



ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Научная статья

УДК 543.544

doi: 10.17308/sorpchrom.2022.22/10685

Энантиоселективность жидкостно-хроматографического разделения профенов на хиральных сорбентах с иммобилизованными производными эремомицина и оритаванцином

**Никита Андреевич Сарвин¹, Руслан Валерьевич Пузанков¹,
Павел Николаевич Нестеренко¹, Сергей Михайлович Староверов^{1,2}**

¹Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия,

p.nesterenko@phys.chem.msu.ru[✉]

²Биохиммак СТ, Москва, Россия

Аннотация. Изучены закономерности хроматографического удерживания и возможности разделения энантиомеров лекарственных препаратов флурбипрофена, ибупрофена, кетопрофена, индопрофена и фенопрофена в варианте гидрофильной высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с использованием 5 новых сорбентов. В качестве хиральных неподвижных фаз (ХНФ) использовали сорбенты на основе силикагеля (Kromasil KR-100-7-SIL (Akzo Nobel, Швеция) с диаметром частиц 7 мкм, размером пор 10 нм и удельной поверхностью 313 м²/г) с привитыми макроциклическими гликопептидными антибиотиками, включая оритаванцин (O-CSP), эремомицин (E-CSP) и его производные хлор-эремомицин (Chloro-E-CSP), амидо-эремомицин (Amide-E-CSP), адамантиламидо-эремомицин (Adamantylamide-E-CSP). Эффективность хроматографических колонок длиной 250 мм и внутренним диаметром 4.0 мм, использованных в работе, составила от 14 до 20 тысяч теоретических тарелок на метр. Сравнение сорбентов проводили при использовании 100%-ного метанола с добавками ацетата триэтиламмония в качестве элюента. Полученная энантиоселективность разделения профенов уменьшалась в ряду O-CSP>Chloro-E-CSP>Adamantylamide-E-CSP>E-CSP>Amide-E-CSP. Наиболее высокая разрешающая способность хроматографических пиков ($R_s > 2.0$) получена при разделении энантиомеров флурбипрофена, индопрофена и кетопрофена на сорбентах с привитым оритаванцином и хлорэремомицином.

В работе обсуждается механизм хирального распознавания энантиомеров производных 2-фенилпропионовой кислоты или профенов макроциклическими гликопептидными антибиотиками, структурно родственными эремомицину. Найдено, что карбоксильная группа в молекуле эремомицина играет незначительную роль в хиральном распознавании, поскольку её конверсия в амидную (сорбент Amide-E-CSP) лишь незначительно снижает энантиоселективность по сравнению с E-CSP. Изменение стерических затруднений в хиральном распознавании профенов за счет введения адамантильного заместителя в амидную группу повышает энантиоселективность сорбента Adamantylamide-E-CSP относительно E-CSP. Наиболее выраженное влияние на энантиоселективность хирального распознавания для изученных сорбентов вызвало изменение структуры ароматических фрагментов эремомицина. Введение атома хлора в бензольное кольцо (сорбент Chloro-E-CSP) и добавление пара-фенил-пара-бензильного заместителя (сорбент O-CSP) обеспечило наиболее высокую энантиоселективность этим сорбентам среди всех изученных ХНФ.

Ключевые слова: жидкостная хроматография, хиральные неподвижные фазы, энантиомеры, профены, эремомицин, хлорэремомицин, оритаванцин.

Для цитирования: Сарвин Н.А., Пузанков Р.В., Нестеренко П.Н., Староверов С.М. Энантиоселективность жидкостно-хроматографического разделения профенов на хиральных сорбентах с иммобилизованными производными эремомицина и оритаванцином // *Сорбционные и хроматографические процессы. 2022. Т. 22, № 5. С. 638-649.* <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2022.22/10685>



Original article

Enantioselectivity of liquid chromatographic separation of profens on chiral sorbents with immobilized eremomycin derivatives and oritavancin

Nikita A. Sarvin¹, Ruslan V. Puzankov¹, Pavel N. Nesterenko^{1✉}, Sergey M. Staroverov^{1,2}

¹Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation, p.nesterenko@phys.chem.msu.ru✉

²CJSC BioChemMack S&T, Moscow, Russian Federation

Abstract. The patterns of chromatographic retention and the possibility of separating the enantiomers of drugs flurbiprofen, ibuprofen, ketoprofen, indoprofen, and fenoprofen using a hydrophilic high-performance liquid chromatography (HPLC) variant with 5 new sorbents were studied. Sorbents based on silica gel (Kromasil KR-100-7-SIL (Akzo Nobel, Sweden) with a particle diameter of 7 μm , a pore size of 10 nm, and a specific surface area of 313 m^2/g) with grafted macrocyclic glycopeptide antibiotics, including oritavancin (O-CSP), eremomycin (E-CSP) and its derivatives chloreremomycin (Chloro-E-CSP), amido-eremomycin (Amide-E-CSP), adamantylamido-eremomycin (Adamantylamide-E-CSP) were used as chiral stationary phases (CSP). The efficiency of chromatographic columns with the length of 250 mm and inner diameter of 4.0 mm used in the study ranged from 14 to 20 thousand theoretical plates per metre. Comparison of sorbents was carried out using 100% methanol with the addition of triethylammonium acetate as an eluent. The obtained enantioselectivity of profen separation decreased in the series O-CSP>Chloro-E-CSP>Adamantylamide-E-CSP>E-CSP>Amide-E-CSP. The highest resolution of chromatographic peaks ($R_s > 2.0$) was obtained by separating the enantiomers of flurbiprofen, indoprofen, and ketoprofen on sorbents with grafted oritavancin and chloreremomycin.

