



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **105228** (13) **C2**  
(51) МПК (2014.01)

**G01N 33/00**

**G01N 33/02** (2006.01)

**G01N 33/569** (2006.01)

**B01D 15/00**

**B01J 20/26** (2006.01)

**B01J 20/30** (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИ

## (12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД

(21) Номер заявки: <b>а 2012 02293</b>	(72) Винахідник(и): <b>Яннікоуріс Александрос (FR/US), Квятковскі Стефан (US), Кудуподже Маной Боджаппа (IN/US), Метні Клейтон (US)</b>
(22) Дата подання заявки: <b>27.08.2010</b>	(73) Власник(и): <b>ОЛТЕК, ІНК., 3031 Catnip Hill Pike, Nicholasville, KY 40345, United States of America (US)</b>
(24) Дата, з якої є чинними права на винахід: <b>25.04.2014</b>	(74) Представник: <b>Дубинський Михайло Іллїч, реєстр. №70</b>
(31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: <b>61/237,549</b>	(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою: <b>WO 2003/101580 A1, 11.12.2003</b>
(32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: <b>27.08.2009</b>	
(33) Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку: <b>US</b>	
(41) Публікація відомостей про заявку: <b>25.06.2012, Бюл.№ 12</b>	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: <b>25.04.2014, Бюл.№ 8</b>	
(86) Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ: <b>РСТ/US2010/047032, 27.08.2010</b>	

## (54) СИНТЕТИЧНІ АДСОРБЕНТИ МІКОТОКСИНІВ, СПОСОБИ ОДЕРЖАННЯ ТА ЗАСТОСУВАННЯ ЗАЗНАЧЕНИХ АДСОРБЕНТІВ

### (57) Реферат:

Винахід належить до галузі полімерів з молекулярними відбитками (ПМВ), зокрема винахід належить до прийнятних для повторного застосування екологічно чистих ПМВ, які можна одержати в порівняно великих кількостях, способів одержання зазначених полімерів і способів застосування зазначених полімерів, наприклад, для секвестрації і/або адсорбції цільових сполук.

UA 105228 C2



## ПЕРЕХРЕСНЕ ПОСИЛАННЯ НА СПОРІДНЕНУ ЗАЯВКУ

Ця заявка заявляє пріоритет на підставі попередньої заявки на патент США № 61/237549, поданої 27 серпня 2009 г, зміст якої повністю включено в цю заявку за допомогою посилання.

## ГАЛУЗЬ ТЕХНІКИ

Цей винахід у цілому відноситься до полімерів з молекулярними відбитками (ПМВ). Зокрема, цей винахід відноситься до прийнятних для багаторазового застосування екологічно чистих ПМВ, способів одержання зазначених полімерів і способів застосування зазначених полімерів (наприклад, для секвестрації і/або адсорбції цільових об'єктів (наприклад, мікотоксинів)). Композиції та способи згідно з цим винаходом знаходять застосування в різних галузях, включаючи дієтичне харчування, терапію, профілактику, виробництво і переробку харчових продуктів і напоїв, а також в галузі досліджень і контролю якості.

## РІВЕНЬ ТЕХНІКИ

Мікотоксини являють собою вторинні метаболіти, що секретуються рядом грибів, які часто виробляються в зернах хлібних злаків, а також кормових рослин до, під час і після збирання врожаю. Кормові рослини і хлібні злаки в природних умовах контактують зі спорами грибів. Зараження рослин грибами і біосинтез токсинів залежать від стану рослини перед збиранням урожаю, погодних умов, способу збирання врожаю, затримок і гідротермічних умов, що передують стабілізації для консервації та переробки. Залежно від виду грибів, на ріст грибів впливає ряд фізико-хімічних параметрів, включаючи кількість вільної води ( $a_w$ ), температуру, присутність кисню, природу субстрату та pH середовища. Мікотоксини поширюються як до збирання врожаю, так і при зберіганні після збирання врожаю.

Деякі гриби виробляють токсини тільки при певному рівні вологості, певній температурі або вмісті кисню. Дія мікотоксинів сильно варіюється за ступенем важкості. Деякі мікотоксини смертельні, деякі викликають певні захворювання або проблеми зі здоров'ям, деякі послабляють імунну систему, не викликаючи характерних для зазначеного мікотоксину симптомів, деякі діють як алергени або подразники, а деякі не виявляють якого-небудь відомого впливу на тварину і людину. Під час Другої світової війни російські солдати страждали від важкого некрозу шкіри, кровотечі і руйнування кісткового мозку через вживання в їжу цвілого зерна, яке було заражено *Fusarium*. Однак тільки після 1960-х, коли у Великобританії більше 100000 індичок загинуло від смеральної хвороби печінки ("захворювання Х" індичок), наукове співтовариство визнало, що негативні наслідки пов'язані з мікотоксинами (див., наприклад, Trenholm H.L., Charmley L.L., and Prelusky D.B., 1996. Mycotoxin binding agents: An update on what we know. // *Biotechnology in the Feed Industry* (Lyons T. P and Jacques K.A eds.) Nottingham University Press, Loughborough, Leics, UK, pp. 327-349.). Згідно з нещодавніми доповідями Продовольчої і сільськогосподарської організації ООН (FAO, близько 25 % усього виробленого у світі зерна заражено мікотоксинами. Зараження мікотоксинами з економічної точки зору негативно позначається на виробниках харчових продуктів і кормів, зокрема зерна і птахів.

Мікотоксини можуть з'являтися в харчовому ланцюзі в результаті зараження грибами рослинних продуктів (наприклад, фуражу, зерна, рослинного білка, побічних продуктів переробки зерна, грубих кормів і м'ясопродуктів), і можуть або безпосередньо вживатися в їжу людиною, або надходити разом із зараженим зерном, кормом для худоби або інших тварин. Мікотоксини досить стійкі до розкладання в процесі травлення, тому вони залишаються в харчовому ланцюзі в продуктах харчування (наприклад, м'ясі, рибі, яйцях і молочних продуктах) або у формі метаболітів вихідного токсину, що потрапив в організм. Температурна обробка, така як теплова обробка їжі і заморожування, не є прийнятними способами зменшення поширення мікотоксинів. Таким чином, існує потреба в композиціях і/або способах зменшення шкідливого впливу і/або усунення присутності мікотоксинів у їжі і/або харчових ланцюгах.

## КОРОТКИЙ ОПИС ВІНАХОДУ

Цей винахід відноситься до полімерів з молекулярними відбитками (ПМВ). Зокрема, цей винахід відноситься до прийнятних для багаторазового застосування екологічно чистих ПМВ, способів одержання зазначених полімерів і способів застосування зазначених полімерів (наприклад, для секвестрації і/або адсорбції цільових об'єктів (наприклад, мікотоксинів)). Композиції і способи згідно з цим винаходом знаходять застосування в різних галузях, включаючи дієтичне харчування, терапію, профілактику, виробництво та переробку харчових продуктів і напоїв, а також в галузі досліджень і контролю якості.

Відповідно, згідно з деякими з варіантів реалізації цього винаходу запропонована композиція, що містить полімер з молекулярними відбитками, синтезований з використанням мікотоксинового шаблону. Цей винахід не обмежений мікотоксиновим шаблоном, що застосовується для створення полімеру з молекулярними відбитками. У дійсності, можна застосовувати різні мікотоксинові шаблони, включаючи, без обмеження, ацетоксисцирпендіол,

ацетилдезоксиніваленол, ацетилніваленол, ацетилнеосоланіол, ацетил-Т-2-токсин, афлатоксин, афлатоксин В1, В2, G1 і G2, афлатрем, альтернарієву кислоту (altenuic acid), альтернаріол, аустдиол, аустамід, аустоцистин, авенацеїн +1, боверицин +2, бентенолід, бревіанамід, бутенолід, калонектрин, хетоглобозин, хетоцин, хетомін, цитринін, цитреовіридин, кохліюдинол, цитохалазини, циклопіазонову кислоту, дезацетилкалонектрин, дезацетилнеосоланіол, дезоксиніваленолу діацетат, дезоксиніваленолу моноацетат, диацетоксисцирпенол, деструксин В, еместрин, енніатини, токсини алкалоїдів ріжків і ендоефітів, у тому числі ергін, ергокортин, ергокрістин, ергокріптин, ергометрин, ергонін, ергозин, ерготамін, ерговалін, лізергол, лізергінову кислоту та споріднені епімери, фруктигенін +1, фумагілін, фумонізидини, фумонізидини А1, А2, В1, В2 і В3, фузаренон-Х, фузарохроманон, фузарову кислоту, фузарин, гліотоксин, токсин НТ-2, гіалодендрин, іпомеанін, ісландитоксин, ізофумігаклавіни А і В, латеритин +1, лептозин, лікомаразмін +1, малформін, мальторизин, моніліформін, моноацетоксисцирпенол, мікофенолову кислоту, неосоланіол, ніваленол, токсин НТ-1, токсин НТ-2, охратоксин, ооспореїн, щавлеву кислоту, паспалітрем А і В, патулін, пеніцилову кислоту, пенітрем, фомопсини, PR-токсин, роридин Е, рокфортин А і В, рубратоксин, руброскирин, рубросульфін, ругулозин, самбуцинін +1, сатратоксини F, G, H, сцирпентриол, сиродесмін, слафрамін, споридесмін, стеригматоцистин, свайнсонін, токсин Т-1, токсин Т-2, теназонову кислоту, триацетоксисцирпендіол, трихотецени, триходермін, трихотецин, трихверрини, трихверролі, триптохівален, верукарин, верукулоген, вертицилліни, віопурпурин, віомеллеїн, віридитоксин, вортманін, ксантоцилін, яваніцин+1, зеараленолі, зеараланони, зеараленон,  $\alpha$ ,  $\beta$ , зеараланон,  $\alpha$ ,  $\beta$ , зеранол і підгрупи і/або похідні зазначених сполук, і/або кон'югати. Відповідно до деяких кращих варіантів реалізації, мікотоксиновий шаблон являє собою ОТА. Відповідно до інших кращих варіантів реалізації, мікотоксиновий шаблон являє собою споридесмін або алкалоїд ріжків. Згідно з деякими варіантами реалізації, охратоксиновий шаблон являє собою N-(2-гідрокси-3,5-дихлорбензоїл)-L-фенілаланін. Згідно з деякими варіантами реалізації, споридесміновий шаблон являє собою 5-хлор-6,7-диметокси-1-метилізатин. Однак цей винахід не обмежений зазначеними охратоксиновим або споридесміновим шаблонами. Дійсно, можна застосовувати ряд різних шаблонів, включаючи N-трет-бутоксикарбоніл-2,3-диметоксианілін, 2,3-диметоксианілін, етил-3-гідрокси-6,7-диметокси-2-індолон-3-карбоксилат, 6,7-диметоксиізатин або 6,7-диметокси-1-метилізатин.

Згідно з деякими з варіантів реалізації цього винаходу, запропонований спосіб одержання полімеру з молекулярними відбитками, що включає:

забезпечення:

мікотоксинового шаблону і

одного або більше мономерів і одного або більше агентів, що зшивають; і

здійснення контакту мікотоксинового шаблону з одним або більше мономерами та одним або більше агентами, що зшивають, в умовах, що забезпечують полімеризацію одного або більше мономерів і одного або більше агентів, що зшивають, у присутності мікотоксинового шаблону.

Згідно з деякими варіантами реалізації, мікотоксиновий шаблон являє собою N-(2-гідрокси-3,5-дихлорбензоїл)-L-фенілаланін. Згідно з деякими варіантами реалізації, мікотоксиновий шаблон являє собою 5-хлор-6,7-диметокси-1-метилізатин. Цей винахід не обмежений мікотоксиновими шаблонами, що застосовуються. Дійсно, як мікотоксиновий шаблон можна застосовувати безліч синтетичних молекул, причому синтетична молекула імітує одну або більше структур, форм і/або інших хімічних характеристик природних мікотоксинів. Аналогічно, цей винахід не обмежений застосовуваними типами мономерів. Наприклад, фахівцям у цій галузі техніки відомо безліч мономерів, включаючи, без обмеження, 2-вінілпіридин, 2-гідроксиетилметакрилат і метакрилову кислоту. Аналогічно, цей винахід не обмежений застосовуваними типами агентів, що зшивають. Наприклад, фахівцям у цій галузі техніки відомо безліч агентів, що зшивають, включаючи, без обмеження, етиленглікольдиметакрилат. Згідно з деякими з варіантів реалізації, полімеризацію ініціюють шляхом генерування вільних радикалів в органічному розчиннику при температурі від 55 до 110 градусів Цельсія, хоча можна застосовувати як більш низькі температури (наприклад, 50, 45, 40, 35, 30 градусів Цельсія або нижче), так і більш високі температури (наприклад, 115, 120, 125, 130 градусів Цельсія або вище). Згідно з деякими з варіантів реалізації, вільні радикали генерують за допомогою розкладання азобісізобутиронітрилу (АІБН), що термічно ініціюється. Цей винахід не обмежений типом органічного розчинника, що застосовується. Згідно з деякими з варіантів реалізації, органічний розчинник являє собою толуол, циклогексан, ацетонітрил, розчин полівінілового спирту (ПВС) у воді, і суміш одного або більше розчинників, обраних з толуолу, циклогексану, ацетонітрилу і розчину ПВС у воді. Згідно з деякими з варіантів реалізації, температура

становить від 55 до 75 градусів Цельсія. Згідно з деякими з варіантів реалізації, мікотоксинний шаблон видаляють з полімеру з молекулярними відбитками після полімеризації одного або більше мономерів і одного або більше агентів, що зшивають. Згідно з деякими з варіантів реалізації, застосовують одне або більше промивань розчином для видалення мікотоксинного шаблону з полімеру з молекулярними відбитками. Цей винахід не обмежений типом розчину, що застосовується для промивання. Згідно з деякими з варіантів реалізації, зазначений розчин являє собою органічний розчинник, буферний розчин, воду або комбінацію зазначених розчинників. Цей винахід не обмежений типом органічного розчинника, що застосовується. Згідно із деякими з варіантів реалізації, органічний розчинник являє собою етиловий спирт, метиловий спирт, ацетонітрил, толуол і/або суміші зазначених речовин. Згідно з деякими з варіантів реалізації, буферний розчин являє собою буферний розчин, отриманий при взаємодії гідроксида натрію, лимонної кислоти, бурштинової кислоти та оцтової кислоти. Згідно з деякими з варіантів реалізації, вода являє собою деіонізовану воду. Згідно з деякими з варіантів реалізації, полімер з молекулярними відбитками сушать після одного або більше промивань. Згідно з деякими з варіантів реалізації, при сушінні полімер з молекулярними відбитками піддають дії температури від 20 до 90 градусів Цельсія (наприклад, від 60 до 80 градусів Цельсія; від 75 до 80 градусів Цельсія), хоча можна застосовувати і більш низькі або більш високі температури.

Згідно з деякими з варіантів реалізації цього винаходу запропонований спосіб секвестрації мікотоксину з матеріалу, що включає:

забезпечення матеріалу, що містить мікотоксини; і полімеру з молекулярними відбитками, отриманого шляхом полімеризації одного або більше мономерів і одного або більше агентів, що зшивають, у присутності мікотоксинного шаблону; і

здійснення контакту полімеру з молекулярними відбитками з матеріалом, що містить мікотоксини, в умовах, що забезпечують можливість зв'язування мікотоксину полімером з молекулярними відбитками.

