

МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
имени М.В.ЛОМОНОСОВА

На правах рукописи

ПРОСУНЦОВА ДАРЬЯ СЕРГЕЕВНА

**СИНТЕЗ И ИССЛЕДОВАНИЕ СОРБЕНТОВ НА
ОСНОВЕ СОПОЛИМЕРА СТИРОЛА И ДИВИНИЛБЕНЗОЛА,
МОДИФИЦИРОВАННЫХ НАНОЧАСТИЦАМИ ЗОЛОТА,
ДЛЯ ВЭЖХ**

Специальность – 1.4.2 – Аналитическая химия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание учёной степени

кандидата химических наук

Москва – 2023

Работа выполнена на кафедре аналитической химии химического факультета МГУ имени М.В.Ломоносова.

Научный руководитель **Ананьева Ирина Алексеевна**

Кандидат химических наук

Официальные оппоненты **Курганов Александр Александрович**

Доктор химических наук, доцент

ФГБУН Институт нефтехимического синтеза им. А.В. Топчиева РАН, и.о. главного научного сотрудника

Яшкин Сергей Николаевич

Доктор химических наук, профессор

ФГБОУ ВО "Самарский государственный технический университет", профессор

Чернобровкин Михаил Геннадьевич

Кандидат химических наук

ООО «Рисерч лаб», заведующий лабораторией

Защита диссертации состоится 20 сентября 2023 года в 15 часов 00 минут на заседании диссертационного совета МГУ.014.5 Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова по адресу: 119991, Москва, ГСП-1, Ленинские горы, д. 1, стр. 3, МГУ имени М.В.Ломоносова, Химический факультет, аудитория 446.

E-mail: dissovet02.00.02@mail.ru

С диссертацией можно ознакомиться в отделе диссертаций научной библиотеки МГУ имени М.В.Ломоносова (Ломоносовский просп., д. 27) и на сайте: <https://dissovet.msu.ru/dissertation/014.5/2561>

Автореферат разослан « » июля 2023 года.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
кандидат химических наук



И.А. Ананьева

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Высокоэффективная жидкостная хроматография – наиболее востребованный метод разделения различных классов органических веществ. В современном мире ставятся все более сложные научные и практические задачи по разделению органических веществ. Это касается таких областей как фармацевтика, медицина, анализ окружающей среды, допинг-контроль и другое. Постоянно возрастают требования к чувствительности и селективности определения, к экспрессности и универсальности методов. Также в приоритет ставится удешевление и упрощение анализа. Все это говорит о необходимости усовершенствования существующих методов разделения и поиска новых подходов. Поэтому, разработка неподвижных фаз для ВЭЖХ с использованием новых подходов и современных технологий очень *актуальна*.

Одним из решений может быть использование функциональных материалов для создания новых универсальных сорбентов, селективных к различным группам органических соединений. Последние десятилетия в сепарационных методах анализа идет интенсивное развитие функциональных наногибридных материалов, в том числе широко исследуются наночастицы золота (НЧЗ). НЧЗ химически инертные наночастицы, они хорошо изучены и могут быть получены определенного размера и формы путем восстановления солей Au (III). Иммобилизация НЧЗ на поверхности носителя приводит к увеличению площади поверхности и образованию слоя золота, который можно использовать для дальнейшей модификации лигандами. Серосодержащие вещества образуют на поверхности золота самоорганизованные монослои тиолятов за счет образования прочной ковалентной связи Au-S. Достоинством данной модификации является то, что она позволяет быстро и без специального оборудования получать однородные пленки на поверхности с заданными свойствами. Варьирование природы серосодержащих соединений позволяет синтезировать сорбенты, подходящие для конкретных аналитических задач.

В жидкостной хроматографии обычно отдают предпочтение силикагелевым носителям. Тем не менее, неподвижные фазы на основе диоксида кремния имеют недостаток, силикагель легко гидролизует в условиях с высокими значениями pH. Традиционно органические полимеры являются альтернативными субстратами в качестве неподвижной фазы для жидкостной хроматографии, поскольку они могут переносить широкий диапазон pH. Наиболее распространенным органическим полимером, применяемым для жидкостной хроматографии, является сополимер стирола и дивинилбензола (ПС-ДВБ).

Отдельной важной задачей является разработка так называемых хиральных неподвижных фаз, предназначенных для разделения энантиомеров, что особенно важно для фармацевтики. Хорошо известно, что энантиомеры многих основных лекарственных средств обладают различной фармацевтической активностью. В настоящее время многие лекарственные средства, имеющие хиральные центр(ы), продаются в виде рацемических смесей. Получение чистых оптических изомеров не

является тривиальной задачей. По этой причине разделение энантиомеров является важной частью органического синтеза и медицинской химии. Высокоэффективная жидкостная хроматография широко используется для разделения и количественного определения различных классов органических соединений, включая оптические изомеры. В последнем случае успешное разделение энантиомеров требует использования хроматографических систем, содержащих так называемые хиральные селекторы, то есть вещества, обладающие оптической активностью, в подвижной или неподвижной фазах. Для минимизации использования дорогих хиральных селекторов практичнее использовать их в иммобилизованной форме. Соответствующие адсорбенты называются хиральными неподвижными фазами (ХНФ), а режим разделения получил название хиральной ВЭЖХ. Не существует универсальной ХНФ, позволяющей разделить все возможные энантиомеры различных лекарств, поэтому есть множество различных типов неподвижных фаз, разработанных или настроенных на разделение конкретных энантиомеров или групп энантиомеров. Следовательно, существует большой спрос на новые селективные ХНФ, но, как правило, синтез новых ХНФ представляет собой сложную исследовательскую задачу, особенно на стадии иммобилизации хиральных селекторов на поверхность подходящего субстрата. Перспективным вариантом закрепления хиральных селекторов на хроматографических носителях без сложного многостадийного синтеза может быть использование НЧЗ.

Цель работы – разработка новых хроматографических сорбентов для ВЭЖХ на основе наногибридных полимерных материалов с наночастицами золота и их применение для разделения органических соединений различных классов, в том числе оптически активных лекарственных средств.

Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие задачи:

- разработать метод иммобилизации наночастиц золота, стабилизированных различными органическими лигандами, на поверхность матрицы ПС-ДВБ с различными характеристиками площади поверхности, степени сшивки, размером пор;
- разработать метод синтеза наночастиц золота, стабилизированных макроциклическими антибиотиками эремомицином, ванкомицином;
- исследовать строение синтезированных сорбентов физико-химическими методами;
- исследовать синтезированные полимерные наногибридные сорбенты в качестве неподвижных фаз в ВЭЖХ для разделения разных классов органических соединений;
- изучить разделение оптически активных соединений на полученных полимерных наногибридных сорбентах методом ВЭЖХ;
- провести анализ лекарственных препаратов на синтезированных неподвижных фазах.

Научная новизна

Научная новизна работы заключается в получении новых полимерных наногибридных сорбентов с наночастицами золота и их применении для ВЭЖХ.

Предложен способ функционализации полимерных матриц ПС-ДВБ наночастицами золота, стабилизированными различными лигандами. Впервые синтезированы полимерные наногибридные сорбенты ПС-ДВБ с НЧЗ, с аминокислотами L-лизином и L-цистеином. Установлены закономерности удерживания на полученных неподвижных фазах групп органических веществ, входящих в состав лекарственных средств.

Разработан и оптимизирован синтез наночастиц золота, стабилизированных макроциклическими антибиотиками эремомицином и ванкомицином, с использованием двух подходов: первый – путём восстановления HAuCl_4 напрямую макроциклическим антибиотиком при нагревании; второй – с добавлением триэтиламина к смеси HAuCl_4 и антибиотика при комнатной температуре.

Оптимизированы условия сорбции НЧЗ, стабилизированных эремомицином (НЧЗЭ), на полистирол-дивинилбензолные матрицы с различными характеристиками. Впервые синтезированы и использованы в качестве неподвижных фаз для ВЭЖХ полимерные наногибридные сорбенты с НЧЗЭ. Установлены закономерности удерживания на синтезированных сорбентах различных групп веществ - нитроанилины, ароматические углеводороды, профены, β -блокаторы, аминокислоты и их производные. Показано, что сорбент ПС-ДВБ с НЧЗЭ возможно использовать в вариантах обращённо-фазовой и гидрофильной хроматографии. Показана энантиоселективность сорбента ПС-ДВБ, модифицированного НЧЗЭ, к различным классам соединений.

Практическая значимость

Предложенный подход синтеза наногибридных полимерных сорбентов с ПС-ДВБ и НЧЗ, стабилизированных различными лигандами, позволяет получить новый класс хроматографических сорбентов различного предназначения в зависимости от свойств лигандов.

Предложенный способ закрепления хиральных селекторов через наночастицы золота позволяет упростить синтез хиральных неподвижных фаз по сравнению с коммерчески доступными.

Полимерная матрица устойчива в широком диапазоне pH, что открывает возможности работы с экстремальными подвижными фазами. Показана возможность экспрессного разделения смеси β -блокаторов в условиях сильнощелочной среды на сорбенте ПС-ДВБ с НЧЗ.

Предложен подход экспрессного определения энантимеров профенов, входящих в состав лекарственных средств, на сорбенте ПС-ДВБ с НЧЗ, стабилизированными липоевой кислотой с привитым L-лизином.

Проведен анализ энантиомерного состава лекарственного средства «Кетонал» содержащий в своем составе действующее вещество кетопрофен.