The study discusses the mechanism for the chiral recognition of enantiomers of 2-phenylpropionic acid derivatives or profens by macrocyclic glycopeptide antibiotics structurally related to eremomycin. It was found that the carboxyl group in the eremomycin molecule plays an insignificant role in chiral recognition, since its conversion to the amide group (Amide-E-CSP sorbent) only slightly reduces enantioselectivity compared to E-CSP. Change of the steric hindrance in the chiral recognition of profens by introduction of an adamantyl substituent into the amide group increases the enantioselectivity of the Adamantylamide-E-CSP sorbent with respect to E-CSP. The most pronounced effect on the enantioselectivity of chiral recognition for the studied sorbents caused a change in the structure of aromatic fragments of eremomycin. The introduction of a chlorine atom into the benzene ring (Chloro-E-CSP sorbent) and addition of pair-phenyl-pair-benzyl substituent (O-CSP sorbent) provided the highest enantioselectivity for these sorbents among all studied CSP.

Keywords: liquid chromatography, chiral stationary phases, enantiomers, profens, eremomycin, chloreremomycin, oritavancin.

For citation: Sarvin N.A., Puzankov R.V., Nesterenko P.N., Staroverov S.M. Enantioselectivity of liquid chromatographic separation of profens on chiral sorbents with immobilized eremomycin derivatives and oritavancin. *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*. 2022. 22(5): 638-649. (In Russ.). <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2022.22/10685>

Введение

Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) оптических изомеров с использованием хиральных сорбентов или хиральная хроматография является одним из наиболее востребованных методов разделения стереоизомеров и определения оптической чистоты лекарственных препаратов. Это связано с необходимостью индивидуального изучения фармакологических свойств всех возможных оптических изомеров каждого лекарственного препарата, которые часто

оказывают побочное действие на организм человека. В основе разделения оптических изомеров или энантиомеров органических соединений лежит принцип трехточечного взаимодействия Далглиша, сформулированный в 1952 году для объяснения разделения D- и L-изомеров ароматических кислот методом бумажной хроматографии [1]. Согласно этому принципу для успешного разделения энантиомеров хирального лиганда необходимы три взаимодействия с хиральным селектором. Из-за структурного

разнообразия рацемических лигандов не существует универсального хирального селектора, способного обеспечить трехточечное взаимодействие и, соответственно, разделение энантиомеров различных классов соединений. Среди наиболее известных хиральных селекторов, закрепляемых на поверхности носителей для приготовления хиральных неподвижных фаз (ХНФ), можно выделить полисахариды [2] циклодекстрины [3], изомеры хинина [4], краун-эфиры [5], синтетические лиганды Пиркла [6], макроциклические антибиотики [7] и другие лиганды [8].

Первой ХНФ, содержащей макроциклический гликопептидный антибиотик в качестве хирального селектора, является силикагель с ковалентно закрепленным ванкомицином, предложенный Армстронгом с соавт. в 1994 году [9]. Позже было найдено, что другие макроциклические антибиотики также являются эффективными хиральными селекторами, при этом они обеспечивают энантиоселективность по отношению к разным группам соединений. Это привело к созданию многочисленных ХНФ с иммобилизованными гликопептидными антибиотиками ванкомицином, тейкопланином, ристомицина А и их производными [7].

Один из наиболее удачных типов ХНФ представлен сорбентами с иммобилизованным гликопептидным антибиотиком эремомицином, позволяющим разделение энантиомеров широкого круга соединений, включая альфа-аминокислоты [10-12], альфа-оксикислоты [13], профены [13-16], пиррохинолоны [17], бета-блокаторы и др. Такая энантиоселективность обусловлена совокупностью 22 хиральных центров, что обеспечивает многовариантность хирального распознавания различных соединений. В настоящее время данный тип ХНФ является одним из наиболее эффективных, поэтому интересным представляется понять механизм

хирального распознавания селектора посредством целевого изменения структуры антибиотика.

В структурах гликопептидных антибиотиков есть общий элемент: агликон, который представляет собой гептапептид с ароматическими остатками, которые, соединяясь друг с другом, образуют объёмную «корзину» с карманами для образования комплексов включения с лигандами. Образование таких комплексов в условиях ОФ ВЭЖХ обусловлено совокупностью водородных связей, π - π -взаимодействий, гидрофобных (дисперсионных) взаимодействий и стерических затруднений. Представляло интерес изучить влияние структурных изменений в эремомицине на энантиоселективность соответствующих ХНФ. Кроме того, данные исследования помогут идентифицировать центры хирального распознавания для профенов, что для хиральных лигандов с множеством оптически активных центров является сложной задачей.