Цей винахід не обмежений типом мікотоксину, що секвеструється з матеріалу (тобто мішені для секвестрації). У дійсності, можна секвеструвати безліч мікотоксинів, включаючи, без обмеження, ацетоксисцирпендіол, ацетилдезоксиніваленол, ацетилніваленол, ацетилнеосоланіол, ацетил-Т-2-токсин, афлатоксин, афлатоксин В1, В2, G1 і G2, афлатрем, альтернарієву кислоту, альтернаріол, аустдиол, аустамід, аустоцистин, авенацеїн +1, боверицин +2, бентенолід, бревіанамід, бутенолід, калонектрин, хетоглобозин, хетоцин, хетомін, цитринін, цитреовіридин, кохліодинол, цитохалазини, циклопіазонову кислоту, дезацетилкалонектрин, дезацетилнеосоланіол, дезоксиніваленолу діацетат, дезоксиніваленолу моноацетат, диацетоксисцирпендіол, деструксин В, еместрин, енніатини, токсини алкалоїдів ріжків і ендоефітів, такі як ергін, ергокортин, ергокрістин, ергокріптин, ергометрин, ергонін, ергозин, ерготамін, ерговалін, лізергол, лізергінову кислоту і споріднені епімери, фруктигенін +1, фузагілін, фумонізини, фумонізини А1, А2, В1, В2 і В3, фузаренон-Х, фузарохроманон, фузарову кислоту, фузарин, гліотоксин, токсин NT-2, гіалодендрин, іпомеанін, ісландитоксин, ізофумігаклавіни А і В, латеритин +1, лептозин, лікомаразмін +1, малформін, мальторизин, моніліформін, моноацетоксисцирпендіол, мікофенолову кислоту, неосоланіол, ніваленол, токсин NT-1, токсин NT-2, охратоксин, ооспореїн, щавлеву кислоту, паспалітрем А і В, патулін, пеніцилову кислоту, пенітрем, фомопсини, PR-токсин, роридин Е, рокфортин А і В, рубратоксин, руброскирин, рубросульфін, ругулозин, самбуцинін +1, сатратоксини F, G, H, сцирпентриол, сиродесмін, слафрамін, споридесмін, стеригматоцистин, свайнсонін, токсин Т-1, токсин Т-2, теназонову кислоту, триацетоксисцирпендіол, трихотецени, триходермін, трихотецин, триховеррини, триховерроли, триптохівален, верукарин, верукулоген, вертицилліни, віопурпурин, віомеллеїн, віридитоксин, вортманін, ксантоцилін, яваніцин+1, зеараленоли, зеараланони, зеараленон,  $\alpha$ ,  $\beta$ , зеараланон,  $\alpha$ ,  $\beta$ , зеранол і підгрупи і/або похідні зазначених сполук. Відповідно до деяких кращих варіантів реалізації, мікотоксин, що секвеструється з матеріалу, являє собою охратоксин А. Відповідно до деяких кращих варіантів реалізації, мікотоксин являє собою споридесмін. Згідно з деякими з варіантів реалізації, матеріал, що містить мікотоксини, являє собою напій, продукт харчування, корм для тварин, фармацевтичну композицію, нутрицевтичну композицію, косметичну композицію, речовину, необхідну для підтримки життя, або інший матеріал. Згідно з деякими з варіантів реалізації, речовина, необхідна для підтримки життя, являє собою середовище для застосування в аквакультурі та газоподібний зразок, що містить кисень. Згідно з деякими з варіантів реалізації, полімер з молекулярними відбитками, пов'язаний з мікотоксином, не відокремлюють від матеріалу, що містить мікотоксини. Згідно з деякими з варіантів реалізації, спосіб секвестрації мікотоксину з матеріалу додатково включає відділення полімерів з молекулярними відбитками, пов'язаних з

мікотоксином, від матеріалу, що містить мікотоксини. Згідно з деякими з варіантів реалізації, відділення включає екстракцію, концентрування та виділення полімерів з молекулярними відбитками, пов'язаних з мікотоксином, від матеріалу, що містить мікотоксини. Згідно з деякими з варіантів реалізації, відділення проводять у хроматографічній або розділювальній колоні або картриджі. Згідно з деякими з варіантів реалізації, після відділення мікотоксин, пов'язаний з полімером з молекулярними відбитками, видаляють з полімеру з молекулярними відбитками шляхом промивання. Згідно з деякими з варіантів реалізації, проводять якісний і кількісний аналіз мікотоксинів після видалення їх полімеру з молекулярними відбитками. Згідно з деякими з варіантів реалізації, якісний і кількісний аналіз застосовують для забезпечення можливості відстеження (наприклад, для ідентифікації і/або взаємозв'язування хронології, місцезнаходження і/або застосування об'єкта (наприклад, місцезнаходження, типу і кількості виявленого мікотоксину) за допомогою документально зафіксованої ідентифікації). Згідно з деякими з варіантів реалізації, полімер з молекулярними відбитками, з якого був видалений мікотоксин, повторно застосовують для секвестрації мікотоксину з матеріалу, що містить мікотоксини. Згідно з деякими з варіантів реалізації, полімер з молекулярними відбитками адсорбує в 1 – 10 разів більше (наприклад, в 1 – 5 разів більше, в 1 – 2 рази більше) води у порівнянні зі своєю масою. Згідно з деякими з варіантів реалізації, два або більше різних полімерів з молекулярними відбитками вступають у контакт із матеріалом, що містить мікотоксини, для секвестрації двох або більше визначених мікотоксинів з матеріалу.

Згідно з винаходом також запропоновано спосіб синтезу N-(2-гідрокси-3,5-дихлорбензоїл)-L-фенілаланіну, що включає: перетворення 3-5 дихлорсаліцилової кислоти в 2-ацетоксиацетокси-3,5-дихлорбензойну кислоту; перетворення 2-ацетоксиацетокси-3,5-дихлорбензойної кислоти в хлорид 2-ацетоксиацетокси-3,5-дихлорбензойної кислоти; реакцію хлориду 2-ацетоксиацетокси-3,5-дихлорбензойної кислоти з етиловим ефіром L-фенілаланіну з утворенням N-(2-ацетокси-3,5-дихлорбензоїл)-L-фенілаланіну; і перетворення N-(2-ацетокси-3,5-дихлорбензоїл)-L-фенілаланіну в N-(2-гідрокси-3,5-дихлорбензоїл)-L-фенілаланін. Згідно з деякими з варіантів реалізації, перетворення включає гідроліз складноефірних функціональних груп в N-(2-ацетокси-3,5-дихлорбензоїл)-L-фенілаланіні.

Згідно з цим винаходом також запропонований спосіб синтезу 5-хлор-6,7-диметокси-1-метилізатину, що включає: перетворення 2,3-диметоксибензойної кислоти в 2,3-диметокси-N-третбутоксикарбоніланілін; перетворення 2,3-диметокси-N-третбутоксикарбоніланіліну в 2,3-диметоксианілін; реакцію 2,3-диметоксианіліну з диетилкетомалонатом з утворенням етил-6,7-диметокси-3-гідрокси-3-(2-індолон)-карбоксилату; перетворення етил-6,7-диметокси-3-гідрокси-3-(2-індолон)-карбоксилату в 6,7-диметоксиізатин; перетворення 6,7-диметоксиізатину в 6,7-диметокси-1-метилізатин; і перетворення 6,7-диметокси-1-метилізатину в 5-хлор-6,7-диметокси-1-метилізатин.

Згідно з цим винаходом також запропонований спосіб синтезу полімеру з молекулярними відбитками, специфічного до мікотоксину, що включає: створення шаблонної сполуки, здатної сприяти зв'язуванню ПМВ з мікотоксином; об'єднання шаблонної сполуки в реакції, що включає мономер ПМВ і агент, що зшиває, у системі розчинників, що містить аполярний апротонний розчинник; і активація полімеризації шляхом впливу, обраного із групи, що складається з впливу на реакційну посудину підвищеною температурою або вплив на реакційну посудину УФ-випромінюванням. Згідно з деякими з варіантів реалізації, мікотоксин містить охратоксин А, однак винахід не настільки обмежений. У дійсності, можна синтезувати безліч полімерів з молекулярними відбитками, специфічних до мікотоксинів, згідно з цим описом, включаючи, без обмеження, ПМВ, специфічні до ацетоксисцирпендіолу, ацетилдезоксиніваленолу, ацетилніваленолу, ацетилнеосоланіолу, ацетил-токсину-T-2, афлатоксину, афлатоксину B1, B2, G1 і G2, афлатрему, альтернарієвої кислоти, альтернаріолу, аустдиолу, аустаміду, аустоцистину, авенацеїну +1, боверицину +2, бентеноліду, бревіанаміду, бутеноліду, калонектрину, хетоглобозину, хетоцину, хетоміну, цитриніну, цитреовіридину, кохлідинолу, цитохалазінам, циклопіазоновій кислоті, дезацетилкалонектрину, дезацетилнеосоланіолу, дезоксиніваленолу діацетату, дезоксиніваленолу моноацетату, диацетоксисцирпеннолу, деструксину В, еместрину, енніатінам, токсинам алкалоїдів ріжків і ендоефітів, таких як ергін, ергокортин, ергокрістин, ергокріптин, ергометрин, ергонін, ергозин, ерготамін, ерговалін, лізергол, лізергінова кислота і споріднені епімери, фруктигеніну +1, фуагіліну, фумонізінам, фумонізінам A1, A2, B1, B2 і B3, фузаренону-Х, фузарохроманону, фузаровій кислоті, фузарину, гліотоксину, токсину NT-2, гіалодендрину, іпомеаніну, ісландитоксину, ізофумігаклавінам А і В, латеритину +1, лептозину, лікомаразміну +1, малформіну, мальторизину, моніліформіну, моноацетоксисцирпеннолу, мікофенолової кислоті, неосоланіолу, ніваленолу, токсину NT-1, токсину NT-2, охратоксину, ооспореїну, щавлевої кислоті,

паспалітрему А і В, патуліну, пеніцилловій кислоті, пенітрему, фомопсинам, РR-токсину, роридину Е, рокфортину А і В, рубратоксину, руброскирину, рубросульфін, ругулозину, самбуцинину +1, сатратоксинам F, G, H, сцирпентриолу, сиродесміну, слафрамину, споридесміну, стеригматоцистину, свайнсоніну, токсину Т-1, токсину Т-2, тенуазоновій кислоті, триацетоксисцирпендіолу, трихотеценом, триходерміну, трихотецину, триховерринам, триховерролам, триптохівалену, верукарину, верукулогену, вертициллінам, віопурпурину, віомеллеїну, віридитоксину, вортманіну, ксантоцилліну, яваніцину+1, зеараленолам, зеараланонам, зеараленону,  $\alpha$ ,  $\beta$ , зеараланону,  $\alpha$ ,  $\beta$ , зеранолу та підгрупам і/або похідним зазначених сполук. Згідно з деякими з варіантів реалізації, шаблон містить N-(2-гідрокси-3,5-дихлорбензоїл)-L-фенілананін. Згідно з деякими з варіантів реалізації, шаблон містить 5-хлор-6,7-диметокси-1-метилізатин. Цей винахід не обмежений якимось конкретним мономером або агентом, що зшиває. Дійсно, можна застосовувати безліч мономерів і агентів, що зшивають, включаючи ті, які описані в цій заявці. Згідно з деякими з варіантів реалізації, спосіб додатково включає промивання полімеру з молекулярними відбитками для видалення шаблону. Згідно з деякими з варіантів реалізації, промивання включає 1, 2, 3, 4 або більше промивань розчином (наприклад, розведеним лужним розчином, розведеним кислим розчином або водою) для видалення шаблону.

#### КОРОТКИЙ ОПИС КРЕСЛЕНЬ

На Фігурі 1 показані охратоксин А і N-(3,5-дихлор-2-гідроксибензоїл)-L-фенілананін (шаблон ОТА).

На Фігурі 2 показаний шлях синтезу N-(3,5-дихлор-2-гідроксибензоїл)-L-фенілананіну (шаблону ОТА).

На Фігурі 3 показана ефективність секвестрації ОТА з використанням ПМВ-ОТА для декількох величин включення.

На Фігурі 4 показаний ПМВ-ОТА, що спостерігається у електронному мікроскопі Hitachi S-4300, що сканує, при збільшенні  $\times 15000$  і при 3,0 кеВ.

На Фігурі 5 показана секвестраційна афінність ПМВ (синтезованих у суміші толуол-циклогексан) відносно 3-х різних концентрацій ОТА для 5 різних рівнів включення.

На Фігурі 6 показана активність секвестрації ОТА за допомогою ПМВ, синтезованих зі стиrolу і 2-вінілпіридину як функціональних мономерів, полімеризованих за допомогою термічного ініціювання або впливу УФ-випромінювання при низькій температурі. Показані значення початкової адсорбції і залишкової адсорбції після промивання цитратним буферним розчином (рН 4,0) і після промивання 100 % метанолом.

На Фігурі 7 наведена активність секвестрації поліфенолів і 3-індолілоцтової кислоти за допомогою ПМВ, синтезованих зі стиrolу і 2-вінілпіридину як функціональних мономерів і полімеризованих за допомогою впливу УФ-випромінювання при низькій температурі. Показані значення початкової адсорбції.

На Фігурі 8 показані фотографії сітки зі скловолокна, покритого ПМВ-ОТА і використаного в пробірці Falcon об'ємом 50 мл для секвестрації ОТА у вині.

На Фігурі 9 показані результати випробувань на секвестрацію для трьох вмістів ПМВ-ОТА, нанесених на сітку зі скловолокна, з використанням чотирьох різних умов полімеризації і випробуваних на білому вині, що містить доданий ОТА в концентраціях 50, 100, 200 частин на мільярд.

На Фігурі 10 показані результати випробування на секвестрацію для трьох значень ПБО, нанесених на сітку зі скловолокна, з використанням трьох умов полімеризації і випробуваних на білому вині, що містить доданий ОТА в концентраціях 50, 100, 200 частин на мільярд.

На Фігурі 11 показаний хроматографічний профіль стандартних розчинів ОТА, записаний за допомогою флуоресцентного детектора і вибору градієнта, використаного для оптимізації часу утримання мікотоксину.

На Фігурі 12 показані молекулярні структури споридесміна і споридесмінового шаблону (5-хлор-6,7-диметокси-1-метилізатин).

На Фігурі 13 показаний шлях синтезу споридесмінового шаблону.

На Фігурі 14 показана ефективність секвестрації 5-хлор-6,7-диметокси-1-метилізатинового шаблону за допомогою споридесмінового ПМВ і ПБО при різних величинах включення.

На Фігурі 15 показана активність секвестрації гліотоксину за допомогою ПМВ і ПБО, синтезованих за допомогою полімеризації, ініційованої нагріванням, або полімеризації, ініційованої УФ-опромінюванням при низькій температурі, і стабільність/специфічність взаємодії після шести послідовних промивань, проведених зі збільшенням концентрації метанолу.

На Фігурі 16 показана активність секвестрації 5-хлор-6,7-диметокси-1-метилізатинового шаблону за допомогою ПМВ і ПБО, синтезованих за допомогою полімеризації, ініційованої

нагріванням, або полімеризації, ініційованої УФ-опроміненням при низькій температурі, і стабільність/специфічність взаємодії після шести послідовних промивань, проведених зі збільшенням концентрації метанолу.

#### ВИЗНАЧЕННЯ

5 У цьому описі термін "полімер з молекулярними відбитками" або "ПМВ" відноситься до синтетичних полімерів, які селективно зв'язують конкретну сполуку. Згідно з кращими варіантами реалізації, полімери з молекулярними відбитками синтезують у присутності цільових сполук, що також називаються шаблоновими сполуками, створюючи ПМВ з високим ступенем спорідненості до конкретної цільової сполуки (наприклад, мікотоксинам). У загальному випадку, 10 полімери створюють за допомогою шаблонів (наприклад, синтетично отриманої молекули/ліганда/шаблону (наприклад, синтетичного мікотоксिनного шаблону)), які імітують структуру, форму і/або інші хімічні особливості природної мішені (наприклад, природних мікотоксинів), та інших компонентів, таких як мономерні і/або агенти, що зшивають. Наприклад, шаблоніві сполуки включають у преполімерну суміш і дають їм можливість утворювати 15 асоціати з мономерами. Потім суміш піддають полімеризації разом з присутніми в ній шаблоновими сполуками. Після утворення полімеру шаблоніві сполуки видаляють, при цьому залишаються комплементарні порожнини, що мають спорідненість до шаблону (або інших композицій, що нагадують шаблон (наприклад, мікотоксинів, що зустрічаються в природі)). Зазначені області (наприклад, порожнини або інші області) спеціально пристосовані для 20 зв'язування майбутніх цільових сполук і обумовлюють високу спорідненість до таких сполук.