Положения, выносимые на защиту:

1. Методы синтеза наночастиц золота с макроциклическими антибиотиками эремомицином и ванкомицином путём восстановления HAuCl_4 напрямую макроциклическим антибиотиком при нагревании или с добавлением триэтиламина к смеси HAuCl_4 и антибиотика при комнатной температуре позволяют получить стабилизированные НЧЗ размером 15-20 нм.
2. Результаты комплексного исследования синтезированных сорбентов физико-химическими методами (методы спектроскопии диффузного отражения (ДО), низкотемпературной адсорбции азота, сканирующей электронной микроскопии (СЭМ), элементного анализа) позволяют подтвердить модифицирование исходного ПС-ДВБ; отметить, что большее покрытие наночастицами золота осуществляется для матриц с большим диаметром пор и меньшим размером частиц; показать, что частицы получаемых сорбентов имеют размер 3-6 мкм сферическую форму, площадь функциональной поверхности 300-600 $\text{м}^2/\text{г}$, что делает их подходящим материалом для хроматографических колонок в ВЭЖХ.
3. Разработанный способ синтеза нового наногибридного сорбента на основе микрочастиц сополимера стирола и дивинилбензола с наночастицами золота, стабилизированными липоевой кислотой с привитым L-лизином, позволяет легко функционализировать полимерную матрицу и приводит к увеличению площади поверхности сорбента по сравнению с исходным ПС-ДВБ.
4. Исследование хроматографических свойств неподвижной фазы и влияния состава подвижной фазы на удерживание нитроанилинов, профенов, β -блокаторов и других биологически активных веществ на сорбенте ПС-ДВБ с НЧЗ, стабилизированными липоевой кислотой с привитым L-лизином, позволили провести анализ смеси шести β -блокаторов за 14 минут, разделить диастереомеры новых биологически активных производных спироиндолинонов, достичь экспрессного разделения энантиомеров профенов с селективностью 1.28-1.45 в условиях ОФ ВЭЖХ.
5. Способ закрепления эремомицина и ванкомицина на полимерной матрице посредством наночастиц золота позволяет упростить синтез неподвижных фаз с макроциклическими антибиотиками и получить хроматографические сорбенты, подходящие для обращённо-фазового и гидрофильного вариантах хроматографии.

6. Исследование хроматографических свойств неподвижной фазы и влияния состава подвижной фазы на удерживание профенов, β -блокаторов, аминокислот и их производных на сорбентах ПС-ДВБ с НЧЗ, стабилизированными эремомицином, позволили провести разделение смеси четырёх профенов за 10 минут и смеси четырёх β -блокаторов за 15 минут, разделить энантиомеры исследованных веществ, провести анализ энантиомерного состава лекарственного препарата.

Степень достоверности полученных результатов исследований обеспечивалась использованием реагентов высокой степени чистоты и стандартных веществ, анализом экспериментальных наблюдений, выполненных современными методами исследования, применением современного хроматографического и спектрального оборудования, а также данными результатов практической апробации.

Соответствие паспорту научной специальности. Диссертационная работа соответствует специальности 1.4.2 – Аналитическая химия по областям исследований: - методы химического анализа (химические, физико-химические, атомная и молекулярная спектроскопия, хроматография, рентгеновская спектроскопия, масс-спектрометрия, ядерно-физические методы и др.); - анализ органических веществ и материалов; - анализ лекарственных препаратов.

Апробация работы. Основные результаты работы докладывались на следующих конференциях:

2022 год: Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов-2022», Москва, Россия, 11-22 апреля 2022; XXV Всероссийская конференция молодых ученых-химиков с международным участием, Нижний Новгород, Россия, 19-21 апреля 2022.

2021 год: Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов-2021», Москва, Россия, 12-23 апреля 2021; VI Всероссийский симпозиум «Разделение и концентрирование в аналитической химии и радиохимии» с международным участием, Краснодар, Россия, 26 сентября - 2 октября 2021.

2020 год: IV Всероссийская Конференция с международным участием "Аналитическая хроматография и капиллярный электрофорез", Краснодар, Россия, 27 сентября - 3 октября 2020.

2019 год: XI Всероссийская конференция по анализу объектов окружающей среды «ЭКОАНАЛИТИКА-2019», Пермь, Россия, 27 мая - 1 июня 2019; XI International Conference on Chemistry for Young Scientists "Mendeleev 2019", Санкт-Петербург, Россия, 9-13 сентября 2019.

2018 год: 32nd International Symposium on Chromatography, ISC-2018, Мандельё-Канны, Франция, 23 сентября - 27 октября 2018; V Всероссийский симпозиум «Разделение и концентрирование в аналитической химии и радиохимии» с международным участием, Краснодар, Россия, 7-13 октября 2018.

2017 год: III Всероссийская Конференция «Аналитическая хроматография и капиллярный электрофорез» с международным участием, г. Краснодар, Россия, 21-27 мая 2017.

Публикации. По результатам проведенного исследования опубликовано 15 печатных работ, из них 5 статей в рецензируемых научных изданиях, индексируемых международными базами данных (Web of Science, Scopus, RSCI) и рекомендованных в диссертационном совете МГУ, представлено 10 тезисов докладов на всероссийских и международных конференциях.

Личный вклад автора. Личный вклад автора заключался в поиске, систематизации и анализе данных литературы по теме работы, планировании, постановке и проведении экспериментов, обработке и интерпретации полученных результатов, а также в подготовке к публикации результатов проведенных исследований. Представленные результаты исследования получены лично автором или под его руководством. Элементный анализ сорбентов проводил к.х.н., н.с. А. В. Гармай. В работах, опубликованных в соавторстве, основополагающий вклад принадлежит соискателю, за исключением работы [Чикурова, Н. Ю., Просунцова, Д. С., Ставрианиди, А. Н., Староверов, С. М., Ананьева, И. А., Смоленков, А. Д., Чернобровкина, А. В. // Журнал аналитической химии. 2023. Т. 78. № 5. С. 1–14.], в которой вклад автора состоял в выполнении части экспериментов, подготовки результатов к публикации.

Структура и объём работы. Представленная диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, экспериментальной части, результатов и их обсуждения, общих выводов, списка использованных сокращений и списка использованной литературы. Материал диссертационной работы изложен на 179 страницах машинописного текста, содержит 96 рисунков и 42 таблицу, в списке цитируемой литературы 133 наименований.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Введение

Во введении обоснована актуальность выбранной темы и поставлены цель и задачи исследования, раскрыта научная новизна работы и показана ее практическая значимость, публикации по теме исследования, степень ее апробации, структура и объем.

Обзор литературы

Первая глава посвящена обзору литературы. В обзоре литературы представлены систематизированные данные об использовании наноматериалов в жидкостной хроматографии с акцентами на наночастицы золота и полимерные нанокомпозиты. В отдельный раздел вынесено обсуждение хиральных неподвижных фаз.

В разделе «Наноматериалы в жидкостной хроматографии» рассмотрено понятие наноматериалов и представлено современное состояние основных подходов к использованию наноматериалов в методах хроматографии. Раздел «Наночастицы золота в хроматографических методах анализа» посвящён наночастицам золота, их особенностям, способам получения. Систематически изложено и подробно обсуждено

применение наночастиц золота в методах хроматографии. Рассмотрены известные наноконпозиты с наночастицами золота в качестве сорбентов для жидкостной хроматографии. В разделе «Полимерные наноконпозитные материалы в жидкостной хроматографии» представлен обзор применения полимерных сорбентов с различными наночастицами в методах хроматографии. Отдельно обсуждаются примеры полимерных наноконпозитов с наночастицами золота в качестве неподвижных фаз в жидкостной хроматографии. Раздел «Хиральные неподвижные фазы» поделён на три подраздела. В первом из них систематизированы данные о хиральных неподвижных фазах с макроциклическими антибиотиками. Во втором идёт обсуждение полимерных неподвижных фаз с наночастицами в хиральной жидкостной хроматографии. В третьем рассматриваются примеры хиральных неподвижных фаз с наночастицами и антибиотиками.

Экспериментальная часть

Вторая глава работы посвящена экспериментальной части, которая включает описание используемых в работе химических реактивов, материалов и оборудования; условий и техники проведения экспериментов, а также расчет некоторых параметров. Описаны методики синтеза наночастиц золота и полимерных сорбентов.

В качестве матриц для синтеза сорбентов использовали сополимеры стирола и дивинилбензола, характеристики которых представлены в табл. 1. **ПС-ДВБ-1** синтезирован и предоставлен д.х.н., проф. Пироговым А.В. (кафедра аналитической химии, химический факультет МГУ), **ПС-ДВБ-2** и **ПС-ДВБ-3** синтезированы и предоставлены к.х.н. Лошиным А.А. (кафедра аналитической химии, химический факультет МГУ), **ПС-ДВБ-4** «Техносорбент» (Россия).

Таблица 1. Характеристики используемых частиц ПС-ДВБ

Сорбент	Степень сшивки, %	S поверхности, м ² /г	Диаметр частиц, мкм	Диаметр пор, нм	Общий объём пор, см ³ /г
ПС-ДВБ-1	50	300	3.3±0.2	6	0.5
ПС-ДВБ-3	50	300	5.5±0.5	3-5	0.2
ПС-ДВБ-4	80	600	5.0±0.5	20-30	0.5-0.8

ВЭЖХ эксперименты проводили на жидкостном хроматографе Shimadzu LC-20 Prominence (Япония), состоящем из насоса подачи растворителя (LC-20AB), дегазатора (DGU-20A5), термостата колонки (СТО-20А) и детектора с диодной матрицей (SPD-M20A). Сбор данных и обработку хроматограмм проводили с помощью программного обеспечения Shimadzu LC Solution.

Готовили хроматографические колонки с синтезированными сорбентами суспензионным способом при помощи насоса «Кнауер К-1900». Использовали стальные колонки размером 100×4.6 мм и 150×2.1 мм. Синтезированные наночастицы золота исследовали при помощи просвечивающего электронного микроскопа (ПЭМ) JEOL JEM-2100 F/Cs/GIF/EDS (Jeol, Япония). Спектрофотометрические исследования проводили на двухлучевом спектрофотометре U-2900 (Hitachi, Япония).

