

Научная статья

УДК 543.544.5.068.7

doi: 10.17223/24135542/39/7

Выбор ароматического селектора стационарной фазы для реализации смешанного режима жидкостной хроматографии с применением подхода Welch

**Евгений Витальевич Упыренко¹, Дмитрий Андреевич Кургачев²,
Абдигали Абдиманопович Бакибаев³**

^{1, 2, 3} Томский государственный университет, Томск, Россия

¹ eugeny.upyrenko@gmail.com

² kurgachev.tsu@gmail.com

³ bakibaev@mail.ru

Аннотация. Несмотря на разнообразие существующих хроматографических режимов, лабораторно синтезированных и коммерчески доступных стационарных фаз, обращенно-фазовый режим жидкостной хроматографии со спектрофотометрическим детектированием остается наиболее популярным и распространенным режимом жидкостной хроматографии, особенно в области фармацевтической промышленности, пищевой отрасли и токсикологической экспертизы. Это связано с тем, что подавляющее большинство известных органических соединений, в том числе физиологически активных, токсичных и эндогенных веществ, содержат в своем составе ароматическую функциональную группу. Ароматическая группа, как правило, поглощает излучение в ультрафиолетовой области, позволяя использовать простой, дешевый и чувствительный метод УФ-детектирования. Гидрофобный характер ароматической группы дает возможность реализовать хорошо изученный и простой механизм разделения, основанный на гидрофобном эффекте и дисперсионных взаимодействиях. При этом наиболее популярными являются гидрофобные стационарные фазы, такие как октилсилильные (С8) и октадецилсилильные (С18).

Один из эффективных способов решения данной проблемы – использование мультимодальных стационарных фаз, содержащих несколько функциональных групп для комбинации механизмов удерживания и селективности нескольких хроматографических режимов. Одним из типов мультимодальных стационарных фаз являются фазы, содержащие ароматические группы. Однако наиболее используемые стационарные фазы с ароматическими группами (фенильная, пентафторфенильная) не обеспечивают достаточно сильные π -взаимодействия. Согласно обзору литературы, электронодефицитные ароматические группы, содержащие электроноакцепторные заместители, как правило, обеспечивают более сильные π -взаимодействия, чем электрононасыщенные ароматические группы.

В данной работе с применением подхода Welch «иммобилизованный гость» выбрана структура ароматического селектора, обеспечивающего сильные π -взаимодействия в смешанном обращенно-фазовом режиме жидкостной хроматографии. В ходе проведения эксперимента установлено, что динитроароматические группы демонстрируют сильное удерживание в широком диапазоне. Наибольшее удерживание продемонстрировал N-алкилзамещенный 2,4-динитроанилин, который выбран в качестве ароматического селектора.

Стационарная фаза, содержащая данную ароматическую группу, продемонстрировала возможность более сильного удерживания и селективного определения для полярных веществ на примере новокаина по сравнению с коммерчески доступными стационарными фазами C8 и C18. Показано более высокое удерживание на примере кетопрофена и напроксена по сравнению с коммерчески доступной пентафторфенильной стационарной фазой за счет реализации π -взаимодействий. Продемонстрирована возможность практического применения разработанной стационарной фазы для определения действующих веществ и родственных примесей в комбинированном лекарственном препарате «Аскофен-П». Разработанная стационарная фаза обеспечивает более высокие селективность и удерживание для полярных соединений, таких как кофеин, теофиллин и парацетамол, по сравнению с коммерчески доступной стационарной фазой C8.

Ключевые слова: высокоэффективная жидкостная хроматография, мульти-модальная жидкостная хроматография, обращенно-фазовая хроматография, π -взаимодействия, динитроароматические группы, подход «иммобилизованного гостя» Welch

Для цитирования: Упыренко Е.В., Кургачев Д.А., Бакибаев А.А. Выбор ароматического селектора стационарной фазы для реализации смешанного режима жидкостной хроматографии с применением подхода Welch // Вестник Томского государственного университета. Химия. 2025. № 39. С. 94–113. doi: 10.17223/24135542/39/7

Original article

doi: 10.17223/24135542/39/7

Selecting of the stationary phase aromatic selector for the implementation of mixed mode liquid chromatography using the Welch mode

Evgeny V. Upyrenko¹, Dmitry A. Kurgachev², Abdigali A. Bakibaev³

^{1, 2, 3} Tomsk State University, Tomsk, Russian Federation

¹ eugeniy.upyrenko@gmail.com

² kurgachev.tsu@gmail.com

³ bakibaev@mail.ru

Abstract. Despite the variety of the chromatographic modes, laboratory-synthesized and commercially available stationary phases, the reversed-phase liquid chromatography with spectrophotometric detection remains the most popular and widespread liquid chromatography mode, especially in the pharmaceutical industry, food industry and forensic chemistry. This is due to the fact that the vast majority of known organic compounds, including physiologically active, toxic and endogenous substances, contain an aromatic functional group. The aromatic group, as a rule, absorbs radiation in the ultraviolet region, allowing the use of a simple, cheap and sensitive method of UV detection. The hydrophobic nature of the aromatic group allows the implementation of a well-studied and handling separation mechanism based on the hydrophobic effect and dispersion interactions. In this case, the most popular are hydrophobic stationary phases, such as octylsilyl (C8) and octadecylsilyl (C18) stationary phases. One of the effective ways to solve this issue is to use multimodal stationary phases containing several functional groups to combine retention mechanisms and selectivity of several

chromatographic modes. One of the types of multimodal stationary phases are phases containing aromatic groups. However, the most commonly used stationary phases with aromatic groups (phenyl, pentafluorophenyl) do not provide sufficiently strong π -interactions. According to the literature review, electron-deficient aromatic groups containing electron-withdrawing substituents, as a rule, provide stronger π -interactions than electron-saturated aromatic groups.

In this work, using the Welch "immobilized guest" approach, the structure of the aromatic selector providing strong π -interactions in the mixed reversed-phase liquid chromatography mode was selected. During the experiment, it was found that dinitroaromatic groups demonstrate strong retention in a wide range. The highest retention was demonstrated by *N*-alkyl-substituted 2,4-dinitroaniline, which was chosen as an aromatic selector.

The obtained stationary phase containing *N*-propyl-substituted 2,4-dinitroaniline group demonstrated the possibility of stronger retention and selective determination for polar substances using novocaine as an example compared to commercially available C8 and C18 stationary phases. Advanced retention was demonstrated for ketoprofen and naproxen compared to the commercially available pentafluorophenyl stationary phase due to the implementation of π -interactions. The possibility of practical application of the developed stationary phase for the determination of active pharmaceutical ingredients and related impurities in the combination drug "Askofen-P" was demonstrated. The developed stationary phase provides higher selectivity and retention for polar compounds such as caffeine, theophylline and paracetamol compared to the commercially available C8 stationary phase.

Keywords: high performance liquid chromatography, multimodal liquid chromatography, reversed-phase liquid chromatography, π -interactions, dinitroaromatic groups, Welch "immobilized guest"

For citation: Upyrenko, E.V., Kurgachev, D.A., Bakibaev, A.A. Selecting of the stationary phase aromatic selector for the implementation of mixed mode liquid chromatography using the Welch mode. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Chimia – Tomsk State University Journal of Chemistry*, 2025, 39, 94–113. doi: 10.17223/24135542/39/7

Введение

Значительное количество физиологически активных, токсичных и эндогенных веществ содержит в своем составе ароматическую функциональную группу [1–6]. Ароматическая группа, как правило, имеет гидрофобный характер и поглощает излучение в ультрафиолетовой области, что делает распространенным обращенно-фазовый режим ВЭЖХ (ОФ-ВЭЖХ) со спектрофотометрическим детектированием для исследования органических соединений, содержащих ароматическую группу [7–10].

В основе механизма удерживания ОФ-ВЭЖХ лежат гидрофобный эффект и дисперсионные взаимодействия, которые имеют универсальный и ненаправленный характер [11]. Это обуславливает не только преимущества данного режима, такие как простота эксплуатации и хорошо изученный механизм разделения, но и недостатки, к которым можно отнести низкую селективность для разделения региоизомерных аналитов [12–15]. Кроме того, существует проблема недостаточного удерживания на сорбенте для некоторых полярных органических соединений.

