

Katedra i Zakład Chemii Nieorganicznej, Wydział Farmaceutyczny, Akademia Medyczna w Lublinie  
Kierownik: prof. dr Edward Soczewiński

Maria BIEGANOWSKA

**Podziałowa chromatografia pirydylalkiloketonów w układach: słabo polarny rozpuszczalnik — wodne roztwory kwasu cytrynowego**

Распределительная хроматография пиридилалкилкетонев в системах: растворитель — водные растворы лимонной кислоты

Partition Chromatography of Pyridyl Alkyl Ketones in the Systems: Weakly Polar Solvent — Aqueous Solutions of Citric Acid

W analizowaniu struktury związków organicznych przy pomocy chromatografii podziałowej ciecz — ciecz bardzo ważny jest dobór odpowiedniego układu, w którym otrzymane wartości  $R_F$  leżałyby w ich optymalnym zakresie (tj. 0,1-0,8 jednostek  $R_F$ ). O wielkości współczynnika podziału decydują te same czynniki, które określają rozpuszczalność substancji, tj. siły oddziaływań międzycząsteczkowych pomiędzy substancją a fazą ruchomą z jednej strony i z drugiej — pomiędzy substancją a fazą stacjonarną. Stąd wynika możliwość regulacji współczynnika podziału przez osłabienie tych oddziaływań, między innymi również przez zastosowanie różnych faz stacjonarnych.

W poprzednich pracach stosowano układ z buforowaną (1) lub z silnie kwaśną fazą wodną (2). Dobre wyniki rozdzielania lipofilnych słabych zasad uzyskano przez zastosowanie układów formamidowych (13) lub wodnych zawierających kwas cytrynowy, z którym badane substancje silnie oddziałują, przesuując po dział na korzyść fazy polarnej (4).

Większość chromatograficznych badań struktury związków opiera się na znanej zależności Martina (5).

$$R_M = \sum \Delta R_M + K$$

gdzie  $R_M = \log \left( \frac{1}{R_F} - 1 \right)$ ,  $\Delta R_M$  jest zmianą  $R_M$  spowodowaną przez poszczególne  $R_F$  grupy chromatografowanego związku,  $K$  jest stałą dla danego układu zależną od stosunku objętościowego obu faz.

Powyzsza zależność potwierdzona została przez wielu autorów (6, 7, 8), jakkolwiek odchylenia mogą być spowodowane błędami eksperymentalnymi, a także zmienną wartością stałej  $K$  wynikającą z nierównomiernego stężenia obu faz wzdłuż bibuły (9, 10). Aby uniknąć tych błędów Decker (11) proponuje analizowanie związków łącznie z homologiczną serią odpowiednich wzorców. Przez interpolację lub ekstrapolację krzywej wykreślonej z eksperymentalnych wartości  $R_F$  otrzy-

many dla wzorców lub przez wyliczenie z podanej przez Teimra i Pospíšila (12) prostej zależności opartej na równaniu Martina i wynikającej z addytywności  $R_M$ , z dużym przybliżeniem można wnioskować o budowie analizowanego związku.

Homologiczna seria  $\alpha$ -i  $\gamma$ -pirydyloalkiloketonów, związków prostych i łatwo wykrywalnych, szczególnie nadaje się do chromatograficznych badań struktury związków, a przede wszystkim efektu objętości niepolarnej części cząsteczki oraz położenia grupy funkcyjnej. Również jako związki modelowe pirydyloalkiloketony mogą być punktem wyjścia do badania bardziej złożonych efektów strukturalnych fizjologicznie czynnych amin, reprezentowanych wśród związków pirydynowych. Stosowany w niniejszej pracy układ z kwasem cytrynowym w fazie wodnej jest dogodny do badania labilnych amin, które w silnie kwaśnym środowisku (kwasy mineralne) mogłyby ulec rozkładowi.

### CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA

Paski bibuły Whatman nr 4 (23, 7 × 7 cm) cięte w kierunku poprzecznym do maszynowego, impregnowano roztworem kwasu cytrynowego o stężeniu od 0,01 do 1,5 m. Następnie nadmiar roztworu w pasku wyciskano między dwoma arkuszami bibuły i ważono, aby określić początkową ilość roztworu kwasu w bibule, paski suszono na powietrzu do zawartości 0,5 g roztworu na 1,0 g suchej bibuły i aktualne stężenie kwasu cytrynowego wyliczano z równania :

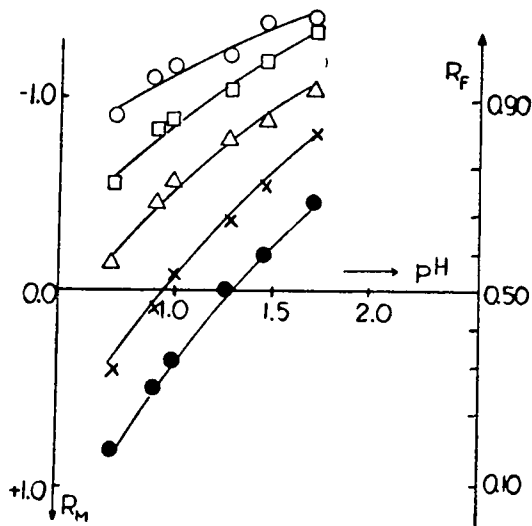
$$C = C_0 \frac{W_1 - W_d}{0,5 W_d}$$

gdzie  $C_0$  — początkowe stężenie kwasu,  $W_1$  — waga paska po impregnacji,  $W_d$  — waga suchego paska bibuły. Na paski nakraplano 1% chloroformowe roztwory ketonów. Po wywołaniu odczynnikiem Dragendorffa otrzymywano okrągłe plamki o średnicy około 1 cm. Paski rozwijano w komorach chromatograficznych (23 × 9 × 5 cm) nasyconych parami rozpuszczalnika i szczelnie przykrywanych dopasowaną płytką szklaną. Fazę ruchomą stanowiły rozpuszczalniki o różnej polarności nasycone roztworem kwasu cytrynowego o stężeniu odpowiadającym aktualnemu stężeniu kwasu na bibule, tj. około 2,5  $C_0$ . Otrzymane dane są średnią z trzech pomiarów (różniących się najwyżej o 0,04 jednostki  $R_F$ ) i przedstawione na wykresach jako zależności  $R_M$  od stężenia kwasu cytrynowego w fazie stacjonarnej. Badania przeprowadzano w temperaturze  $19^\circ \pm 1^\circ$ .

### WYNIKI I DYSKUSJA

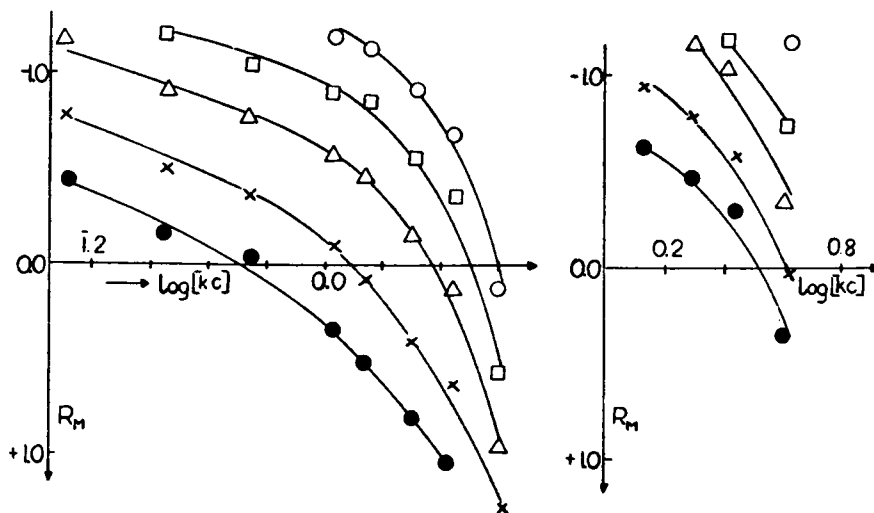
Eksperymentalne dane przedstawiono na wykresach od 1a, 1b do 6a, 6b. Krzywe są zależnościami  $R_M$  od log. molowego stężenia kwasu w fazie stacjonarnej kilku homologicznych  $\alpha$ -i  $\gamma$ -pirydyloalkiloketonów. Fazę ruchomą stanowiły rozpuszczalniki organiczne o różnej polarności. Ze względu na znaczne oddziaływania substancji badanych z kwasem cytrynowym fazy wodnej wyniki przedstawiono w postaci zależności  $R_M$  od log. molowego stężenia kwasu. Jak wynika z termodynamicznych rozważań, współczynniki  $R_M$  dają prostsze zależności od krzywych będących funkcją  $R_F$  (13). Zastosowano tu  $R_M$  według definicji Bate Smitha i Westalla:  $R_M = \log(1 - R_F)/R_F$ , aby jednak uzyskać równoległy wzrost  $R_M$  i  $R_F$ , oś  $R_M$  skierowano w dół (por. ryc. 1, na której naniesiono równoległą skalę  $R_F$ ).