Микрофотографии сорбентов получали на сканирующем электронном микроскопе JEOL JCM-6000 (Jeol, Япония). Для получения спектров диффузного отражения использовали сканирующий денситометр CS-9001PC («Shimadzu», Япония). Элементный анализ проводили на анализаторе CHNS/O Perkin-Elmer Model 2400 Series II (Shelton, США). Измерение площади поверхности и пористости сорбентов осуществляли при помощи низкотемпературной адсорбции азота на приборе Micromeritics Model ASAP 2020 (Norcross, США). Спектры ЯМР снимали на спектрометре Avance 500 («Bruker», Германия). ИК-спектры записывали на ИК-Фурье-спектрометре Thermo Nicolet IR 200 («Thermo Fisher Scientific», США). Масс-спектры высокого разрешения записывали на времяпролетном масс-спектрометре Bruker microTOF-QTM с ионизацией электрораспылением (HRMS ESI-TOF) («Bruker», Германия).

Результаты и их обсуждение

Результаты и их обсуждение представлены в главе 3. Первый раздел этой главы посвящен обсуждению сорбентов на основе сополимера стирола и дивинилбензола, модифицированных НЧЗ с аминокислотами. В первом подразделе обсуждается синтез сорбентов. На первом этапе синтезировали НЧЗ размером 10 нм по хорошо отработанному методу Туркевича. Далее проводили адсорбцию наночастиц золота, стабилизированных цитрат-ионами на поверхность матрицы **ПС-ДВБ-1**. Схема синтеза представлена на рис. 1.

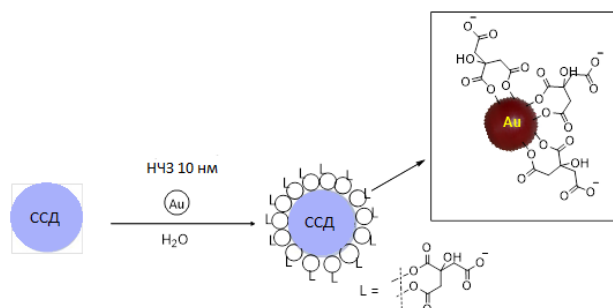


Рис. 1. Схема синтеза ПС-ДВБ-Ау-цитрат.

Для получения целевого сорбента проводили замену цитрат-ионов на L-цистеин. Сорбент ПС-ДВБ с липоевой кислотой с привитым лизином получали по двум схемам. В первом случае проводили последующую замену цитрат-ионов на липоевую кислоту, схема синтеза приведена на рис. 2. Каждую стадию синтеза подтверждали методом ИК-спектроскопии.

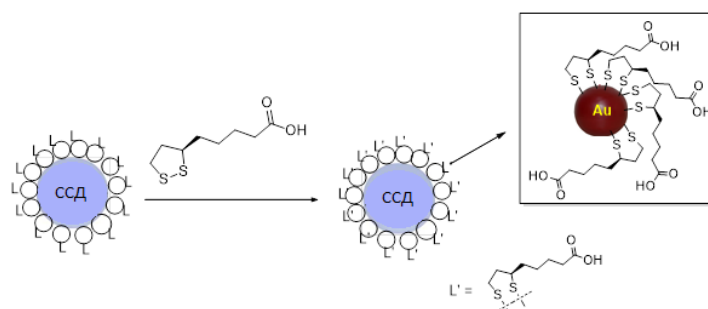


Рис. 2. Схема синтеза сорбента ПС-ДВБ-Ау-липовая кислота.

Далее проводили прививку L-лизина к липоевой кислоте на поверхности сорбента. Для связывания правильных функциональных групп была проведена реакция с использованием N α -БОК-защищенного (трет-бутоксикарбонильная защитная группа) L-лизина. Далее проводили снятие БОК-защиты и образования сорбента ПС-ДВБ-Au-липоевая кислота-Lys, схема реакции приведена на рис. 3. Данные ИК-спектроскопии подтверждают успешную модификацию.

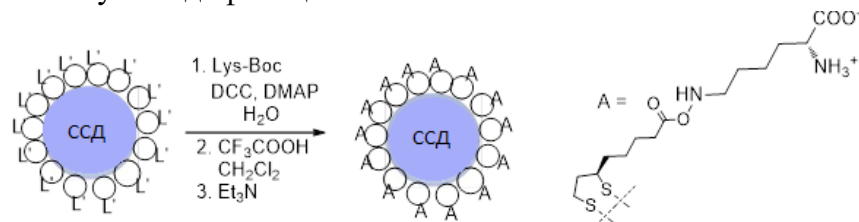


Рис. 3. Схема синтеза сорбента ПС-ДВБ-Au-ЛК-Lys.

Во втором случае сначала получали аддукт липоевой кислоты с лизином. N-гидроксисукцинимид использовали для активации карбоксильной группы в молекуле липоевой кислоты и проводили реакцию с N α -ВОС-защищенным L-лизином. Полученный конъюгат 1 очищали колоночной хроматографией на силикагеле с последующим удалением N α -ВОС-группы реакцией с трифторуксусной кислотой в CH₂Cl₂ с получением селектора 2. Схема синтеза представлена на рис. 4.

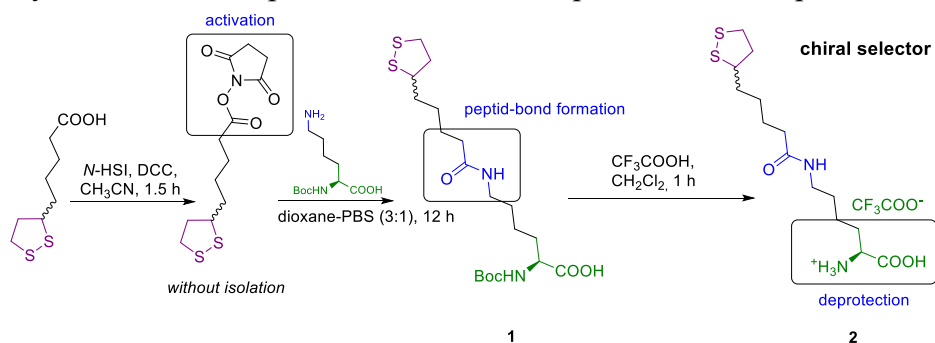


Рис. 4. Схема синтеза аддукта липоевой кислоты с лизином.

Синтезированные соединения были охарактеризованы с помощью масс-спектрометрии высокого разрешения (HRMS ESI-TOF), ЯМР и ИК спектроскопии. Модификацию производили путём интенсивного перемешивания суспензии ПС-ДВБ-Au в водном растворе соединения липоевой кислоты с L-лизином (рис. 5). Имобилизация липоевой кислоты происходит при комнатной температуре, образуя дисульфидную форму с поверхностью золота. Адсорбция хирального селектора подтверждена данными элементного анализа: 0.99% S, что соответствует 0.16 ммоль/г иммобилизованного хирального селектора.

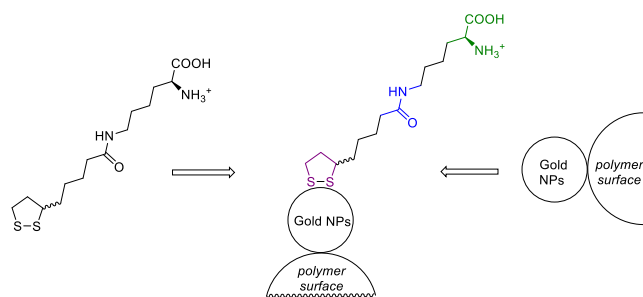


Рис. 5. Схема синтеза ПС-ДВБ-Ау-ЛК-Л-Лизин.

Количество золота в синтезированных сорбентах рассчитывали по результатам атомно-эмиссионной спектроскопии (АЭС). Данные представлены в табл. 2.

Таблица 2. Количество золота в полученных сорбентах

Сорбент	Ау, мг/г	НЧЗ на грамм
ПС-ДВБ-Ау-Л-цистеин	0.18	$1.8 \cdot 10^{13}$
ПС-ДВБ-Ау-ЛК-Lys (1 сп.)	0.914	$9.14 \cdot 10^{13}$
ПС-ДВБ-Ау-ЛК-Л-Лизин (2 сп.)	21.6	$2.16 \cdot 10^{15}$

Частицы приготовленных композитов исследовали с помощью сканирующей электронной микроскопии (СЭМ). Частицы сорбентов имеют сферическую форму и одинаковый размер от 2 до 4 мкм, что указывали на то, что сорбент не претерпел каких-либо значительных изменений формы во время модификаций (рис. 6).

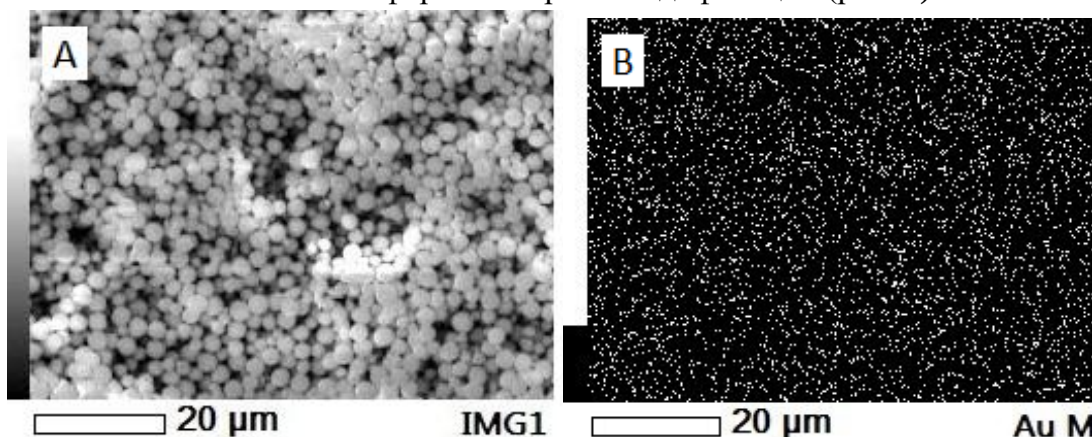


Рис. 6. Микрофотография ПС-ДВБ-Ау-ЛК-Lys (А), и карта распределения золота по поверхности сополимера (В), полученные методом СЭМ.