Одно из самых эффективных решений данных проблем – использование мультимодальных стационарных фаз, содержащих одновременно несколько функциональных групп (селекторов) на поверхности сорбента [16–18]. Такого рода фазы позволяют реализовать одновременно несколько типов взаимодействий сорбент–сорбат, например ионообменные, диполь-дипольные, дисперсионные, взаимодействия посредством водородных связей и др. [18–22].

Мультимодальные стационарные фазы, содержащие ароматические функциональные группы, позволяют реализовать специфичные π -взаимодействия между сорбатом и сорбентом. Согласно обзору литературы, одними из наиболее распространенных и сильных подтипов π -взаимодействий являются параллельно-смещенные стэкинговые π -взаимодействия. При этом электронодефицитные ароматические группы, содержащие электроноакцепторные заместители, как правило, обеспечивают более сильные π -взаимодействия, чем электрононасыщенные ароматические группы [23]. Однако наиболее часто используемые в аналитической практике стационарные фазы для ВЭЖХ содержат фенильные или пентафторфенильные ароматические группы, не обеспечивающие достаточно сильные π -взаимодействия. Кроме того, ацетонитрил (CH_3CN) – наиболее распространенный растворитель – в значительной степени подавляет π -взаимодействия между сорбатом и сорбентом, содержащими ароматические группы [24–27].

Несмотря на то, что сегодня существует широкое разнообразие стационарных фаз с ароматическими группами (табл. 1), наиболее используемыми остаются стационарные фазы с фенильными и пентафторфенильными ароматическими группами.

Таблица 1

Стационарные фазы для ВЭЖХ с ароматическими селекторами

Ароматические группы	Производители или научно-исследовательские группы
Фенил	Agilent Technologies, Phenomenex, GL Sciences, ACE, Restek, Thermo Fisher Scientific, Helix, Halo, COSMOSIL и др.
Бифенил	
Дифенил	
Пентафторфенил	
Фениламинопропил	M.G. Kiseleva, P.N. Nesterenko [28]
Нафталин	“ π NAP COSMOSIL” Nacalai Tesque Inc.
N(9-Метилантрацен)аминопропил	M. Verzele, N. Van de Velde [29]
Фенотиазин	“Buckyprep-M COSMOSIL” Nacalai Tesque Inc.
Пиреналкил	“PYE COSMOSIL” Nacalai Tesque Inc.
	“Buckyprep COSMOSIL” Nacalai Tesque Inc.
	B. Lin, H.-B. He, Z.-G. Shi et al. [30]
	C.H. Lochmüller, A.S. Colborn, L.M. Hunnicutt et al. [31]
Пентабромфенил	“PBB COSMOSIL” Nacalai Tesque Inc.
Пентафторбензамид	G. Félix, C. Bertrand [32]
	G. Félix, C. Bertrand [33]
Кофеин	G. Félix, C. Bertrand, F. Van Gastel [34]
Фталимид	“Acclaim Phenyl-1” Thermo Fisher Scientific

Окончание табл. 1

Ароматические группы	Производители или научно-исследовательские группы
Тетрахлорфталимид	Ph. Jadaud, M. Caude, R. Rosset [35]
	L. Nondek [36]
	W. Holstein, H. Hemetsberger [37]
	W. Holstein [38]
Пиридин	“PY COSMOSIL” Nacalai Tesque Inc.
	“BEH 2EP” Waters
	“2-PIC” Waters
	“Epic HILIC-Pi” Perkin Elmer
2-Хиназолин	C.H. Lochmüller, S.F. Marshall, D.R. Welder [39]
8-Хинолинол	A. Marshall, H.A. Mottola [40]
Нитрофенилэтил	“NPE COSMOSIL” Nacalai Tesque Inc.
4-Нитропропилбензол	“Nucleosil-NO ₂ ” MACHEREY-NAGEL
(4-Нитрофенил)мочевина	“CD-Screen” CycloLab Cyclodextrin R&D Laboratory Ltd.
Нитро-1,8-нафталимид	N. Kuroda, A. Sako, K. Ohyama, et al. [41]
	Y. Yamada, K. Ohyama, G. Onodera et al. [42]

Несмотря на свою привлекательность, стационарные фазы, содержащие несколько электроноакцепторных групп, ограничены несколькими примерами. Они представлены стационарными фазами, содержащими две и более нитрогрупп, и включают всего несколько коммерчески доступных примеров (таб. 2). Однако данные фазы не имеют описанных в литературе случаев практического применения для анализа реальных объектов в ОФ-ВЭЖХ, а также брошюр или руководств по эксплуатации и примеров применения на сайте производителя.

Таблица 2

Стационарные фазы для жидкостной хроматографии с ароматическими селекторами, замещенными двумя и более нитрогруппами

Ароматические группы	Производители или научно-исследовательские группы
2,4-Динитроанилин	PrincetonSFC DNP, Princeton Chromatography
3,5-Динитрофенил	SUMIPAX DI-NO ₂ SG, Sumika Chemical Analysis Service, Ltd.
3,5-Динитробензамид	Whelk-O®1, Regis Technologies
	DACH-DNB, Regis Technologies
2,4-Динитрофенлаланин	V. Schurig, D. Wistuba, G. Jung et al. [43]
2,4-Динитроанилин	L. Nondek, J. Málek [44]
	P. Ghosh, B. Chawla, P. Joshi et al. [45]
2,4-Динитроанилин и Толуолсульфонат серебра	J.C. Putman, S.M. Rowland, D.C. Podgorski et al. [46]
Тетранитробифенил	J.T. Ayres, C.K. Mann [47]
	G. Smets, V. Balogh, Y. Castrill [48]
2,4-Динитроанилин	K.J. Welch, N.E. Hoffman [49]
3,5-Динитробензоил-меракптопропил	
2,4-Динитрофенил-меркаптопропил	
Пикрилмеркаптопропил	

Ароматические группы	Производители или научно-исследовательские группы
2,4-Динитроанилин	L. Nondek [36]
2,4,6-Тринитроанилин	
3,5-Динитробензамид	
2,4,6-Тринитрофенил-пропиловый эфир	
2,4,7,9-Тетранитрофлуореноксим	
2,4,7,9-Тетранитрофлуореноксим	H. Klaar, H. Hemetsberger, H. Ricken [50]
2,4,5,7-Тетранитрофлуоренимин	C.H. Lochmüller, R.R. Ryall, C.W. Amoss [51]

Стационарная фаза PrincetonSFC DNP используется для сверхкритической флюидной хроматографии. Стационарная фаза SUMIPAX DI-NO₂ SG позиционируется для ВЭЖХ-анализа, но в литературе не описано примеров ее практического применения. Стационарная фаза CD-Screen направлена на определение циклодекстринов. Серия стационарных фаз компании Regis Technologies используется для хиральной хроматографии.

Несмотря на то, что в литературе описано большое количество работ по разработке и исследованию стационарных фаз, содержащих несколько нитрогрупп (см. табл. 2), их применение ограничено работами прошлого века для определения преимущественно полиароматических углеводов в нормально-фазовом режиме ВЭЖХ.

В связи с этим разработка стационарных фаз с ароматическими группами, обеспечивающими реализацию сильных π -взаимодействий, в частности с электронодефицитными ароматическими группами, для реализации более сильных π -взаимодействий в смешанных режимах жидкостной хроматографии является актуальной задачей.

Методы

1. Высокоэффективная жидкостная хроматография

Исследование удерживания ароматических веществ различной природы для выбора селектора, обеспечивающего наиболее сильные π -взаимодействия, а также исследование полученной стационарной фазы с динитроароматическим селектором проводились с использованием жидкостного хроматографа Agilent 1260 Infinity LC, оснащенного диодно-матричным детектором (Agilent Technologies). Для исследования полученной стационарной фазы AWE-21 RP использовались коммерчески доступные стационарные фазы: XBridge C8 50 × 4,6 мм, 3,5 мкм (Waters); Spherisorb ODS2 150 × 4,6 мм, 5 мкм (Waters); Luna PFP(2) 150 × 4,6 мм, 3 мкм (Phenomenex); Zorbax Eclipse Plus Phenyl-Hexyl Rapid Resolution 150 × 4,6 мм, 3,5 мкм (Agilent); COSMOSIL 5PYE 250 × 4,6 мм, 5 мкм (Nacalai Tesque Inc.).

