



УДК 577.113.6.088.3:543.544.42

СИНТЕЗ И ИССЛЕДОВАНИЕ МИКРОСФЕРИЧЕСКИХ
СИЛИКАГЕЛЕЙ ДЛЯ ОБРАЩЕННО-ФАЗОВОЙ
ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ
ПРИРОДНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

Чумаков Ю. И., Ажаев А. В.*, Гнучев Н. В.*,
Стыскин Е. Л.***, Умерова Х. Ф.***

Московский институт народного хозяйства им. Г. В. Плеханова, Москва;

**Институт молекулярной биологии Академии наук СССР, Москва;*

***Завод по ремонту медицинской техники, Москва;*

****Самаркандский государственный университет им. А. Навои*

Усовершенствование микрочастичных силикагелей для обращенно-фазовой ВЭЖХ до настоящего времени продолжается, и трудно сделать выбор между многочисленными методами приготовления как исходных силикагелей, так и «прививки» к их поверхности высших алкильных групп (C_{18} , C_8 и др.) [1, 2]. Преобладающая часть используемых в последние годы марок силикагелей для обращенно-фазовой ВЭЖХ поставляется промышленностью, причем обычно не сообщается каких-либо деталей как получения исходных силикагелей, так и условий превращения их в сорбенты с химически связанными неподвижными фазами типа алкилов C_{18} , C_8 или групп $(CH_2)_3NH_2$. Считается, что получение подобных силикагелей, которые обычно дороги, относится к особо сложной технологии. В то же время у хроматографиста, работающего в области современной ВЭЖХ природных соединений, часто возникает необходимость самому варьировать свойства силикагеля C_{18} для ВЭЖХ, что возможно только на стадиях или получения самого исходного силикагеля, или химической модификации его поверхности.

Ниже изложены результаты полного лабораторного синтеза пористого microsферического силикагеля C_{18} (ПМСС- C_{18}) из тетраэтоксисилана и различных октадецилхлорсиланов и краткие сведения о возможности применения его для разделения смесей некоторых природных соединений и продуктов их превращений.

Пористый microsферический силикагель зернения 2–3, 5, 4–6, 6–8 мкм и более был получен из тетраэтоксисилана через полиэтоксисилоксаны средней вязкостью от 30 до 2000 сСт согласно работам [1, 2]. Полученный ПМСС классифицировали на воздушном сепараторе «Альпина» с отбором фракций 3, 3–6, 6–10 мкм и выше, после чего каждая фракция освобождалась седиментацией от мелких частиц и дополнительно сужалась по размеру частиц после суспендирования в воде и обработки ультразвуком.

Полученные таким образом силикагели со средним диаметром пор 150–250 Å и удельной поверхностью соответственно 300–150 м²/г позволяют разделять как низкомолекулярные продукты типа аминокислот или их производных, так и сравнительно высокомолекулярные соединения, в том числе олигонуклеотиды, а также белки, полипептиды. Для их успешного разделения особенно важно добиться отсутствия большого числа мелких пор и связанного с ними большого числа не прореагировавших после «прививки» силанольных групп, чтобы исключить заметный эффект необратимой сорбции.

В качестве алкилсилилирующих реагентов нами были применены алкилтрихлорсиланы, алкилметилхлорсиланы и алкилдиметилхлорсиланы

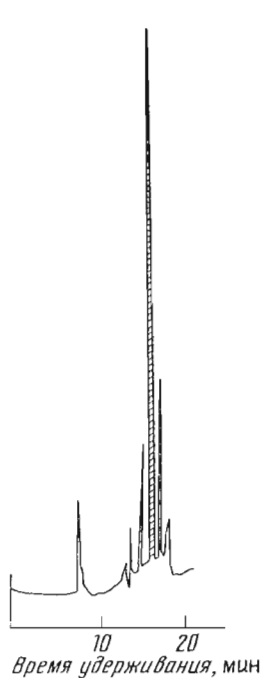


Рис. 1

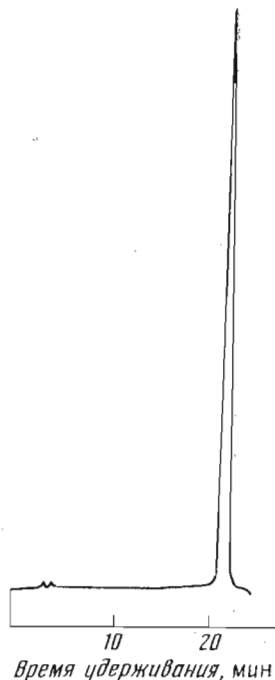


Рис. 2

Рис. 1. Анализ реакционной смеси, содержащей 2'-дезоксигуанидин, модифицированный витамином Н (заштрихован пик, соответствующий продукту). Колонка: ПМСС-С₁₈ (5–7 мкм), 4,6×250 мм; режим элюции: А – 100% В, 20 мин (буфер А: 0,1 М NH₄OAc; буфер В: 0,1 М NH₄OAc в 50% CH₃CN), 35°С, УФ-детектор (290 нм), скорость потока 1 мл/мин