Слід зазначити, що при застосуванні конкретних цільових сполук для створення полімерів з молекулярними відбитками отримані полімери можуть мати високу спорідненість до класу сполук, що відрізняються, але схожих на цільову сполуку. Наприклад, полімер з молекулярними відбитками може зв'язувати ряд сполук, які схожі за формою, щільністю заряду, геометрією або 25 іншим фізичним або хімічним властивостям на шаблоніву сполуку (наприклад, синтетичний мікотоксिनіві шаблон).

У цьому описі термін "полімер" відноситься до молекули (макромолекули), що складається з повторюваних структурних одиниць, звичайно з'єднаних за допомогою ковалентних хімічних зв'язків з утворенням сітки.

30 У цьому описі термін "шаблоніву сполука" або "цільову сполука" відноситься до сполуки, яка утворює комплекс з лігандами (наприклад, мономерами), який згодом полімеризується з утворенням полімеру з молекулярними відбитками. Шаблоніві сполуки включають органічні сполуки (наприклад, мікотоксини, пептиди і білки), а також неорганічні сполуки (наприклад, мінерали і важкі метали). У цьому описі термін "мікотоксініві шаблон" відноситься до 35 синтетично створеної молекули, яка імітує структуру, форму і/або інші хімічні характеристики природного мікотоксину (наприклад, охратоксин, споридесмін, і т.д.). Цей винахід не обмежений типом застосовуваного мікотоксінного шаблону. У дійсності, можна застосовувати безліч мікотоксинів, включаючи, без обмеження, Афлатоксини: афлатоксин В1, В2, G1, G2, М1, Р1, Q1, стеригматоміцин і підгрупи, афлатоксикол; Трихотецени: дезоксиніваленол, 40 диацетоксисцирпенол, моноацетоксисцирпенол, сцирпентриол, токсин Т-2, токсини НТ-2, Т-2 тетраол, фузаренон Х, фузарин С, фузарову кислоту, фузарохроманон, ауорофузарин, фузапроліферин, неосоланіол, ніваленол, а також метаболіти і підгрупи; Фумонізени: фумонізін А1, А2, В1, В2, В3 і підгрупи; Охратоксини: охратоксин А, В, α, β і метаболіти; Зеараленон, зеараленол α, β, зеараланон, зеараланол α, β, зеранол і метаболіти; Патулін, гліотоксин, 45 мікофенолову кислоту, моніліформін, циклопіазонову кислоту, цитринін, боверицин, цитреовіридин, цитохалазин Н; Пеніцилову кислоту, РR-токсин, рокфортин А, В, рубратоксин і підгрупи; алкалоїди ріжків: ерготамін, клавінові алкалоїди; Ізофумігаклавіни А, В; паспалітрем А, В, афлатрем, пенітреми і підгрупи; Фомопсини: Фомопсин А і підгрупи; Верукарин А, верукулоген і підгрупи; Споридесмін і підгрупи; слафрамін, свайнсонін, тенауазонову кислоту, 50 альтернатіол, вортманін, та інші мікотоксини згідно з цим описом.

У цьому описі термін "мономер" відноситься до молекули, яка може утворювати хімічні зв'язки з іншими мономерами з утворенням полімеру.

У цьому описі терміни "поперечна зшивка" і "агент, що зшиває" відносяться до молекул, що містять два, три або чотири подвійні зв'язки, здатні приєднувати два або більше мономерів з 55 утворенням полімерної сітки.

У цьому описі термін "структурна одиниця" відноситься до структурного блоку полімерного ланцюга і пов'язаний з повторюваною ланкою.

У цьому описі термін "аніонний" або "аніон" відноситься до іона, що має негативний заряд.

У цьому описі термін "катионний" або "катион" відноситься до іона, що має позитивний заряд. 60 Зазначений термін може відноситися до полімерних сполук, таких як полімери з молекулярними



відбитками, що містять позитивний заряд.

У цьому описі термін "кислота" відноситься до будь-якої хімічної сполуки, яка може бути донором протона (протонів) і/або акцептором електрона (електронів). У цьому описі термін "основа" відноситься до будь-якої хімічної сполуки, яка може бути акцептором протона (протонів) і/або донором електрона (електронів) або гідроксид-іонів. У цьому описі термін "сіль" відноситься до сполук, які можуть бути отримані з неорганічних або органічних кислот і основ.

У цьому описі термін "вимивання" відноситься до частини шаблону, , що залишилася, усе ще пов'язаної з ПМВ після декількох стадій промивання ПМВ, яка продовжує дисоціювати з ПМВ і впливати на його активність поглинання.

У цьому описі термін "пороутворюючий/пороутворювач" відноситься до речовини, молекули, буферного розчину, розчинника (наприклад, толуолу, ксилолу, етилбензолу), що застосовується для зміни розміру порожнин у полімері (наприклад, порожнин у ПМВ), причому відношення полімеру до пороутворювача прямо корелює зі значенням пористості кінцевої структури.

У цьому описі термін "пористість" відноситься до міри вільного простору в матеріалі (наприклад, порожнини ПМВ), яка може містити газ або рідину або забезпечувати їхнє проходження.

У цьому описі термін "полімеризація" відноситься до процесу взаємодії молекул мономера між собою в хімічній реакції з утворенням тривимірних сіток або полімерних ланцюгів.

У цьому описі термін "осадження" відноситься до утворення твердої речовини в розчині в ході хімічної реакції. Коли відбувається реакція, утворену тверду речовину називають осадом, а рідину, що залишилася над твердою речовиною, називають надосадовою рідиною.

У цьому описі термін "центрифугування" відноситься до процесу поділу молекул за розміром або щільністю з використанням відцентрової сили, що генерується обертовим ротором, який надає об'єкту обертання навколо нерухливої осі, прикладаючи силу перпендикулярно осі. Центрифуга працює за принципом седиментації, при цьому доцентрово прискорення застосовують, щоб легко розподілити речовини більшої і меншої щільності по шарах різної щільності.

У цьому описі термін "концентрація" відноситься до кількості речовини в певному просторі. Концентрацію звичайно виражають в одиницях маси на одиницю об'єму. Для розведення розчину необхідно додати більше розчинника або зменшити кількість розчиненої речовини (наприклад, за допомогою вибірного відділення, випарювання, сушіння розпиленням, сушіння заморожуванням). Навпаки, для концентрування розчину необхідно зменшити кількість розчинника.

У цьому описі термін "шар" відноситься до звичайно горизонтального відкладення, сформованого в шар матеріалу, що утворює частину або сегмент, що лежить вище, отриманого після поділу шляхом центрифугування або седиментації згідно з щільнісними властивостями матеріалу.

У цьому описі термін "очищений" або "очищати" відноситься до видалення сторонніх компонентів зі зразка. При вживанні в хімічному контексті, "очищений" або "очищати" відноситься до фізичного відділення цільової хімічної речовини від сторонніх, небажаних або забруднюючих речовин. Звичайно застосовувані способи очищення органічних молекул включають, без обмеження, наступні: афінне очищення, механічна фільтрація, центрифугування, випарювання, екстракція домішок, розчинення в розчиннику, у якому нерозчинні інші компоненти, кристалізація, адсорбція, перегонка, фракціонування, сублімація, переплавлення, рафінування, електроліз і діаліз.

У цьому описі термін "сушіння" відноситься до будь-якого типу процесу, який зменшує або усуває вміст рідини в речовині.

У цьому описі термін "сушіння розпиленням" відноситься до способу сушіння речовини, що містить рідину, з використанням гарячого газу для випаровування рідини з метою зменшення або усунення вмісту рідини в речовині. Інакше кажучи, матеріал сушать шляхом розпилення або розбризкування в потоці нагрітого сухого повітря.

У цьому описі термін "сухий вільно текучий порошок" відноситься до сипучого сухого порошку.

У цьому описі термін "здрібнювання" відноситься до зменшення розміру частинок за допомогою удару, зрушення або тертя.

У цьому описі термін "промивання" відноситься до видалення або очищення (наприклад, з використанням будь-якого типу розчинника (наприклад, дистильованої води, буферного розчину, або розчинника, або суміші) домішок або розчинних небажаних компонентів препарату (наприклад, ПМВ можна промивати для видалення шаблонних компонентів зі зразка).

У цьому описі термін "аналіт" відноситься до атома, молекули, речовини або хімічного

компонента. У загальному випадку "аналіт" не вимірюють сам по собі, а ймовірніше визначають характеристики або властивості (фізичні, хімічні, біологічні, і т.д.) аналіта з використанням аналітичної методики, такої як високоефективна рідинна хроматографія (скорочено ВЕРХ). Наприклад, у загальному випадку не вимірюють "крісло" (аналізований компонент) саме по собі,

а вимірюють висоту, ширину, і т.д., цього крісла. Аналогічно, у загальному випадку не вимірюють мікотоксин, а вимірюють одну або більше властивостей мікотоксину (наприклад, флуоресценцію мікотоксину, пов'язану, наприклад, з його стабільністю, концентрацією або біологічною активністю).

У цьому описі термін "зразок" застосовують у широкому сенсі, включаючи препарат будь-якого походження (наприклад, синтетичний, біологічний і зразок навколишнього середовища). Синтетичні зразки включають будь-який матеріал, отриманий штучним шляхом (наприклад, ПМВ). Біологічні зразки можуть бути отримані від тварин (включаючи людину) і включають рідини, тверді речовини, тканини і гази. Біологічні зразки включають препарати крові, такі як плазма, сироватка, і т.п... Зразки навколишнього середовища включають матеріал з навколишнього середовища, такий як речовина з поверхні, ґрунт, вода, кристали та промислові зразки.

У цьому описі термін "високоефективна рідинна хроматографія" і термін "ВЕРХ" відносяться до форми рідинної хроматографії для поділу сполук. Зазначені сполуки розчиняють у розчині. Сполуки розділяють, поміщаючи зразок на колонку, через яку пропускають розчинник або суміш розчинників для елювання з колонки компонентів суміші. Устаткування для ВЕРХ включає резервуар для рухливої фази, насос, інжектор, розділювальну колонку і детектор. Присутність аналітів у розчині, що виходить з колонки, реєструють шляхом кількісного детектування зміни показника переломлення, поглинання УФ або видимого світла на заданій довжині хвилі, флуоресценції після збудження на прийнятній довжині хвилі або електрохімічного відгуку.

У цьому описі термін "сигнал" застосовують звичайно для указування на будь-який процес, що детектується, який вказує на те, що реакція має місце (наприклад, зв'язування антигену з антитілом). Сигнали можна оцінювати як якісно, так і кількісно. Приклади типів "сигналів" включають, без обмеження, радіоактивні сигнали, флуориметричні сигнали або колориметричні сигнали продукту/реагенту.

У цьому описі термін "скануюча електронна мікроскопія" і термін "СЕМ" відноситься до типу електронної мікроскопії, який створює зображення поверхні зразка за допомогою променя електронів високої енергії за схемою растрового сканування. Електрони взаємодіють з атомами, що складають зразок, породжуючи сигнали, що містять інформацію про топографію поверхні зразка, сполуку та інші властивості, такі як електропровідність.

У цьому описі термін "фіксує агент" відноситься до хімічної сполуки, здатної фіксувати одну речовину на іншій з метою "фіксувати", стабілізувати або у інший спосіб уберігати речовину в її нинішній формі від розпаду або інших змін. Часто фіксуючі агенти застосовують у скануючій електронній мікроскопії (СЕМ) для підготовки зразка.

У цьому описі термін "in vivo" відноситься до досліджень і/або експериментів, проведених на живому організмі, що відбуваються в біологічному організмі.

У цьому описі термін "in vitro" відноситься до штучного середовища поза живим організмом, і до біологічних процесів або реакцій, які могли б звичайно протікати в організмі, але змушені протікати в штучному середовищі. Приклади середовища in vitro включають пробірки і культуру клітин.

У цьому описі термін "in situ" слід розуміти в умовах реакційної суміші.

У цьому описі термін "ex vivo" відноситься до досліджень і/або експериментів і/або застосування, здійснюваному в або на живій тканині в штучному середовищі поза організмом з мінімальними відхиленнями від природних умов.

У цьому описі термін "абсорбувати" відноситься до процесу, при якому матеріал "убирає" або "усмоктує" іншу речовину. Наприклад, "абсорбція" може відноситися до процесу поглинання або приймання речовини в клітини або крізь тканини і органи за допомогою дифузії або осмосу (наприклад, абсорбція живильних речовин травною системою або абсорбція лікарських засобів у кровотоці).

У цьому описі термін "адсорбувати" або "адсорбція" відноситься до процесу, який спостерігається, коли матеріал відділяється і/або акумулюється (наприклад, на поверхні) композицією (секвестрантом і/або адсорбентом), або до процесу, у якому композиція (наприклад, ПМВ) зв'язує цільову молекулу (наприклад, мікотоксини) у зразку (наприклад, для видалення цільової молекули зі зразка).

У цьому описі термін "сорбція" відноситься як до адсорбції, так і до абсорбції.

У цьому описі термін "секвеструвати" і/або термін "секвестрація" відноситься до фізичної

асоціації (наприклад, за допомогою утворення зв'язків (наприклад, водневих зв'язків, іонних зв'язків, ковалентних зв'язків або іншого типу зв'язків) двох або більше частинок, що вступають у контакт одна з одною (наприклад, з утворенням комплексу). Типові форми асоціацій включають, без обмеження, водневий зв'язок, координацію та утворення іонної пари. Секвестраційні

взаємодії можуть включати різне число хімічних взаємодій (наприклад, хімічних зв'язків) залежно від стереохімії і геометрії кожної з частинок (наприклад, додатково визначаючи специфічність секвестрації). Якщо відбувається секвестрація двох або більше частинок, секвестрація зазначених частинок може відбуватися шляхом хімічного зв'язку, але вони можуть також асоціюватися за допомогою зарядного, диполь-дипольного або інших типів взаємодій.

У цьому описі терміни "секвестраційний агент" і/або "секвеструючий агент" відносяться до частинки, яка здатна до утворення комплексу з другою частинкою.

У цьому описі термін "комплекс" відноситься до частинки, утвореної шляхом асоціації двох або більше окремих частинок (наприклад, асоціації між двома або більше частинками, причому зазначені частинки однакові або різні (наприклад, однакові або різні хімічні сполуки)). Асоціація може здійснюватися за допомогою ковалентного зв'язку або за допомогою нековалентного зв'язку (наприклад, за допомогою ван-дер-ваальсової взаємодії, електростатичної взаємодії, взаємодії зарядів, гідрофобної взаємодії, дипольної взаємодії і/або сил водневих зв'язків (наприклад, уретанові зв'язки, амідні зв'язки, складноефірні зв'язки, і комбінації зазначених взаємодій)).

У цьому описі термін "ефективна кількість" відноситься до кількості композиції (наприклад, ПМВ), достатньої для одержання кращих або бажаних результатів. Ефективну кількість можна вводити і/або комбінувати з іншим матеріалом в одному або декількох введеннях, застосуваннях або дозуваннях, і вона не повинна бути обмежена конкретною сполукою або шляхом введення.

У цьому описі термін "тварина" відноситься до представника царства тварин. Зазначений термін включає, без обмеження, худобу, сільськогосподарських тварин, одомашнених тварин, домашніх вихованців, морських і прісноводних тварин, і диких тварин.

У цьому описі термін "харчовий продукт" відноситься до матеріалу (матеріалам), що споживається суб'єктом (наприклад, людиною і/або твариною (наприклад, що є джерелом енергії і/або живильних речовин у харчуванні суб'єкта)). Приклади харчових продуктів включають, без обмеження, молочні продукти, сік, злаки, фрукти, овочі, м'ясо, повнораціонну суміш (TMR), фураж, гранули, концентрат (концентрати), копродукт(и) премікс(ів), зерно, зернові дробини, патоку, волокна, кормові рослини, траву, сіно, кісточки, листи, борошно, розчинні речовини і добавки.