2. Схема и условия эксперимента для выбора ароматического селектора с применением подхода С. J. Welch «иммобилизованный гость»

Для выбора ароматического селектора, позволяющего реализовать сильные π -взаимодействия, был проведен эксперимент с применением подхода С. Welch «иммобилизованный гость» [52]. Суть данного подхода заключается в иммобилизации на поверхности сорбента аналита, который необходимо селективно определять (так называемый «иммобилизованный гость»), и исследовании удерживания различных веществ (потенциальных селекторов) на данном сорбенте (рис. 1). Вещество, демонстрирующее наибольшее удерживание, представляет собой наиболее перспективный селектор по отношению к «иммобилизованному гостю» с точки зрения удерживания и селективности.

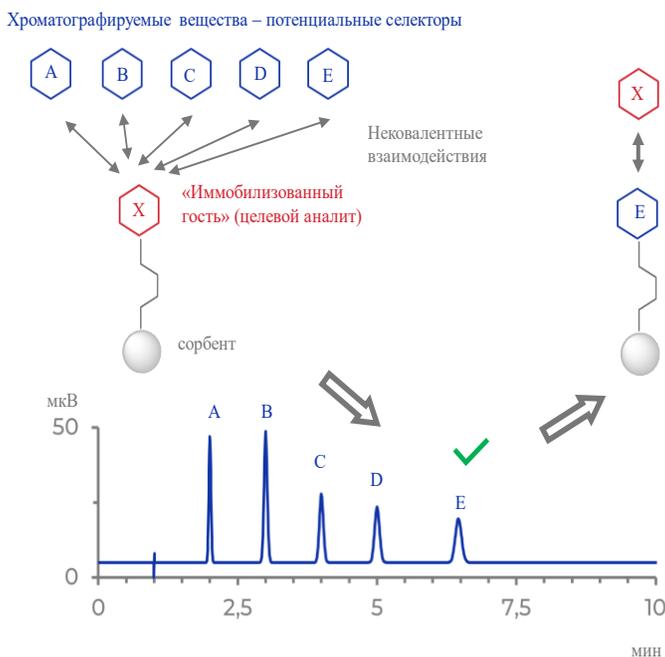


Рис. 1. Схема подхода С. J. Welch «иммобилизованный гость», использованного для выбора ароматического селектора стационарной фазы [52]

В настоящей работе в качестве «иммобилизованного гостя» использованы стационарные фазы, содержащие ароматические группы: пентафторфенильную, фенилгексилную и пиренэтильную (рис. 2).

В качестве потенциальных селекторов исследован ряд ароматических веществ различной природы (подробно описаны в разд. «Результаты»). В качестве подвижной фазы использован состав *n*-гексан-изопропанол в объемном соотношении (60:40), который позволяет реализовать сильные π -взаимодействия и минимизировать вклад гидрофобного эффекта в удерживание потенциальных селекторов.

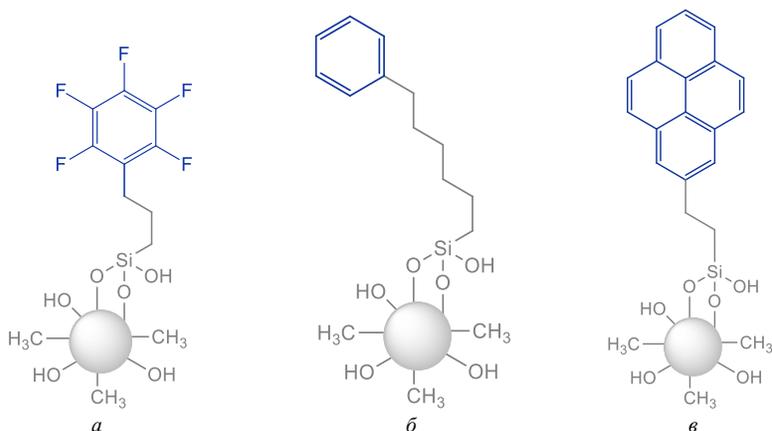


Рис. 2. Структурные формулы использованных стационарных фаз, содержащих ароматические группы: *a* – Luna PFP(2) 150 × 4,6 мм, 3 мкм (Phenomenex); *б* – Zorbax Eclipse Plus Phenyl-hexyl 150 × 4,6 мм, 3 мкм (Agilent Technologies); *в* – COSMOSIL 5PYE 250 × 4,6 мм, 5 мкм (Nacalai Tesque Inc.)

3. Процедура получения стационарной фазы с *N*-пропилзамещенным 2,4-динитроанилиновым селектором

Для получения стационарной фазы с *N*-пропилзамещенным 2,4-динитроанилиновым селектором, получившей название AWE-21 RP, на первом этапе получали модификатор, содержащий силанизирующую группу и ароматическую группу (рис. 3). Реакцию вели в полипропиленовой пробирке постепенно приливая (3-аминопропил)триметоксисилан (АПТМС) (0,95 моль) к раствору 1-хлор-2,4-динитробензола (1 моль) и триэтиламина (ТЭА) (2 моль) в толуоле. Реакционную смесь подвергали ультразвуковому воздействию в течение 30 мин.

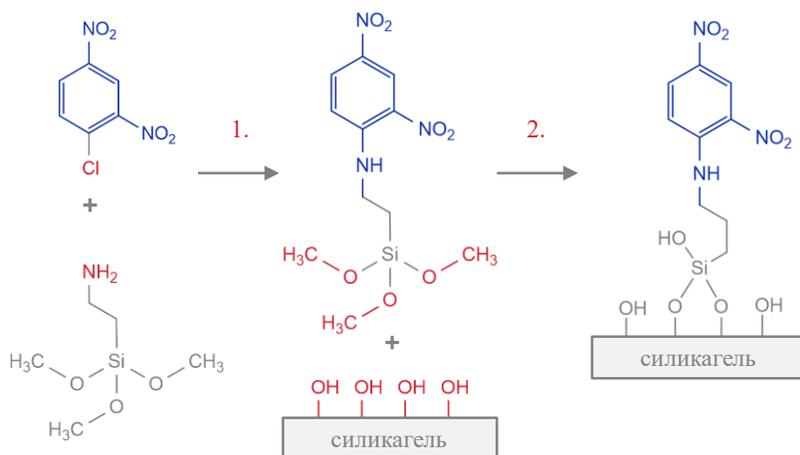


Рис. 3. Схема получения стационарной фазы AWE-21 RP:
 1 – АПТМС, 1-хлор-2,4-динитробензол, триэтиламин, толуол, УЗО 30 мин;
 2 – силикагель, модификатор AWE-21 RP, толуол–метанол (50:50), 80°C, 8 ч

На втором этапе (см. рис. 3) к реакционной смеси добавляли метанол, силикагель для ВЭЖХ и подвергали реакционную смесь нагреву при 80°C и ультразвуковому воздействию в течение 8 ч. По окончании воздействия модифицированный силикагель помещали в пустую хроматографическую колонку объемом 14 мл и с помощью ВЭЖХ-насоса промывали ацетонитрилом, метанолом и водой для удаления непрореагировавшего модификатора.

Промытый силикагель суспендировали в растворителе, переносили в пакет объемом 30 мл и с помощью ВЭЖХ-насоса упаковывали хроматографическую колонку размером 150 × 4,6 мм, поддерживая постоянное давление около 600 бар.

Результаты

В ходе исследования удерживания ароматических веществ на стационарных фазах, содержащих ароматические группы, обнаружено, что вещества, содержащие электронодонорные заместители и конденсированные ароматические группы, демонстрируют слабое удерживание (коэффициент удерживания $k' < 1$; табл. 3, рис. 4). Исключение составляют ароматические группы, содержащие атом азота, которые демонстрируют более сильное удерживание, связанное с взаимодействиями NH-π, и асимметричную форму пика (в табл. 3 отмечены знаком «*»). Данные ароматические группы не подходят для использования в качестве потенциальных селекторов.