Теоретическая часть

Известно, что ХНФ с ванкомицином проявляет умеренную способность к разделению 2-арилпропионовых кислот [18], известных как профены. При получении новых ХНФ на основе его структурного аналога эремомицина важно идентифицировать функциональные группы и фрагменты, которые отвечают за хиральное распознавание и могут быть модифицированы. Структура эремомицина (рис. 1), отличается от ванкомицина отсутствием атома хлора в бензольном кольце (группа Y на рисунке), наличием дополнительного остатка аминсахара эремозамина в боковом заместителе аминокислоты (группа W) и строением аминсахара (4'-эпиванкозамина, группы Z1 и Z2) при остатке D-глюкопиранозы. В составе молекулы эремомицина имеется

Антибиотик	Y	Z1	Z2	A	X	W
Ванкомицин	Cl	OH	H	OH	H	H
Оритаванцин	Cl	OH	H	OH	R ₂	
Эремомицин	H	H	OH	OH	H	
Хлорэремомицин	Cl	OH	H	OH	H	
Амидоэремомицин	Cl	OH	H	NH ₂	H	
Адамантиламидоэремомицин	Cl	OH	H	NHR ₁	H	

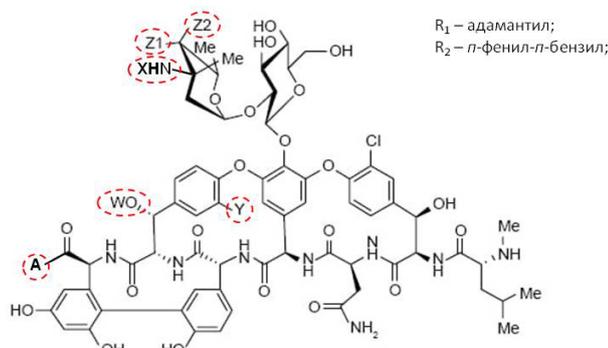


Рис. 1. Структура гликопептидных антибиотиков, использованных в качестве хиральных селекторов для ХНФ.

Fig. 1. Structure of glycopeptide antibiotics used as chiral selectors for CSP.

одна карбоксильная группа, две первичных и одна вторичная аминогруппы и три углеводных остатка (одна глюкоза и 2 эремозамина), которые могут быть использованы для ковалентного закрепления на поверхности силикагеля, а также отвечают за образование водородных связей при хиральном распознавании.

Природный антибиотик хлорэремомицин является более близким аналогом ванкомицина, различающейся только наличием углеводного фрагмента (группа W). Полусинтетический антибиотик оритаваинцин представляет собой производное хлорэремомицина, получаемое восстановительным алкилированием хлорэремомицина. Наличие заместителя *N*-*p*-хлорфенил-*p*-бензила (группа X) придает более гидрофобные свойства данному антибиотику и может быть дополнительным фактором при хиральном распознавании, создавая стерические затруднения для взаимодействия лигандов с хиральными центрами. Дополнительно, в данной работе были получены амидные производные по карбоксильной группе (группа A) для выяснения роли единственной кислотной группы эремомицина в хиральном распознавании.

Ранее было показано [13], что сорбенты на основе силикагеля с привитым эремомицином (E-CSP) и его агликоном (EA-CSP), отличающимся от молекулы эремомицина отсутствием трех углеводных остатков, проявляют различную селективность в варианте ОФ ВЭЖХ. Сорбент E-CSP хорошо разделяет энантимеры аминокислот и профенов, но не проявляют энантиоселективности к бета-блокаторам. Наоборот, сорбент EA-CSP разделяет энантимеры бета-блокаторов и практически не проявляет энантиоселективности к аминокислотам и профенам. В связи с этим, представляло интерес изучить сорбенты с модифицированными антибиотиками с целью идентификации центров связывания, отвечающих за разделение оптических изомеров профенов.

Относительно простой возможностью является получение сорбентов с закрепленными аналогами эремомицина. С этой целью были синтезированы ХНФ на основе силикагеля с закрепленными хлорэремомицином (Chloro-E-CSP) и оритаваинцином (O-CSP). В качестве второго варианта химической модификации молекулы эремомицина был выбран путь

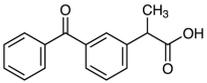
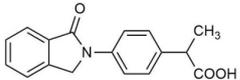
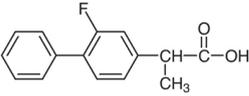
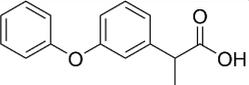
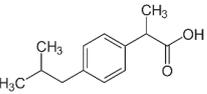
трансформации карбоксильной группы молекулы эремомидина в амидную. В использованной схеме синтеза карбоксильная группа антибиотиков не участвует в процессе ковалентного закрепления на эпокси-активированном силикагеле, однако, как было показано ранее, участвует в хиральном распознавании [13]. Трансформация карбоксильной группы в амидную должна приводить к изменению энантиоселективных свойств соответствующих ХНФ за счет исключения возможных электростатических взаимодействий (отталкивание) с профенами, в составе которых также имеется карбоксильная группа. Кроме того, синтез сорбентов с простым амидным производным (Amide-E-CSP) и с замещенным адамантильным амидным производным (Adamantylamide-E-CSP) позволяет оценить возможный вклад стерического эффекта объемного адамантильного заместителя амидной группы в сравнении с незначительным по объему атомом водорода на способность этих ХНФ к хиральному распознаванию различных профенов.