Рис. 2. Анализ гомогенности олигодезоксирибонуклеотида d(CCCAGTCACGACCT). Колонка: ПМСС-С₁₈ (5–7 мкм), 4,6×250 мм; режим элюции: А – 50% В, 30 мин (буфер А: 0,1 М NH₄OAc; буфер В: 0,1 М NH₄OAc в 60% MeOH), 35°С, УФ-детектор (254 нм), скорость потока 1 мл/мин

(С₁₈, С₈, С₆ и др.). Получение «привитых» ПМСС-С₁₈ проводили без дегидрогалогенирующих реагентов в растворе четыреххлористого углерода или без растворителя согласно методу [3]. «Эндкепинг» проводили обычным образом – кипячением в избытке триметилхлорсилана. Ди- и трихлоралкилсиланы в отличие от монохлордиметилалкилсиланов активно взаимодействуют с поверхностными силанольными группами силикагеля, и полученные сорбенты обладают большим содержанием углерода и удерживанием. Считается, хотя не было опубликовано экспериментальных доказательств, что более качественные силикагели С₁₈ дает использование октадецилдиметилхлорсилана. Это объясняют невозможностью для него полимеризации на поверхности силикагеля. Однако наши данные говорят о том, что высокие значения удерживания в режиме обращенно-фазовой ВЭЖХ легче получают при использовании алкилтрихлорсиланов, но не алкилдиметилхлорсиланов, а асимметрия пиков при отсутствии мелких пор в исходном силикагеле и тщательно выполненном «эндкепинге» минимальны в любом из трех случаев.

В работе использовались жидкостный хроматограф «Милихром», хроматограф, собранный из блоков: детектор фирмы Alltech, насос фирмы Eldex, узел ввода пробы Rheodyne (модель 7010), колонки из нержавеющей стали длиной 12,5 см и внутренним диаметром 4,6 мм, а также жидкостный хроматограф Du Pont 8800. Синтезированные сорбенты были применены для успешного разделения в условиях ВЭЖХ различных сложных смесей, в том числе пептидов (брадикинин, инсулин и др.) в градиенте концентрации метанола от 0 до 50% в 0,1% трифторуксусной кислоте (рН~2). Найдено, что в этих условиях ПМСС-С₁₈ близок по устойчивости в эксплуатации к Nucleosil-С₁₈, допуская 200–300 разделений до потери

эффективности разделения пептидов. Полученные сорбенты были успешно применены и для разделения смесей, содержащих модифицированные нуклеозиды (рис. 1). На рис. 2 представлен также анализ гомогенности олигодезоксирибонуклеотида d(CCCAGTCACGACCT) на ПМСС- C_{18} .

Авторы благодарят М. А. Грачева и Г. И. Барама из Института биорганической химии СО АН СССР за исследование возможностей применения синтезированных ПМСС для разделения смесей, содержащих низкомолекулярные полипептиды и белки, в том числе брадикинин, инсулин и др.

ЛИТЕРАТУРА

1. Unger K., Schick-Kalb J., Straube K. Colloid and Polymer Science, 1976, v. 253, p. 658.
2. Unger K., Schick-Kalb J. Пат. ФРГ, № 2155281, выд. 28.10.1976.
3. Evans M. B., Dale A. D., Little C. J. Chromatographia, 1980, v. 13, № 1, p. 5-10.

Поступило в редакцию
23.VI.1986

SYNTHESIS AND TESTING OF POROUS MICROSPHERIC C_{18} SILICA GELS FOR REVERSE-PHASE HIGH-PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY

CHUMAKOV Yu. I., AZHAYEV A. V.*, GNUCHEV N. V.*, STYSKIN E. L.**,
UMEROVA Kh. F.***

G. V. Plekhanov Institute of National Economy, Moscow;

**Institute of Molecular Biology, Academy of Sciences of the USSR, Moscow;*

*** Plant of the Medical Equipment Repaire, Moscow;*

**** A. Navoy State University, Samarkand*

The home-made microspheric silica gels for reverse-phase high-performance liquid chromatography have been prepared. Application of these C_{18} -silica gels for separation of some natural compounds and their derivatives is illustrated.