На спектрах диффузного отражения наблюдается максимум поглощения в районе 530 нм, что свидетельствует о наличии наночастиц золота в неагрегированном состоянии на поверхности исследуемых сорбентов (рис. 7).

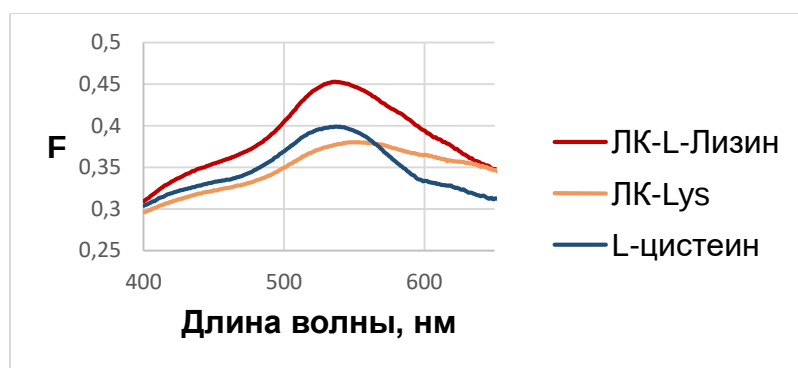


Рис. 7. Спектры диффузного отражения ПС-ДВБ-Аu-L-цистеин, ПС-ДВБ-Аu-ЛК-Lys, ПС-ДВБ-Аu-ЛК-L-Лизин.

Оценку параметров поверхности сорбентов проводили методом низкотемпературной адсорбции азота. После адсорбции НЧЗ площадь поверхности сорбента значительно увеличивается (табл. 3). Это может быть связано с большим отношением площади поверхности к объему иммобилизованных НЧЗ. Дальнейшая иммобилизация аддукта липоевой кислоты с L-лизином приводит к снижению площади поверхности и объема пор по сравнению с ПС-ДВБ-Аu. Однако площадь поверхности ПС-ДВБ-Аu-ЛК-L-Лизин остаётся значительно больше площади поверхности изначальной матрицы.

Таблица 3. Физические характеристики сорбентов с трёхкратным покрытием НЧЗ по результатам исследования пористости

Сорбент	S поверхности, м ² /г	S микропор, м ² /г	V пор, см ³ /г	V микропор, см ³ /г	Средний диаметр пор, Å
ПС-ДВБ	300	0	0.492	0	74
ПС-ДВБ-Аu	570	30	0.687	0.006	66
ПС-ДВБ-Аu-ЛК-L-Лизин	430	0	0.587	0	67

Таблица 4. Физические характеристики сорбентов с однократным покрытием НЧЗ по результатам исследования пористости

Сорбент	S поверхности, м ² /г	S микропор, м ² /г	V пор, см ³ /г	V микропор, см ³ /г	Средний диаметр пор, Å
ПС-ДВБ	300	0	0.492	0	74
ПС-ДВБ-Аu-L-цистеин	310	0	0.517	0	75
ПС-ДВБ-Аu-ЛК	270	0	0.488	0	77
ПС-ДВБ-Аu-ЛК-Lys	550	0	0.653	0.014	66

Площадь поверхности и объём пор для ПС-ДВБ-Аu-L-цистеин увеличиваются не сильно по сравнению с немодифицированным ПС-ДВБ (табл. 4). Это может быть в

следствии меньшего количества иммобилизованных НЧЗ для данного сорбента. Замена цитрат-ионов на липоевую кислоту, содержащую углеродную цепочку из пяти атомов, ведёт уже к снижению площади поверхности и объёма пор. Однако дальнейшая прививка L-лизина дает резкое увеличение площади поверхности и объёма пор. Это может говорить об образовании разветвлённой поверхности после модификации.

Во втором подразделе представлены результаты исследования хроматографических свойств сорбентов ПС-ДВБ-Au-L-цистеин, ПС-ДВБ-Au-ЛК-Lys и ПС-ДВБ-Au-ЛК-L-Лизин. Полученные сорбенты обладали сильными гидрофобными свойствами, как видно из удерживания ароматических углеводов.

Таблица 5. Факторы удерживания (k'), число теоретических тарелок (N), параметры гидрофобности ($\log P$) исследуемых соединений. ПФ: ацетонитрил/буферный раствор ацетата аммония (20 мМ, pH=4.7) 90/10 (об. %)

Исследуемые вещества	LogP	Неподвижные фазы							
		-L-цистеин		-ЛК-Lys		-ЛК		ПС-ДВБ	
		k'	N тт/м	k'	N тт/м	k'	N тт/м	k'	N тт/м
Бензол	2.22	1.40	4265	1.64	7306	1.53	8275	1.44	9044
Фенантрен	4.68	10.52	2288	10.85	3565	10.88	3625	10.07	3859
Антрацен	4.68	11.74	1446	12.26	2210	12.18	2632	11.25	2957

Профены имеют значения рКа в интервале 3.7-4.9. Анализ полученных экспериментальных данных показал, что при pH близких к 4.0 профены удерживаются лучше на всех НФ. Отрицательный наклон зависимости (рис. 8) говорит о преобладании в кислой среде ОФ механизма удерживания профенов за счет сольвофобных взаимодействий в ПФ.

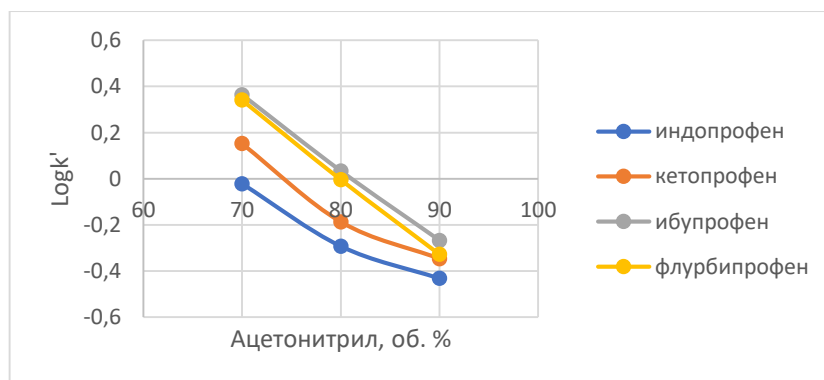


Рис. 8. Зависимость логарифма фактора удерживания от доли ацетонитрила в ПФ ACN/NH₄OAc (20 мМ, pH=4.3) 80/20 (об. %) профенов. Сорбент: ПС-ДВБ-Au-ЛК-Lys.

При переходе к нейтральной среде уменьшается время удерживания, так как поверхность сорбента и профены заряжены отрицательно. Кроме того, в нейтральной среде появляется энантиоселективность колонки. Механизм удерживания меняется. Пропадает электростатическое взаимодействие с аминогруппой, но образуется водородная связь. При постоянном содержании буфера, увеличение полярности

(изменение соотношения ACN/MeOH) помимо увеличения времени удерживания приводит к уменьшению селективности разделения энантиомеров. Эта зависимость приведена на рис. 9.

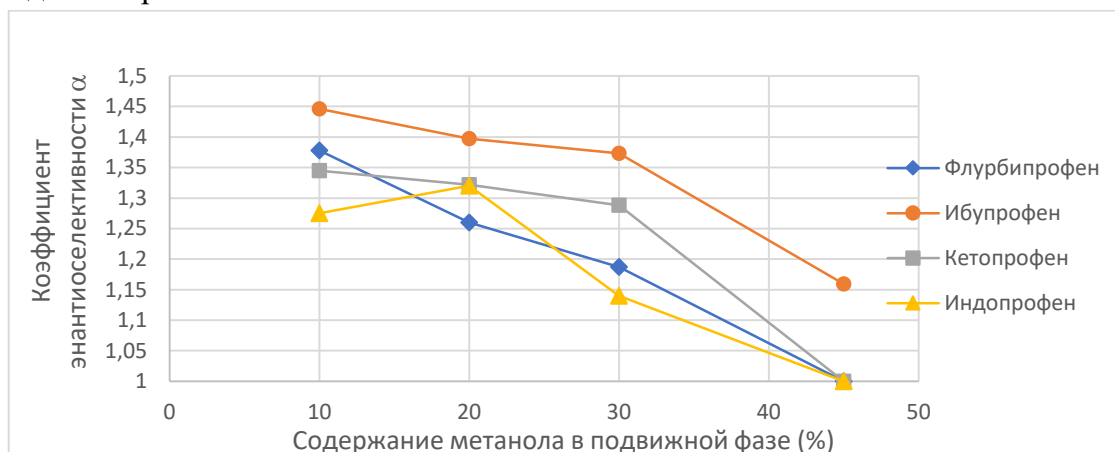


Рис. 9. Влияние состава подвижной фазы на энантиоселективность разделения профенов (подвижная фаза: ACN-MeOH-TEAA10% (0.05%, pH 7.5)).

Отметим оптимальные составы фаз для различных целей разделения. Наилучшее разделение смеси профенов достигается при составе подвижной фазы: ACN40%-MeOH40%-TEAA20% (0.05%, pH 4.0). Для разделения энантиомеров профенов лучше использовать малополярные подвижные фазы, в состав которых входит вода. Однако при очень низкой полярности энантиоселективность уменьшается. Оптимальный состав подвижной фазы для разделения отдельных энантиомеров профенов: ACN80%-MeOH10%-TEAA10% (0.05%, pH 7.5) (табл. 6).