Таблица 3

Значения коэффициента удерживания k' веществ, содержащих электрононасыщенные и конденсированные ароматические группы, для исследованных стационарных фаз, содержащих ароматические группы

Группа	Вещество	Коэффициент удерживания k'		
		Пиренэтильная фаза	Фенилгексильная фаза	Пентафторфенильная фаза
Электрононасыщенные ароматические группы	Фенол	0,21	0,04	0,31
	Метилбензол	0,25	0,13	0,38
	Метоксибензол	0,34	0,19	0,44
	Аминобензол	0,47*	0,21*	0,88*
	Дифениламин	0,38	0,20	0,32
	<i>N,N</i> -Диэтиланилин	0,38	0,25*	0,51
	1,2-Диметилбензол	0,27	0,15	0,39
	2-Метоксифенол	0,33	0,13	0,43
	1,2-Диаминобензол	3,80*	0,82*	8,83*
Конденсированные ароматические группы	2-Изопропил-5-метилфенол	0,20	0,04	0,25
	1-Нафтиламин	0,52	0,25	0,68
	Нафталин	0,36	0,22	0,44
	Антрацен	0,59	0,30	0,50
	Фенантрен	0,58	0,30	0,52
	1-Нитронафталин	1,01	0,33	0,60

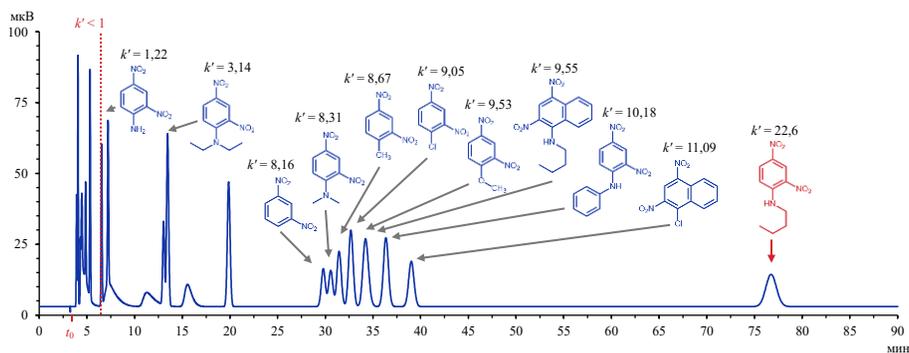


Рис. 4. Смоделированная наложенная хроматограмма удерживания ароматических веществ различной природы на пиренэтильной стационарной фазе при работе в подвижной фазе *n*-гексан–изопропанол 60:40, скорость потока 0,8 мл/мин, температура колонки 25°C

Конденсированные ароматические группы также демонстрируют слабое удерживание, которое незначительно увеличивается при увеличении числа сопряженных ароматических систем и введении нитрогруппы (см. табл. 3).

Ароматические группы, содержащие один или несколько электроноакцепторных заместителей, также демонстрируют слабое удерживание (табл. 4). Увеличение удерживания наблюдается при введении двух сильных электроноакцепторных заместителей (например, для 1,2-дидианобензола) и для антрахинонов.

Таблица 4

Значения коэффициента удерживания k' веществ, содержащих электронодефицитные ароматические группы, для исследованных стационарных фаз, содержащих ароматические группы

Группа	Вещество	Коэффициент удерживания k'		
		Пиренэтиль-ная фаза	Фенилгек-сильная фаза	Пентафторфе-нильная фаза
Электроноде-фицитные ароматические группы	Цианобензол	0,63	0,23	0,59
	Нитробензол	0,64	0,26	0,55
	Пиридин	1,28*	0,37*	2,32*
	1,2-Дихлорбензол	0,35	0,20	0,40
	Пиразин-2-карбоксамид	2,52*	0,85*	11,31*
	1,2-Дидианобензол	3,01	0,36	0,56
	2-Нитробензойная кислота	0,44*	0,18*	–
	3-Нитробензойная кислота	0,50	0,13	3,26*
	4-Нитробензойная кислота	0,49	0,14	3,10*
	1-Аминоантрахинон	1,21	0,22	0,53
1-Хлорантрахинон	5,11	0,50	0,59	

Наибольшее удерживание в широком диапазоне продемонстрировали ароматические системы, замещенные двумя нитрогруппами (табл. 5). Удерживание данной группы веществ в значительной степени зависит от типа третьего заместителя, который может выступать в роли линкера, связывающего

ароматическую группу с силикагелевой подложкой. Наибольшее удерживание наблюдается для *N*-бутилзамещенного 2,4-динитроанилина, что делает его наиболее перспективным селектором для реализации π -взаимодействий.

Таблица 5

Значения коэффициента удерживания k' веществ, содержащих динитрозамещенные ароматические группы, для исследованных стационарных фаз, содержащих ароматические группы

Группа	Вещество	Коэффициент удерживания k'		
		Пиренэтильная фаза	Фенилгексильная фаза	Пентафторфенильная фаза
Динитрозамещенные ароматические группы	1,3-Динитробензол	8,16	0,45	0,60
	2,4-Динитрохлорбензол	9,05	0,53	0,49
	2,4-Динитрометилбензол	8,67	0,44	0,60
	2,4-Динитрометоксибензол	9,53	0,44	0,78
	2,4-Динитроанилин	1,22	0,17	0,64
	2,4-Динитродифениламин	10,18	0,65	0,74

Для более наглядного представления результаты проведенных экспериментов представлены в виде хроматограммы, смоделированной на основе значений коэффициентов удерживания k' и коэффициента асимметрии A_s исследованных ароматических веществ (см. рис. 4). На хроматограмме изображены структурные формулы веществ, содержащих динитроароматическую группу и соответствующие значения k' .

Полученная стационарная фаза AWE-21 RP позволяет удерживать полярные вещества, содержащие ароматическую группу, что является сложной задачей для ОФ-ВЭЖХ. Данное преимущество стационарной фазы AWE-21 RP продемонстрировано в сравнении с коммерчески доступными стационарными фазами на примере субстанции новокаина (рис. 5).

Как видно из рис. 5, разработанная стационарная фаза демонстрирует преимущество не только перед обращенно-фазовыми стационарными фазами, такими как C8 и C18 (см. рис. 5, б, г), но и коммерчески доступными стационарными фазами, содержащими ароматические группы. При этом для разработанной стационарной фазы AWE-21 RP при использовании подвижной фазы состава MeOH–фосфат аммония (pH 2,7; 50 мМ) 70:40 наблюдалось слишком долгое удерживание, которое потребовало добавления ацетонитрила как более сильного элюента для элюирования новокаина.

Реализация π -взаимодействий подтверждается на примере определения с помощью стационарной фазы AWE-21 RP субстанции кетопрофена напроксена (рис. 6). Как видно из рисунка, напроксен демонстрирует более сильное удерживание, несмотря на меньшее значение гидрофобности $\log P$, что связано с наличием конденсированной ароматической группы, обеспечивающей более сильные π -взаимодействия. Удерживание и кетопрофена,

и напроксена в значительной степени зависит от состава подвижной фазы. Так, удерживание обоих веществ резко уменьшается при замещении части метанола в составе подвижной фазы на ацетонитрил, который значительно сильнее подавляет π -взаимодействия.

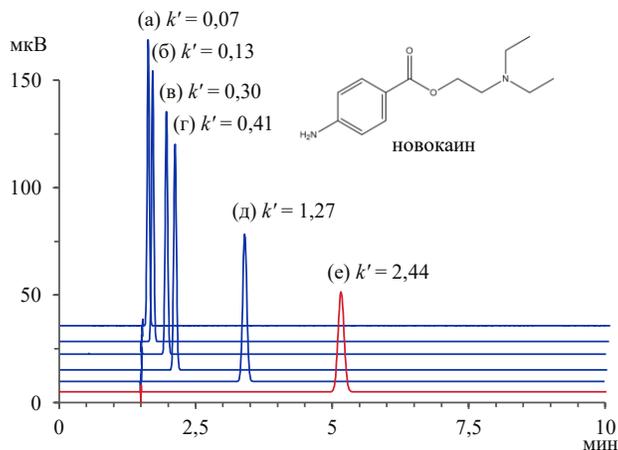


Рис. 5. Наложенные хроматограммы новокаина и соответствующие значения коэффициента удерживания k' , полученные на различных стационарных фазах, подвижная фаза: MeOH–CH₃CN–фосфат аммония (pH 2,7; 50 мМ) 50:10:40, длина волны УФ-детектора 294 нм: *a* – ZORBAX Phenyl-hexyl 150 × 4,6 мм, 3,5 мкм (Agilent Technologies) (синяя линия); *б* – Spherisorb ODS2 150 × 4,6 мм, 5 мкм (Phenomenex) (синяя линия); *в* – Luna PFP(2) 150 × 4,6 мм, 3 мкм (Phenomenex) (синяя линия); *г* – XBridge C8 50 × 4,6 мм, 3,5 мкм (Waters) (синяя линия); *д* – COSMOSIL 5PYE 250 × 4,6 мм, 5 мкм (Nacalai Tesque Inc.) (синяя линия); *e* – AWE-21 RP 150 × 4,6 мм, 5 мкм (красная линия)

