

УДК 543.544 + 544.25.022.5

ПОЛУЧЕНИЕ ХИРАЛЬНЫХ МАТРИЦ НА ОСНОВЕ ГИБРИДНЫХ НАНОСИСТЕМ СЕРЕБРО–ТИХОХОЛЕСТЕРИН И ИЗУЧЕНИЕ ИХ СВОЙСТВ

Я.А. Громова, Е.С. Анистратова, Т.И. Шабатина, Н.Б. Рожманова,
Е.Н. Шаповалова, О.А. Шпигун

(кафедра химической кинетики, кафедра аналитической химии; e-mail: tatyana-shabatina@yandex.ru)

Предложен новый тип хиральных матриц на основе гибридных наносистем «серебро – тиохолестерин», адсорбированных на силикагеле. Установлено, что мольное соотношение стабилизируемого лиганда (тиохолестерина, L) и серебра (Ag) незначительно влияет на размер образующихся наночастиц серебра (НЧС). Для соотношения Ag:L = 1:5 средний диаметр НЧС составил (2,7±0,4) нм, для соотношения Ag:L = 1:2 – (2,2±0,4) нм, для соотношения Ag:L = 1:0,5 – (2,1±0,6) нм. Полученные хиральные матрицы проявляют энантиоселективность по отношению к оптическим изомерам 2,2'-диамино-1,1'-бинафтола (ДАБН) и трифторантрилэтанола (ТФАЭ). Методом ТСХ удалось разделить оптические изомеры ТФАЭ (фактор разделения α для двух пар изомеров ТФАЭ составил 1,56).

Ключевые слова: гибридные наносистемы, тиохолестерин, наночастицы серебра, модифицированные силикагели, хиральные матрицы, ТСХ.

Оптически активные соединения играют исключительно важную роль во многих биохимических процессах [1]. Их исследование очень важно для развития фармацевтики, так как контроль оптической чистоты фармацевтических препаратов законодательно введен во всех промышленно развитых странах [2]. В связи с этим постоянно растет интерес исследователей к поиску новых методов получения хиральных матриц, с помощью которых можно добиться эффективного разделения оптических изомеров лекарственных соединений [3].

Хиральность играет важную роль в случае применения оптически активных соединений. Известно, что в то время как один из оптических изомеров обладает определенной биологической или терапевтической активностью, другой энантиомер может быть неактивным или нести серьезный побочный эффект. Такие изомеры различаются по фармакокинетике, метаболизму и стабильности поведения в среде организма [4].

Разделение синтетических рацемических смесей на оптически активные компоненты всегда представляло сложную задачу. Однако в последние десятилетия стали активно развиваться хроматографические методы разделения энантиомеров. Использование хиральных неподвижных фаз особенно удобно для прямого разделения энантиомеров [1]. Таким образом, создание новых селективных неподвижных фаз

является одной из важных задач современной хиральной хроматографии.

Цель данной работы состояла в получении новых хиральных матриц на основе гибридных наносистем, включающих наночастицы серебра, стабилизированные оптически активным мезогенным лигандом тиохолестерином, а также исследование адсорбции данных гибридных наносистем на силикагелевых пластинках и оценка возможности разделения тестовых оптически активных веществ на полученных хиральных металл-мезогенных матрицах.

Экспериментальная часть

Реагенты и методы исследования. Синтез наночастиц серебра, стабилизированных тиохолестерином, проводили модифицированным методом боргидридного восстановления ионов серебра в двухфазной водно-органической среде с межфазным переносчиком тетра-*n*-октиламмония бромидом в присутствии стабилизирующего мезогенного лиганда [5]. Для синтеза использовали следующие реагенты: AgNO₃ («Merk», 99,99%), NaBH₄ («Merk», 99,99%), C₂₇H₄₆S («Merk», 99,99%), тетра-*n*-октиламмония бромид («Merk», 99,99%), толуол («ч.д.а.»). Варьируя концентрации исходных реагентов, синтезировали гибридные наносистемы серебро–тиохолестерин с мольным соотношением Ag:L, равным 1:5, 1:2 и 1:0,5.