Таблица 6. Хроматографические параметры разделения профенов. Сорбент: ПС-ДВБ-Au-ЛК-Lys

	ACN80%-MeOH10%- TEAA10% (0.05%, pH 7.5)		ACN70%-MeOH20%- TEAA10% (0.05%, pH 7.5)		ACN60%-MeOH30%- TEAA10% (0.05%, pH 7.5)	
Вещество	t_R'	α	t_R'	α	t_R'	α
Флурбипрофен	1.19/1.64	1.38	1.19/1.50	1.26	1.23/1.46	1.19
Ибупрофен	1.21/1.75	1.45	1.26/1.75	1.40	1.26/1.73	1.37
Кетопрофен	1.16/1.56	1.35	1.15/1.52	1.32	1.18/1.52	1.29
Индопрофен	1.20/1.53	1.28	1.22/1.61	1.32	1.43/1.63	1.14
	ACN40%-MeOH40%- TEAA20% (0.05%, pH 4.0)		ACN90%-TEAA10% (0.05%, pH 7.5)		ACN80%-TEAA20% (0.05%, pH 7.5)	
Вещество	t_R'	α	t_R'	α	t_R'	α
Флурбипрофен	5.35	1	1.15/1.55	1.35	1.07/1.48	1.38
Ибупрофен	4.57	1	1.18/1.64	1.39	—	—
Кетопрофен	3.19	1	1.11/1.74	1.57	—	—
Индопрофен	2.71	1	1.17/1.43	1.22	1.17/1.32	1.13

На рис. 10 приведены хроматограммы разделения энантиомеров флурбипрофена и кетопрофена, разрешение пиков (R_s) составило 0.96 и 0.85 соответственно.

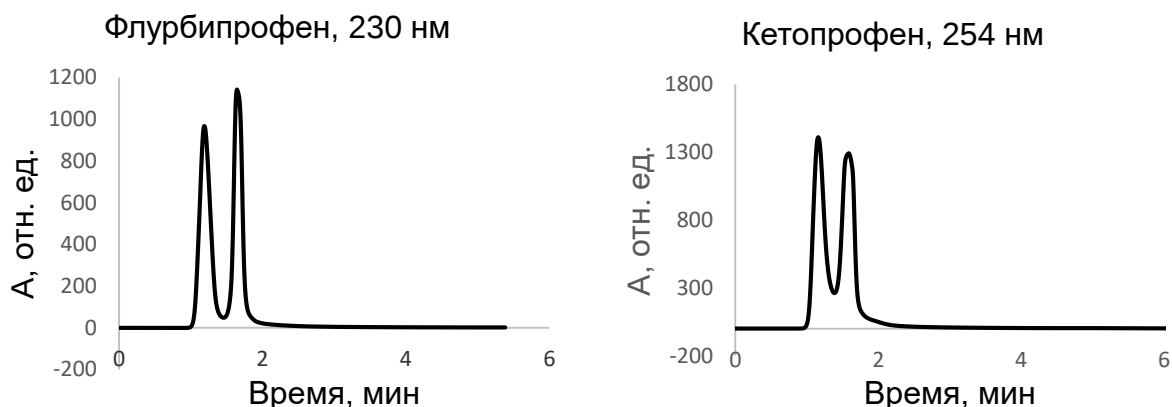


Рис. 10. Хроматограммы разделения энантиомеров профенов. Сорбент: ПС-ДВБ-Аи-ЛК-Л-Лизин. Подвижная фаза: АСН/0.05% ТЕАА (рН 7.5) (90:10 об. %), скорость потока 0.5 мл/мин.

β -блокаторы удерживались дольше и лучше разделялись при более высоких значениях рН, что согласуется с их константами кислотности (pK_a в диапазоне от 8.8 до 9.7). В оптимизированных условиях полное разделение шести β -блокаторов было достигнуто за 15 минут (рис. 11).

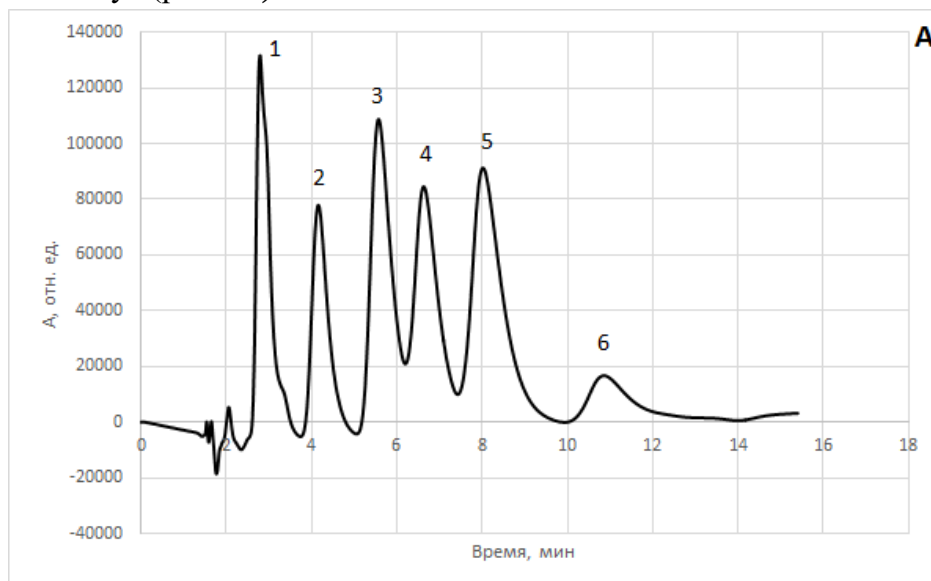


Рис. 11. Хроматограмма смеси β -блокаторов: 1 – атенолол, 2 – надолол, 3 – пиндолол, 4 – метопролол, 5 – окспренолол, 6 – алпренолол. ПФ: 40/40/20 (об. %) ацетонитрил/метанол/10 мМ фосфатный буф. рН=6.8. Сорбент: ПС-ДВБ-Аи-ЛК-Lys. Скорость потока 0.5 мл/мин, $\lambda=230$ нм.

В ходе изучения хроматографического поведения β -блокаторов наблюдали частичное разделение энантиомеров (табл. 7). Большую энантиоселективность к β -блокаторам неподвижные фазы проявляли в кислой среде, можно предположить, что в энантиоразделении играют роль электростатические взаимодействия между

карбоксильной группой селектора и аминогруппой блокаторов. Селективность разделения энантиомеров β -блокаторов была выше для сорбента ПС-ДВБ-Au-ЛК-Lys.

Таблица 7. Коэффициенты ёмкости и энантиоселективности β -блокаторов. Сорбент: ПС-ДВБ-Au-ЛК-Lys

Вещество	logP	ACN70%-TEAA30% (0.05%, pH 4.0)		ACN65%-TEAA35% (0.05%, pH 4.0)	
		k'	α	k'	α
Алprenолол	2.88	0.52/0.75	1.44	0.42/0.56	1.33
Лабеталол	2.31	0.50/0.83	1.66	0.59	1
Оксipренолол	2.29	0.42/0.74	1.76	0.44	1
Пиндолол	1.97	0.46	1	0.23/0.42	1.83
Метопролол	1.79	0.49	1	0.25/0.44	1.76
Надолол	1.29	0.36	1	0.21/0.38	1.81

Второй раздел посвящён обсуждению сополимера стирол и дивинилбензола, модифицированного НЧЗЭ. Проводилась оптимизация синтеза НЧЗЭ. Варьировали концентрации $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, эремомицина, боратного буферного раствора, время кипячения, условия нагревания. Полученные НЧЗ (рис. 12) сорбировали на поверхность ПС-ДВБ путём интенсивного перемешивания при комнатной температуре.

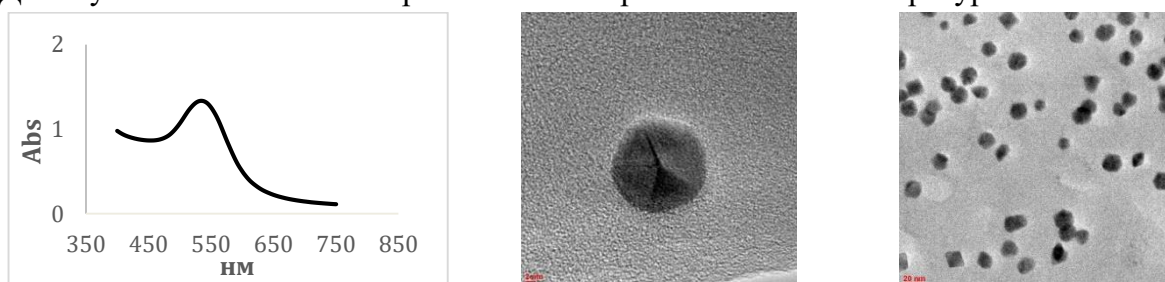


Рис. 12. Спектр поглощения и микрофотография НЧЗЭ, средний диаметр 17 нм.

Сорбент с эремомицином, исследовали методом сканирующей электронной микроскопии. Частицы сорбентов имеют сферическую форму, размером 5-6 мкм (рис. 13).

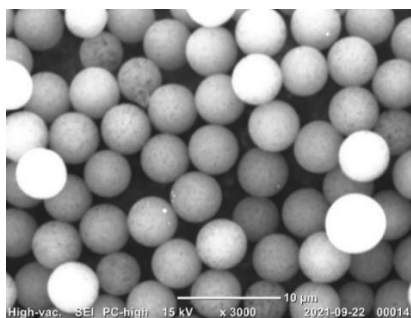


Рис. 13. Микрофотографии СЭМ сорбента ПС-ДВБ(3)-Au-Эремо.

Максимум на спектрах диффузного отражения в районе 550 нм подтверждает наличие НЧЗ в неагрегированном состоянии на поверхности вещества (рис. 14).

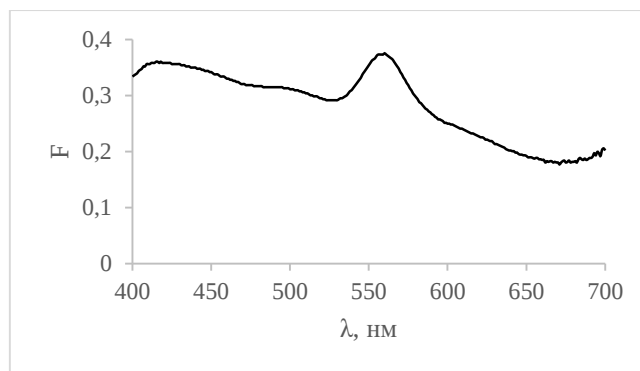


Рис. 14. Спектры диффузного отражения сорбента ПС-ДВБ-Ау-Эремо.

