

УДК 543.544:547.979

## ИССЛЕДОВАНИЕ АДсорбЦИИ ФЕОФИТИНАТОВ *a*, *b* Се (IV) МЕТОДОМ ВЭЖХ

Е.Е. Лазарева, И.Ю. Коровин, Г.Д. Брыкина

(кафедра аналитической химии)

Синтезированы комплексы Се (IV) с феофитинами *a* и *b*. В условиях нормально-фазового варианта ВЭЖХ определены хроматографические параметры удерживания этих комплексов и лигандов – феофитинов *a, b*. Методом ВЭЖХ изучена адсорбция феофитинатов Се (IV) в системе гексан – *n*-бутанол (96:4) – Силасорб-600, построены изотермы адсорбции.

В литературе не обнаружено сообщений о синтезе феофитинатов Се (IV). Целью настоящей работы явились синтез комплексов Се (IV) с феофитинами *a*, *b*, а также исследование удерживания и адсорбции этих соединений в условиях нормально-фазовой ВЭЖХ.

### Экспериментальная часть

Хлорофилл (Хл) экстрагировали из листьев сухой крапивы водным раствором ацетона. Концентрации Хл *a* ( $C_a$ ) и Хл *b* ( $C_b$ ) рассчитывали, согласно [1], по уравнениям

$$C_a = 13,7A_{665} - 5,76A_{649},$$

$$C_b = 25,8 A_{649} - 7,6 A_{665}.$$

*Синтез феофитинатов Се (IV)*. Лиганд – феофитин (Фн) получали добавлением HCl к ацетоновому экстракту хлорофилла. Полученный раствор выдерживали два часа, затем добавляли растворитель и 5-кратный избыток сульфата Се (IV) [2]. В качестве растворителя при синтезе использовали либо имидазол (1,0 г), либо пиридин (10 мл), либо морфолин (10 мл). Синтез проводили в колбе с обратным холодильником при умеренном кипении реакционной смеси. Время синтеза в имидазоле составило 30 мин, а в пиридине и морфолине – 4 ч. Полученные феофитинаты экстрагировали хлороформом (10 мл), экстракт промывали водой.

Таблица 1

Коэффициент емкости соединений

Соединение	Ацетон-уксусная кислота (80:20)	Хлороформ-уксусная кислота (95:5)			Гексан - хлороформ - метанол (50:45:5)			Гексан - <i>n</i> -бутанол (96:4)		
	$k'$	$k'$	$\alpha$	$R_s$	$k'$	$\alpha$	$R_s$	$k'$	$\alpha$	$R_s$
Фн <i>a</i>	6,1	4,6	1,4	2,3	6,5	1,8	0,95	5,7	-	-
Фн <i>b</i>		6,5			11,5					
Се Фн <i>a</i>	2,6	0,8	1,65	0,8	1,2	1,3	0,8	1,0	1,1	0,4
Се Фн <i>b</i>		1,3			1,5			1,1		

Электронные спектры поглощения (ЭСП) соединений снимали на спектрофотометре "Хитачи-124" ( $l = 1$  см, относительно хлороформа).

Хроматографическое поведение соединений исследовали на микроколоночном хроматографе "Милихром-4" с колонкой из нержавеющей стали 64x3 мм, заполненной силикагелем Силасорб-600 (5 мкм). Расход элюента составлял 50 мкл/мин, объем пробы 6 мкл. Спектрофотометрический детектор с длиной волны 404 нм позволял достигать низких пределов обнаружения, поскольку все исследуемые соединения имеют в спектрах поглощения максимум около 400 нм (полоса *Core*). В качестве подвижных фаз использовали смеси растворителей, таких как ацетон, хлороформ, гексан, метанол, *n*-бутанол, уксусная кислота. Все растворители марки "х.ч." использовали без дополнительной очистки.

Объем удерживания неудерживаемого компонента ( $V_m$ ) определяли по удерживанию  $CCl_4$  ( $V_m = 112$  мкл). Для построения изотерм адсорбции по данным ВЭЖХ в

подвижной фазе гексан - *n*-бутанол (96:4) использовали, согласно [3], уравнение

$$a = \frac{S_{адс} \cdot C \cdot V_{пр}}{S_n \cdot g}$$

где  $a$  - адсорбция, моль/г;  $C$  - концентрация раствора, моль/л;  $V_{пр}$  - объем пробы, мкл;  $g$  - масса сорбента (0,1 г);  $S_{адс}$  и  $S_n$  - площадь адсорбции и пика соответственно. Для определения площадей  $S_{адс}$  и  $S_n$  использовали метод взвешивания.

