптимизированные модели исследованных соединений, молекулы этих веществ являются достаточно плоскими, что способствует их лучшему контакту с поверхностью пористого графитированного углерода.

Существенно увеличивается и селективность хроматографической системы с ПГУ в качестве сорбента – из полученных данных следует, что значения фактора удерживания исследованных соединений существенно различаются даже для близких по структуре соединений, что может быть использовано для разделения смесей таких производных.

Влияние изменения состава элюента на удерживание производных таурина отвечает закономерностям обращеннофазового варианта ВЭЖХ: с увеличением концентрации ацетонитрила значения фактора удерживания уменьшаются для всех использованных сорбентов.

Таким образом, на основании полученных результатов можно сделать вывод о существенном влиянии строения молекул производных таурина на их хроматографическое удерживание. В целом же при исследовании сложных органических соединений подобного состава необходимо учитывать параметры всей хроматографической системы.

Рис. 1. Оптимизированные структурные модели производных таурина (нумерация в соответствии с таблицей 1)

Список литературы:

1. Кудашева Ф.Х. // Вестник БашГУ. 2008. Т. 13. №2. С. 265-269.
2. Caruso F. // J. Agric. Food Chem. 2004. Vol. 52. Pp. 7279-7285.
3. Zhang M. // Amino Acids. 2004. Vol. 26. Pp. 203-207.
4. Wang XiFeng, Chi DeFeng, Su GuanMin, Li Lin, Shao LiHua // Biomed. Environ. Sci. 2011. Vol. 24(5). Pp. 537-542.
5. Cataldi T., Telesca G., Bianco G. // Talanta. 2004. Vol. 64. Pp. 626-630.
6. Tessier E, Neirinck L, Zhu Z. // J. Chromatogr. B. 2003. Vol. 798. Pp. 295-302.
7. Ye F.G, Huang Y., Xu Q. // Electrophoresis. 2010. Vol.31. Pp. 1630-1636.
8. Khalil N.Y. // Talanta. 2010. Vol.80. Pp. 1251-1256.
9. Шатиц В.Д., Сахартова О.В. Высокоэффективная жидкостная хроматография. Рига: Зинатне. 1988. 390 с.
10. Pereira L. // J. Liq. Chromatogr. & Relat. Technol. 2008. Vol. 31. Pp. 1687-1731.
11. Davankov V.A., Sychov C.S., Ilyin M.M., Sochilina K.O. // J. Chromatogr. A. 2003. Vol. 987. Pp. 67-75.