Были синтезированы сорбенты ПС-ДВБ(3)-Ау-Эремо с матрицей **ПС-ДВБ-3**, ПС-ДВБ(4)-Ау-Эремо с матрицей **ПС-ДВБ-4**. Свойства полученных сорбентов охарактеризованы методом низкотемпературной адсорбции азота, количество золота на поверхности определяли методом АЭС, с помощью элементного анализа определяли количество азота и рассчитывали содержание антибиотика (табл. 8).

Таблица 8. Физико-химические характеристики сорбентов ПС-ДВБ-4, ПС-ДВБ(4)-Ау-Эремо и ПС-ДВБ(4)-Ау-Эремо(ТЕА), ПС-ДВБ(3)-Ау-Эремо

Сорбент	S поверхности, м ² /Г	V пор, см ³ /Г	S микропор, м ² /Г	Au, мг/г сорбента	Эремомицин, мкмоль/г
ПС-ДВБ-3	270	0.20	30		
ПС-ДВБ-4	610	0.47	120		
ПС-ДВБ(4)-Ау-Эремо	500	0.39	130	13.9	37.5
ПС-ДВБ(3)-Ау-Эремо	360	0.30	22	9	19.64

Значения параметров селективности по метиленовой $\alpha(\text{CH}_2)$ и гидроксильной $\alpha(\text{OH})$ группам, отношение коэффициентов удерживания теофиллина и теобромина, а также коэффициенты удерживания для уридина и толуола приведены в табл. 9. Приведённые данные показывают, что полученные сорбенты обладают гидрофобными свойствами, для сорбента ПС-ДВБ(4)-Ау-Эремо наблюдаются также ярко выраженные гидрофильные и кислотные свойства поверхности.

Таблица 9. Факторы удерживания уридина и толуола, коэффициенты селективности по метиленовой и гидроксильной группам, отношение коэффициентов удерживания теофиллина и теобромина. Подвижная фаза: АСН: NH_4OAc (20 мМ) рН 4.7 (90:10 об. %). Скорость потока 0.5 мл/мин

Сорбент	k(уридин)	k(толуол)	$\alpha(\text{CH}_2)$	$\alpha(\text{OH})$	$\alpha(k(\text{Tb})/k(\text{Tr}))$
ПС-ДВБ-4	0.1	1.75	1.0	1.0	0.9
ПС-ДВБ(4)-Ау-Эремо	0.6	1.05	1.5	3.0	1.5
ПС-ДВБ(3)-Ау-Эремо	0.3	1.87	1.34	1.03	1.04

При исследовании влияния концентрации органического растворителя в элюенте (рис. 15) было установлено, что ПС-ДВБ(4)-Ау-Эремо может проявлять

закономерности удерживания, характерные как для варианта обращённо-фазовой хроматографии, так и для режима гидрофильной хроматографии.

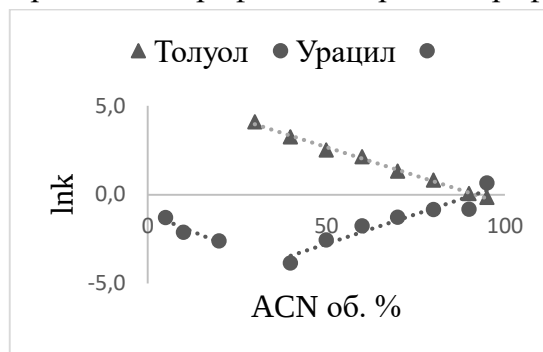


Рис. 15. Зависимость $\ln k$ для урацила и толуола от концентрации ацетонитрила в ПФ. Колонка: ПС-ДВБ(4)-Au-Эремо. ПФ: ACN - 10 mM NH₄OAc (pH 5.2).

Исследовали удерживание ряда профенов. Удерживание определяется совокупностью ионообменного и классического адсорбционного механизмов. При низких значениях pH, когда диссоциация кислоты подавлена, вещества адсорбируются в виде нейтральной молекулы. С повышением pH возрастает доля диссоциированных молекул, которые вступают в реакцию по ионообменному механизму. Поскольку ион-ионное взаимодействие сильнее взаимодействий незаряженных частиц, вклад ионной составляющей в общее удерживание приводит к росту k' . Однако с увеличением основности подвижной фазы уменьшается доля протонированных аминогрупп эремомицина, то есть центров наиболее сильной адсорбции анионов, наблюдается падение величины k' . Возможно разделение смеси четырёх профенов (табл. 10).

Таблица 10. Хроматографические параметры разделения смеси профенов

ACN : 20 mM AmAc pH 6.2			ACN : 20 mM AmAc pH 9.9		
вещество	k'	α	вещество	k'	α
Флурбипрофен	0.14	18.28	Индопрофен	0.31	1.92
Ибупрофен	2.65	1.31	Кетопрофен	0.59	1.82
Индопрофен	3.48	1.63	Ибупрофен	1.07	1.95
Кетопрофен	5.67	-	Флурбипрофен	2.08	-

Удалось добиться частичного энантиоразделения профенов (табл. 11, рис. 16), содержащих в своей структуре два ароматических кольца. Энантиоселективность колонки достаточно хорошая, однако эффективность не позволила получить полного разделения энантиомеров.

Таблица 11. Хроматографические параметры разделения энантиомеров профенов

Подвижная фаза	Вещество	k'_1	k'_2	R_s	α
ACN : ТЕАА pH 7.0 (0.05%), 95:5 об. %	Кетопрофен	1.08	1.60	0.8	1.5
	Флурбипрофен	1.13	1.63	0.7	1.4
	Индопрофен	1.12	1.62	0.9	1.4
ACN : ФБ pH 7.0 (10 mM), 90:10 об. %	Кетопрофен	0.23	0.55	0.7	2.4

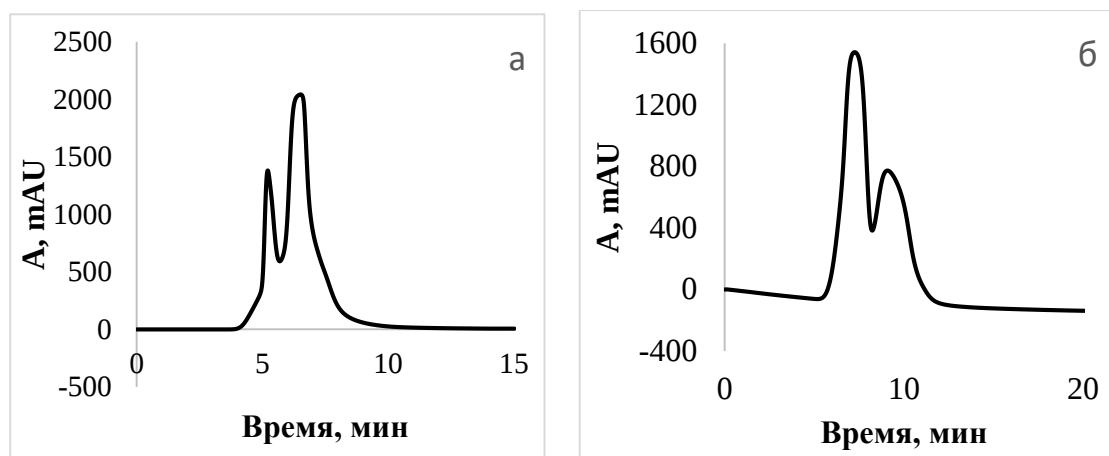


Рис. 16. Хроматограммы разделения энантимеров кетопрофена. ПФ: (а) АСН : ТЕАА (0.05%, рН 7.0) – 95:5 об. %, скорость потока – 0.3 мл/мин; (б) АСН : фосфатный буф. (10 мМ, рН 7.0) – 90:10 об. %, скорость потока – 0.1 мл/мин; $\lambda = 254$ нм.

Изучали закономерности удерживания ряда β -блокаторов, они сильнее удерживаются при большем содержании ацетонитрила в подвижной фазе (80-95 об. %) при различных рН, что говорит о реализации механизма гидрофильной хроматографии. Удалось добиться энантиоразделения некоторых β -блокаторов (рис. 17, табл. 12).

Таблица 12. Хроматографические параметры разделения β -блокаторов (ПФ: АСН : ТРИС (рН 7.0, 10 мМ), 10:90 об. %)

Вещество	k'(1)	k'(2)	Rs	α
Алпренолол	0.42	0.73	0.8	1.7
Оксспренолол	0.45	0.75	0.8	1.7
Метопролол	0.44	0.76	0.7	1.7