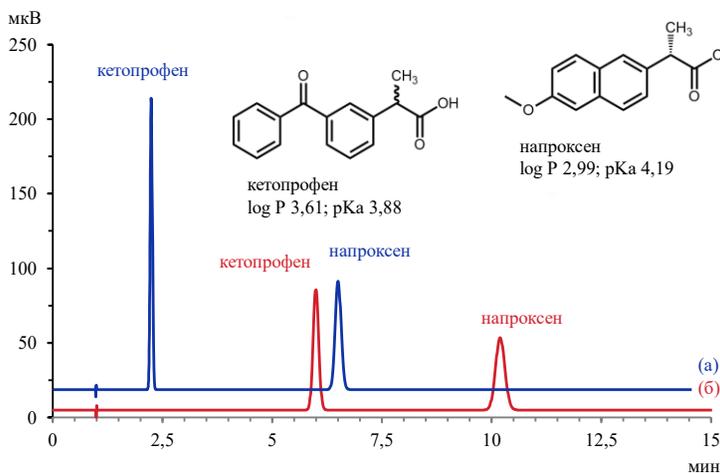


Рис. 6. Наложенные хроматограммы субстанций напроксена и кетопрофена на стационарной фазе AWE-21 RP 150 × 4,6 мм, 5 мкм, скорость потока 1 мл/мин, температура колонки 30°C, длина волны УФ-детектора 265 нм, подвижная фаза: *a* – метанол–ацетонитрил–0,1% муравьиная к-та 60:20:20 (синяя линия); *б* – метанол–0,1% муравьиная к-та 80:20 (красная линия)

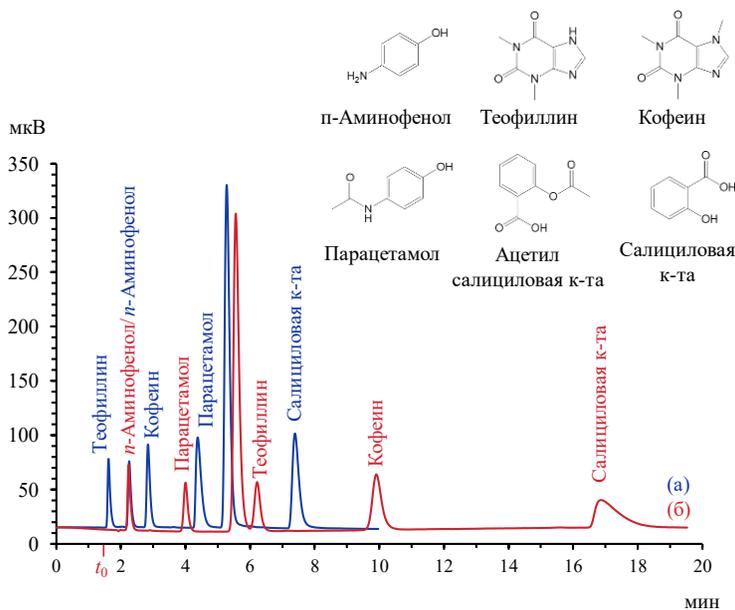


Рис. 7. Наложенные хроматограммы многокомпонентного лекарственного препарата «Аскофен-П» таблетки на стационарных фазах: *a* – Spherisorb ODS2 150 × 4,6 мм, 5 мкм (Waters), подвижная фаза метанол–фосфат аммония (рН 2,5; 50 мМ) 30:70 (синяя линия); *b* – AWE-21 RP 150 × 4,6 мм, 5 мкм, подвижная фаза метанол–фосфат аммония (рН 2,5; 50 мМ) 40:60 (красная линия). Скорость потока 1 мл/мин, температура колонки 35°C, длина волны УФ-детектора 265 нм

Возможность практического применения разработанной стационарной фазы продемонстрирована на примере определения действующих веществ и родственных примесей многокомпонентного лекарственного средства «Аскофен-П» в сравнении с октадецилсилильной стационарной фазой (рис. 7). Разработанная стационарная фаза AWE-21 RP обеспечивает значительно более сильное удерживание для слабополярных веществ, таких как парацетамол, кофеин, ацетилсалициловая кислота, теофиллин (примесь кофеина), *n*-аминофенол (примесь парацетамола) и салициловая кислота, а также обеспечивает ортогональную селективность по сравнению с одномодальными фазами для обращенно-фазового режима ВЭЖХ.

Заключение

Для выбора ароматического селектора стационарной фазы, обеспечивающего реализацию сильных π -взаимодействий проведена серия экспериментов с применением подхода Welch «иммобилизованный гость». Установлено, что динитроароматические группы являются наиболее перспективными потенциальными селекторами.

На основе данных результатов получена и исследована стационарная фаза, содержащая *N*-пропилзамещенный 2,4-динитроанилиновый селектор.

Разработанная стационарная фаза обеспечивает реализацию более сильных π -взаимодействий на примере полярного вещества, содержащего ароматическую группу (субстанции новокаина) по сравнению с коммерчески доступными стационарными фазами, содержащими ароматические группы (фенильная, пентафторфенильная и пиренэтильная).

Практическое применение разработанной стационарной фазы продемонстрировано на примере определения действующих веществ и родственных примесей многокомпонентного лекарственного препарата «Аскофен-П». Разработанная стационарная фаза обеспечивает значительно более сильное удерживание для данных слабополярных веществ, содержащих ароматическую группу, по сравнению с более гидрофобной октадецилсилильной стационарной фазой.

Список источников

1. Kazakevich Y., LoBrutto R. HPLC for Pharmaceutical Scientists. Dolan–Hoboken, NJ : John Wiley & Sons, Inc., 2007. 1136 p.
2. Lunn G., Schmuft N.R. Methods for Pharmaceutical Analysis. Hoboken, NJ : John Wiley & Sons, Inc., 1997. 1609 p.
3. Ahuja S., Dong M. Handbook of Pharmaceutical Analysis by HPLC. Cambridge, MA : Academic Press, 2005. 600 p.
4. Bradley L.R. Food Analysis: High-Performance Liquid Chromatography / ed. by S.S. Nielsen. Cham : Springer, 2017. 672 p.
5. Pragst F. High performance liquid chromatography in forensic toxicological analysis / ed. by M.J. Bogusz. Amsterdam : Elsevier, 2008. 1046 p.
6. Bayne S., Carlin M. Forensic Applications of High Performance Liquid Chromatography. Boca Raton, FL : CRC Press, 2010. 276 p.
7. Hyde A. Chromatographic separation technologies: an overview of the Bioanalysis Zone survey // Bioanalysis. 2020. Vol. 12 (8). P. 505–508. doi: 10.4155/bio-2020-0111
8. Fanali S., Haddad P.R., Poole C. et al. Liquid Chromatography: Fundamentals and Instrumentation. Amsterdam : Elsevier, 2013. 520 p.
9. Vitha M.F. Chromatography: principles and instrumentation. Hoboken, NJ : John Wiley & Sons, Inc., 2017. 280 p.
10. Moldoveanu S.C., David V. Essentials in Modern HPLC Separations. Amsterdam : Elsevier, 2022. 716 p.
11. Israelachvili J.N. Van der Waals Forces // Intermolecular and Surface Forces. 3rd ed. New York ; Burlington, MA : Academic Press, 2011. P. 107–132. doi: 10.1016/B978-0-12-375182-9.10006-5
12. Снайдер Л.Р., Киркленд Дж.Дж., Долан Д.У. Введение в современную жидкостную хроматографию. М. : Техносфера, 2020. 960 с.
13. Carr P.W., Dolan J.W., Neue U.D. et al. Contributions to reversed-phase column selectivity. I. Steric interaction // Journal of Chromatography A. 2011. Vol. 1218 (13). P. 1724–1742. doi: 10.1016/j.chroma.2011.01.047
14. Marchand D.H., Carr P.W., McCalley D.V. et al. Contributions to reversed-phase column selectivity. II. Cation exchange // Journal of Chromatography A. 2011. Vol. 1218 (40). P. 7110–7129. doi: 10.1016/j.chroma.2011.07.085
15. Rafferty J.L., Zhang L., Siepmann J.I. et al. Retention Mechanism in Reversed-Phase Liquid Chromatography: A Molecular Perspective // Analytical Chemistry. 2007. Vol. 79 (17). P. 6551–6558. doi: 10.1021/ac0705115
16. Wang P.G., He W. Hydrophilic Interaction Liquid Chromatography (HILIC) and Advanced Applications. Boca Raton, FL : CRC Press, 2017. 616 p.