Zgodnie z przewidywaniami teoretycznymi, zależności  $R_M$  od stężenia kwasu cytrynowego w fazie stacjonarnej, w większości przypadków uzyskano linie zbliżonego kształtu pozwalające na wyznaczenie  $\Delta R_M$  ( $CH_2$ ) w optymalnym zakresie



Ryc. 1. Zależności  $R_M$  od pH  $\gamma$ -pirydyloalkiloketonów. Faza stacjonarna : wodne roztwory kwasu cytrynowego, faza ruchoma : chloroform. Grupy alkilowe oznaczono o – metyl, x – etyl,  $\Delta$  – propyl,  $\square$  – butyl, O – amyl

$R_M$  vs. pH relationships of  $\gamma$ -pyridyl alkyl ketones. Stationary phase : aqueous solutions of citric acid ; moving phase : chloroform. Alkyl groups : o – methyl, x – ethyl,  $\Delta$  – propyl,  $\square$  – butyl, O – amyl

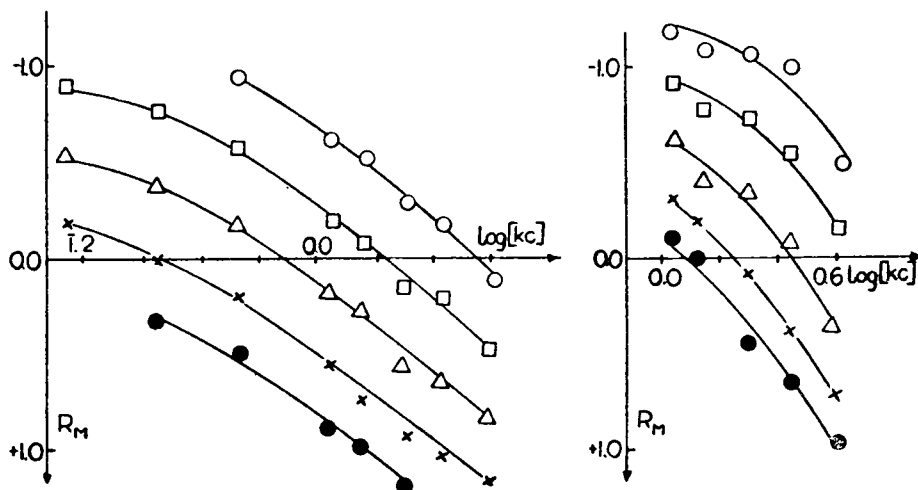


Ryc. 1a. Zależności  $R_M$  od  $\log$  [kwas cytrynowy]  $\gamma$ -pirydyloalkiloketonów. Grupy alkilowe oznaczono jak w ryc. 1. Faza ruchoma : chloroform

$R_M$  vs.  $\log$  citric acid relationships of  $\gamma$ -pyridyl alkyl ketones. Alkyl groups as in Fig. 1. Moving phase : chloroform

Ryc. 1b. Zależności  $R_M$  od  $\log$  [kwas cytrynowy]  $\alpha$ -pirydyloalkiloketonów. Grupy alkilowe oznaczono jak w ryc. 1. Faza ruchoma : chloroform

$R_M$  vs.  $\log$  citric acid relationships of  $\alpha$ -pyridyl alkyl ketones. Alkyl groups as in Fig. 1. Moving phase : chloroform