Для получения микрофотографий наночастиц серебра использовали просвечивающий электронный микроскоп «LEO912 AB OMEGA» с ускоряющим напряжением 100 кВ («Carl Zeiss SMT AG Oberkochen», Германия). Образцы готовили нанесением 1–2 мкл золя на покрытую формваром медную сетку ($d = 3,05$ мм), затем сушили на воздухе. На основе полученных микрофотографий были построены гистограммы распределения наночастиц серебра по размеру для мольных соотношений $\text{Ag}_{\text{НЧ}}:\text{L}$, равных 1:5, 1:2 и 1:0,5.

Для построения градуировочного графика были приготовлены растворы НЧС в толуоле. Измерения проводили на УФ-спектрофотометре «SPECORD M 40» («Carl Zeiss», Германия), $\lambda = 470$ нм.

В качестве подложки для получения хиральных матриц использовали пластинки для тонкослойной хроматографии (ТСХ) «Полисорб» (SiO_2 , 10 мкм). Импрегнирование пластинок проводили путем двукратного нанесения раствора наночастиц серебра в толуоле (0,2–2,0 мг/мл) с помощью распылителя.

Для оценки возможности энантиораспознавания в работе использовали S- и R-энантиомеры следующих тестовых соединений: трифторантранилэтанол, 1,1-би-2-нафтол, 2,2-диамино-1,1-бинафтол. Концентрация соединений составляла 100 мкг/мл, растворы были приготовлены путем растворения точных масс навесок в смеси этанол:вода (1:1). В качестве подвижной фазы (ПФ) использовали смесь ацетонитрил:вода ($\text{AcN}:\text{H}_2\text{O}$) в объемном соотношении 1:1.

Обработку полученных хроматограмм проводили методом видеоденситометрии (денситометр «Сорбфил» с программным обеспечением версии 1.1.0.100). Для визуализации пятен 1,1-би-2-нафтола, 2,2'-диамино-1,1'-бинафтола и трифторантранилэтанола использовали их способность флуоресцировать после облучения УФ-излучением при 360 нм.

Для построения изотермы адсорбции были сняты спектры диффузионного отражения в видимой области модифицированных гибридными наночастицами серебра силикагелевых пластинок для ТСХ Полисорб (SiO_2 , 10 мкм) на спектрофотометре с приставкой диффузионного отражения «SHIMADZU CS-9001PC» (Япония).

Результаты и их обсуждение

Холестерин и его мезогенные (жидкокристаллические) производные являются природными и модифицированными хиральными матрицами,

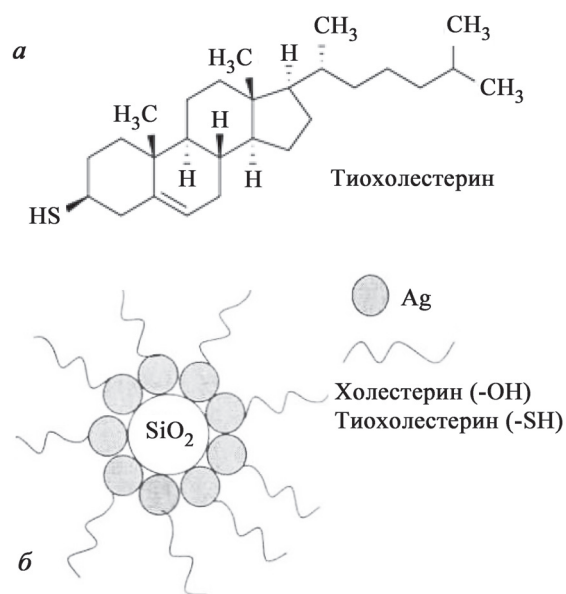


Рис. 1. Структурная формула тиохолестерина (а); схематическое строение силикагеля, модифицированного наночастицами серебра, стабилизированными тиохолестерином (б)

разделительные свойства которых только начинают изучаться [6]. Тиохолестерин, структурная формула которого приведена на рис. 1, а, является оптически активной молекулой и обладает хиральностью, образуя пространственно упорядоченные спиральные жидкокристаллические структуры – холестерические мезофазы (рис. 1, б). Известно, что эффект гость-хозяин имеет большое значение для практического использования жидкокристаллических систем, включающих гостевые молекулы органических и неорганических соединений [7].