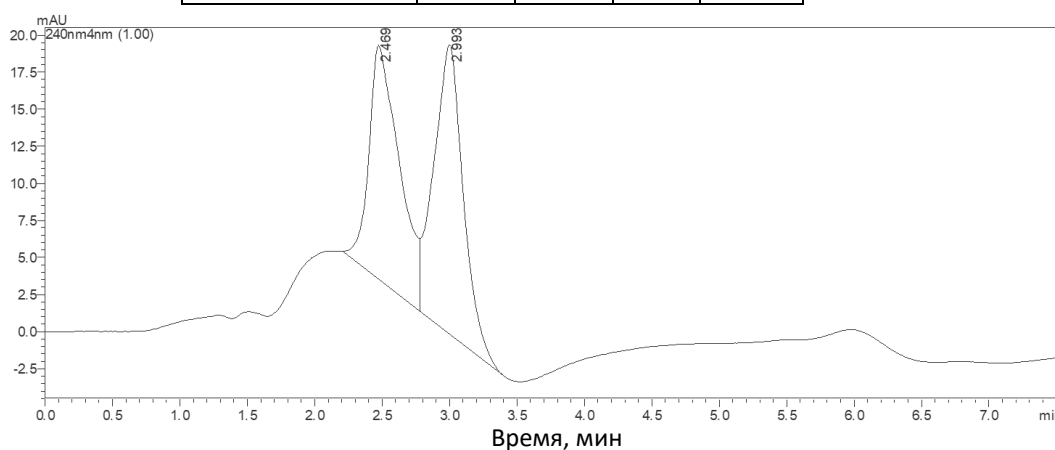
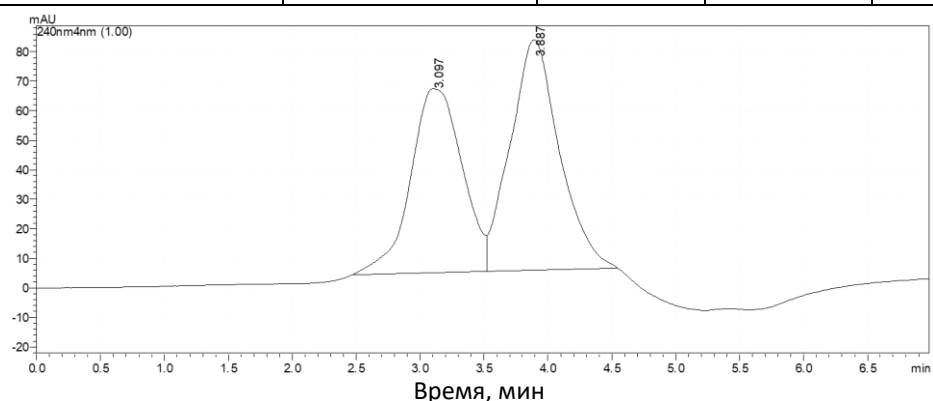


Рис. 17. Хроматограмма разделения энантимеров метопролола. ПФ: АСН : ТРИС (10 мМ, рН 7.0) – 10:90 об. %, скорость потока – 0.35 мл/мин; $\lambda = 240$ нм.

Удалось также добиться частичного разделения энантимеров производных аминокислот (табл. 13, рис. 18).

Таблица 13. Хроматографические параметры разделения производных аминокислот

Подвижная фаза	Вещество	k'(1)	k'(2)	Rs	α
АСН : ТЕАА (0.05%, рН 7.0) 95:5 об. %	Бензоил-валин	0.10	0.29	0.5	2.9
АСН : ТРИС (10 мМ, рН 7.0) 90:10 об. %	КБЗ-валин	0.58	0.98	0.8	1.7
	КБЗ-аланин	0.55	0.89	0.6	1.6
АСН : ТРИС (10 мМ, рН 9.1) 90:10 об. %	КБЗ-валин	0.47	0.55	0.4	1.2
	КБЗ-лейцин	0.46	0.54	0.4	1.2

Рис. 18. Хроматограмма разделения КБЗ-валина. ПФ: АСН : ТРИС (10 мМ, рН 7.0) – 90:10 об. %, скорость потока – 0.3 мл/мин; $\lambda = 240$ нм.

Проведен анализ энантиомерного состава коммерческого препарата «Кетонал» (табл. 14). Фармацевтический препарат предназначен для терапии болезненных и воспалительных процессов различного происхождения. Выпускается в капсулах (производитель: Novartis, Словения). Состав 1 капсулы: действующее вещество: кетопрофен - 50.0 мг; вспомогательные вещества: лактоза - 186.1 мг; магния стеарат - 2,4 мг; кремния диоксид коллоидный - 1.5 мг.

Содержимое капсулы препарата «Кетонал» растворили в 50 мл ацетонитрила, суспензию ставили в ультразвуковую ванну на 20 минут, проводили фильтрацию с помощью шприцевого фильтра; 1 мл полученного фильтрата растворяли в 4 мл ПФ. Осуществляли анализ приготовленного препарата в нескольких повторностях на сорбенте ПС-ДВБ(3)-Аи-Эремо. Было подтверждено, что в препарате «Кетонал» содержатся R- и S-энантиомеры кетопрофена.

Таблица 14. Хроматографические параметры разделения энантиомеров кетопрофена препарата «Кетонал». ПФ – ТЕАА (0.05%, рН 7.0)–АСН (95:5 об. %), скорость потока 0.1 мл/мин; $\lambda = 254$ нм

	k'(1)	k'(2)	α	Rs
Вещество кетопрофен препарата «Кетонал»	0.65	1.15	1.76	0.7

Применение напроксена, нестероидного противовоспалительного препарата, для синтеза протолекарств платины(IV) для лечения опухолевых заболеваний является актуальным направлением исследований. В процессе синтеза протолекарства с Pt(IV) в

зависимости от энантиомерного состава напроксена аксиальные лиганды могут быть по-разному ориентированы. Для сопоставления ориентации в конечном продукте необходимо знать энантиомерный состав исходного реагента напроксена. На кафедре органической химии химического факультета МГУ имени М.В.Ломоносова была получена смесь энантиомеров напроксена из стандарта S-изомера напроксена. На колонке с сорбентом ПС-ДВБ(4)-Au-Эремо(ТЭА) было проведено разделение энантиомеров напроксена на ПФ состава MeOH-H₂O 90-10 об. %, соотношение изомеров составило R 70%, S 30%.

Для сравнения было проведено исследование хроматографических свойств сорбента полистирол-дивинилбензола с ковалентно закреплённым эремомицином. Данный сорбент обладает основными свойствами в отличие от сорбентов с НЧЗ (табл. 15). Показатель $\alpha(\text{ОН})$ для него больше показателя $\alpha(\text{СН}_2)$, что говорит о гидрофильных свойствах сорбента, однако он ниже, чем для сорбента с эремомицином, закреплённом с помощью НЧЗ.

Таблица 15. Факторы удерживания уридина и толуола, коэффициенты селективности по метиленовой и гидроксильной группам, отношение коэффициентов удерживания теофиллина и теобромина. Подвижная фаза: АСН : ацетат аммония (20 мМ) рН 4.7 (90:10 об. %)

НФ	k(уридин)	k(толуол)	$\alpha(\text{СН}_2)$	$\alpha(\text{ОН})$	$\alpha(k(\text{Тб})/k(\text{Тр}))$
ПС-ДВБ-4	0.1	1.75	1.0	1.0	0.9
ПС-ДВБ(4)-Au-Эремо	0.6	1.05	1.5	3.0	1.5
ПС-ДВБ-Эремо	0.69	1.36	1.03	1.49	0.78

Колонка с сорбентом ПС-ДВБ-Эремо уступает по числу теоретических тарелок на метр колонке (табл. 16). Модифицирование ПС-ДВБ эремомицином с помощью НЧЗ позволяет сохранить лучшую эффективность колонки, это может быть связано с меньшими потерями в функциональной площади поверхности.

Таблица 16. Число теоретических тарелок на метр по ацетону и толуолу для сорбентов ПС-ДВБ, ПС-ДВБ(4)-Au-Эремо, ПС-ДВБ-Эремо

Неподвижная фаза	Ацетон	Толуол
ПС-ДВБ	14990	1230
ПС-ДВБ(4)-Au-Эремо	1830	810
ПС-ДВБ-Эремо	690	420

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных исследований поставленная цель работы достигнута. Основные результаты, полученные в работе, представлены ниже.

В работе представлен новый подход к синтезу полимерных наногибридных сорбентов с наночастицами золота и впервые описано применение таких сорбентов в высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Предложен простой способ функционализации полимерных матриц ПС-ДВБ наночастицами золота. Получены новые сорбенты на основе ПС-ДВБ с НЧЗ, стабилизированными аминокислотами. В одном из вариантов синтеза использован спейсер для удаления аминокислоты от поверхности матрицы. Полученные наногибридные сорбенты обладают физико-химическими характеристиками, подходящими для неподвижных фаз в ВЭЖХ, а использование НЧЗ позволяет увеличить их функциональную поверхность. В работе установлены закономерности удерживания на синтезированных неподвижных фазах органических веществ различной природы. Полученные сорбенты подходят для решения разных задач: показана возможность разделения смесей нитроанилинов, аминопиридинов, профенов, β -блокаторов в ОФ и ПО режимах хроматографии. Синтезированные сорбенты проявили энантиоселективность, позволяя экспрессно проводить разделение энантиомеров профенов. Главными преимуществами предложенных сорбентов являются простота синтеза и возможность изменения свойств за счет использования различных лигандов для стабилизации наночастиц. По сравнению с ранее описанными аналогичными сорбентами с НЧЗ на основе силикагелевой матрицы наблюдается большая адсорбция наночастиц, а гидрофобный вклад ПС-ДВБ позволяет повысить удерживание неполярных соединений, что расширяет круг возможных аналитов. Использование полимерной матрицы также даёт возможность работать в широком диапазоне значений pH.

Полученные новым способом НЧЗ, стабилизированные макроциклическими антибиотиками эремомицином и ванкомицином, продемонстрировали устойчивость к агрегации на протяжении длительного времени. Успешно проведена сорбция НЧЗ, стабилизированных эремомицином, на полистирол-дивинилбензольную матрицу с получением наногибридного полимерного хроматографического сорбента. Исследования физико-химическими методами показали, что микрочастицы сорбента сохраняют исходную сферическую форму после модифицирования, а эффективность иммобилизации антибиотика сопоставима с ковалентным закреплением. Сорбент ПС-ДВБ с НЧЗ, стабилизированными эремомицином, продемонстрировал гидрофильные свойства, что делает возможным использовать его в вариантах обращённо-фазовой и гидрофильной хроматографии. Проявленная энантиоселективность к профенам, β -блокаторам, аминокислотам и их производным позволяет говорить об универсальности полученной хиральной неподвижной фазы, что является преимуществом данного сорбента.

Предложенный подход демонстрирует перспективность применения полимерных матриц с наночастицами золота для получения новых хроматографических сорбентов.