17. Kumar A., Heaton J.C., McCalley D.V. Practical investigation of the factors that affect the selectivity in hydrophilic interaction chromatography // *Journal of Chromatography A*. 2013. Vol. 1276. P. 33–46. doi: 10.1016/j.chroma.2012.12.037
18. Wan Q. *Mixed-Mode Chromatography: Principles, Methods, and Applications*. Singapore : Springer, 2021. 495 p.
19. Lämmerhofer M., Richter M., Wu J. et al. Mixed-mode ion-exchangers and their comparative chromatographic characterization in reversed-phase and hydrophilic interaction chromatography elution modes // *Journal of Separation Science*. 2008. Vol. 31 (14). P. 2572–2588. doi: 10.1002/jssc.200800178
20. Lämmerhofer M., Nogueira R., Lindner W. Multi-modal applicability of a reversed-phase / weak-anion exchange material in reversed-phase, anion-exchange, ion-exclusion, hydrophilic interaction and hydrophobic interaction chromatography modes // *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2011. Vol. 400 (8). P. 2517–2530. doi: 10.1007/s00216-011-4755-3
21. Lemasson E., Richer Y., Bertin S. Characterization of Retention Mechanisms in Mixed-Mode HPLC with a Bimodal Reversed-Phase/Cation-Exchange Stationary Phase // *Chromatographia*. 2018. Vol. 81 (3). P. 387–399. doi: 10.1007/s10337-018-3477-5
22. Mansour F.R., Danielson N.D. Multimodal liquid chromatography of small molecules // *Analytical Methods*. 2013. Vol. 5 (19). P. 4955–4972. doi: 10.1039/c3ay40302e
23. Matsumoto K., Hayashi N. *Heterocyclic Supramolecules II* // *Topics in Heterocyclic Chemistry*. Springer, 2009. –ol. 18. P. 1–36.
24. Yang M., Fazio S., Munch D. et al. Impact of methanol and acetonitrile on separations based on π - π interactions with a reversed-phase phenyl column // *Journal of Chromatography A*. 2005. Vol. 1097. P. 124–129. DOI: 10.1016/j.chroma.2005.08.028
25. Croes K., Steffens A., Marchand D. et al. Relevance of π - π and dipole–dipole interactions for retention on cyano and phenyl columns in reversed-phase liquid chromatography // *Journal of Chromatography A*. 2005. Vol. 1098 (1-2). P. 123–130. doi: 10.1016/j.chroma.2005.08.090
26. Stevenson P.G., Kayillo S., Dennis G.R. et al. Effects of π - π Interactions on the Separation // *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*. 2008. Vol. 31. P. 324–347. doi: 10.1080/10826070701780607
27. Gamez P. The anion– π interaction: naissance and establishment of a peculiar supramolecular bond // *Inorganic Chemistry Frontiers*. 2014. Vol. 1 (1). P. 35–43. doi: 10.1039/C3QI00055A
28. Kiseleva M.G., Nesterenko P.N. Phenylaminopropyl silica – a new specific stationary phase for high-performance liquid chromatography of phenols // *Journal of Chromatography A*. 2000. Vol. 898. P. 23–34. doi: 10.1016/s0021-9673(00)00872-4
29. Verzele M., Van de Velde N. Anthracene Silica Gel, a New Polycyclic-Aromatic-Bonded Stationary Phase // *Chromatographia*. 1985. Vol. 20 (4). P. 239–241. doi: 10.1007/BF02259695
30. Yu Q.-W., Lin B., He H.-B., Shi Z.-G., Feng Y.-Q. Preparation of pyrenebutyric acid bonded silica stationary phases for the application to the separation of fullerenes // *Journal of Chromatography A*. 2005. Vol. 1083 (1-2). P. 23–31. doi: 10.1016/j.chroma.2005.05.104
31. Lochmüller C.H., Colborn A.S., Hunnicutt M.L. Organization and distribution of molecules chemically bound to silica // *Analytical Chemistry*. 1983. Vol. 55 (8). P. 1344–1348. doi: 10.1021/ac00259a036
32. Félix G., Bertrand C. HPLC on pentafluorobenzamidopropyl silica gel // *Journal of High Resolution Chromatography*. 1985. Vol. 8 (7). P. 362–363. doi: 10.1002/jhrc.1240080709
33. Félix G., Bertrand C. Separation of polyaromatic hydrocarbons on caffeine-bonded silica gel // *Journal of Chromatography A*. 1985. Vol. 319. P. 432–435. doi: 10.1016/S0021-9673(01)90585-0.
34. Félix G., Bertrand C., Van Castel F. A new caffeine bonded phase for separation of polyaromatic hydrocarbons and petroleum asphaltene by high-performance liquid chromatography // *Chromatographia*. Vol. 20 (3). P. 155–160. doi: 10.1007/bf02262704
35. Jadaud P., Caude M., Rosset R. Retention of polycyclic aromatic hydrocarbons on an improved tetrachlorophthalimidopropyl silica // *Journal of Chromatography A*. 1987. V. 393 (1). P. 39–49. doi: 10.1016/s0021-9673(01)94202-5

36. Nondek L. Liquid chromatography on chemically bonded electron donors and acceptors // *Journal of Chromatography A*. 1986. Vol. 373. P. 61–80. doi: 10.1016/S0021-9673(00)80208-3
37. Holstein W., Hemetsberger H. Donor-Acceptor Complex Chromatography (DACC) Part II. Review of Papers // *Chromatographia*. 1982. Vol. 15 (4). P. 251–257. doi: 10.1007/bf02265658
38. Holstein W. Donator-Acceptor Komplex Chromatographie Tetrachlorphthalimidopropylsilica, eine neue, chemisch gebundene Phase, geeignet zur Trennung von Kohleverflüssigungsprodukten und anderen technischen aromatischen Gemischen mit der Hochleistungsflüssigkeitschromatographie // *Chromatographia*. 1981. Vol. 14 (8). P. 468–477. doi: 10.1007/BF02263537
39. Lochmüller C.H., Marshall S.F., Wilder D.R. Photoacoustic spectroscopy of chemically bonded chromatographic stationary phases // *Analytical Chemistry*. 1980. Vol. 52 (1). P. 19–23. doi: 10.1021/ac50051a006
40. Marshall A., Mottola H.A. Synthesis of silica-immobilized 8-quinolinol with (aminophenyl)trimethoxysilane // *Analytical Chemistry*. 1983. Vol. 55 (13). P. 2089–2093. DOI: 10.1021/ac00263a019
41. Kuroda N., Sako A., Ohyama K. et al. Preparation and Characterization of Modified 3-Aminopropylsilyl Silica Phases with 1,8-Naphthalic Anhydrides in HPLC // *Journal of Chromatographic Science*. 2005. Vol. 43 (3). Art. 116. doi: 10.1093/chromsci/43.3.116
42. Yamada Y., Ohyama K., Onodera G. et al. Molecular-shape selectivity by naphthalimido-modified silica stationary phases: Insight into the substituents effect of naphthalene on shape recognition and π - π interactions via electrostatic potential // *Journal of Chromatography A*. 2015. Vol. 1425. P. 173–179. doi: 10.1016/j.chroma.2015.11.030
43. Lochmüller C.H., Ryall R.R., Amoss C.W. High-performance liquid chromatographic behavior of some chemically bonded nitroaromatic type stationary phases // *Journal of Chromatography A*. 1979. Vol. 178 (1). P. 298–301. doi: 10.1016/s0021-9673(00)89719-8
44. Nondek L., Málek J. Liquid chromatography of aromatic hydrocarbons on a chemically bonded stationary phase of the charge-transfer type // *Journal of Chromatography A*. 1978. Vol. 155 (1). P. 187–190. doi: 10.1016/S0021-9673(00)83949-7
45. Ghosh P., Chawla B., Joshi P.V., Jaffe S.B. Prediction of Chromatographic Retention Times for Aromatic Hydrocarbons // *Energy & Fuels*. 2006. Vol. 20 (2). P. 609–619. doi: 10.1021/ef0502305
46. Putman J.C., Rowland S.M., Podgorski D.C. et al. Dual-Column Aromatic Ring Class Separation with Improved Universal Detection across Mobile-Phase Gradients via Eluate Dilution // *Energy & Fuels*. 2017. Vol. 31 (11). P. 12064–12071. doi: 10.1021/acs.energyfuels.7b02589
47. Ayres J.T., Mann C.K. Column Chromatography with a Polynitrostyrene Resin Stationary Phase // *Analytical Chemistry*. 1964. Vol. 36 (11). P. 2185–2186. doi: 10.1021/ac60217a003
48. Smets G., Balogh V., Castrill Y. Formation de Complexes Moleculaires sur hauts Polymeres // *Journal of Polymer Science Part C: Polymer Symposia*. 1964. Vol. 4 (2). P. 1467–1480. doi: 10.1002/polc.5070040257
49. Welch K.J., Hoffman N.E. HPLC with electron-acceptor groups bonded to mercaptopropyl silica // *Journal of High Resolution Chromatography*. 1986. Vol. 9 (7). P. 417–419. doi: 10.1002/jhrc.1240090714
50. Klaar H., Hemetsberger H., Ricken H. Donor-acceptor complex chromatography preparation of a chemically bonded acceptor-ligand and its chromatographic investigation // *Chromatographia*. 1980. Vol. 13. P. 277–286. doi: 10.1007/BF02265642
51. Shurig V. The Reciprocal Principle of Selectand-Selector-Systems in Supramolecular Chromatography // *Molecules*. 2016. Vol. 21 (11). P. 1–35. doi: 10.3390/molecules21111535
52. Welch C.J. Evolution of chiral stationary phase design in the Pirkle laboratories // *Journal of Chromatography A*. 1994. V. 666 (1-2). P. 3–26. doi: 10.1016/j.cej.2021.129428