Применение холестерических жидкокристаллических систем в качестве хиральных матриц может способствовать разделению оптически активных соединений, при этом эффект гость-хозяин с нашей точки зрения будет играть определяющую роль в процессах селективной адсорбции и разделения оптических изомеров. В последние годы в лаборатории химии низких температур кафедры химической кинетики активно проводились исследования, направленные на разработку методов получения и изучения физико-химических свойств гибридных наносистем на основе наночастиц металлов, стабилизированных жидкокристаллическими соединениями на основе холестерина и его производных [5, 8, 9]. Эти соединения являются оптически активными и образуют пространственно организованные спиральные холестерические мезофазы, а также содержат в своей структуре функциональные

группы ($-\text{OH}$, $-\text{SH}$), способные к эффективному взаимодействию с поверхностными центрами металла и стабилизации наночастиц серебра. Таким образом, использование холестерических жидких кристаллов, включающих наноразмерные частицы металла, позволяет получать хиральные гибридные наносистемы, которые могут иметь широкое применение, в том числе в качестве хиральных матриц для хроматографического разделения оптически активных веществ [10].

В работе синтез гибридных наночастиц серебра, стабилизированных оптически активным мезогенным лигандом тиохолестерином, проводили модифицированным борогидридным методом [5], предусматривающим восстановление ионов серебра из нитрата серебра с помощью боргидрида натрия в двухфазной водно-органической системе с межфазным переносчиком тетра-*n*-октиламмония бромидом в присутствии стабилизирующего мезогенного лиганда. Получены три гибридные наносистемы с мольным соотношением Ag:L , равным 1:5, 1:2 и 1:0,5. На рис. 2, *a* приведены результаты

исследования образцов методом просвечивающей электронной микроскопии. Гистограмма распределения по размерам для образцов с мольным соотношением $\text{Ag:L} = 1:5$ удовлетворяет критериям нормального распределения (рис. 2, *б*) (по сравнению с соотношениями 1:2 и 1:0,5), поэтому для импрегнирования силикагелевых пластинок использовали данное соотношение. Средний размер наночастиц серебра составил $(2,7 \pm 0,4)$ нм.

Была приготовлена серия растворов с концентрацией гибридных наночастиц серебра в толуоле в диапазоне 0,2–2,0 мг/мл. Полученные спектры поглощения в видимой области, а также градуировочный график (рис. 3.) свидетельствуют о линейном росте значений оптической плотности в полосе плазмонного поглощения при 450 нм с увеличением концентрации наночастиц серебра в исследуемых растворах.

Для построения изотермы адсорбции сняты спектры диффузионного отражения предварительно импрегнированных силикагелевых пластинок. Для этого золи гибридных наночастиц в то-