Экспериментальная часть

Для приготовления элюентов использовали хроматографически чистые метанол и ацетонитрил (Panreac, Испания), кислота уксусная ледяная ХЧ («Вектон», Россия), кислота фосфорная ОСЧ («Химмед», Россия), аммиак («Химмед», Россия), триэтиламин (Sigma-Aldrich, США), хлорная кислота ОСЧ («Реахим», Россия), дигидрофосфат натрия (Sigma-Aldrich, США). Элюенты и растворы готовили с использованием деионизованной воды, очищенной на установке Werner (Лeverкузен, Германия). Объектами исследования были 5 профенов, структурные формулы и свойства которых представлены в табл. 1. Аналиты растворяли в соответствующих данному режиму подвижных фазах.

Гликопептидные антибиотики в виде культуральных жидкостей или готовых лигандов были предоставлены АО «Биохимик» и НИИ по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе РАМН. Синтез сорбентов проводили согласно незначительно измененным известным методикам химического модифицирования [11,

Таблица 1. Структурные формулы и свойства исследованных профенов
 Table 1. Structural formulas and properties of the investigated profens

Аналит	Структурная формула	logP	pK _a
Кетопрофен		3.12	4.20
Индопрофен		2.77	4.40
Флурбипрофен		4.16	4.39
Фенопрофен		3.90	4.30
Ибупрофен		3.97	4.50

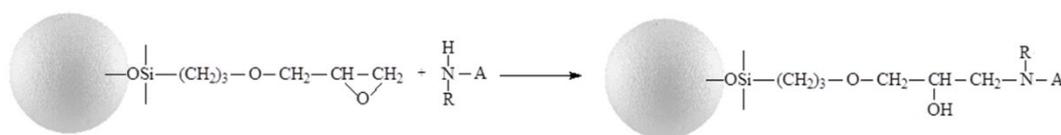


Рис. 2. Схема синтеза ХНФ, где А-гликопептидный антибиотик.
 Fig. 2. Scheme for the synthesis of CSP, where A is a glycopeptide antibiotic.

Таблица 2. Результаты элементного анализа и концентрация привитых молекул в синтезированных сорбентах.

Table 2. Results of elemental analysis and concentration of grafted molecules in the synthesized sorbents.

Антибиотик	Сорбент	С, %	ΔС, %	мкмоль/г	групп/нм ²
Эремомицин	E-CSP	12.23	7.03	80.3	0.20
Амид эремомицина	Amide-E-CSP	11.65	6.45	73.6	0.18
Адамантиламид эремомицина	Adamantylamide-E-CSP	12.82	7.65	76.8	0.19
Оритаванцин	O-CSP	10.93	5.13	64.9	0.15
Хлорэремомицин	Chloro-E-CSP	15.07	9.26	91.5	0.22

13], включающим первоначальную активацию силикагеля с 3-глицидоксипропилтриэтоксисилана с последующим закреплением гликопептидного антибиотика (рис. 2). 30 г силикагеля Kromasil KR-100-7-SIL (Akzo Nobel, Швеция) с диаметром частиц 7 мкм, размером пор 10 нм и удельной поверхностью 313 м²/г суспендировали в 250 мл 0.1 М раствора ацетата натрия с рН 5.5. К полученной суспензии добавили 40 см³ 3-глицидоксипропилтриэтоксисилана и полученную смесь интенсивно перемешивали в течение 2 часов, а затем оставили при комнатной температуре на 4 суток. По окончании реакции модифицированный силикагель последовательно промыли водой, этанолом, ацетоном и отфильтровали. Полученный силикагель, модифицированный эпокси группами, сушили на воздухе при 150°C. Затем 15 г хлорэремомицина растворили в 230 см³ дистиллированной воды. Довели рН до значения 8.58, используя 1 М водный раствор КОН. Полученный раствор смешали с 26 г эпокси-силикагеля при комнатной температуре, периодически перемешивая, в течение 1 недели. После окончания реакции сорбент отфильтровали и промыли

последовательно водой, метанолом и ацетоном. Сорбент с привитым хлорэремомицином (Chloro-E-CSP) сушили в сушильном шкафу при 50°C в течение 20 часов. Аналогичные методики использовали для синтеза остальных ХНФ.

Концентрации закрепленных на поверхности антибиотиков (табл.2), рассчитывали по данным элементного анализа согласно известной методике расчета [19] по исправленным (за вычетом углерода в эпокси-силикагеле) содержаниям ΔС% углерода в сорбентах. Поверхностная концентрация привитых антибиотиков варьировалась от 64.9 до 91.5 мкмоль/г, что соответствует 0.15-0.22 группам/нм². С учетом больших размеров молекул макроциклических гликопептидных антибиотиков данные значения свидетельствуют о плотной прививке хиральных селекторов к поверхности силикагеля.

В работе использовали жидкостной хроматограф, включающий насос Smart-line 1000, спектрофотометрический детектор модель 2500, кран-дозатор с петлей для ввода пробы объемом 20 мкл (Knauer, Германия). Управление прибором, сбор и обработку данных осуществ

ляли с помощью программного обеспечения Eurochrom (Knauer, Германия). Упаковку аналитических колонок из нержавеющей стали длиной 250 мм и внутренним диаметром 4.0 мм синтезированными сорбентами проводили суспензионным способом. Мертвое время колонок (t_0) определяли по времени выхода толуола при использовании метанола качестве элюента. Эффективность хроматографических колонок составила от 14 до 20 тысяч теоретических тарелок на метр.