References

1. Kazakevich Y., LoBrutto R. *HPLC for Pharmaceutical Scientists*. Dolan–Hoboken, NJ : John Wiley & Sons, Inc., 2007. 1136 p.
2. Lunn G., Schmuff N.R. *Methods for Pharmaceutical Analysis*. Hoboken, NJ : John Wiley & Sons, Inc., 1997. 1609 p.
3. Ahuja S., Dong M. *Handbook of Pharmaceutical Analysis by HPLC*. Cambridge, MA : Academic Press, 2005. 600 p.
4. Bradley L.R. *Food Analysis: High-Performance Liquid Chromatography* / ed. by S.S. Nielsen. Cham : Springer, 2017. 672 p.
5. Pragst F. *High performance liquid chromatography in forensic toxicological analysis* / ed. by M.J. Bogusz. Amsterdam : Elsevier, 2008. 1046 p.
6. Bayne S., Carlin M. *Forensic Applications of High Performance Liquid Chromatography*. Boca Raton, FL : CRC Press, 2010. 276 p.
7. Hyde A. Chromatographic separation technologies: an overview of the Bioanalysis Zone survey. *Bioanalysis*. 2020. Vol. 12 (8). P. 505–508. doi: 10.4155/bio-2020-0111
8. Fanali S., Haddad P.R., Poole C. et al. *Liquid Chromatography: Fundamentals and Instrumentation*. Amsterdam : Elsevier, 2013. 520 p.
9. Vitha M.F. *Chromatography: principles and instrumentation*. Hoboken, NJ : John Wiley & Sons, Inc., 2017. 280 p.
10. Moldoveanu S.C., David V. *Essentials in Modern HPLC Separations*. Amsterdam : Elsevier, 2022. 716 p.
11. Israelachvili J.N. *Van der Waals Forces // Intermolecular and Surface Forces*. 3rd ed. New York ; Burlington, MA : Academic Press, 2011. P. 107–132. doi: 10.1016/B978-0-12-375182-9.10006-5
12. Snyder L. R., Kirkland J. J., Dolan J. W. *Introduction to Modern Liquid Chromatography*. 3rd ed. Hoboken, NJ: Wiley, 2010. 912 p.
13. Carr P.W., Dolan J.W., Neue U.D. et al. Contributions to reversed-phase column selectivity. I. Steric interaction. *Journal of Chromatography A*. 2011. Vol. 1218 (13). P. 1724–1742. doi: 10.1016/j.chroma.2011.01.047
14. Marchand D.H., Carr P.W., McCalley D.V. et al. Contributions to reversed-phase column selectivity. II. Cation exchange. *Journal of Chromatography A*. 2011. Vol. 1218 (40). P. 7110–7129. doi: 10.1016/j.chroma.2011.07.085
15. Rafferty J.L., Zhang L., Siepmann J.I. et al. Retention Mechanism in Reversed-Phase Liquid Chromatography: A Molecular Perspective. *Analytical Chemistry*. 2007. Vol. 79 (17). P. 6551–6558. doi: 10.1021/ac0705115
16. Wang P.G., He W. *Hydrophilic Interaction Liquid Chromatography (HILIC) and Advanced Applications*. Boca Raton, FL : CRC Press, 2017. 616 p.
17. Kumar A., Heaton J.C., McCalley D.V. Practical investigation of the factors that affect the selectivity in hydrophilic interaction chromatography. *Journal of Chromatography A*. 2013. Vol. 1276. P. 33–46. doi: 10.1016/j.chroma.2012.12.037
18. Wan Q. *Mixed-Mode Chromatography: Principles, Methods, and Applications*. Singapore : Springer, 2021. 495 p.
19. Lämmerhofer M., Richter M., Wu J. et al. Mixed-mode ion-exchangers and their comparative chromatographic characterization in reversed-phase and hydrophilic interaction chromatography elution modes. *Journal of Separation Science*. 2008. Vol. 31 (14). P. 2572–2588. doi: 10.1002/jssc.200800178
20. Lämmerhofer M., Nogueira R., Lindner W. Multi-modal applicability of a reversed-phase / weak-anion exchange material in reversed-phase, anion-exchange, ion-exclusion, hydrophilic interaction and hydrophobic interaction chromatography modes. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2011. Vol. 400 (8). P. 2517–2530. doi: 10.1007/s00216-011-4755-3