У цьому описі термін "травна система" відноситься до системи (включаючи шлунково-кишковий тракт), у якій відбувається або може відбуватися травлення.

У цьому описі термін "травний" або "травлення" відноситься до перетворення їжі, харчових продуктів або інших органічних сполук в форму, що абсорбується; розм'якшення, розкладання або розпад під дією тепла і вологості або хімічного впливу.

У цьому описі термін "біодоступність" відноситься до частини молекули або компонента, яка доступна для організму або досягає системного кровотоку. Якщо молекулу або компонент вводять внутрішньовенно, біодоступність становить 10 %. Однак якщо молекулу або компонент вводять іншими шляхами, (таким як пероральний), його біодоступність зменшується (через неповну абсорбцію і метаболізм першого проходження).

У цьому описі термін "введення" і термін "вводити" відносяться до акту забезпечення надходження речовини, включаючи лікарський засіб, проліки або інший агент, суб'єкту або терапевтичного впливу на суб'єкт (наприклад, суб'єкт або клітини, тканини і органи *in vivo*, *in vitro* або *ex vivo*). Типові шляхи введення можуть являти собою введення через очі (офтальмічний), через рот (пероральний), крізь шкіру (топічний або трансдермальний), через ніс (назальний), через легені (інгаляційний), крізь слизову оболонку порожнини рота (трансбуккальний), через вухо, ректальний шлях, вагінальний шлях, шляхом ін'єкції (наприклад, внутрішньовенної, підшкірної, внутрішньопухлинної, внутрішньочеревинної, і т.д.), і таке інше.

У цьому описі термін "спільне введення" і термін "спільно вводити" відносяться до введення щонайменше двох агентів або видів терапії суб'єкту і/або в матеріал (наприклад, харчовий продукт). Спільне введення двох або більше агентів або видів терапії може бути одночасним, або перший агент/вид терапії можна вводити перед другим агентом/видом терапії.

У цьому описі термін "лікування" відноситься до поліпшення і/або зворотному розвитку ознаки або симптому захворювання (наприклад, мікотоксикозу). Термін "лікування" відноситься як до терапевтичного лікування, так і до профілактичних або превентивних заходів. Наприклад, суб'єкти можуть одержувати користь від лікування композиціями і способами згідно з цим

винаходом, включаючи як суб'єктів, що страждають захворюванням і/або порушенням (наприклад, мікотоксикозом), так і суб'єктів, у яких запобігають захворюванню і/або порушенню (наприклад, за допомогою профілактичного лікування згідно з цим винаходом).

У цьому описі термін "мікотоксин" відноситься до токсичної і/або канцерогенної сполуки (сполукам), що виробляється різними видами грибів.

У цьому описі термін "мікотоксикоз" відноситься до стану, при якому мікотоксини проникають через бар'єри організму людини або тварини. Мікотоксикози можна розглядати або як інфекцію, або як захворювання, і вони можуть впливати на ураженого суб'єкта.

У цьому описі терміни "захворювання", "інфекція" і "патологічний стан або реакція" відносяться до стану, ознак і/або симптомів, пов'язаним з порушенням нормального стану живого суб'єкта (наприклад, людини і/або тварини) або будь-яких його органів або тканин, які порушують або змінюють здійснення нормальних функцій, і можуть являти собою відповідь на вплив факторів навколишнього середовища (таких як неповноцінне харчування, промислові небезпеки або клімат, включаючи мікотоксикоз), специфічні інфекційні агенти (такі як хробаки, амеби, бактерії, віруси, пріони, і т.д.), на внутрішній дефект організму (такий як різні генетичні аномалії), або комбінацію цих та інших факторів.

У цьому описі термін "ризик розвитку захворювання" відноситься до суб'єкта, схильного до виникнення певного захворювання. Зазначена схильність може бути генетичною (наприклад, певна генетична схильність до виникнення захворювання, така як захворювання, що передаються у спадок), або обумовленої іншими факторами (наприклад, вік, маса тіла, умови навколишнього середовища, вплив шкідливих сполук (наприклад, присутніх у навколишньому середовищі, і т.д.)).

У цьому описі термін "що страждає на захворювання" відноситься до суб'єкта (наприклад, тварини або людини), що відчуває певне захворювання, не обмежуючись конкретними ознаками або симптомами, або захворюванням.

У цьому описі термін "токсичний" або "токсикологічний" відноситься до будь-якого шкідливого, руйнівного, небезпечного, або іншого негативного впливу (впливам) на суб'єкта, клітину або тканину, у порівнянні з тією ж клітиною або тканиною до контакту або введення токсину/токсиканту.

У цьому описі термін "фармацевтична композиція" відноситься до комбінації активного агента (наприклад, композиція, що містить ПМВ) з носієм, інертним або активним, що робить композицію особливо прийнятною для діагностичного або терапевтичного застосування *in vitro*, *in vivo* або *ex vivo*.

У цьому описі термін "фармацевтично прийнятний" і термін "фармакологічно прийнятний" відносяться до композицій, які по суті не викликають більше відомих небажаних реакцій, ніж відомих сприятливих реакцій.

У цьому описі термін "прослідковуваність" відноситься до властивості результату вимірювання або величини стандарту, відповідно до якого його можна зв'язати із заданими нормативами, звичайно національними або міжнародними стандартами, за допомогою безперервного ланцюга порівнянь, усі з яких мають задані погрішності. Прослідковуваність являє собою практичне прикладання загальних принципів метрології до хімічних вимірювань, і забезпечує термінологію, принципи і стратегію підтвердження того, що також можливе порівняння аналітичних хімічних вимірювань. Вона вимірює одиниці, що унікально ідентифікуються, способом, що піддається перевірці. Прослідковуваність вимірювань застосовують, у числі іншого, для встановлення взаємозв'язку хронології, місця розташування і/або застосування об'єкта за допомогою ідентифікації, що документально реєструється.

#### ДОКЛАДНИЙ ОПИС ВИНАХОДУ

Різні групи грибів виробляють мікотоксини, що чинять шкідливий вплив на здоров'я тварин. Зазначені токсини в основному виробляють гриби, що відносяться до родів *Aspergillus*, *Fusarium* і *Penicillium*, коли переважають сприятливі умови для їхнього утворення. Жоден з регіонів світу не вільний від мікотоксинів і їх негативного впливу на здоров'я людини і тварин. Негативна дія зараження мікотоксинами на врожай зернових і продуктивність тварин є аномальними і постійно несуть ризик здоров'ю людини. Більш теплий клімат схильний знижувати опір афлатоксинам і фумонізинам, тоді як більш прохолодні області з більшою вологістю схильні до охратоксину, споридесміну, зеараленону, дезоксиніваленолу, токсину Т-2 і диацетоксисцирпенолу.

Мікотоксини являють собою вторинні метаболіти, що виробляються цвіллю і грибами, які заражають як зерна злаків, так і кормові рослини, плоди, їжу і харчові продукти, так і навколишнє середовище (наприклад, ґрунт, воду і повітря за допомогою мікотоксинів, що потрапляють в аерозолі, і т.д.). Мікотоксини мають небезпечну дію на здоров'я людини і тварин. Оскільки мікотоксини присутні протягом харчового ланцюга, мікотоксини є суб'єктом регуляції,

що обмежує надлишкове забруднення їжі/харчового матеріалу і навколишнього середовища виходячи з токсикологічних властивостей різних груп токсинів (див. Commission Recommendation of 17 August 2006 on the presence of deoxynivalenol, zearalenone, ochratoxin A, T-2 and HT-2 and fumonisins in products intended for animal feeding. Official Journal of the European Union (2006/576/EC)). З цього погляду, різні агентства з безпеки по усьому світу встановили граничні величини і методики контролю для перевірки рівня забруднення. Зазначені вимоги в цей час ще не погоджені між країнами і/або континентами і також залежать від політичного та економічного стану розглянутої географічної області. Зазначені вимоги, при наявності, засновані на неповному числі звітів, зв'язаних з випадками гострого отруєння кристалічними формами мікотоксинів в модельних ситуаціях. Оскільки розуміння просування мікотоксинів, впливу хронічних рівнів впливу, тривалості впливу і спільного впливу різних мікотоксинів, що спільно заражають їжу/харчові матеріали та навколишнє середовище, які можуть виявляти синергічні токсичні дії, може відігравати важливу роль у стані здоров'я людини і тварин та їх сприйнятливості до різних інших інфекцій, і отже імунного статусу. В описаній перспективі слід розглядати рішення, що мають справу з нерегульованими рівнями токсичних сполук, які потрапляють у харчовий ланцюг і присутні в навколишньому середовищі. Отже, згідно з деякими з варіантів реалізації цього винаходу, запропонований економічний широкомасштабний спосіб одержання високоафінного синтетичного сорбенту для видалення мікотоксинів (наприклад, включаючи, без обмеження, цілу групу великих і малих класів мікотоксинових молекул, включаючи: Афлатоксини: афлатоксин B1, B2, G1, G2, M1, P1, Q1, стеригматоміцин і підгрупи, афлатоксикол; Трихотецени: дезоксиніваленол, диацетоксисцирпенол, моноацетоксисцирпенол, сцирпентриол, токсин T-2, токсини HT-2, T-2 тетраол, фузаренон X, фузарин C, фузарову кислоту, фузарохроманон, ауофузарин, фузапроліферин, неосоланіол, ніваленол, а також метаболіти і підгрупи; Фумонізени: фумонізін A1, A2, B1, B2, B3 і підгрупи; Охратоксини: охратоксин A, B,  $\alpha$ ,  $\beta$  і метаболіти; Зеараленон, зеараленон  $\alpha$ ,  $\beta$ , зеараланон, зеараланол  $\alpha$ ,  $\beta$ , зеранол і метаболіти; Патулін, гліотоксин, мікофенолову кислоту, моніліформін, циклопіазонову кислоту, цитринін, боверицин, цитреовіридин, цитохалазин H; Пеніцилову кислоту, PR-токсин, рокфортин A, B, рубратоксин і підгрупи; алкалоїди ріжків: ерготамін, клавінові алкалоїди; Ізофумігаклавіни A, B; паспалітрем A, B, афлатрем, пенітреми і підгрупи; Фомопсини: Фомопсин A і підгрупи; Верукарин A, верукулоген і підгрупи; Споридесмін і підгрупи; слафрамін, свайнсонін, теназонову кислоту, альтернаріол і вортманін).

Охратоксин A (що скорочено позначається ОТА) являє собою мікотоксиновий метаболіт, що в основному виробляється *Aspergillus ochraceus* і *Penicillium verrucosum*, які в числі інших видів цвілі, які здатні рости на харчових продуктах, що неправильно зберігаються (див., наприклад, Pfohl-Leschkowicz A., and Manderville R.A., 2007. Molecular Nutrition and Food Research, 51: 61-99), зараженому зерні, бобах кави (див., наприклад, O'Brien E., and Dietrich D.R. 2005. Critical Reviews in Toxicology, 35: 33-60), технічному винограді (див., наприклад, Blesa J., Soriano J.M., Moltó J.C., Mañes J., 2006. Critical Review in Food Science and Nutrition, 46: 473-478), і можуть переноситися і заражати рідини та тверді речовини, що вживаються людиною (наприклад, виноградний сік, вино, пиво, кава, екстракти какао, а також їжу і корм, у яких застосовують заражене зерно, і м'ясо та інші продукти, що одержуються від тварин (наприклад, молоко, яйця, і т.д.), які споживають заражене зерно або іншим способом зазнають впливу мікотоксинів), що може бути шкідливо для людини. ОТА є канцерогеном (Група 2B; див., наприклад, Clark H.A., and Snedeker S.M., 2006. Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B: Critical Reviews, 9: 265-96), нефротоксичною сполукою, і може викликати імуносупресію (див., наприклад, Al-Anati L., and Petzinger E., 2006. Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics, 29: 79-90; Pfohl-Leschkowicz and Manderville, 2007 як зазначено вище; O'Brien and Dietrich, 2005 як зазначено вище). ОТА може викликати зміни функції нирок у свиней, включаючи зміну екскреції та збільшення екскреції глюкози в сечу, які були описані при нефропатії свиней. Курчата, індички та каченята, що харчуються зерном, яке містить ОТА, мають погану конверсію корму і знижене виробництво яєць. У людини викликана ОТА патологія була клінічно описана як Балканська епідемічна нефропатія (див., наприклад, Vrabcheva T., Petkova-Bocharova T., Grosso F., Nikolov I., Chernozemsky I.N., Castegnaro M., and Dragacci S., 2004. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 52:2404-2410). Дослідження на тваринах показали, що через схожість з фенілаланіном, ОТА після абсорбції на рівні шлунково-кишкового тракту може проникати в кишково-печіночний кровотік і зв'язуватися з альбуміновою фракцією крові, і в такий спосіб зберігатися в тканинах тварин на тривалий термін (див., наприклад, Creppy E.E., Kane A., Dirheimer G., Lafarge-Frayssinet C., Mousset S., and Frayssinet C., 1985. Toxicology Letters, 28: 29-35.).

Інший клас грибних токсинів, епіполітиодиоксопіперазини, що включає гліотоксин,

гіалодендрин, сиродесмін, хетомін, хетоцин, вертицилліни, лептозин, еместрин і споридесмін, представляє особливий інтерес. Останній, що у цілому чинить великий економічний вплив на продукцію тваринництва, був виявлений у певних областях світу, у першу чергу в пасовищному сільському господарстві Нової Зеландії (див., наприклад, Hohenboken W.D., Morris C.A., Munday R., De Nicolo G., Amyes N.C., Towers N.R. and PHua S.H., 2004. *New Zealand journal of Agricultural Research*, 47: 119-127), але також про нього повідомляли з португальських Азорських островів. Споридесмін являє собою гідрофобну молекулу, синтезовану *Pithomyces chartarum*, що уражує деякі трави. Токсичність обумовлена присутністю дисульфідного містка, який може інактивувати білки шляхом взаємодії з тиольними групами і утворення реакціноздатних кисневих сполук (супероксидний радикал, пероксид водню, гідроксильний радикал). Описана патологія найкраще відома як поверхнева екзема, гепатогенна фотосенсибілізація в результаті руйнування епітеліальних клітин жовчної протоки, що викликає накопичення філоеритрину (метаболіту хлорофілу) у кровотоці та поглинання енергії сонячного світла, і особливо часто уражує овець, рогату худобу, коней і оленів. Клінічні ознаки включають зменшення вироблення молока, втрату маси, фотосенсибілізацію та смерть (див., наприклад, Munday R., 1982. *Chemico-Biological Interactions*, 41: 361-374). На додаток до впливу мікотоксинів, що містяться в кормі, їжі, підніжному кормі та рідинах, тварини і людина вступають у контакт і зазнають впливу мікотоксинів іншими шляхами. Наприклад, тварини можуть вступати в контакт з мікотоксинами у своїй підстилці, риби можуть вступати в контакт з мікотоксинами у своєму водному середовищі, при цьому й інші органічні матеріали можуть зазнати впливу мікотоксинів.

Уникнути зараження мікотоксинами неможливо, але з метою зменшення негативних впливів мікотоксинів у сільському господарстві в минулому застосовували неорганічні матеріали, такі як глини, бентоніти і алюмосилікати, або активоване вугілля, відомі своїми адсорбційними властивостями (наприклад, як добавки до корму тварин і/або інгредієнти, капсульовані форми, або як фільтруючі пристрої). Глини, що застосовуються в більших кількостях, зв'язують деякі мікотоксини в рідких середовищах (наприклад, у шлунково-кишковому тракті тварин і/або людини) і мінімізують їхню токсичну дію (див., наприклад, Ramos A.J., and Hernandez E., 1997. *Animal Feed Science and Technology*, 65: 197-206; Grant P.G., and PHillips T.D., 1998. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46: 599-605). Однак глини перешкоджають абсорбції багатьох корисних живильних речовин, важливих для тварин і людини, таких як вітаміни, мінеральні речовини і амінокислоти, у такий спосіб зменшуючи живильну щільність раціону. Крім того, глини є інертним матеріалом, який необхідно застосовувати (наприклад, згодовувати тварин) у більших кількостях для одержання корисного ефекту (наприклад, зменшення зараженості мікотоксинами). Однак глини, що згодовуються тваринам у великих кількостях, можуть впливати на навколишнє середовище при виділенні глини з організму тварин. Також застосовували широкий спектр інших адсорбентів мікотоксинів з недостатньою специфічністю до конкретних мікотоксинів, включаючи описані в Патенті США № 6045834.