Обсуждение результатов

Производные 2-арилпропионовой кислоты или профены широко используются в качестве нестероидных противовоспалительных лекарственных препаратов как жаропонижающие и болеутоляющие агенты. В структуре данной группы препаратов имеется оптический центр относительно атома углерода, соседнего с карбоксильной группой (см. структуры в табл. 1). Известно, что терапевтическим действием обладает только один энантиомер профена, поэтому существует необходимость в их разделении и определении энантиомерного состава синтетических субстанций.

Разделение рацематов профенов изучали в варианте гидрофильной хроматографии (HILIC) с использованием в качестве элюента метанола с добавками ацетата триэтиламмония (ТЭАА). Данный элюент позволяет подавить нежелательные ионообменные взаимодействия

между карбоксильными группами сорбатов и аминогруппами в составе E-CSP, Chloro-E-CSP и O-CSP в отличие от варианта ОФ ВЭЖХ, а также подавляет образование прочных водородных связей, что приводит к улучшению формы хроматографических пиков профенов. Селективность сорбентов по отношению к профенам показана в табл. 3.

Сравнение энантиоселективности для разных сорбентов показывает, что сорбент E-CSP проявляет наименьшую селективность, а разделение до базовой линии наблюдается только для флурбипрофена ($R_s=1.64$). Для сорбента Chloro-E-CSP с хлорэремомицином наблюдали увеличения энантиоселективности, равной соотношению факторов удерживания разделяемых энантиомеров (k_2/k_1), для всех профенов. Для кетопрофена, индопрофена и флурбипрофена получено разрешение хроматографических пиков до базовой линии, а для фенопрофена и ибупрофена наблюдается разрешение близкое к 1.0, что достаточно для аналитического контроля энантиомерной чистоты синтетических препаратов этих профенов (рис. 3).

Как было отмечено ранее, при изучении механизма сорбционного взаимодействия профенов с ХНФ необходимо рассмотреть возможное влияние карбоксильных групп, ароматических и гидрофобных фрагментов, стерических факторов и образования водородных связей. Учитывая, отсутствие корреляции между

Таблица 3. Разрешение хроматографических пиков (R_s) и селективность разделения (k_2/k_1) энантиомеров профенов, полученные для изученных ХНФ (элюент: 100% метанол с добавлением 0.1% ТЭАА)

Table 3. Resolution of chromatographic peaks (R_s) and separation selectivity (k_2/k_1) of profen enantiomers obtained for the studied CSP (eluent: 100% methanol with 0.1% TEAA)

Аналит	E-CSP		Chloro-E-CSP		Amide-E-CSP		Adamantyl-amide-E-CSP		O-CSP	
	k_2/k_1	R_s	k_2/k_1	R_s	k_2/k_1	R_s	k_2/k_1	R_s	k_2/k_1	R_s
Кетопрофен	1.92	0.84	2.84	2.05	2.82	0.72	3.36	0.94	3.20	2.20
Индопрофен	2.62	1.12	4.00	2.24	3.53	1.08	3.87	1.31	4.56	2.98
Флурбипрофен	1.30	1.64	1.13	2.09	2.23	1.49	2.68	1.76	2.37	3.30
Фенопрофен	1.14	0.68	1.71	0.99	2.07	0.47	2.37	0.46	2.04	1.21
Ибупрофен	1.67	0.77	1.80	0.97	1.28	0.35	1.53	0.47	1.91	0.93

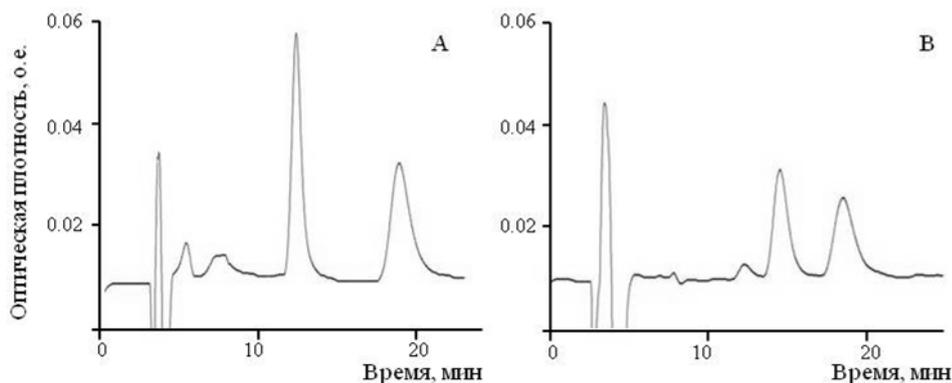


Рис. 3. Разделение энантимеров флурбипрофена на колонке O-CSP (A) и кетопрофена на колонке Chloro-E-CSP (B). Элюент: 99.9% метанола с добавлением 0.1% ТЭАА, скорость потока 0.7 см³/мин, спектрофотометрическое детектирование при 210 нм.

Fig. 3. Separation of the enantiomers of flurbiprofen on an O-CSP column (A) and ketoprofen on a Chloro-E-CSP column (B). Eluent: 99.9% methanol with 0.1% TEAA, flow rate 0.7 cm³/min. spectrophotometric detection at 210 nm.