21. Lemasson E., Richer Y., Bertin S. Characterization of Retention Mechanisms in Mixed-Mode HPLC with a Bimodal Reversed-Phase/Cation-Exchange Stationary Phase. *Chromatographia*. 2018. Vol. 81 (3). P. 387–399. doi: 10.1007/s10337-018-3477-5
22. Mansour F.R., Danielson N.D. Multimodal liquid chromatography of small molecules. *Analytical Methods*. 2013. Vol. 5 (19). P. 4955–4972. doi: 10.1039/c3ay40302e
23. Matsumoto K., Hayashi N. Heterocyclic Supramolecules II. *Topics in Heterocyclic Chemistry*. Springer, 2009. –ol. 18. P. 1–36.
24. Yang M., Fazio S., Munch D. et al. Impact of methanol and acetonitrile on separations based on π – π interactions with a reversed-phase phenyl column. *Journal of Chromatography A*. 2005. Vol. 1097. P. 124–129. DOI: 10.1016/j.chroma.2005.08.028
25. Croes K., Steffens A., Marchand D. et al. Relevance of π – π and dipole–dipole interactions for retention on cyano and phenyl columns in reversed-phase liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*. 2005. Vol. 1098 (1-2). P. 123–130. doi: 10.1016/j.chroma.2005.08.090
26. Stevenson P.G., Kayillo S., Dennis G.R. et al. Effects of π – π Interactions on the Separation. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*. 2008. Vol. 31. P. 324–347. doi: 10.1080/10826070701780607
27. Gamez P. The anion– π interaction: naissance and establishment of a peculiar supramolecular bond. *Inorganic Chemistry Frontiers*. 2014. Vol. 1 (1). P. 35–43. doi: 10.1039/C3QI00055A
28. Kiseleva M.G., Nesterenko P.N. Phenylaminopropyl silica – a new specific stationary phase for high-performance liquid chromatography of phenols. *Journal of Chromatography A*. 2000. Vol. 898. P. 23–34. doi: 10.1016/s0021-9673(00)00872-4
29. Verzele M., Van de Velde N. Anthracene Silica Gel, a New Polycyclic-Aromatic-Bonded Stationary Phase. *Chromatographia*. 1985. Vol. 20 (4). P. 239–241. doi: 10.1007/BF02259695
30. Yu Q.-W., Lin B., He H.-B., Shi Z.-G., Feng Y.-Q. Preparation of pyrenebutyric acid bonded silica stationary phases for the application to the separation of fullerenes. *Journal of Chromatography A*. 2005. Vol. 1083 (1-2). P. 23–31. doi: 10.1016/j.chroma.2005.05.104
31. Lochmüller C.H., Colborn A.S., Hunnicutt M.L. Organization and distribution of molecules chemically bound to silica. *Analytical Chemistry*. 1983. Vol. 55 (8). P. 1344–1348. doi: 10.1021/ac00259a036
32. Félix G., Bertrand C. HPLC on pentafluorobenzamidopropyl silica gel. *Journal of High Resolution Chromatography*. 1985. Vol. 8 (7). P. 362–363. doi: 10.1002/jhrc.1240080709
33. Félix G., Bertrand C. Separation of polyaromatic hydrocarbons on caffeine-bonded silica gel. *Journal of Chromatography A*. 1985. Vol. 319. P. 432–435. doi: 10.1016/S0021-9673(01)90585-0.
34. Félix G., Bertrand C., Van Castel F. A new caffeine bonded phase for separation of polyaromatic hydrocarbons and petroleum asphaltene by high-performance liquid chromatography. *Chromatographia*. Vol. 20 (3). P. 155–160. doi: 10.1007/bf02262704
35. Jadaud P., Caude M., Rosset R. Retention of polycyclic aromatic hydrocarbons on an improved tetrachlorophthalimidopropyl silica. *Journal of Chromatography A*. 1987. V. 393 (1). P. 39–49. doi: 10.1016/s0021-9673(01)94202-5
36. Nondek L. Liquid chromatography on chemically bonded electron donors and acceptors. *Journal of Chromatography A*. 1986. Vol. 373. P. 61–80. doi: 10.1016/S0021-9673(00)80208-3
37. Holstein W., Hemetsberger H. Donor-Acceptor Complex Chromatography (DACC) Part II. Review of Papers. *Chromatographia*. 1982. Vol. 15 (4). P. 251–257. doi: 10.1007/bf02265658
38. Holstein W. Donator-Acceptor Komplex Chromatographie Tetrachlorphthalimidopropylsilica, eine neue, chemisch gebundene Phase, geeignet zur Trennung von Kohleverflüssigungsprodukten und anderen technischen aromatischen Gemischen mit der Hochleistungsflüssigkeitschromatographie. *Chromatographia*. 1981. Vol. 14 (8). P. 468–477. doi: 10.1007/BF02263537
39. Lochmüller C.H., Marshall S.F., Wilder D.R. Photoacoustic spectroscopy of chemically bonded chromatographic stationary phases. *Analytical Chemistry*. 1980. Vol. 52 (1). P. 19–23. doi: 10.1021/ac50051a006

40. Marshall A., Mottola H.A. Synthesis of silica-immobilized 8-quinolinol with (aminophenyl)trimethoxysilane. *Analytical Chemistry*. 1983. Vol. 55 (13). P. 2089–2093. DOI: 10.1021/ac00263a019
41. Kuroda N., Sako A., Ohya K. et al. Preparation and Characterization of Modified 3-Aminopropylsilyl Silica Phases with 1,8-Naphthalic Anhydrides in HPLC. *Journal of Chromatographic Science*. 2005. Vol. 43 (3). Art. 116. doi: 1093/chromsci/43.3.116.
42. Yamada Y., Ohya K., Onodera G. et al. Molecular-shape selectivity by naphthalimido-modified silica stationary phases: Insight into the substituents effect of naphthalene on shape recognition and π - π interactions via electrostatic potential. *Journal of Chromatography A*. 2015. Vol. 1425. P. 173–179. doi: 10.1016/j.chroma.2015.11.030
43. Lochmüller C.H., Ryall R.R., Amoss C.W. High-performance liquid chromatographic behavior of some chemically bonded nitroaromatic type stationary phases. *Journal of Chromatography A*. 1979. Vol. 178 (1). P. 298–301. doi: 10.1016/s0021-9673(00)89719-8
44. Nondek L., Málek J. Liquid chromatography of aromatic hydrocarbons on a chemically bonded stationary phase of the charge-transfer type. *Journal of Chromatography A*. 1978. Vol. 155 (1). P. 187–190. doi: 10.1016/S0021-9673(00)83949-7
45. Ghosh P., Chawla B., Joshi P.V., Jaffe S.B. Prediction of Chromatographic Retention Times for Aromatic Hydrocarbons. *Energy & Fuels*. 2006. Vol. 20 (2). P. 609–619. doi: 10.1021/ef0502305
46. Putman J.C., Rowland S.M., Podgorski D.C. et al. Dual-Column Aromatic Ring Class Separation with Improved Universal Detection across Mobile-Phase Gradients via Eluate Dilution. *Energy & Fuels*. 2017. Vol. 31 (11). P. 12064–12071. doi: 10.1021/acs.energyfuels.7b02589
47. Ayres J.T., Mann C.K. Column Chromatography with a Polynitrostyrene Resin Stationary Phase. *Analytical Chemistry*. 1964. Vol. 36 (11). P. 2185–2186. doi: 10.1021/ac60217a003
48. Smets G., Balogh V., Castrill Y. Formation de Complexes Moleculaires sur hauts Polymeres. *Journal of Polymer Science Part C: Polymer Symposia*. 1964. Vol. 4 (2). P. 1467–1480. doi: 10.1002/polc.5070040257
49. Welch K.J., Hoffman N.E. HPLC with electron-acceptor groups bonded to mercaptopropyl silica. *Journal of High Resolution Chromatography*. 1986. Vol. 9 (7). P. 417–419. doi: 10.1002/jhrc.1240090714
50. Klaar H., Hemetsberger H., Ricken H. Donor-acceptor complex chromatography preparation of a chemically bonded acceptor-ligand and its chromatographic investigation. *Chromatographia*. 1980. Vol. 13. P. 277–286. doi: 10.1007/BF02265642
51. Shurig V. The Reciprocal Principle of Selectand-Selector-Systems in Supramolecular Chromatography. *Molecules*. 2016. Vol. 21 (11). P. 1–35. doi: 10.3390/molecules21111535.
52. Welch C.J. Evolution of chiral stationary phase design in the Pirkle laboratories. *Journal of Chromatography A*. 1994. V. 666 (1-2). P. 3–26. doi: 10.1016/j.cej.2021.129428

Сведения об авторах:

Упыренко Евгений Витальевич – аспирант, младший научный сотрудник лаборатории физико-химических методов анализа Томского государственного университета (Томск, Россия). E-mail: eugeniy.upyrenko@gmail.com

Кургачев Дмитрий Андреевич – кандидат химических наук, заместитель заведующего лабораторией физико-химических методов анализа Томского государственного университета (Томск, Россия). E-mail: kurgachev.tsu@gmail.com

Бакибаев Абдигали Абдиманович – профессор, доктор химических наук, ведущий научный сотрудник Томского государственного университета (Томск, Россия). E-mail: bakibaev@mail.ru

Вклад авторов: все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Information about the authors:

Упыренко Евгений В. – Postgraduate's Degree, Junior Researcher, Tomsk State University (Tomsk, Russian Federation). E-mail: eugeniy.upyrenko@gmail.com

Кургачев Дмитрий А. – Candidate of Chemical Sciences, Deputy Head of Laboratory of Physical-Chemical Methods of Analysis, Tomsk State University (Tomsk, Russian Federation). E-mail: kurgachev.tsu@gmail.com

Бакibaев Абдигали А. – Professor, Doctor of Chemical Sciences, Leading Researcher, Tomsk State University (Tomsk, Russian Federation). E-mail: bakibaev@mail.ru

Contribution of the authors: the authors contributed equally to this article.

The authors declare no conflicts of interests.

Статья поступила в редакцию 16.06.2025; принята к публикации 07.11.2025

The article was submitted 16.06.2025; accepted for publication 07.11.2025