У цілому, полімери з молекулярними відбитками (що скорочено позначаються ПМВ) являють собою полімери, утворені в присутності молекули, що є шаблоном, яку згодом витягають, залишаючи в такий спосіб комплементарні порожнини. Зазначені полімери демонструють певну хімічну спорідненість до вихідної молекули і можуть застосовуватися для виготовлення датчиків, у каталізі або у способах поділу. Перший матеріал з відбитками був на основі силікату натрію. Першим експериментальним застосуванням зазначених матеріалів був поділ барвників в 1949 р. (див., наприклад, Andersson H.S., and Nicholls I.A., 2001. // *Molecularly Imprinted Polymers: Man-made mimics of antibodies and their application in analytical chemistry*, (Sellergren B., ed.), *Techniques and Instrumentation in Analytical Chemistry*, Vol. 23 Elsevier, Amsterdam, the Netherlands, pp. 1-19).

Цей винахід у цілому відноситься до полімерів з молекулярними відбитками (ПМВ). Зокрема, цей винахід відноситься до прийнятих для багаторазового застосування екологічно чистих ПМВ, способів одержання зазначених полімерів і способів застосування зазначених полімерів (наприклад, для секвестрації і/або адсорбції цільових сполук (наприклад, мікотоксинів)), і до способів здійснення зазначеного застосування різними шляхами (наприклад, для детектування присутності мікотоксинів з метою їх відстеження і для видалення мікотоксинів із забрудненого джерела). Композиції та способи згідно з цим винаходом знаходять застосування в багатьох галузях, включаючи дієтичне харчування, терапію, профілактику, виробництво і переробку харчових продуктів і напоїв, фільтрування рідин, а також в галузі досліджень і контролю якості.

Відповідно, згідно з деякими з варіантів реалізації цього винаходу запропоновані шаблонні сполуки (наприклад, за допомогою яких синтезують ПМВ), які надають високу сорбційну ємність і селективність ПМВ відносно цільових сполук (наприклад, мікотоксинів). Шаблонні сполуки

можна видалити з ПМВ після синтезу ПМВ (наприклад, у такий спосіб "активуючи" ПМВ і забезпечуючи ПМВ можливість зв'язувати і адсорбувати цільові сполуки (наприклад, мікотоксини)). Так, згідно з цим винаходом запропоновані способи (наприклад, спосіб синтезу) і матеріали, що забезпечують виробництво шаблону і ПМВ в промисловому масштабі, яке не тільки економічно вигідно (наприклад, забезпечує реалізоване широкомасштабне виробництво економічно досяжним способом), але також використовує більш доступні реагенти, ніж шаблони ПМВ, що раніше застосовувалися. Згідно з цим винаходом також запропоновані, у деяких з варіантів реалізації, композиції (наприклад, шаблонні сполуки, мономерні, агенти, що зшивають, а також ПМВ), що є біологічно нейтральними (наприклад, що не шкодять навколишньому середовищу). Наприклад, згідно з деякими з варіантів реалізації, мономерні і агенти, що зшивають, згідно з цим винаходом здатні утворювати високоафінні, здатні до зворотного розпаду комплекси з шаблоном (наприклад, з функціональними групами шаблону), з утворенням ПМВ з високою спорідненістю до цільових сполук (наприклад, мікотоксинів) і, що чинять позитивний вплив на навколишнє середовище (наприклад, високу абсорбційну здатність відносно води, відповідно до чого ПМВ адсорбує до 10 разів більше води по відношенню до власної ваги, що сприяє гідратації ґрунту утримуваною водою). Аналогічно, згідно з деякими з варіантів реалізації цього винаходу запропоновані ПМВ з високою спорідненістю до цільових сполук (наприклад, мікотоксинів), що прийнятні для повторного застосування (наприклад, які можна відокремити від цільових сполук і використовувати повторно).

І. Шаблони, що застосовуються для синтезу полімерів з молекулярними відбитками (ПМВ)  
Загальні схеми синтезу ПМВ включають стадії полімеризації і зшивання мономерів у присутності шаблонних молекул, які направляють формування центрів зв'язування в сітці ПМВ. Геометричну специфічність надають центрам зв'язування ПМВ на стадіях, аналогічних застосуванню воскових копій скульптури для одержання виливків у процесі художньої техніки лиття по моделях, що виплавляються. Після створення сітки ПМВ шаблон видаляють, що робить ПМВ, що не містить шаблон, здатним до секвестрації цільової сполуки. Згідно з деякими з варіантів реалізації, видалення шаблону досягається шляхом ряду стадій промивання (наприклад, як описано в Розділі IV нижче).

Згідно з деякими з варіантів реалізації, цільову сполуку застосовують як шаблон. Однак це породжує потенційну проблему вимивання шаблону, або поступового вилужнювання шаблону, що залишився, у зразок. В аналітичних застосуваннях вимивання шаблону викликає помилково високий фон, тоді як у неаналітичних застосуваннях (наприклад, секвестрації) вимивання шаблону може спотворювати результат секвестрації, фактично вводячи цільові молекули в зразок. Крім того, наприклад, при синтезі ПМВ, націлених на сполуки з токсичними і/або канцерогенними властивостями (наприклад, мікотоксини), застосування менш небезпечних шаблонних молекул у процесі синтезу може бути кращим з погляду безпеки персоналу, а також для мінімізації небезпечних відходів. Згідно з кращими варіантами реалізації, шаблонна молекула є безпечною і/або такою, що легко руйнується, і тому не представляє ризику для здоров'я або навколишнього середовища. Згідно з кращими варіантами реалізації, шаблон після вивільнення з ПМВ використовують повторно. Згідно з кращими варіантами реалізації, шаблон можна одержувати в більших кількостях і більш безпечним способом, ніж можна одержувати мікотоксини.

Відповідно, згідно з деякими з варіантів реалізації, шаблон, що застосовується для синтезу ПМВ, може являти собою ту ж саму сполуку, що й цільова сполука. Згідно з деякими з варіантів реалізації, шаблон, що застосовується для синтезу ПМВ, може відрізнятися від бажаної цільової сполуки. Згідно з кращими варіантами реалізації цього винаходу, цільова сполука являє собою мікотоксин. Приклади мікотоксинів включають, без обмеження, Афлатоксини: афлатоксин В1, В2, G1, G2, М1, Р1, Q1, стеригматоміцин і підгрупи, афлатоксикол; Трихотецени: дезоксиніваленол, диацетоксисцирпенон, моноацетоксисцирпенон, сцирпентриол, токсин Т-2, токсини НТ-2, Т-2 тетраол, фузаренон Х, фузарин С, фузарову кислоту, фузарохроманон, ауофузарин, фузапроліферин, неосоланіол, ніваленол, а також метаболіти і підгрупи; Фумонізени: фумонізін А1, А2, В1, В2, В3 і підгрупи; Охратоксини: охратоксин А, В,  $\alpha$ ,  $\beta$  і метаболіти; Зеараленон, зеараленон  $\alpha$ ,  $\beta$ , зеараланон, зеараланол  $\alpha$ ,  $\beta$ , зеранол і метаболіти; Патулін, гліотоксин, мікофенолову кислоту, моніліформін, циклопіазонову кислоту, цитринін, боверицин, цитреовіридин, цитохалазин Н; Пеніцилову кислоту, РR-токсин, рокфортин А, В, рубратоксин і підгрупи; алкалоїди ріжків: ерготамін, клавінові алкалоїди; Ізофумігаклавіни А, В; паспалітрем А, В, афлатрем, пенітреми і підгрупи; Фомопсини: Фомопсин А і підгрупи; Верукарин А, верукулоген і підгрупи; Споридесмін і підгрупи; слафрамін, свайнсонін, тенауазонову кислоту, альтернатіол і вортманін. Згідно з деякими з варіантів реалізації, цільова сполука являє собою ОТА, споридесмін, алкалоїди ріжків.

Згідно з деякими з варіантів реалізації, розробку і/або визначення шаблонних сполук, що не є цільовими сполуками, здійснюють шляхом ретельного структурного аналізу молекули цільової сполуки, структурної мінімізації і визначення структурних особливостей і функціональних груп, важливих для створення ефективного центру зв'язування ПМВ. Способи структурної мінімізації відомі в цій галузі техніки (див., наприклад, Baggiani C., Giraudi G., and Vanni A., 2002. *Bioconjugation*, 10: 389-394; повністю включений у цю заявку за допомогою посилання). Хоча цей винахід не обмежений ніяким конкретним механізмом, і розуміння механізму не обов'язково для практичного застосування цього винаходу, структурні фактори, які враховують при розробці шаблону, включають, без обмеження, хіральність, планарність, усунення чутливості структури до небажаних властивостей молекули (наприклад, усунення молекулярних дефірмінантів токсичності) і/або існування прийнятної доступної для розчинника поверхні, поверхні електростатичного потенціалу, і/або ліпофільної/гідрофільної поверхні шаблонної молекули і її можливих взаємодій з мономерами і агентом, що зшиває, а також простоту синтезу шаблону. Згідно з деякими з варіантів реалізації, застосовують методики надшвидкого розпізнавання форми для здійснення можливості рутинного скринінгу на сполуки, найбільш схожі на молекулу, не тільки згідно з переважаючим за швидкістю розпізнаванням двомірної структури, але краще і за одним з найспецифічніших еталонів, яким є тривимірна форма молекули (див., наприклад, Balletser P., and Richards W.G., 2007. *Proceedings of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, 463: 1307-1321).

Відповідно до одного з необмежуваних прикладів, шаблоном для Охратоксину А є N-(2-гідрокси-3,5-дихлорбензоїл)-L-фенілаланін, як показано на Фігурі 1.

Відповідно до одного з необмежуваних прикладів, спосіб синтезу N-(2-гідрокси-3,5-дихлорбензоїл)-L-фенілаланіну починається з реакції 3,5-дихлорсаліцилової кислоти з оцтовим ангідридом з утворенням 2-ацетокси-3,5-дихлорбензойної кислоти, яку, у свою чергу, перетворюють у хлорид кислоти під дією оксалілхлориду. Потім хлорид 2-ацетокси-3,5-дихлорбензойної кислоти реагує *in situ* з гідрохлоридом етилового ефіру фенілаланіну в присутності триетиламіну, з утворенням етилового ефіру N-(2-ацетокси-3,5-дихлорбензоїл)-L-фенілаланіну. На останній стадії зазначеного способу синтезу вводять новий і високоспецифічний гідроліз обох складноефірних функціональних груп етилового ефіру N-(2-ацетокси-3,5-дихлорбензоїл)-L-фенілаланіну з утворенням шаблону ОТА, N-(2-гідрокси-3,5-дихлорбензоїл)-L-фенілаланіну (I) з виходом 98 %. Описана реакція синтезу коротко представлена на Фігурі 2.

Отже, згідно з цим винаходом запропонований спосіб і матеріали для синтезу шаблонів (наприклад, шаблонів ОТА), що масштабується до великих об'ємів економічно доступним способом.

II. Мономери і агенти, що зшивають, які застосовуються при полімеризації ПМВ

При виборі мономерів, що застосовуються для синтезу ПМВ, беруть до уваги структурні особливості шаблонної молекули, щоб оцінити, який мономер або комбінація мономерів найімовірніше утворює взаємодії (наприклад, ковалентні, нековалентні, іонні, водневі зв'язки, гідрофобні взаємодії, ван-дер-ваальсові взаємодії) з шаблоном. Відповідно до одного з необмежуваних прикладів, основні структурні особливості шаблону ОТА (I) згідно з цим описом (наприклад, N-(2-гідрокси-3,5-дихлорбензоїл)-L-фенілаланіну) включають (i) дві кислотні функціональні групи (-OH і -CO<sub>2</sub>H); (ii) одну сильно полярну пептидну групу (-NHCO-); (iii) і декілька низько полярних вуглеводневих фрагментів структури шаблону (наприклад, кожний з яких має можливість утворювати комплекси з мономерами і молекулами агента, що зшиває). У Заявці на патент США № 10/181435, повністю включеної в цю заявку за допомогою посилання, описані функціональні мономери ПМВ і способи вибору мономера за допомогою розрахунків (див., наприклад, Baggiani et al., 2002, як зазначено раніше).

Класи мономерів і конкретні мономери (наприклад, що застосовуються у способах синтезу ПМВ згідно з цим винаходом) включають, без обмеження, наступні класи і похідні: акрилова кислота і похідні (наприклад, 2-бромакрилова кислота, акрилоїлхлорид, N-акрилоїлтирозин, N-акрилоїлпірролідон, транс-2-(3-піридил)-акрилова кислота), акрилати (наприклад, алкілакрилати, алілакрилати, гідроксипропілакрилат), метакрилова кислота і похідні (наприклад, ітаконова кислота, 2-(трифторметил)пропенова кислота), метакрилати (наприклад, метилметакрилат, гідроксиетилметакрилат, 2-гідроксиетилметакрилат, 3-сульфопропілметакрилату натрієва сіль, етиленгліколю монометакрилат), стироли (наприклад, (2, 3 і 4)-аміностирол, стирол-4-сульфонова кислота, 3-нітростирол, 4-етилстирол), вініли (наприклад, вінілхлорформіат, 4-вінілбензойна кислота, 4-вінілбензальдегід, вінілімідазол, 4-вінілфенол, 4-вініламін, акролеїн), вінілпіридини (наприклад, (2, 3, і/або 4)-вінілпіридин, 3-бутен-1,2-діол), боронові кислоти (наприклад, 4-вінілборонова кислота), сульфонові кислоти



(наприклад, 4-вінілсульфонова кислота, акриламід-2-метил-1-пропансульфонова кислота), сполуки, хелатуючі метали (наприклад, стиrolімінодіоцтова кислота), акрилами́ди і похідні (наприклад, N-метилакриламід), метакрилами́ди і похідні (наприклад, N, N-диметилакриламід, N-(3-амінопропіл)метакриламід), алкени (наприклад, 4-пентенова кислота, 3-хлор-1-феніл-1-пропен), ангідрид (мет)акрилової кислоти і похідні (наприклад, метакриловий ангідрид), мономери, що містять кремній (наприклад, (3-метакрилоксипропіл)триметоксисилан, тетраметилдисилоксан), полієни (наприклад, ізопрен, 3-гідрокси-3,7,11-триметил-1,6,10-додекатрієн), азиди (наприклад, 4-азидо-2,3,5,6-тетрафторбензойна кислота), тіоли (наприклад, алілмеркаптан). Також у варіантах реалізації цього винаходу можна застосовувати такі, що закінчуються акрилатними групами, або іншим способом ненасичені уретани, карбонати і епоксиди, як і мономери, що містять кремній.