энантиоселективностью и кислотностью карбоксильных групп (см. рK_a, табл.1) можно утверждать, что электростатическое взаимодействие не вносит определяющего вклада в энергию образования сорбционных комплексов между профенами и ХНФ. Незначительная роль электростатических взаимодействий также подтверждается самой низкой среди изученных сорбентов энантиоселективностью Amide-E-CSP с простой амидной группой, блокирующей отрицательно заряженную карбоксильную группу в молекуле эремомидина. С другой стороны, сорбент Adamantylamide-E-CSP с объемным адамантильным заместителем в амидной группе демонстрирует более высокую селективность по сравнению с Amide-E-CSP, что свидетельствует о положительной роли стерических затруднений со стороны заместителя амидной группы. Следует отметить, что добавки ТЭАА в элюент экранируют отрицательно заряженные карбоксильные группы, как в привитых антибиотиках в сорбентах O-CSP, E-CSP и Chloro-E-CSP, так и в профенах.

При использовании 100% метанола в качестве элюента реализуется вариант гидрофильной ВЭЖХ, при котором сле-

дует ожидать полного подавления гидрофобных взаимодействий между сорбатами и ХНФ. Данный факт косвенно подтверждается отсутствием корреляции между липофильностью профенов (logP, табл. 1) и наблюдаемой селективностью разделения оптических изомеров.

В тоже время сорбенты Chloro-E-CSP и O-CSP, содержащие атом хлора в бензольном кольце и дополнительный ароматический *n*-фенил-*n*-бензильный заместитель в структуре привитого антибиотика, проявляют самую высокую энантиоселективность среди изученных ХНФ при разделении профенов (табл. 3). Это может быть связано с усилением вклада видоизмененных ароматических фрагментов этих сорбентов в хиральное распознавание производных фенилпропионовой кислоты. Действительно, наибольшее время удерживания профенов наблюдается для O-CSP, имеющего гидрофобный ароматический лиганд в углеводной части молекулы. Наименьшая селективность на сорбенте с O-CSP наблюдается для ибупрофена ($k_2/k_1=1.19$, табл. 3). Возможно, это связано с тем, что в отличие от других профенов, молекула ибупрофена имеет только одно ароматическое кольцо, а наличие заместителя в пара-положении осложняет ориентацию

молекулы для взаимодействия с ароматическими фрагментами в составе О-CSP.

Высокую энантиоселективность наблюдали для Chloto-E-CSP, но по разрешающей способности именно сорбент О-CSP превосходит все другие сорбенты. Примеры разделения энантиомеров флурбипрофена и кетопрофена представлены на рис. 3.

Таким образом установлено, что лучшими характеристиками для разделения энантиомеров профенов обладает сорбент О-CSP. Селективность разделения энантиомеров профенов в варианте гидрофильной ВЭЖХ составляет от 1.91 до 4.56, а разрешающая способность от 0.98 до 3.3. Для некоторых профенов достигнутые показатели достаточны для использования в препаративной жидкостной хроматографии для выделения и очистки энантиомеров.

Заключение

Для понимания механизма хирального распознавания сорбента с привитыми гликопептидным синтезировано 4 новых хиральных сорбента на основе производных антибиотиков близких по структуре к эремомоцину и ванкомицину и изучены их хроматографические свойства при

Список литературы

1. Dalglish C.E. The optical resolution of aromatic amino-acids on paper chromatograms // *J. Chem. Soc.* 1952. P. 3916-3922.
2. Scriba G.K.E., Chiral recognition in separation sciences. Part I: Polysaccharide and cyclodextrin selectors. // *TrAC - Trends in Anal. Chem.* 2019. Vol. 120. 115639.
3. Armstrong D.W., DeMond W. Cyclodextrin bonded phases for the liquid chromatographic separation of optical, geometrical, and structural isomers // *J. Chromatogr. Sci.* 1984. Vol. 22. no. 9. P. 411-415.
4. Nesterenko P.N., Krotov V.V., Staroverov S.M. Effect of mobile phase composition on the enantioselectivity of

разделении оптических изомеров производных 2-фенилпропионовой кислоты или профенов.

Наиболее высокая энантиоселективность при разделении энантиомеров профенов обнаружена для сорбентов О-CSP с привитыми оритаванцином и Chloto-E-CSP с хлорэремомоцином. Ароматический заместитель *пара*-фенил-*пара*-бензил в молекуле оритаванцина и дополнительный атом хлора в бензольном кольце хлорэремомоцина способствуют повышению энантиоселективности соответствующих хиральных неподвижных фаз по сравнению с сорбентом с привитым эремомоцином. Определенное повышение энантиоселективности отмечено для сорбента с адамантильным заместителем в амидной группе производного эремомоцина, что связано со стерическими затруднениями при хиральном распознавании профенов.

Конфликт интересов

Авторы заявляют, что у них нет известных финансовых конфликтов интересов или личных отношений, которые могли бы повлиять на работу, представленную в этой статье.

chromatographic separation on a quinine-bonded silica stationary phase // *J. Chromatogr. A.* 1994. Vol. 667. no. 1-2. P. 19-28.

5. Hyun M.H. Liquid chromatographic enantioseparations on crown ether-based chiral stationary phases // *J. Chromatogr. A.* 2016. Vol. 1467. P. 19-32.

6. Welch C.J. Evolution of chiral stationary phase design in the Pirkle laboratories // *J. Chromatogr. A.* 1994. Vol. 666. P. 3-26.