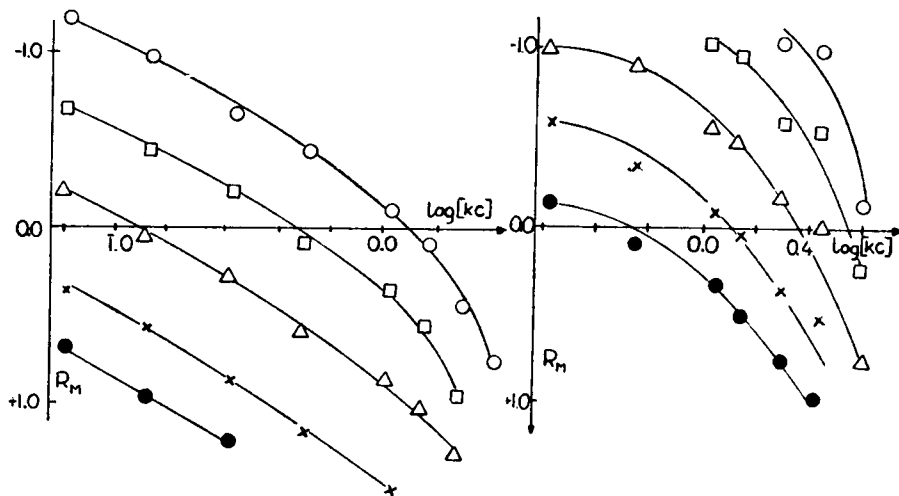


Ryc. 2a. Jak na ryc. 1a. Faza ruchoma : heksanol

The same as in Fig. 1a. Moving phase : hexanol

Ryc. 2b. Jak na ryc. 1b. Faza ruchoma : heksanol

The same as in Fig. 1b. Moving phase : hexanol



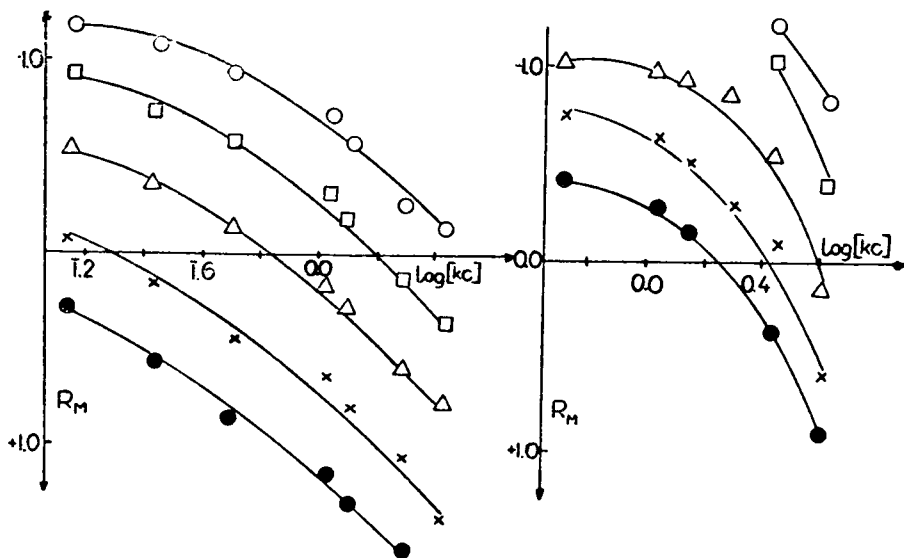
Ryc. 3a. Jak na ryc. 1a. Faza ruchoma : eter dwu n-butylowy

The same as in Fig. 1a. Moving phase : di-n-butyl ether

Ryc. 3b. Jak na ryc. 1b. Faza ruchoma : eter dwu n-butylowy

The same as in Fig. 1b. Moving phase : di-n-butyl ether

wartości  $R_M$  ( $-1 < R_M < +1$ ). Przy średnich stężeniach kwasu w fazie wodnej współczynnik kierunkowy  $R_M$  wynosi 1, co wskazywałoby na tworzenie się kompleksów solwacyjnych w stosunku cząsteczkowym 1:1; to również odpowiada mechanizmowi podziału przyjętemu dla słabych lipofilnych zasad pomiędzy fazę organiczną i bufor  $R_M = f(\text{pH})$ , ryc. 1 (3, 13). Przy wyższych stężeniach kwasu, we wszystkich badanych układach następuje wzrost spadku krzywej, nachylenie dochodzi tu do współczynnika 4, co zwłaszcza widoczne jest przy  $\alpha$  — ketonach. Przepuszczal-