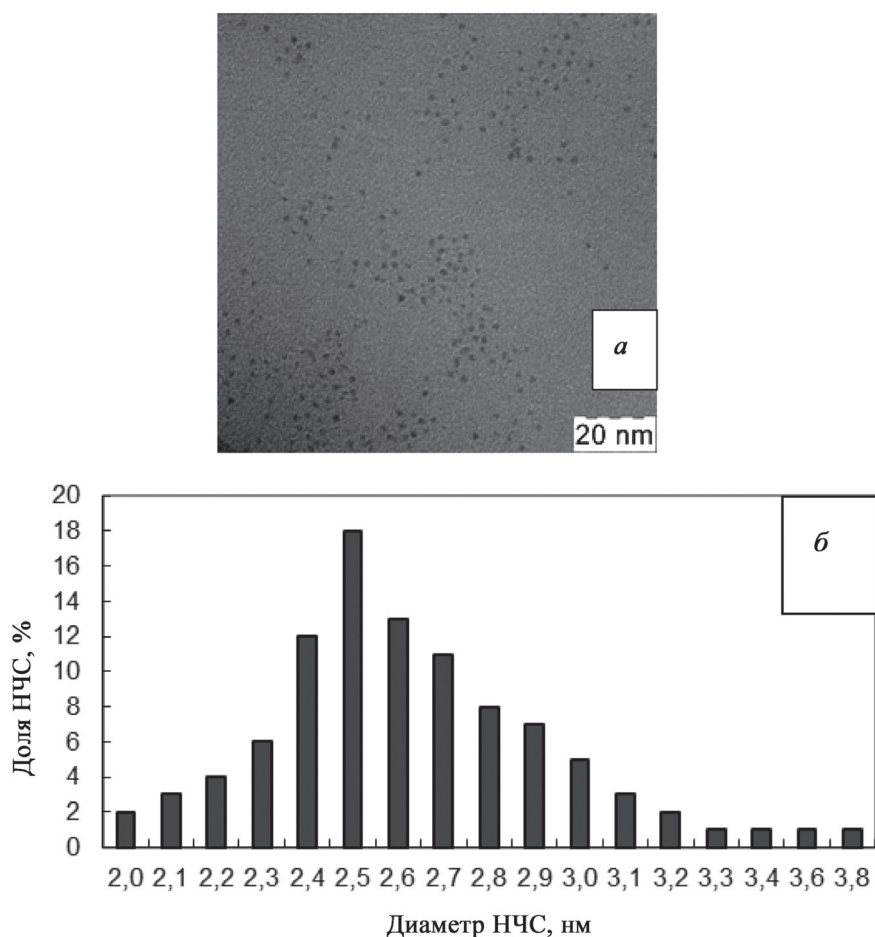


Рис. 2. ПЭМ-микрофотография (*a*) и гистограмма распределения наночастиц серебра по размеру для мольного соотношения $\text{Ag:L} = 1:5$ (*б*)

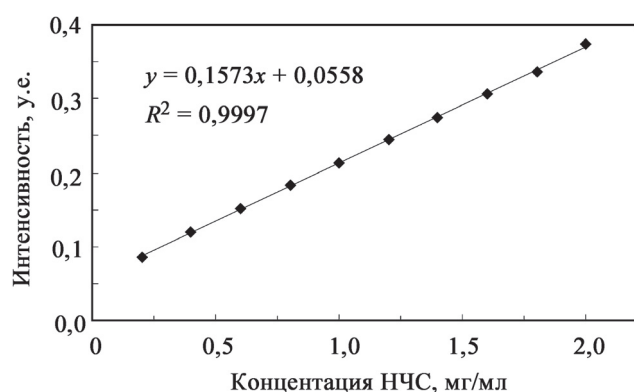


Рис. 3. Градуировочный график наночастиц серебра в толуоле, снятый в режиме спектрофотометрического детектирования ($\lambda = 470$ нм)

луоле (мольное соотношение Ag:L = 1:5) с разной концентрацией (0,2–2,0 мг/мл) были нанесены на пластинки для ТСХ путем двукратного распыления. Спектры пластинок сохраняли стабильность в течение суток при хранении на холоде и в темноте. На основании результатов экспериментальной изотермы адсорбции мы сделали заключение, что максимальное заполнение монослоя гибридными наночастицами серебра наступает при концентрации раствора 1,2 мг/мл (рис. 4). Таким образом, дальнейшее разделение тестовых оптически активных соединений проводили для образцов с мольным соотношением Ag:L = 1:5 и концентрации 1,2 мг/мл.