7. Berkecz R., Tanács D., Péter A., Ilisz I. Enantioselective liquid chromatographic separations using macrocyclic glycopeptide-based chiral selectors // *Molecules.* 2021. Vol. 26. no. 11. 3380.

8. Shamshurin D.V., Zavarzin I.V., Yarovenko V.N., Chernoburova E.I., Krayushkin M.M., Volgin Y.V.,



Sharovalova E.N., Nesterenko P.N., Shpigun O.A. Thiooxamide chiral stationary phase for liquid chromatography // *Mendeleev Comm.* 2005. Vol. 15. no. 4. P. 143-145.

9. Armstrong D.W., Tang Y., Chen S., Zhou Y., Bagwill C., Chen J.R. Macrocyclic antibiotics as a new class of chiral selectors for liquid chromatography // *Anal. Chem.* 1994. Vol. 66. no. 9. P. 1473-1484.

10. Кузнецов М.А., Нестеренко П.Н., Васяров Г.Г., Староверов С.М. Высокоэффективная жидкостная хроматография энантиомеров α -аминокислот на силикагеле с иммобилизованным эремомицином // *Ж. аналит. химии.* 2008. Т. 63. № 1. С. 64-72.

11. Staroverov S.M., Kuznetsov M.A., Nesterenko P.N., Vasiarov G.G., Katrukha G.S., Fedorova G.B. New chiral stationary phase with macrocyclic glycopeptide antibiotic eremomycin chemically bonded to silica // *J. Chromatogr. A.* 2006. Vol. 1108. P. 263-267.

12. Федорова И.А., Шаповалова Е.Н., Староверов С.М., Шпигун О.А. Разделение энантиомеров производных аминокислот на силикагеле, модифицированном макроциклическим антибиотиком эремомицином // *Сорбционные и хроматографические процессы.* 2015. Т. 15. № 6. С. 769-775.

13. Кузнецов М.А., Нестеренко П.Н., Васяров Г.Г., Староверов С.М. Сорбенты с иммобилизованными гликопептидными антибиотиками для разделения оптических изомеров методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. // *Прикл. биохим. микробиол.* 2006. Т. 42. № 6. С. 615-623.

14. Решетова Е.Н., Аснин Л.Д. Хроматографическое поведение и термодинамика адсорбции энантиомеров профенов на силикагеле с привитым антибиотиком эремомицином // *Ж. физ. химии.* 2009. Т. 83. № 4. С. 643-648.

15. Решетова Е.Н., Аснин Л.Д. Влияние ионного состава подвижной фазы на хроматографическое

удерживание энантиомеров профенов на хиральном адсорбенте с привитым антибиотиком эремомицином // *Ж. физ. химии.* 2011. Т. 85. № 8. С. 1552-1557.

16. 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 // *J. Porous Mater.* 2020. Vol. 28. no. 2. P. 407-414.

17. Степанова М.В., Аснин Л.Д., Ботева А.А., Кудинов А.В. Хроматографическое поведение и термодинамика адсорбции хиральных пиррохинолонов на силикагеле с привитым антибиотиком эремомицином // *Вестн. Пермского национального исслед. политехн. ун-та. Хим. технология и биотехнология.* 2018. № 4. С. 20-34.

18. Bouchair N., Righezza M., Hamdi A. Reversed-phase high-performance liquid chromatographic separation of some 2-arylpropionic acids using vancomycin as chiral stationary phase // *J. Iranian Chem. Soc.* 2015. Vol. 12. no. 6. P. 921-928.

19. Лисичкин Г.В., Фадеев А.Ю., Сердан А.А., Нестеренко П.Н., Мингалев П.Г., Фурман Д.Б. Химия привитых поверхностных соединений. 2003. М.: Физматлит, 592 с.

References

1. Dalgliesh C.E., The optical resolution of aromatic amino-acids on paper chromatograms. *J. Chem. Soc.* 1952; 3916-3922. <https://doi.org/10.1039/JR9520003940>

2. Scriba G.K.E., Chiral recognition in separation sciences. Part I: Polysaccharide and cyclodextrin selectors. *TrAC - Trends Anal. Chem.* 2019; 120: 115639. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.115639>

3. Armstrong D.W., DeMond W. Cyclodextrin bonded phases for the liquid chromatographic separation of optical, geometrical, and structural isomers. *J. Chromatogr. Sci.* 1984; 22(9): 411-415. <https://doi.org/10.1093/chromsci/22.9.411>