ВЫВОДЫ

1. Разработанный способ синтеза наночастиц золота, стабилизированных макроциклическими антибиотиками, путём восстановления золотохлористоводородной кислоты, в котором антибиотик одновременно выступает в качестве восстановителя и стабилизатора, позволяет получить устойчивые НЧЗ. С помощью просвечивающей электронной микроскопии было показано, что НЧЗ имеют размер 15-20 нм.
2. Разработаны способы синтеза новых сорбентов для ВЭЖХ, полученных путём адсорбции наночастиц золота на поверхность сополимера стирола и дивинилбензола с разными размерами частиц и пор исходной матрицы с использованием в качестве модификаторов наночастиц золота липоевой кислоты, конъюгата липоевой кислоты и лизина, макроциклических антибиотиков эремомицина и ванкомицина.
3. Синтезированные сорбенты охарактеризованы методами ИК-спектроскопии, атомно-эмиссионной спектроскопии, элементного анализа, сканирующей электронной микроскопии, спектроскопии диффузного отражения, низкотемпературной адсорбции азота, что позволило подтвердить модифицирование исходного ПС-ДВБ, показать увеличение площади функциональной поверхности сорбентов с НЧЗ, отметить, что большее покрытие наночастицами золота осуществляется для матриц с большим диаметром пор и меньшим размером частиц; продемонстрировать, что частицы получаемых сорбентов имеют размер 3-6 мкм, сферическую форму, площадь функциональной поверхности 300-600 м²/г, что делает их подходящим материалом для хроматографических колонок в ВЭЖХ.
4. Проведено исследование хроматографических свойств сорбентов на основе полистирол-дивинилбензола и наночастиц золота, модифицированных L-цистеином, липоевой кислотой, липоевой кислотой с лизином, эремомицином, в том числе с помощью теста Танака для гидрофильных неподвижных фаз. Установлено, что для всех синтезированных сорбентов значимый вклад во взаимодействия с анализитами даёт гидрофобная полимерная матрица, однако отмечена гидрофилизация сорбентов после модифицирования.
5. Установлены закономерности удерживания нитроанилинов, аминопиридинов, профенов, β -блокаторов, производных аминокислот на синтезированных сорбентах полистирол-дивинилбензола с наночастицами золота, модифицированными L-цистеином и липоевой кислотой с лизином и эремомицином в обращённо-фазовом и полярно-органическом режимах хроматографии. Показана способность синтезированных сорбентов разделять аналиты разной природы. Продemonстрирована возможность использовать сорбент ПС-ДВБ с НЧЗЭ для работы в обращённо-фазовом и гидрофильном вариантах хроматографии, что было невозможно на схожих сорбентах с

силикагелевыми подложками. Это позволило провести анализ смеси шести β -блокаторов за 14 минут на сорбенте ПС-ДВБ-Аи-Липоевая кислота-Лизин в щелочных условиях, смеси четырёх профенов за 10 минут, и смеси четырёх β -блокаторов за 15 минут на сорбенте ПС-ДВБ-Аи-Эремомицин.

6. Показана возможность экспрессного разделения энантиомеров профенов на сорбенте ПС-ДВБ-Аи-липовая кислота-Лизин в обращённо-фазовом режиме хроматографирования с селективностью 1.28-1.45, такая энантиоселективность хирального селектора лизина к профенам продемонстрирована впервые.
7. Показана возможность сорбента ПС-ДВБ-Аи-Эремомицин разделять энантиомеры профенов, β -блокаторов, производных аминокислот, что говорит об универсальности полученной хиральной неподвижной фазы. Продemonстрирована принципиальная возможность определения энантиомерного состава лекарственного средства «Кетонал», определён энантиомерный состав напроксена для синтеза биологически активного соединения с платиной.

Основные результаты работы изложены в следующих публикациях:

Научные статьи, опубликованные в рецензируемых научных журналах, индексируемых в базах Web of Science, Scopus, RSCI и рекомендованных для защиты в диссертационном совете МГУ по специальности 1.4.2. – «Аналитическая химия»:

1. Просунцова Д.С., Ананьева И.А., Плодухин А.Ю., Белоглазкина Е.К., Шпигун О.А. Синтез и исследование сорбента для ВЭЖХ на основе сополимера стирола и дивинилбензола, модифицированного наночастицами золота // Сорбционные и хроматографические процессы. 2019. Т. 19. № 2. С. 139–148. ИФ (Scopus) – 0.308. 60%.
2. Prosuntsova D.S., Plodukhin A.Y., Ananieva I.A., Beloglazkina E.K., Nesterenko P.N. New composite stationary phase for chiral high-performance liquid chromatography // Journal of Porous Materials. 2021. Vol. 28. P. 407–414. IF (Web of Science) – 2.523. 50%.
3. Prosuntsova D.S., Ananieva I.A., Nesterenko P.N., Shpigun O.A. Microspherical polystyrene-divinylbenzene particles hybridized with eremomycin stabilized gold nanoparticles as a stationary phase // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. 2022. Vol. 88. №. 12. P. 14–20. ИФ (РИНЦ) – 0.308. 70%.
4. Чикурова Н.Ю., Просунцова Д.С., Ставрианиди А.Н., Староверов С.М., Ананьева И.А., Смоленков А.Д., Чернобровкина А.В. Новые многофункциональные сорбенты для ВЭЖХ на основе различных матриц, модифицированных эремомицином // Журнал аналитической химии. 2023. Т. 78. № 5. С. 1–14. ИФ (Web of Science) – 1.237. 10%.
5. Просунцова Д.С., Ананьева, И.А., Москалева Т.А., Шпигун О.А. Исследование механизмов удерживания профенов и β -блокаторов на полимерном наногибридном сорбенте с эремомицином // Сорбционные и хроматографические процессы. 2023. Т. 23. № 3. С. 331–342. ИФ (Scopus) – 0.308. 60%

Иные публикации:

6. Просунцова Д.С., Москалева Т.А. Разделение профенов и β -блокаторов на наногибридном полимерном сорбенте с эремомицином // Материалы Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых учёных Ломоносов-2022, секция Химия. Москва, 2022. С. 85.
7. Просунцова Д.С., Ананьева И.А., Москалева Т.А. Хроматографические свойства функционального наногибридного полимерного сорбента с макроциклическим антибиотиком // XXV Всероссийская конференция молодых учёных-химиков с международным участием. Сборник тезисов докладов. Нижний Новгород, 2022. С. 243.
8. Просунцова Д.С., Ананьева И.А., Москалева Т.А. Исследование полимерных сорбентов с наночастицами золота, стабилизированными макроциклическими антибиотиками // Материалы VI Всероссийского симпозиума «Разделение и концентрирование в аналитической химии и радиохимии» с международным участием. Краснодар, 2021. — С. 250.

9. Просунцова Д.С., Москалева Т.А. Наночастицы золота, стабилизированные эремомицином, закрепленные на полимерной матрице // Материалы Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых учёных Ломоносов-2021, секция Химия. Москва, 2021. С. 73.
10. Просунцова Д.С., Плодухин А.Ю., Ананьева И.А., Шпигун О.А. Новая неподвижная фаза для хиральной ВЭЖХ // Материалы IV Всероссийской конференции с международным участием «Аналитическая хроматография и капиллярный электрофорез». Краснодар, 2020. С. 164.
11. Prosuntsova D.S., Ananieva I.A., Ploduhin A.U., Shpigun O.A. New stationary phase based on a copolymer of styrene and divinylbenzene modified with gold nanoparticles β -blockers // In book of Abstract XI International Conference on Chemistry for Young Scientists "Mendeleev 2019". Санкт-Петербург, Россия, 2019. Р. 199.
12. Просунцова Д.С., Ананьева И.А., Плодухин А.Ю. и др. Новый сорбент для ВЭЖХ на основе сополимера стирола и дивинилбензола, модифицированного наночастицами золота // Тезисы докладов XI Всероссийской конференции по анализу объектов окружающей среды ЭКОАНАЛИТИКА-2019. Пермь, 2019. С. 133.
13. Ananieva I.A., Prosuntsova D.S., Plodukhin A.Y., Shapovalova E.N. Chromatographic properties of l-cystein-modified gold-coated copolymer styrene-divinylbenzene // In book of Abstract 32d International Symposium on Chromatography. Cannes-Mandelieu, 2018. Р. 113.
14. Ананьева И.А., Просунцова Д.С., Плодухин А.Ю. и др. Хроматографические свойства сополимера стирола и дивинилбензола, модифицированного наночастицами золота с L-цистеином // Материалы V Всероссийского симпозиума Разделение и концентрирование в аналитической химии и радиохимии с международным участием. Краснодар, 2018. С. 182.
15. Ананьева И.А., Полякова Я.А., Просунцова Д.С., Шаповалова Е.Н. Синтез, исследование структуры и хроматографического поведения сополимера стирола и дивинилбензола, модифицированного наночастицами золота с L-цистеином // Материалы III Всероссийской конференции аналитическая хроматография и капиллярный электрофорез. Краснодар, 2017. С. 216.

Автор выражает искреннюю признательность и благодарность научному руководителю к.х.н. Ананьевой И.А. за помощь в постановке задач и обсуждении результатов исследования; д.х.н., проф., чл.-корр. РАН Шпигуну О.А. и д.х.н., проф. Нестеренко П.Н. за помощь и консультацию по тематике работы, д.х.н. Староверову С.М. и д.х.н., проф. Пирогову А.В. за любезно предоставленные сорбенты и соединения для синтеза сорбентов, д.х.н., проф. Белоглазкиной Е.К. за помощь в синтезе сорбентов и предоставление материалов исследования.

Автор выражает благодарность РФФИ за финансовую поддержку выполненных исследований в рамках гранта «Полимерные наногибридные материалы как новый класс неподвижных фаз в ВЭЖХ» (РФФИ 20-33-90177, номер ЦИТИС АААА-А20-120081390062-0). Исследование проводилось с использованием оборудования ЦКП МГУ «Технологии получения новых наноструктурированных материалов и их комплексное исследование», приобретенного МГУ по программе обновления приборной базы в рамках национального проекта «Наука» и в рамках Программы развития МГУ.