Структуры тестовых соединений представлены в табл. 1. Разделение тестовых веществ проводили для сравнения на модифицированной и немодифицированной силикагелевых пластинках. Для подбора состава ПФ выбрали растворители, отличающиеся по природе и полярности (метилловый спирт, изопропиловый спирт, ацетонитрил, ацетон, бутилацетат). Установлено, что бутилацет и изопропиловый спирт не пригодны как компоненты ПФ, так как в их присутствии НЧС, стабилизированные тиохолестерином, смываются с хроматографической пластинки. Подвижная фаза ацетонитрил:вода (50:50) обладает заметной элюирующей способностью. Подвижность соединений увеличивается в ряду 1,1-би-2,2-нафтол < 2,2'-диамино-1,1'-бинафтол \approx ТФАЭ. Наблюдается различие в значениях R_f у S- и R-изомеров 2,2'-диамино-1,1'-бинафтола и трифторантранилэтанола.

Для визуализации пятен разделяемых энантиомеров 1,1-би-2-нафтола, 2,2'-диамино-1,1'-бинафтола и ТФАЭ использовали их способность флуоресцировать после воздействия УФ-излучения с длиной волны 360 нм. Возможность

детектирования флуоресцирующих пятен различалась для модифицированной и немодифицированной пластин. Соединения практически невозможно обнаружить на неимпрегнированном силикагеле. Флуоресценция тестовых веществ, адсорбированных на полученной в работе хиральной матрице, была ярко выражена.

Подвижность соединений оценивали величиной R_f , которую рассчитывали по формуле $R_f = x/L$, где x – расстояние, пройденное веществом от линии старта, L – расстояние, пройденное растворителем от линии старта до линии фронта. Эффективность разделения оценивали величиной α (фактора разделения), которую рассчитывали по формуле $\alpha = (1/R_{f2} - 1) / (1/R_{f1} - 1)$, где R_{f1} и R_{f2} – параметры удерживания двух веществ.

Из данных табл. 2 видно, что гибридные наносистемы на основе наночастиц серебра, стабилизированных тиохолестерином, проявляют энантиоселективность по отношению к изомерам 2,2'-диамино-1,1'-бинафтола и ТФАЭ.

Предложенный в работе новый хиральный селектор, иммобилизованный на силикагель, является гидрофобным, так как единственный полярный заместитель (тиольная группа) эффективно взаимодействует с поверхностными центрами наночастиц серебра и мало смещает электронную плотность с холестеринного цикла. Предварительно было показано, что наночастицы серебра имеют частичный положительный заряд.

Таким образом, адсорбция гибридных наночастиц серебра, стабилизированных на поверхности силикагеля может быть обусловлена электростатическим взаимодействием между положительно заряженными частицами серебра и силанольными группами силикагеля, обладающими отрицательным зарядом.

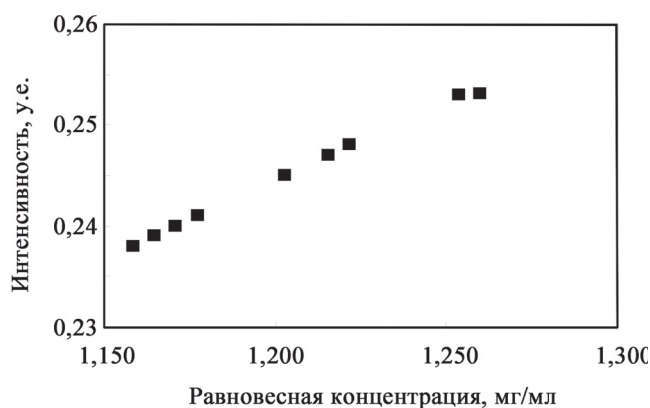


Рис. 4. Изотерма адсорбции наночастиц серебра на силикагелевых пластинках Полисорб для ТСХ

Т а б л и ц а 1

Структуры исследованных соединений

Соединение	Структурная формула
1,1-би-2-нафтол	
2,2-диамино-1,1-бинафтол	
ТФАЭ	

Т а б л и ц а 2

Значения параметров удерживания и факторов разделения тестовых веществ

Вещество	R_f	α
2,2'-диамино-1,1'-бинафтол (R)	0,57	1,56
2,2'-диамино-1,1'-бинафтол (S)	0,46	
1,1-би-2-нафтол (R)	0,49	1,07
1,1-би-2-нафтол (S)	0,51	
ТФАЭ (R)	0,43	1,56
ТФАЭ (S)	0,54	