4. Nesterenko P.N., Krotov V.V., Staroverov S.M. Effect of mobile phase



- composition on the enantioselectivity of chromatographic separation on a quinine-bonded silica stationary phase. *J. Chromatogr. A.* 1994; 667(1-2): 19-28. [https://doi.org/10.1016/0021-9673\(94\)89047-1](https://doi.org/10.1016/0021-9673(94)89047-1)
5. Hyun M.H., Liquid chromatographic enantioseparations on crown ether-based chiral stationary phases, *J. Chromatogr. A.* 2016, Vol. 1467, pp. 19-32. DOI: 10.1016/j.chroma.2016.07.049
6. Welch C.J. Evolution of chiral stationary phase design in the Pirkle laboratories. *J. Chromatogr. A.* 1994; 666(1-2): 3-26. [https://doi.org/10.1016/0021-9673\(94\)80367-6](https://doi.org/10.1016/0021-9673(94)80367-6)
7. Berkecz R., Tanács D., Péter A., Ilisz I. Enantioselective liquid chromatographic separations using macrocyclic glycopeptide-based chiral selectors. *Molecules.* 2021; 26(11): 3380. <https://doi.org/10.3390/molecules26113380>
8. Shamshurin D.V., Zavarzin I.V., Yarovenko V.N., Chernoburova E.I., Krayushkin M.M., Volgin Y.V., Shapovalova E.N., Nesterenko P.N., Shpigun O.A. Thiooxamide chiral stationary phase for liquid chromatography. *Mendeleev Comm.* 2005; 15(4): 143-145. <https://doi.org/10.1070/MC2005v015n04A-BEH002110>
9. Armstrong D.W., Tang Y., Chen S., Zhou Y., Bagwill C., Chen J.R. Macrocyclic antibiotics as a new class of chiral selectors for liquid chromatography. *Anal. Chem.* 1994; 66(9): 1473-1484. <https://doi.org/10.1021/ac00081a019>
10. Kuznetsov M.A., Nesterenko P.N., Vasiyarov G.G., Staroverov S.M. High-performance liquid chromatography of α -amino acid enantiomers on eremomycin-modified silica. *J. Anal. Chem.* 2008; 63(1): 57-64. <https://doi.org/10.1007/s10809-008-1011-x>
11. Staroverov S.M., Kuznetsov M.A., Nesterenko P.N., Vasiyarov G.G., Katrukha G.S., Fedorova G.B. New chiral stationary phase with macrocyclic glycopeptide antibiotic eremomycin chemically bonded to silica. *J. Chromatogr. A.* 2006; 1108(2): 263-267. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2006.01.073>
12. Fedorova I.A., Shapovalova E.N., Staroverov S.M., Shpigun O.A. Enantioseparation of derivatives of amino acids on silica modified by macrocyclic antibiotic eremomycin, *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy.* 2015; 15(6): 769-775. (In Russ.)
13. Kuznetsov M.A., Nesterenko P.N., Vasiyarov G.G., Staroverov S.M. Sorbents with immobilized glycopeptide antibiotics for separating optical isomers by high-performance liquid chromatography. *Appl. Biochem. Microbiol.* 2006; 42(6): 536-544. <https://doi.org/10.1134/S0003683806060020>
14. Reshetova E.N., Asnin L.D. The chromatographic behavior and thermodynamic characteristics of adsorption of profen enantiomers on silica gel with grafted eremomycin antibiotic. *Russ. J. Phys. Chem. A.* 2009; 83(4): 547-551. <https://doi.org/10.1134/S0036024409040062>
15. Reshetova E.N., Asnin L.D. Effect of the ionic composition of a mobile phase on the chromatographic retention of profen enantiomers on a chiral adsorbent with grafted eremomycin antibiotic. *Russ. J. Phys. Chem. A.* 2011; 85(8): 1434-1439. <https://doi.org/10.1134/S0036024411080280>
16. 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. *J. Porous Mater.* 2020; 28(2): 407-414. <https://doi.org/10.1007/s10934-020-00985-y>
17. Stepanova M.V., Asnin L.D., Boteva A.A., Kudinov A.V. Chromatographic behavior and adsorption thermodynamics of chiral pyrroloquinolones on silica grafted with antibiotic eremomycin. *Vestnik Permskogo nazional'nogo issledovatel'skogo polytehnicheskogo universiteta. Khimicheskaya tekhnologiya i biotekhnologiya.* 2018; 4: 20-34. <https://doi.org/10.15593/2224-9400/2018.4.02>
18. Bouchair N., Righezza M., Hamdi A., Reversed-phase high-performance liquid chromatographic separation of some 2-



arylpropionic acids using vancomycin as chiral stationary phase. *J. Iranian Chem. Soc.* 2015; 12(6): 921-928.

19. Lisichkin G.V., Fadeev Y.A., Serdan A.A., Nesterenko P.N., Mingalev P.G.z

Furman D.B. Chemistry of grafted surface compounds (Khimiya privitykh poverkhnostnykh soedinenii). M.: Fizmatlit; 2003. 592 p. (In Russ.)

Информация об авторах / Information about the authors

Н.А. Сарвин – аспирант, химический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

Р.В. Пузанков – аспирант, химический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

П.Н. Нестеренко – д.х.н., профессор, химический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

С.М. Староверов – д.х.н., генеральный директор АО «БиоХимМак СТ», зав. лаб. «Новые химические технологии для медицины», химический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

N.A. Sarvin – PhD Student, Chemistry Department, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation, e-mail: nsarvin@list.ru

P.V. Puzankov – PhD Student, Chemistry Department, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation, e-mail: puzankov@chemistry.msu.ru

P.N. Nesterenko – prof., grand PhD, Chemistry Department, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation, e-mail: p.nesterenko@phys.chem.msu.ru

S.M. Staroverov – grand PhD (chemistry), CEO SC “BioChemMack S&T”, Head of Laboratory “New chemical technologies for medicine”, Chemistry Department, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation, e-mail: staroverov@bcmt.ru

Статья поступила в редакцию 27.11.2022; одобрена после рецензирования 06.12.2022; принята к публикации 07.12.2022.

The article was submitted 27.11.2022; approved after reviewing 06.12.2022; accepted for publication 07.12.2022.