Згідно з кращими варіантами реалізації, мономери і агенти, що зшивають, які застосовуються при синтезі ПМВ, націленого на шаблон для ОТА (тобто, N-(2-гідрокси-3,5-дихлорбензоїл)-L-фенілаланін), включають 2-вінілпіридин, 2-гідроксиетилметакрилат і/або етиленгліколю диметакрилат. Хоча цей винахід не обмежений ніяким конкретним механізмом, і розуміння механізму не обов'язково для практичного застосування цього винаходу, 2-вінілпіридин утворює іонні зв'язки з кислотними групами шаблону, і містить вінільний зв'язок у безпосередній близькості від основного атома азоту піридинового кільця. Описана взаємодія між шаблоном і 2-вінілпіридином сприяє утворенню полімеру в безпосередній близькості від шаблонної молекули і забезпечує можливість міцного зв'язку між ПМВ і ОТА в ПМВ (наприклад, після видалення шаблонної сполуки та забезпечення можливості взаємодії ПМВ з цільовими молекулами ОТА). Хоча цей винахід не обмежений ніяким конкретним механізмом, і розуміння механізму не обов'язково для практичного застосування цього винаходу, гідроксильна група мономера 2-гідроксиетилметакрилату утворює додаткові водневі зв'язки з високополярними пептидними зв'язками шаблону. Додатковим реагентом є етиленгліколю диметакрилат. Незважаючи на те, що цей винахід не обмежений ніяким конкретним механізмом, і розуміння механізму не обов'язково для практичного застосування цього винаходу, етиленгліколю диметакрилат знаходить застосування в деяких варіантах реалізації як агент, що зшиває (див. нижче), як ненасичений дієфір, що взаємодіє з низкополярними групами, які присутні в молекулі шаблону ОТА. Згідно з деякими з варіантів реалізації, окремі типи мономерів застосовують окремо або в комбінації з іншими типами мономерів.

При застосуванні агент, що зшиває, або агенти будуть переважно являти собою одну або більше полімерних або олігомерних сполук, або сполуку, призначену для розщеплення в певних умовах. агенти, що зшивають, які надають твердість розглянутим полімерним сполукам, відомі фахівцям у цій галузі техніки і включають, без обмеження, ди-, три-, тетра- і пентафункціональні акрилати, метакрилати, акрилами́ди, вініли, аліли і стироли. Конкретні приклади агентів, що зшивають включають, без обмеження, пара-дивінілбензол, етиленгліколю диметакрилат (що скорочено позначається EGDMA), тетраметилєну диметакрилат (що скорочено позначається TDMA), N, N'-метилєн-біс-акриламід (що скорочено позначається MDAA), N, N'-1,3-фенілен-біс(2-метил-2-пропенамід) (PDBMP), 2,6-біс-акрилоїламідопіридин, 1,4-діакрилоїлпіперазин (що скорочено позначається DAP), 1,4-фенілендіакриламід і N, O-біс-акрилоїл-L-фенілаланінол. Приклади агентів, що зшивають, які оборотно розщеплюються, включають, без обмеження, N, N'-біс-(акрилоїл)цистамін, N, N-діалілтартардіамід, N, N-(1,2-дигідроксиетилєн)бісакриламід, N1-((E)-1-(4-вінілфеніл)метилідєн)-4-вініланілін, алілдисульфід і біс(2-метакрилоїлоксиетил)дисульфід. Згідно з кращими варіантами реалізації, етиленгліколю диметакрилат застосовують як агент, що зшиває. Хоча кращим мономером, що зшиває, є етиленгліколю диметакрилат, варіанти реалізації цього винаходу не обмежені зазначеним агентом, і можна застосовувати інші мономери, що зшивають, такі як дивінілбензол і триметилєнпропану триметакрилат (що скорочено позначається TRIM).

Можна застосовувати будь-яке співвідношення простих мономерів і агентів, що зшивають, яке забезпечує структуру ПМВ відповідної цілісності, наприклад, яку можна застосовувати в обставинах кінцевого застосування (наприклад, у харчових або кормових продуктах, у воді, призначеній для застосування в аквакультури, *in vivo*, і т.д.). Фахівець у цій галузі техніки може вибрати прийнятні співвідношення мономерів для забезпечення бажаної структурної цілісності, яка тісно пов'язана з природою і структурою цільової молекули та з природою і структурою шаблону, що застосовується.

У випадку полімерних або олігомерних сполук, які збираються застосовувати *in vivo* (наприклад, як терапевтичні або діагностичні засоби, або призначені для споживання секвестраційних компонентів кормів для тваринних або харчових продуктів для людини), важливо вибрати мономери, які нетоксичні і мають прийнятну для застосування *in vivo*

стабільність і розчинність. Кращі приклади включають, без обмеження, акриламід і метакрилати. Як варіант, полімер можна піддавати обробці після полімеризації для поліпшення розчинності шаблону, наприклад, шляхом взаємодії з прийнятними органічними або неорганічними реагентами.

Можна застосовувати різні способи полімеризації, включаючи вільнорадикальну, катіонну та аніонну полімеризацію. У цьому описі обрані та запропоновані такі умови полімеризації, які не чинять негативного впливу на активну конформацію сполуки, для якої одержують комплементарну полімерну сполуку. Згідно з особливо кращими варіантами реалізації застосовують способи вільнорадикальної полімеризації з осадженням (див. Розділ III нижче).

Крім того, полімеризацію ПМВ звичайно починають шляхом додавання ініціюючого агента. Ініціюючі агенти включають, без обмеження, азо-бісизобутиронітрил (що скорочено позначається АІБН), азо-бісдиметилвалеронітрил (що скорочено позначається ABDV), диметилацеталь бензилу, бензоїлпероксид (що скорочено позначається ВРО) і 4,4'-азо(4-ціановалеріанову кислоту). Згідно з кращими варіантами реалізації ініціюючий агент являє собою азо-бісизобутиронітрил.

Згідно з кращими варіантами реалізації, мономери, агенти, що зшивають, і/або ПМВ мають позитивні властивості безпеки і/або екологічності, такі як знижена токсичність або відсутність токсичності, і високі показники сорбції та утримання води. Згідно з кращими варіантами реалізації, ПМВ можуть бути придатними для повторного використання і такими, що економічно реалізуються/виробляються.

### III. Розчинники, що застосовуються при синтезі ПМВ

Вибір розчинника/суміші розчинників, у яких проводять реакцію полімеризації, впливає на об'єм, селективність і специфічність еднальної здатності ПМВ до його цільової сполуки. Хоча цей винахід не обмежений ніяким конкретним механізмом, і розуміння механізму не обов'язков для практичного застосування цього винаходу, утворення пористості сприяє або забезпечує порогений розчинник або суміш розчинників, що мають наступні властивості: він розчиняється в мономерній суміші, він не активний у реакції полімеризації та не розчиняє отриманий полімер (ПМВ). Прийнятні порогенні розчинники включають, без обмеження, ароматичні вуглеводні, такі як толуол, ксилол, етилбензол і диетилбензол; неполярні розчинники, такі як циклогексан; насичені вуглеводні, такі як гексан, гептан, октан і декан; спирти, такі як ізопропіловий та ізоаміловий спирти; аліфатичні галогеновані вуглеводні, такі як дихлорметан, дихлоретан і трихлоретан; аліфатичні або ароматичні складні ефіри, такі як етилацетат, бутилацетат, диметилфталат. Згідно з кращими варіантами реалізації, застосовують ароматичні вуглеводневі розчинники. Згідно з особливо кращими варіантами реалізації, застосовують тільки толуол. Згідно з деякими з варіантів реалізації, застосовують суміш толуолу з іншим розчинником. Згідно з деякими з варіантів реалізації, застосовують толуол у комбінації з циклогексаном. Порогений розчинник можна застосовувати окремо або в комбінації з двома або більше. Кількість порогеного розчинника, що вводиться, може варіювати приблизно від 10 % до 500 % за масою від загальної кількості мономерів. Хоча цей винахід не обмежений ніяким конкретним механізмом, і розуміння механізму не обов'язково для практичного застосування цього винаходу, полярні розчинники (наприклад, вода, ацетонітрил) руйнують тісні комплекси між мономерами і шаблоном, у такий спосіб знижуючи специфічність ПМВ до зв'язування з цільовою молекулою (наприклад, у порівнянні з толуолом, і т.д.).

Розчинник або суміш розчинників, що застосовуються як середовище для синтезу ПМВ, також впливають на властивості набрякання ПМВ і на розмір пор у тривимірній сітці ПМВ. Згідно з деякими з варіантів реалізації, полярні розчинники, такі як ацетонітрил, застосовують як розчинник або співрозчинник при полімеризації ПМВ, якщо бажано збільшити набрякання ПМВ і розмір пор у ПМВ; як варіант, подібних розчинників уникають, якщо збільшення набрякання ПМВ і розміру пор у ПМВ небажане (наприклад, якщо ПМВ призначений для застосування в хроматографічній колонці, коли набрякання може перешкоджати витраті і порушувати елювання аналітів і здатність приладу ВЕРХ функціонувати).

Продуманий вибір системи розчинників може безпосередньо впливати на розмір пор у ПМВ. У необмежуваних прикладах, у процесі синтезу ПМВ, спрямованого на шаблон ОТА, найдрібніші частинки (1 – 20 мкм) одержували в низькополярних розчинниках, на зразок циклогексану і/або толуолу, у той час як значно більші і менш однорідні за розміром (1 – 170 мкм) частинки одержували в полярних розчинниках, на зразок ацетонітрилу або води. Крім того, при високих концентраціях мономерів реакція полімеризації дає більші згустки ПМВ, що легко розпадаються при здрібнюванні, без утворення дуже дрібних частинок, як це спостерігається при здрібнюванні монолітів ПМВ (див. докладне обговорення в Розділі IV нижче). Дуже дрібні частинки можуть бути небажані в таких застосуваннях, наприклад, де ПМВ призначений для застосування як

смола для колонки (де дрібні частинки можуть перешкоджати витраті), або де присутність дрібних частинок перешкоджає або утрудняє збір ПМВ при центрифугуванні або фільтруванні, або заважає відповідному утримуванню ПМВ при фільтруванні, яке, відповідно, регулюється розміром пор у певному фільтрі з отворами, що включає ПМВ, якщо зазначений фільтр повинен зберігати кількість ПМВ, що міститься в ньому. Дисперговані згустки ПМВ можна просівати для одержання продукту певного однорідного розміру. Отже, вибір розчинника для полімеризації, концентрації мономера і способів механічної обробки можна здійснити таким чином, щоб у результаті одержати оптимальний вихід ПМВ із заданим розміром пор і розміром частинок, при цьому уникаючи утворення дрібних частинок.

Вибір системи розчинників обумовлює фізичну форму ПМВ, що одержується в процесі полімеризації. Наприклад, деякі системи розчинників (включаючи, без обмеження, низькополярні розчинники, такі як циклогексан і/або толуол) дають, як описано вище, тверді згустки ПМВ в ході процесу, що називається полімеризація осадженням. Інші системи розчинників (включаючи, без обмеження, полярні розчинники, такі як полівініловий спирт у воді) сприяють процесу з кінетикою, що відрізняється, який називається емульсійною полімеризацією (Vivaldo-Lima E., Wood P.E., Hamielec A.E., 1997. *Industrial and Engineering Chemistry Research*, 36: 939-965). Загалом, природа полімеризації впливає як на фізичну форму сітки ПМВ, так і на легкість, з якою полімер можна піддавати подальшій переробці (наприклад, необхідність здрібнювання; однорідність за розміром частинок; вихід; легкість обміну з буферним розчином або розчинником; стабільність). Огляд процесів полімеризації наведений в Yan H., and Ho Row K., 2006. *International Journal of Molecular Science*, 7: 155-178; повністю включеному в цю заявку за допомогою посилання. Згідно з кращими варіантами реалізації, застосовують полімеризацію осадженням. Згідно з деякими з варіантів реалізації, полімеризація осадженням дає ПМВ у вигляді порошку, однорідного і легко регульованого за розміром частинок. Як порівняння, інші способи полімеризації, включаючи, без обмеження, полімеризацію в масі, можуть давати великий моноліт ПМВ, який необхідно розділити перед подальшою переробкою або застосуванням, що приводить до безладних розмірів частинок і, отже, до меншої функціональності.

#### IV. Способи видалення шаблонів з ПМВ після синтезу ПМВ і фізична переробка ПМВ

Методики, що застосовуються для відщеплення шаблону з синтезованого ПМВ, у загальному випадку визначаються природою взаємодії шаблон-ПМВ. Наприклад, якщо між шаблоном і сіткою ПМВ утворений ковалентний зв'язок, потрібне хімічне відщеплення шаблону від ПМВ. Навпаки, якщо взаємодія між шаблоном і сіткою ПМВ є нековалентною, для видалення шаблону може бути досить екстракції розчинником (див., наприклад, Yan H., and Ho Row K., 2006, як зазначено раніше, повністю включеному в цю заявку за допомогою посилання; Sellergren B., 2001. *The non-covalent approach to molecular imprinting. // Molecularly Imprinted Polymers: Man-made mimics of antibodies and their application in analytical chemistry*, (Sellergren B., ed.), *Techniques and Instrumentation in Analytical Chemistry*, Vol. 23 Elsevier, Amsterdam, the Netherlands, pp. 113-184). Обробка ПМВ після синтезу може також називатися активацією ПМВ. Згідно з кращими варіантами реалізації, перша стадія активації ПМВ включає декантацію, а потім випарювання (повторне використання) розчинника з матеріалу ПМВ, при трохи зниженому тиску (наприклад, за допомогою ротаційної випарної системи). Друга стадія включає здрібнювання частинок ПМВ для одержання більш дрібного розміру частинок (наприклад, за допомогою ступки й товчачика, або помольного устаткування). Третя стадія включає багаторазове промивання частинок ПМВ, наприклад, 0,2 % мас./об. розчином гідроксида натрію. Згідно з варіантами реалізації, у яких синтезують ПМВ до ОТА, старанність промивання можна відслідковувати по одержанню негативного результату в пробі з розчином  $\text{FeCl}_3$  для детектування шаблону (див. з Прикладу 2 по Приклад 4). Згідно з деякими з варіантів реалізації, проводять однократне промивання 1 % розчином оцтової кислоти і однократне промивання водою, з наступним сушінням готового продукту ПМВ (наприклад при 80 °C у сушильній шафі протягом 6 – 8 год.) до видалення всіх слідів розчинника. Нарешті, частинки ПМВ можна просіяти для одержання продукту із заданим розміром частинок. Згідно з кращими варіантами реалізації, фізична форма ПМВ не вимагає протяжного здрібнювання перед застосуванням, наприклад, ПМВ не утворює монолітних блоків, які вимагають роздроблення або здрібнювання для диспергування. Згідно з кращими варіантами реалізації, основна частина ПМВ утворює сфери, які при сушінні утворюють порошок.

Згідно з кращими варіантами реалізації, стадій промивання достатньо для видалення щонайменше 95 % молекул шаблону із сітки ПМВ. Згідно з особливо кращими варіантами реалізації, стадій промивання достатньо для видалення щонайменше 99 % молекул шаблону із сітки ПМВ. Відповідно найкращим варіантам реалізації, стадій промивання достатньо для

видалення щонайменше 99,9 % молекул шаблону із сітки ПМВ.