Результаты и их обсуждение

Как правило, комплексы порфиринов с высокозарядными катионами нельзя получить в тех же условиях, что и для двухзарядных, поскольку реакции порфиринов с высокозарядными ионами менее эффективны, чем с двухзарядными. Это связано с тем, что сольваток комплексы таких металлов прочнее удерживают растворитель и анионы в первой координационной сфере. Поэтому при синтезе феофитинов Се (IV) важен выбор растворителя. На рис. 1 приведены ЭСП полученных соединений, откуда видно, что синтезы в среде имидазола и морфолина прошли достаточно хорошо.

О том, что реакция в среде пиридина не прошла или прошла не полностью свидетельствует наличие пяти полос поглощения в спектре поглощения продукта реакции (такой спектр характерен для феофитина). Вышесказанное можно объяснить тем, что пиридин является наименее протофильным и имеет самую низкую температуру кипения [4].

Рассчитанные из экспериментальных данных коэффициенты емкости лигандов (Фн *a*, Фн *b*) и комплексов зависят от состава и природы компонентов подвижной фазы (табл. 1).

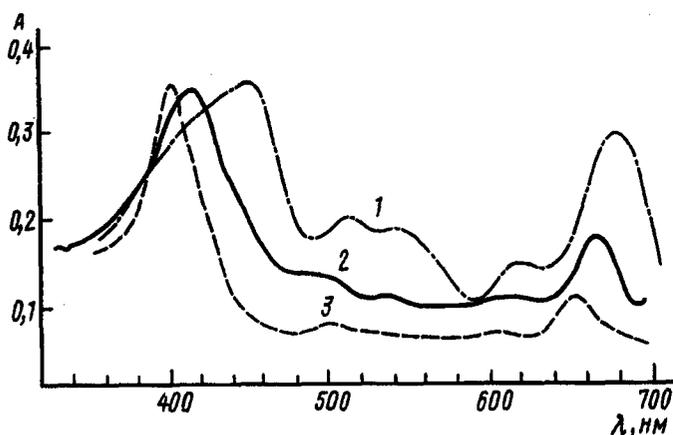


Рис. 1. ЭСП хлороформных растворов Се Фн (*a+b*),  $l = 1$  см. Соединения синтезировали в: 1 - пиридине, 2 - имидазоле, 3 - морфолине

Растворитель	Пиридин	Морфолин	Имидазол
$pK_a$	8.33	7.03	5.2
$T_{кип}, ^\circ C$	115.4	128.9	257

Удерживание в нормально-фазовой ВЭЖХ определяется, с одной стороны, способностью центрального атома металла координировать молекулы растворителя подвижной фазы, с другой – конкурентной адсорбцией полярного компонента подвижной фазы и сорбата на поверхности Силасорба-600. Лиганды удерживаются сильнее, чем комплексы, поскольку реакционный центр комплекса  $N_4M$  сильнее взаимодействует с полярными компонентами подвижной фазы, чем реакционный центр лиганда  $N_4H_2$ . Экранирование реакционного центра сольватной оболочкой, обнаруженное в [5], может препятствовать взаимодействию молекул феофитина с сорбентом или подвижной фазой. Так, в случае Се (IV) к экранированию реакционного центра приводит ковалентно связанный с центральным атомом ацидолиганд (сульфат-ион). Причиной увеличения удерживания соединений *b*-ряда по сравнению с *a*-рядом могут быть, согласно [6], межпигментные взаимодействия на поверхности адсорбента (к которым более склонны соединения *b*-ряда) и наличие формильной группы у молекул *b*-ряда на краю макроцикла, противоположном месту расположения кето- и сложнотетрапиррольной групп. Одновременное участие указанных групп в образовании адсорбционной связи с ОН-группами поверхности приводит к плоскому расположению макроцикла на поверхности силикагеля.