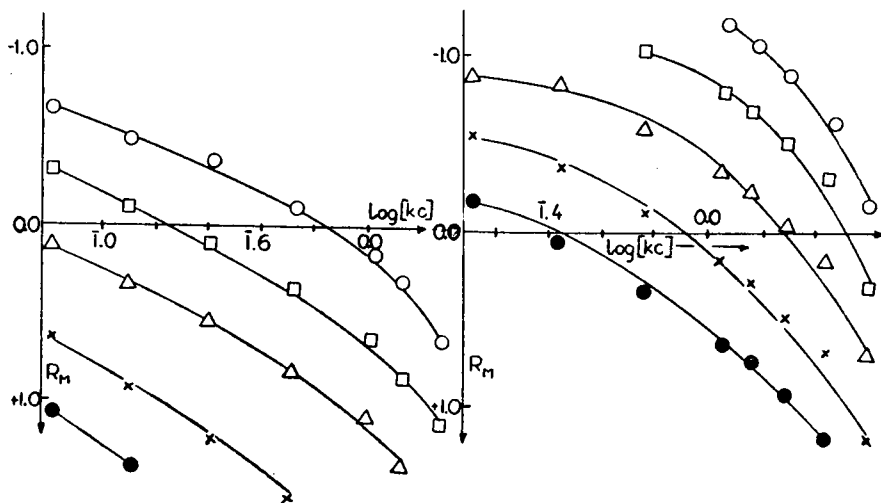
Ryc. 4a. Jak na ryc. 1a. Faza ruchoma: benzen

The same as in Fig. 1a. Moving phase: benzene

Ryc. 4b. Jak na ryc. 1b. Faza ruchoma: benzen

The same as in Fig. 1b. Moving phase: benzene

nie może to być spowodowane większą rozpuszczalnością lipofilnych zasad w stężonym kwasie cytrynowym (przy stęż. 3M roztwór jest około 50%) (4). Dzięki kontrolowanemu podziałowi za pomocą kwasu cytrynowego o różnych stężeniach otrzymano dla większości rozpuszczalników (zwłaszcza mniej polarnych) wartości  $R_M$  badanych substancji w optymalnym zakresie. Chloroform okazał się zbyt dobrym ekstrahentem dla tego rodzaju amin i zwłaszcza dla  $\alpha$  — ketonów jest nieprzydatny, gdyż w całym zakresie stężeń kwasu dawał zbyt wysokie wartości  $R_F$ .  $\alpha$  — ketony jako słabe zasady dawały we wszystkich rozpuszczalnikach wyższe wartości  $R_F$  niż otrzymywano dla  $\gamma$  — ketonów. Dodatkową przyczyną był prawdopodobnie efekt orto. Przyrost  $R_M$  dla grupy  $\text{CH}_2$  w rozpuszczalnikach mniej polarnych, tj. benzenie,  $\text{CH}_4$ , cykloheksanie i eterze dwu  $n$ -butylowym wynosi od 0,5 do 0,6 — przy log. stęż. kwasu = 0,0 zarówno dla  $\alpha$  — jak i dla  $\gamma$  — ketonów. Nieco gorszą selektywność dały chloro-