#### V. Застосування композицій ПМВ

Композиції та способи згідно з цим винаходом знаходять застосування в різних галузях, включаючи дієтичне харчування, терапію, профілактику, виробництво і переробку їжі та напоїв, а також в галузі досліджень і контролю якості. Наприклад, згідно з деякими з варіантів реалізації, синтетичні шаблони (наприклад, отримані за допомогою способів згідно з цим описом) застосовують для синтезу ПМВ. Цей винахід не обмежений ніяким конкретним синтетичним шаблоном і/або синтезованим ПМВ. Дійсно, можна одержувати і застосовувати різні синтетичні шаблони, включаючи, без обмеження, шаблон ОТА (наприклад, N-(3,5-дихлор-2-гідроксибензоїл)-L-фенілаланін, див. Приклад 1), шаблон (шаблони) для афлатоксину (афлатоксинів), шаблон трихотецену (наприклад, шаблон сесквітерпенового спирту (наприклад, шаблон дезоксиніваленолу (DON))), шаблон зеараленону, шаблон споридесміну, шаблон стеригматоцистину, шаблон фумонізину, шаблон патуліну, шаблон цитриніну і/або шаблон пов'язаного з ендоефітом алкалоїду ріжків. Згідно з деякими з варіантів реалізації цього винаходу запропоновані композиції та способи одержання синтетичного шаблону (наприклад, для застосування в синтезі ПМВ до ОТА), що містить зовнішні функціональні групи, які нагадують мікотоксин (наприклад, якщо шаблон застосовують для одержання ПМВ в процесі згідно з цим винаходом і згодом видаляють з полімеру, ПМВ проявляє високу спорідненість до мікотоксину, схожому за своїми функціональними групами), причому мікотоксин обраний із групи, що включає ацетоксисцирпендіол, ацетилдезоксиніваленол, ацетилніваленол, ацетилнеосоланіол, ацетил-токсин-Т-2, афлатоксин, афлатоксин В1, В2, G1 і G2, афлатрем, альтернарієву кислоту, альтернаріол, аустдиол, аустамід, аустоцистин, авенацеїн +1, боверицин +2, бененолід, бревіанамід, бутенолід, калонектрин, хетоглобозин, хетоцин, хетомін, цитринін, цитреовіридин, кохліюдиол, цитохалазини, циклопіазонову кислоту, дезацетилкалонектрин, дезацетилнеосоланіол, дезоксиніваленолу діацетат, дезоксиніваленолу моноацетат, диацетоксисцирпендіол, деструксин В, еместрин, енніатини, включаючи всі токсини алкалоїдів ріжків і ендоефітів, такі як ергін, ергокортин, ергокрістин, ергокріптин, ергометрин, ергонін, ергозин, ерготамін, ерговалін, лізергол, лізергінову кислоту і споріднені епімери, фруктигенін +1, фумагілін, фумонізину, фумонізину А1, А2, В1, В2 і В3, фузаренон-Х, фузарохроманон, фузарову кислоту, фузарин, гліотоксин, токсин НТ-2, гіалодендрин, іпомеанін, ісландитоксин, ізофумігаклавіни А і В, латеритин +1, лептозин, лікомаразмін +1, малформін, мальторизин, моніліформін, моноацетоксисцирпендіол, мікофенолову кислоту, неосоланіол, ніваленол, токсин NT-1, токсин NT-2, охратоксин, ооспореїн, щавлеву кислоту, паспалітрем А і В, патулін, пеніцилову кислоту, пенітрем, фомопсини, PR-токсин, роридин Е, рокфортин А і В, рубратоксин, руброскирин, рубросульфін, ругулозин, самбуцинін +1, сатратоксини F, G, H, сцирпентриол, сиродесмін, слафрамін, споридесмін, стеригматоцистин, свайнсонін, токсин Т-1, токсин Т-2, тенауазонову кислоту, триацетоксисцирпендіол, трихотецени, триходермін, трихотецилін, триховеррини, триховерроли, триптохівален, верукарин, верукулоген, вертициліни, віопурпурин, віомеллеїн, віридитоксин, вортманін, ксантоциллін, яваніцин+1, зеараленоли, зеараланони, зеараленон,  $\alpha$ ,  $\beta$ , зеараланон,  $\alpha$ ,  $\beta$ , зеранол і підгрупи і/або похідні зазначених сполук, і/або кон'югати. Згідно з деякими з варіантів реалізації, цільова сполука являє собою ОТА, споридесмін або алкалоїди ріжків.

Аналогічно, можна одержати і застосовувати різні ПМВ, включаючи, без обмеження, ПМВ, отримані за допомогою кожного з перерахованих вище синтетичних шаблонів або будь-якої іншої органічної молекули як шаблону (наприклад, живильної речовини, такої як вітаміни, лікарські засоби, антибіотики, забруднювачі, гормони, ферменти, білки, і т.д.).

ПМВ згідно з цим описом знаходять застосування в різних галузях. Наприклад, згідно з деякими з варіантів реалізації, ПМВ застосовують для очищення рідин. Наприклад, згідно з деякими з варіантів реалізації, ПМВ застосовують для селективного видалення цільових сполук (наприклад, одного або більше мікотоксинів) з рідини. Цей винахід не обмежений цільовими сполуками (наприклад, одним або більше мікотоксинами), що видаляються з рідини. Дійсно, можна видаляти безліч цільових сполук, включаючи, без обмеження, мікотоксини згідно з цим описом. Аналогічно, цей винахід не обмежений типом рідини, з якої видаляють цільову сполуку. У дійсності, безліч різних рідких розчинів можуть містити одну або більше цільових сполук (наприклад, мікотоксинів), що підлягають видаленню (наприклад, шляхом введення одного або більше різних типів ПМВ в розчин), включаючи, без обмеження, напої (наприклад, що споживаються людиною (наприклад, сік, вино (наприклад, біле вино, червоне вино, і т.д.), воду, пиво, чай, кава, і т.д.)), воду (наприклад, що застосовується в аквакультури, питну воду, і т.д.), рідини, що застосовуються у виробництві харчових продуктів (наприклад, харчових продуктів для людини, тварин), біологічні рідини (наприклад, кров, рубцева рідина, шлунковий сік, і т.д.).

Наприклад, згідно з деякими з варіантів реалізації, композиції та способи згідно з цим винаходом пропонують ПМВ, які селективно видаляють цільові сполуки (наприклад, мікотоксини) з рідини. Рідина може являти собою напій, воду, біологічний зразок, джерело питної води, кров, рубцеву рідину або інший тип рідини, що містить цільові сполуки. Крім того, цільові сполуки можна видаляти з інших типів рідин. Згідно з деякими з варіантів реалізації, ПМВ згідно з цим описом вступають у контакт (наприклад, змішуються) з рідиною в достатній кількості протягом часу, що дозволяє ПМВ вступити у взаємодію і зв'язати цільову сполуку (наприклад, мікотоксин). Хоча цей винахід не обмежений ніяким конкретним механізмом, і розуміння механізму не обов'язково для практичного застосування цього винаходу, згідно з деякими з варіантів реалізації після того, як рідині надають можливість вступити в контакт з ПМВ, комплексоутворюючі/зв'язувальні порожнини, що містяться в ПМВ (наприклад, порожнини, що залишилися після видалення з ПМВ шаблонної сполуки), зв'язують при контакті цільова сполука, ефективно видаляючи цільову сполуку з рідини. Рідину можна далі переробляти, упаковувати, або готувати для споживання (наприклад, для споживання людиною, для споживання тваринами або для середовища проживання тварин). Згідно з деякими з варіантів реалізації, ПМВ, отримані і/або запропоновані згідно з цим описом, мають тверду структуру, яка витримує фізичні та хімічні фактори, пов'язані з процесом видалення/секвестрації. Наприклад, згідно з кращим варіантом реалізації, ПМВ, запропонований згідно з цим винаходом, селективно зв'язується з цільовою сполукою, у такий спосіб видаляючи цільову сполуку з речовини (наприклад, рідини, твердої поверхні, біологічної рідини (наприклад, крові, рубцевої рідини, і т.д.), речовини, необхідної для підтримки життя (наприклад, повітря або середовище для аквакультури), і т.д.), і підтримує асоціацію з цільовою сполукою в той час, поки комплекс ПМВ-цільова сполука збирають і/або видаляють з речовини (наприклад, прокачують рідину через фільтр, виливають рідину на фільтр, занурюють фільтр у рідину, наносять покриття ПМВ на поверхню контейнера, центрифугують, наносять покриття ПМВ на поверхню фільтра, відбувається виділення калу тваринами, і т.д.).

Відповідно до одного з варіантів реалізації, спосіб видалення цільових сполук з рідини високо селективний. Наприклад, рідина може містити безліч цільових сполук, при цьому ПМВ селективно видаляє тільки одну конкретну цільову сполуку (наприклад, мікотоксин), де "одну" відноситься до типу цільових сполук, а не до числа цільових сполук, що видаляються. Згідно з деякими з варіантів реалізації, безліч ПМВ (наприклад, безліч різних сукупностей ПМВ (наприклад, при цьому одна сукупність ПМВ специфічна до одного типу мікотоксину (наприклад, охратоксину), а друга сукупність ПМВ специфічна до другого типу мікотоксину (наприклад, афлатоксину))) вводять у рідину і дають можливість взаємодіяти протягом достатнього часу для селективного видалення безлічі різних типів цільових сполук (наприклад, мікотоксинів) з рідини. Цей винахід не обмежений числом різних типів ПМВ, які вводять у рідину, що містить безліч різних типів цільових сполук (наприклад, мікотоксинів). Згідно з деякими з варіантів реалізації, рідина містить 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 або більше різних типів цільових сполук (наприклад, мікотоксинів), і в рідину вводять композицію, що містить 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, або більше різних типів ПМВ зі специфічністю до однієї з безлічі цільових сполук, у таких умовах, у яких ПМВ вступають у взаємодію й секвеструють цільові сполуки. Згідно з деякими з варіантів реалізації, ПМВ проявляє специфічну спорідненість до єдиної цільової молекули/сполуки. Згідно з деякими з варіантів реалізації, ПМВ проявляє специфічну спорідненість до групи молекул, що мають загальні хімічні або фізичні властивості. Згідно з деякими з варіантів реалізації, ПМВ має безліч різних комплексоутворюючих/зв'язувальних порожнин для різних цільових сполук, так що ПМВ здатний селективно зв'язувати безліч цільових сполук, завдяки застосуванню безлічі цільових молекул/сполук при одержанні ПМВ.

Згідно з деякими з варіантів реалізації цього винаходу запропонований спосіб видалення цільових сполук з рідини, що містить безліч різних типів цільових сполук (наприклад, мікотоксинів або інших органічних цільових молекул/сполук (наприклад, живильних речовин, таких як вітаміни, лікарські засоби, антибіотики, забруднювачі, гормони, ферменти, білки, і т.д.)). Згідно з деякими з варіантів реалізації, спосіб включає групу різних типів ПМВ, розроблених для зв'язування різних цільових сполук. Наприклад, згідно з деякими з варіантів реалізації, запропонований зразок рідини, у якому проводять випробування з метою ідентифікації присутності в рідкому зразку однієї або більше цільових сполук. Присутність специфічних мікотоксинів можна детектувати з метою визначення, які мікотоксини присутні. Після ідентифікації одного або більше типів цільових сполук, що присутні у рідкому зразку (наприклад, коли рідкий зразок є зразком характеристик рідини, з якої взятий зазначений зразок), створюють один або більше ПМВ (наприклад, згідно зі способами, описаними в цій заявці) і/або поєднують, а потім вводять один або більше ПМВ в рідкий розчин для видалення цільових сполук. Згідно з

деякими з варіантів реалізації, ідентифікація одного або більше типів цільових сполук включає застосування колонок і/або фільтрів, що містять один або більше ПМВ, специфічних до цільових сполук. Згідно з деякими з варіантів реалізації, після того, як ПМВ застосовують для видалення цільової сполуки зі зразка (наприклад, рідкого зразка), цільову сполуку видаляють з ПМВ і використовують ПМВ повторно. Згідно з деякими з варіантів реалізації, ПМВ утилізують відповідним чином. Наприклад, цільові сполуки можна видалити з ПМВ (наприклад, з метою можливості повторного використання ПМВ) шляхом промивання прийнятним розчинником і/або розчином, який можна вибрати з розчинників, що застосовуються у способах відщеплення шаблону від ПМВ після завершення реакції синтезу і механічної обробки ПМВ (наприклад, включаючи, без обмеження, ацетонітрил, толуол, метанол, гідроксид натрію, оцтову кислоту, і т.д.), або тому подібне. Потім відновлений ПМВ повертають для повторного застосування.

Способи видалення цільових сполук з рідини дозволяють робити витяг з більшими виходами внаслідок селективної природи ПМВ. Згідно з деякими з варіантів реалізації, спосіб видалення дозволяє виділити приблизно від 25 % приблизно до 99 % цільової сполуки, що присутня в рідині. Згідно з деякими з варіантів реалізації, спосіб видалення дозволяє виділити приблизно від 35 % приблизно до 99 % цільової сполуки, що присутня в рідині. Згідно з деякими з варіантів реалізації, спосіб видалення дозволяє виділити приблизно від 50 % приблизно до 99 % цільової сполуки, що присутня в рідині. Згідно з деякими з варіантів реалізації, спосіб видалення дозволяє виділити приблизно від 25 % приблизно до 99 % цільової сполуки, що присутня в рідині. Згідно з іншими варіантами реалізації, спосіб видалення знижує підсумкову концентрацію цільової сполуки в рідині до рівня частин на мільярд (млрд<sup>-1</sup>, ppb) (наприклад, до концентрації, що прийнятні для вживання людиною і/або тваринами). Способи видалення можна адаптувати для одержання конкретних рівнів концентрацій, які можна знайти в актуальних і пропонуваніх нормативних проектах, відомих фахівцям у цій галузі техніки. Згідно з деякими з варіантів реалізації, способи видалення застосовують у рідинах при конкретних величинах рН. Наприклад, композиції та способи згідно з цим винаходом можна застосовувати в рідинах, що мають величину рН приблизно від 1 до 13.

Згідно з деякими з варіантів реалізації, ПМВ застосовують для видалення цільових сполук з поверхні. Наприклад, згідно з деякими з варіантів реалізації цього винаходу запропоновані способи зменшення присутності цільових сполук (наприклад, мікотоксинів) на поверхні, що включає здійснення контакту поверхні з композицією, що містить ПМВ. Згідно з конкретними варіантами реалізації, контакт здійснюють протягом часу, достатнього для того, щоб ПМВ зв'язав і/або секвестрував цільові сполуки. Згідно з іншими варіантами реалізації цього винаходу запропонований спосіб видалення забруднень з поверхні навколишнього середовища, на якому накопичуються цільові сполуки. Відповідно до одного із зазначених варіантів реалізації, цільова сполука пов'язана з поверхнею в навколишньому середовищі, і спосіб включає здійснення контакту поверхні навколишнього середовища з кількістю композиції (наприклад, що містить ПМВ), достатньою для видалення забруднень з поверхні. Хоча це може бути бажаним, видалення забруднень не обов'язково приводить до повного усунення цільової сполуки. Згідно з деякими з варіантів реалізації, композиції (наприклад, що містять ПМВ) і способи додатково включають барвники, фарби та інші сполуки, що маркують та ідентифікують, для того, щоб переконатися, що оброблена поверхня була успішно оброблена композиціями згідно з цим винаходом.

Згідно з деякими з варіантів реалізації, ПМВ застосовують для запобігання контакту цільової сполуки з поверхнею або іншою сполукою (наприклад, ґрунтом). Наприклад, деякі варіанти реалізації цього винаходу розглядають способи одержання композицій, у яких ПМВ комбінують з іншими матеріалами (наприклад, пластмасою або продуктом типу крохмалю) і наносять на рослинність (наприклад сільськогосподарську рослинність, що росте) для захисту рослинності від сполук з поверхні (наприклад, мікотоксину) у процесі росту і додаткового запобігання сполук від забруднення іншими сполуками (наприклад, ґрунтом).

Згідно з деякими з варіантів реалізації, поверхню (наприклад, зовнішню або внутрішню поверхню) суб'єкта (наприклад, людини або тварини) обробляють (наприклад, зовнішню або внутрішню) композицією згідно з цим винаходом. Згідно з іншими варіантами реалізації, контакт здійснюють за допомогою перорального, назального, трансбуккального, ректального, вагінального або топічного введення. Якщо композиції згідно з цим винаходом вводять у вигляді лікарських препаратів, припускають, що композиції додатково містять фармацевтично прийнятні добавки, наповнювачі, стабілізатори, розріджувачі, і таке інше. Згідно з іншими варіантами реалізації цього винаходу запропоновані композиції, що додатково містять додаткові фармацевтично прийнятні біоактивні молекули (наприклад, антитіла, антибіотики, засоби для трансфекції нуклеїнових кислот, вітаміни, мінеральні речовини, кофактори, фактори, здатні

зв'язувати і/або секвеструвати мікотоксини (наприклад, екстракти клітинних стінок дріжджів (наприклад, екстракти клітинних стінок дріжджів, об'єднані з глиняним матеріалом, і/або екстракт клітинних стінок дріжджів, що містить глину, і/або частинки глини, що інтегровані або чергуються в клітинній стінці дріжджів), і т.д.). Згідно з деякими з варіантів реалізації, суб'єктові вводять композицію згідно з цим винаходом (наприклад, що містить ПМВ), з метою терапевтичного лікування захворювання або стану (наприклад, грибка стоп). Згідно з іншими варіантами реалізації, суб'єктові вводять композицію згідно з цим винаходом (наприклад, що містить ПМВ) з метою профілактичного лікування (наприклад, запобігання розвитку ознак або симптомів) захворювання або стану (наприклад, грибка стоп). Згідно з деякими з варіантів реалізації, композиції (наприклад, що містять ПМВ) і способи застосовують до будь-якого типу площі або поверхні. Наприклад, згідно з деякими з варіантів реалізації, площа включає тверду поверхню (наприклад, медичне пристосування), розчин, поверхню організму (наприклад, внутрішня або зовнішня частина організму людини), або харчовий продукт.