Таким образом, исследованные соединения способны к взаимодействиям с подвижной и неподвижной фазами. Какие из них доминируют можно узнать, анализируя

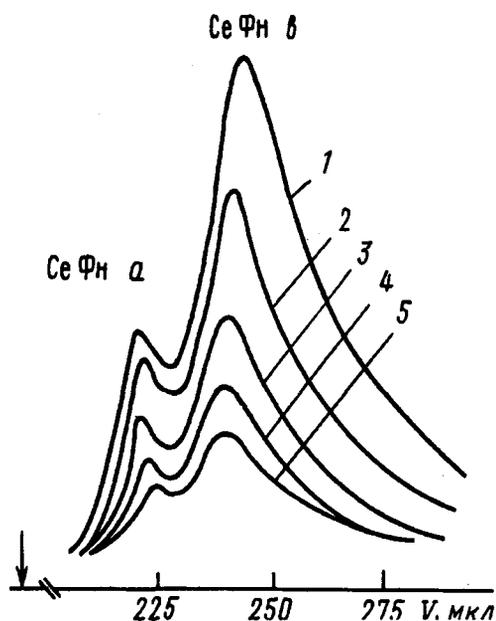


Рис.2. Хроматограммы Се Фн *a, b* (концентрации соединений 1, 2, 3, 4, 5 указаны в табл. 2, система гексан – *n*-бутанол (96:4) – Силасорб-600)

Таблица 2  
Данные для построения изотерм адсорбции

Соединение	Гексан – <i>n</i> -бутанол (96:4) – Силасорб-600			
	номер образца	$c \cdot 10^5$ , моль/л	$a \cdot 10^9$ , моль/г	$K_f \cdot 10^{-4}$ , л/г
Се Фн <i>a</i>	1	1.0	0.30	0.34
	2	0.5	0.17	
	3	0.3	0.11	
	4	0.1	0.05	
	5	0.07	0.02	
Се Фн <i>b</i>	1	3.1	1.30	0.46
	2	1.55	0.60	
	3	0.8	0.45	
	4	0.4	0.18	
	5	0.2	0.08	

изотермы адсорбции. Для построения изотерм адсорбции получали хроматограммы феофитинов Се(IV) *a*- и *b*-рядов в системе гексан – *n*-бутанол (96:4) (рис. 2).

Расположение изотерм адсорбции согласуется с порядком выхода соединений из колонки. В первом приближении они могут быть описаны уравнением Генри  $a = K_f \cdot c$ . Данные для построения изотерм и константы Генри ( $K_f$ ) приведены в табл. 2. При спрямлении изотерм адсорбции в координатах  $c/a = f(c)$ , согласно уравнению

$$c/a = \frac{1}{a_m(K-1)} + \frac{c}{a_m},$$

было установлено, что данные изотермы относятся к *S*-классу. Такой вид изотерм подтверждает, что величины энергии взаимодействия порфирина – растворитель превышают энергию межмолекулярного взаимодействия порфирина – адсорбент [7]. *S*-образный вид изотерм обусловлен не только конкурентной адсорбцией сорбата на поверхности неподвижной фазы, но и в большей степени их специфической и неспецифической сольватацией компонентами подвижной фазы. Первая характерна для металлокомплексов, вторая – для лигандов.

В заключение отметим, что разделение хроматографических пиков феофитинов Се (IV) рядов *a* и *b* до базовой линии затруднено в связи с тем, что пики соединений хотя и симметричны, но достаточно широки. Это может быть связано с отсутствием общих элементов симметрии в молекулах феофитинов. Однако полученные данные показывают, что методом микроколоночной ВЭЖХ можно идентифицировать феофитины *a* и *b* и их комплексы с Се (IV) по параметрам удерживания, а также определять эти соединения количественно в интервале концентраций  $(2,5 - 31) \cdot 10^{-6}$  М.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Малый практикум по физиологии растений / Под ред. А.Т. Мокроносова. М., 1994.
2. Ломова Т.Н., Андрианова Л.Г., Березин Б.Д. // Коорд. Химия. 1988. 14. С. 453.
3. Экспериментальные методы в адсорбции и газовой хроматографии / Под ред. Ю.С. Никитина, Р.С. Петровой. М., 1990.
4. Химическая энциклопедия / Под ред. И.Л. Кнунянца. М., 1992.
5. Березин Б.Д. // ЖНХ. 1992. 37. С. 1260.
6. Мамлеева Н.А., Некрасов Л.И. // ЖФХ. 1989. 63. С. 735.
7. Ланин С.Н., Никитин Ю.С., Сыроватская Е.В. // ЖФХ. 1993. 67. С. 1658.

Поступила в редакцию 02. 07. 96