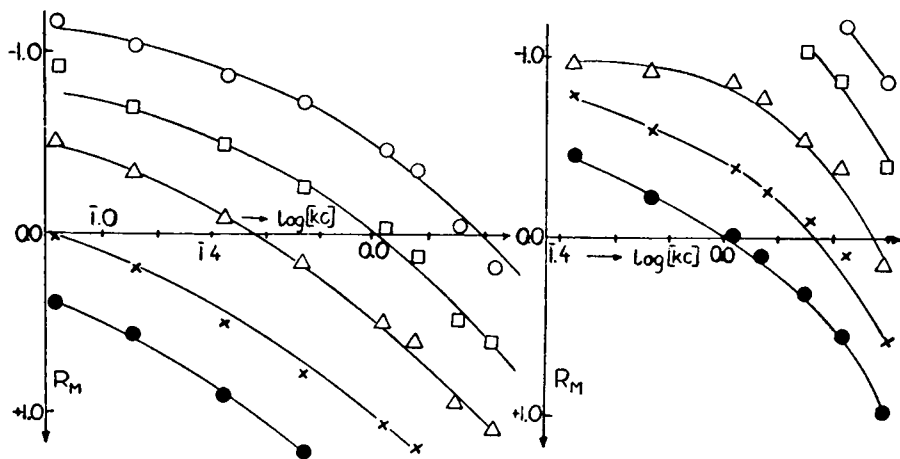


Ryc. 5a. Jak na ryc. 1a. Faza ruchoma : cykloheksan

The same as in Fig. 1a. Moving phase : cyclohexane

Ryc. 5b. Jak na ryc. 1b. Faza ruchoma : cykloheksan

The same as in Fig. 1b. Moving phase : cyclohexane



Ryc. 6a. Jak na ryc. 1a. Faza ruchoma : czterotlenek węgla

The same as in Fig. 1a. Moving phase : chlorinated carbon

Ryc. 6b. Jak na ryc. 1b. Faza ruchoma : czterotlenek węgla

The same as in Fig. 1b. Moving phase : chlorinated carbon

form i heksanol, tu  $\Delta R_M$  mieści się w granicy 0,4—0,5 jednostek  $R_M$ . Ketony, butylowy i amyłowy leżą poza zakresem optymalnej dokładności  $R_M$  i to prawdopodobnie stanowi przyczynę rozbieżności  $\Delta R_M(\text{CH}_2)$ . Również wartość  $\Delta R_M(\text{CH}_2)$

dla dwóch pierwszych ketonów jest nieco mniejsza, co spowodowane jest być może różnicami w stałych dysocjacji.  $\Delta R_M(\alpha \rightarrow \gamma)$  w niepolarnych rozpuszczalnikach wynosi 1,0—1,4 jednostek  $R_M$ ; podobne wyniki uzyskano w poprzedniej pracy (1).

Układy stosowane w niniejszej pracy okazały się przydatne do rozdzielu lipofilnych słabych zasad, a badane tu  $\alpha$  i  $\gamma$  pirydyloalkiloketony służyć mogą jako wzorce dla innych substancji, również dla labilnych fizjologicznie czynnych amin pochodnych pirydynowych.

#### PIŚMIENNICTWO

1. Soczewiński E., Bieganowska M.: *J. Chromatog.* **40**, 431, 1969.
2. Bieganowska M., Soczewiński E., Bieganowska S.: *J. Chromatog.* **45**, 121, 1969.
3. Soczewiński E., Maciejewicz W.: *Chem. Anal.* **15**, 1199, 1970
4. Soczewiński E., Kuczyński, J., (w druku).
5. Martin A J P.: *Biochem. Soc. Symposium Cambridge* **3**, 4, 1950.
6. Franc J., John J.: *J. Chromatog.* **2**, 423, 1959.
7. Marcinkiewicz S., Green J., Mc Haled D.: *J. Chromatog.* **10**, 42, 1963.
8. Prochazka Z.: *Chem. Listy* **58**, 911, 1964.
9. Gasparic J.: *Acta. Chim. Acad. Sci. Hung.* **27**, 221, 1961.
10. Copius — Peereboom J. W.: *Rec. Trav. Chim.* **84**, 659, 1965.
11. Decker P.: *Naturwissenschaften* **45**, 464, 1958.
12. Taimr L., Pospišil J.: *J. Chromatog.* **52**, 131, 1970
13. Soczewiński E.: *Ann. Univ. Mariae Curie-Skłodowska, Sec. D. Lublin*, **23**, 21, 1970.

Otrzymano 15.III.1971.

#### РЕЗЮМЕ

Определены зависимости  $R_M$  ряда гомологических  $\alpha$ - и  $\gamma$ -пиридилкетонов от логарифма молярной концентрации лимонной кислоты в водной фазе. Подвижную фазу представляли растворители различной полярности. При средних концентрациях лимонной кислоты получены параллельные линии с наклоном около 1,0, которые позволяют определить  $\Delta R_{M(CH_2)}$ . При больших концентрациях лимонной кислоты наклон линий был более крутой, что можно объяснить уменьшением ассоциации водной фазы, образованием ионных пар или адсорбцией на поверхности водной фазы. Исследованные  $\alpha$ - и  $\gamma$ -пиридилкетоны можно применить как стандартные вещества для исследования структуры более сложных соединений, а также для исследования лабильных физиологически активных аминов, нестойких в среде сильных кислот.

#### SUMMARY

$R_M$  vs. log [citric acid] relationships of two homologous series of pyridyl alkyl ketones were determined for the systems of weakly polar solvents — aqueous solutions of citric acid.

The slope of the  $R_M$  vs.  $\log$  [citric acid] lines was ca 1.0 in the range of moderate concentrations, which permitted to determine  $\Delta R_M$  values for one methylene group. In strongly acidic systems the slopes were higher, which was probably caused by the loosening of the structure of the aqueous phase, formation of ion pairs and adsorption on the liquid/liquid interface.

The  $\alpha$ - and  $\gamma$ -alkyl pyridyl ketones can be used as reference solutes for the investigation of more complex structures, including labile, physiologically active amines which are instable in strongly acidic media.