В перспективе полученные гибридные наносистемы на основе серебра и тиохолестерина могут быть использованы в качестве хиральных селективов для высокоэффективной жидкостной хрома-

тографии (ВЭЖХ). При этом можно ожидать, что значения факторов разделения будут выше ввиду большего пробега разделяемых соединений по сравнению с ТСХ.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 13-03-00792).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Алленмарк С. Хроматографическое определение энантиомеров. Пер. с англ. М., 1991.
2. Ahuja S., Allenmark S.G., Krstulovic A.M., Souter R.W., Stevenson D. // J. Chromatography. 1998. Vol. 6. P. 641.
3. Модифицированные кремнеземы в сорбции, катализе и хроматографии / Под ред. Г.В. Лисичкина М., 1986. С. 286.
4. Bhushan R., Ali. I. // Chromatographia. 1993. Vol. 35. P. 679.
5. Беляев А.А., Шабатина Т.И., Сергеев Г.Б. // Вестн. Моск. ун-та. 2009. Т. 50. № 4 С. 228.
6. Pesek J.J., Matyska M.T., Dawson G. B., Wilsdorf A., Marc P., Padki M. // J. Chromatogr. A. 2003. Vol. 986. 253–262.
7. Блинов Л.М. Жидкие кристаллы. Структура и свойства. М., 2013.
8. Shabatina T.I., Belyaev A.A., Sergeev G.B. // Molecular Crystals and Liquid Crystals. 2011. Vol. 545. P. 44.
9. Shabatina T.I. // Molecular Crystals and Liquid Crystals. 2011. Vol. 545. P. 44.
10. Шаповалова Е.Н., Ананьева И.А., Мажуга А.Г., Зык Н.В., Шпигун О.А. // Вестн. Моск. ун-та. 2009. Т. 50. № 3 С. 200.

Поступила в редакцию 25.09.15

PRODUCTION OF CHIRAL MATRICES ON THE BASE OF HYBRID NANOSYSTEMS SILVER-THIOCHOLESTEROL AND STUDY OF THEIR PROPERTIES

Ya. A. Gromova, E. S. Anistratova, T.I. Shabatina, N.B. Rozhmanova, E.N. Shapovalova, O.A. Shpigun

(Division of Analytical Chemistry, Division of Chemical Kinetics)

The new type of chiral matrices was proposed on the base of hybrid nanosystems silver-thiocholesterol, adsorbed in silica. It was established that ligand (ThioCholesterol, L) to metal (Silver) mole/mole ratio has no the significant influence on the size of silver nanoparticles formed in the system: the main value of silver particles diameter is equal to (2,7±0,4) nm for the case Ag:L = 1:5, (2,2±0,4) nm - for Ag:L = 1:2 and (2,1±0,6) nm – for Ag:L = 1:0,5. The chiral matrices obtained possess enantioselectivity in relation to optical isomers of 2,2'-diamino-1,1'-binaphthol (DABN) and tri-fluoroanthranil ethanol (TFAE). We have succeeded to select optical isomers of TFAE by thin layer chromatography method ($\alpha = 1,56$).

Key words: hybrid nanosystems, thiocholesterol, silver nanoparticles, silica gel, chiral matrices, thin layer chromatography

Сведения об авторах: Громова Яна Андреевна – аспирант кафедры химической кинетики химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова; Анистратова Елизавета Сергеевна – студентка кафедры химической кинетики химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова; Шабатина Татьяна Игоревна – вед. науч. сотр. кафедры химической кинетики химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова, доцент, докт. хим. наук; Рожманова Нина Борисовна – ст. преподаватель кафедры аналитической химии химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова, канд. хим. наук; Шаповалова Елена Николаевна – доцент кафедры аналитической химии химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова, канд. хим. наук; Шпигун Олег Алексеевич – профессор кафедры аналитической химии химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова, докт. хим. наук, чл.-корр. РАН.