Цей винахід не обмежений кількістю одного або більше ПМВ, що вводяться (наприклад, що змішуються) до рідини або твердої речовини (наприклад, для видалення цільових сполук). Згідно з деякими з варіантів реалізації, на літр рідини або твердої речовини вводять приблизно 0,10 мг, 0,50 мг, 1,0 мг, 2,0 мг, 5,0 мг, 10,0 мг, 20,0 мг, 50,0 мг, 100,0 мг, 500,0 мг або більше ПМВ.

Згідно з деякими з варіантів реалізації, ПМВ згідно з цим винаходом застосовують у способі видалення токсину, таким як гемоперфузія. Гемоперфузія являє собою методику лікування, при якій більші об'єми крові суб'єкта пропускають через абсорбуючу речовину (наприклад, ПМВ) з метою видалення з крові токсичних речовин.

Звичайно найбільше часто застосовуваними при гемоперфузії сорбентами є смоли та різні форми активованого вугілля або деревного вугілля. Однак специфічність зв'язування в зазначених матеріалів відносно низька, й іноді вони адсорбують важливі компоненти крові поряд з цільовими молекулами. Відповідно, згідно з деякими з варіантів реалізації цього винаходу запропоновані для застосування ПМВ згідно з цим винаходом як більш високоспецифічні та високоафінні сорбенти для цільових молекул.

Гемоперфузію проводять шляхом відкачування крові через артеріальний катетер у колонку або картридж, що містить сорбуючий матеріал (наприклад, згідно з деякими з варіантів реалізації цього винаходу запропонований як застосовуваний сорбуючий матеріал ПМВ згідно з цим винаходом). У міру того, як кров проходить над частинками вуглецю або смоли в колонці, токсичні молекули або частинки притягаються до поверхні частинок сорбенту і затримуються всередині колонки. Кров впливає з іншого кінця колонки і її повертають суб'єктові через трубку, приєднану до венозного катетера. Гемоперфузія здатна очистити від токсинів більший об'єм крові, ніж гемодіаліз або інші способи фільтрації; наприклад, вона здатна обробляти більше 300 мл крові на хвилину.

ПМВ згідно з цим винаходом можна застосовувати для гемоперфузії. Згідно з деякими з варіантів реалізації, ПМВ згідно з цим винаходом застосовують для видалення одного або більше мікотоксинів з крові суб'єкта за допомогою гемоперфузії.

Схеми дозування можна регулювати для одержання оптимальної бажаної реакції (наприклад, терапевтичної або профілактичної реакції) наприклад, тварині можна однократно вводити болюс, що містить ПМВ, кілька окремих доз можна вводити протягом періоду часу, або дозу можна пропорційно зменшувати або збільшувати, як цього вимагає гостра необхідність у терапевтичній ситуації. Вигідно виготовляти парентеральні композиції у вигляді дозованих лікарських одиниць для легкого введення і однакового дозування. Дозування ПМВ згідно з цим винаходом в загальному випадку залежать від (а) унікальних характеристик активної сполуки і конкретної терапевтичної або профілактичної дії, яку необхідно одержати, і (б) обмежень, що існують в галузі складання композицій, таких як активна сполука для лікування чутливості до мікотоксинів у індивідуумів. Доза, що вводиться, буде, безсумнівно, варіювати залежно від відомих факторів, таких як фармакодинамічні характеристики конкретного агента, і його спосіб та шлях введення; вік, стан здоров'я і маса тіла реципієнта; природа і ступінь виразності симптомів, вид одночасного лікування, частота лікування, і бажаний ефект.

ПМВ згідно з цим винаходом можна включати до складу фармацевтичних композицій, що прийнятні для введення суб'єктові. Наприклад, фармацевтична композиція може містити ПМВ і фармацевтично прийнятний носій. У цьому описі "фармацевтично прийнятний носій" включає розчинники, дисперсійні середовища, покриття, антибактеріальні та антигрибкові агенти, ізотонічні агенти і агенти, що сповільнюють абсорбцію, і тому подібно, які фізіологічно сумісні. Приклади фармацевтично прийнятних носіїв включають один або більше з наступних: вода, сольовий розчин, фосфатно-сольовий буферний розчин, декстроза, гліцерин, етанол, і таке

інше, а також комбінації зазначених агентів. У багатьох випадках буде краще включити в композицію ізотонічні агенти, наприклад, цукри, поліспирти, такі як манніт, сорбіт, або хлорид натрію. Фармацевтично прийнятні носії можуть додатково включати малі кількості допоміжних речовин, таких як змочувальні або емульгуючі агенти, консерванти або буферні агенти, які збільшують строк зберігання або ефективність ПМВ.

Згідно з деякими з варіантів реалізації, ПМВ згідно з цим винаходом можна вводити перорально, наприклад, з інертним розріджувачем або із засвоюваним харчовим носієм. Сполука (та інші інгредієнти, за необхідності) можна також помістити у тверду або м'яку желатинову капсулу, спресувати в таблетки, або безпосередньо включити в раціон суб'єкта. Для перорального терапевтичного введення сполуку можна включити в наповнювачі та застосовувати у формі таблеток для проковтування, таблеток для розсмоктування, пастилок, капсул, еліксирів, суспензій, сиропів, облаток, гранул, і таке інше. Для введення сполуки згідно з цим винаходом шляхом, відмінним від парентерального введення, може бути необхідно нанести на сполуку покриття, або вводити сполуку разом з матеріалом, що оберігає сполуку від інактивації.

Додаткові активні сполуки також можна включати в композиції. Згідно з деякими з варіантів реалізації, ПМВ згідно з цим винаходом включають до складу і/або вводять разом з одним або більше додатковими терапевтичними агентами.

Фармацевтичні композиції згідно з цим винаходом можуть містити "терапевтично ефективну кількість" або "профілактично ефективну кількість" ПМВ згідно з цим винаходом. "Терапевтично ефективна кількість" відноситься до кількості, ефективною, у необхідних дозуваннях і протягом необхідного періоду часу, для досягнення бажаного терапевтичного результату. Терапевтично ефективна кількість може змінюватися залежно від таких факторів, як важкість хворобливого стану, вік, стать і маса тіла індивідуума, та здатність наночастинки з відбитками викликати у індивідуума бажану реакцію. Терапевтично ефективна кількість також являє собою кількість, при якій будь-які токсичні або небажані ефекти наночастинки з відбитками переважаються терапевтично цілющими ефектами. "Профілактично ефективна кількість" відноситься до кількості, ефективною, у необхідних дозуваннях і протягом необхідного періоду часу, для досягнення бажаного профілактичного результату. Звичайно, оскільки профілактичну дозу застосовують у суб'єктів до початку захворювання або на ранній стадії захворювання, профілактично ефективна кількість буде меншою, ніж терапевтично ефективна кількість.

Згідно з деякими з варіантів реалізації, при змішуванні з органічною речовиною (наприклад, харчовими продуктами) і/або рідиною (наприклад, водою, вином або іншим напоєм), і/або при безпосередньому прийомі до їжі суб'єктом, композиції згідно з цим винаходом зменшують абсорбцію або усмоктування мікотоксинів суб'єктом (наприклад, завдяки цьому полегшуючи знижену продуктивність, поліпшуючи стан здоров'я і/або зменшуючи частоту пов'язаних з мікотоксинами захворювань або патологічних реакцій у суб'єкта) і зменшують і/або запобігають відкладанню мікотоксинів і/або їх метаболітів у м'ясі, рибі, яйцях, молоці та інших продуктах, призначених для надходження у харчовий ланцюг людини.

Згідно з деякими з варіантів реалізації, цей винахід застосовують для виробництва розділювальних пристроїв (наприклад, у твердофазній екстракції (що скорочено позначається ТФЕ)), які застосовують для видалення твердих або напівтвердих сполук з суміші домішок виходячи з їхніх фізичних і хімічних властивостей, які відрізняються від доступних розділювальних пристроїв, що звичайно застосовуються (наприклад, нормально-фазова, обернено-фазова або іонообмінна твердофазна екстракція). Згідно з деякими з варіантів реалізації, розділювальні пристрої можна включити в картридж, що служить для екстрагування і наступного очищення специфічного відповідного шаблону і аналогів шаблону отриманого ПМВ.

Згідно з деякими з варіантів реалізації, цей винахід може служити для набивання хроматографічної колонки, що застосовується в рідинній хроматографії і забезпечує можливість специфічного елюювання відповідного шаблону та аналогів шаблону застосовуваного ПМВ. Колонки, отримані з використанням ПМВ, забезпечують більш специфічну взаємодію, ніж інші доступні методики та матеріали, відомі в цій галузі техніки (наприклад, нормально-фазові, іонообмінні, обернено-фазові силікагелеві колонки, що містять гідрофобні алкільні ланцюги різного розміру  $-(\text{CH}_2)_n-\text{CH}_3$  де  $n$  рівне 4, 8, 18, без обмеження), які взаємодіють з пептидами і малими молекулами, але більш специфічно спрямовані на відповідний шаблон і аналоги шаблону отриманого ПМВ. Згідно з деякими з варіантів реалізації, для набивання колонки можна застосовувати безліч типів ПМВ, кожний з яких призначений для специфічного мікотоксину або групи мікотоксинів.

Згідно з деякими з варіантів реалізації цього винаходу запропоновані матеріали для поділу і кількісного аналізу мікотоксинів. Цей винахід можна застосовувати для вимірювання



простежуваності корму/харчового матеріалу або джерела рідини з метою вимірювання мікотоксинів, присутніх у зразку і їх порівняння із загальноприйнятою еталонною сполукою (наприклад, стандартним матеріалом мікотоксину, елюйованим з використанням ВЕРХ, комбінованим з УФ-, флуоресцентним детектором або мас-спектрометричними детекторами, і т.д.).

Згідно з деякими з варіантів реалізації простежуваності рівня мікотоксину можна досягти з використанням одного типу ПМВ або безлічі різних типів ПМВ, кожний з яких пристосований до специфічного мікотоксину або групі мікотоксинів і застосований до детектування в матеріалах зразків, що складаються зі зразка корму або їжі (наприклад, зразки зерна (наприклад, кукурудза, пшениця, і т.д.), фрукти (наприклад, яблуко, груші, виноград, і т.д.), кава, чай, какао і т.д.).

Згідно з деякими з варіантів реалізації, прослідковуваність рівня мікотоксину з використанням одного типу ПМВ або безлічі різних типів ПМВ, кожний з яких пристосований до специфічного мікотоксину або групі мікотоксинів, застосовують до аналітичних досліджень (наприклад, ВЕРХ) для визначення, чи присутні мікотоксини у зразку, і якщо присутні, то які мікотоксини та у яких кількостях. Згідно з деякими з варіантів реалізації, аналітичні засоби, що застосовуються для детектування мікотоксинів (наприклад, ВЕРХ), можна застосовувати для пророкування небезпеки забруднення їжі мікотоксином. Згідно з іншими варіантами реалізації, аналітичні засоби, що застосовуються для детектування мікотоксинів, можна застосовувати для визначення який ПМВ або комбінацію ПМВ необхідно застосувати до матеріалу, з якого взятий зразок, для зменшення або видалення присутнього мікотоксину (мікотоксинів).

Згідно з деякими з варіантів реалізації, можливість спостереження за концентрацією мікотоксину з використанням одного типу ПМВ або безлічі різних типів ПМВ, кожний з яких пристосований до специфічного мікотоксину або групи мікотоксинів, застосовують для детектування вмісту мікотоксинів у рідинах, що застосовуються для тваринництва або як напої для споживання тваринами і людиною (наприклад, вода, молоко, соки, вино, пиво, і т.д.).

Згідно з деякими з варіантів реалізації можливість відстеження вмісту мікотоксинів можна застосовувати відносно переробки їжі/корму (переробки м'яса, переробки свіжих продуктів) для дослідження на присутність мікотоксинів під час усього технологічного процесу для визначення, де з'являється джерело забруднення і потрібне відкликання продукції. Штрих-коди та інші засоби відстеження, увесь рух продукту і стадії процесу виробництва повинні бути обладнані відповідними еталонами для забезпечення можливості відстеження зразка, що аналізується.

Згідно з деякими з варіантів реалізації, прослідковуваність концентрації мікотоксинів з використанням одного типу ПМВ або безлічі різних типів ПМВ, кожний з яких пристосований до специфічного мікотоксину або групі мікотоксинів, застосовують до детектування вмісту мікотоксинів у крові. Наприклад, цей винахід можна застосовувати в практиці переливання крові, для полегшення безперервного контрольного обліку, що приймає до уваги місцезонашування кров'яного продукту і поточний статус з точки зору обробки, аналізу, зберігання і т.д., у всіх точках від первинного забору у донора безпосередньо або до переливання реципієнтові, або до закладання на зберігання, через прослідковуваність концентрації мікотоксину.

Згідно з деякими з варіантів реалізації цього винаходу застосовують ПМВ згідно з цим описом в комбінації з одним або більше способами і/або матеріалами згідно з цим описом для застосування у композиціях і/або способах для зменшення, усунення і/або видалення мікотоксинів (наприклад, фізичні, змішані, хімічні, мікробіологічні способи згідно з цим описом (наприклад, для адсорбування і/або секвестрації токсинів)). Наприклад, згідно з деякими з варіантів реалізації, ПМВ згідно з цим описом застосовують з одним або більше фізичними, змішаними, хімічними або мікробіологічними способами секвестрації мікотоксинів. Можна застосовувати ряд фізичних засобів для зменшення присутності мікотоксинів, таких як механічна сепарація (див., наприклад, Dickens J.W., and Whitaker T.B., 1975. Peanut Science, 2: 45-50), розподіл за щільністю (див., наприклад, Huff W.E., and Hagler W.M., 1982. Cereal Chemistry, 59: 152-153), очищення зерна шляхом промивання водою або розчином карбонату натрію для зменшення забруднення кукурудзи (наприклад, токсинами Fusarium) сортування забрудненого зерна (наприклад, шляхом фізичної сепарації або флуоресценції для детектування присутності мікотоксинів), термічної інактивації (див., наприклад, Lee L.S., 1989. Journal of American Oil Chemistry Society, 66: 1398-1413), УФ випромінюванням, рентгенівським випромінюванням або мікрохвильовим випромінюванням (див., наприклад, CAST, 2003. Mycotoxins: Risk in plant, animal, and human systems. // Task Force Report 139 (Niyo K. ed.), Council for Agricultural Science and Technology, Ames, Iowa, USA: pp. 1-199), і екстракцією токсинів розчинником (див., наприклад, Scott P.M., 1998. Review of Veterinary Medicine, 149: 543-548). Для руйнування мікотоксинів у забруднених кормах, особливо афлатоксинів, застосовували різні

хімічні агенти, такі як кислоти, основи (наприклад, аміак, їдкий натр), окиснювачі (наприклад, пероксид водню, озон), відновлювальні агенти (наприклад, бісульфіти), хлоруючі агенти і формальдегід, (див., наприклад, Hagler W.M, Jr., 1991. In *Mycotoxins, Cancer and Health*. (Bray G. and Ryan D. eds.) Louisiana State University Press, Baton Rouge, LN, USA; Phillips T.D., Clement B.A., and Park D.L., 1994. *Approaches to reduction of aflatoxin in foods and feeds*. // *The toxicology of aflatoxins: Human health, veterinary agriculture significance* (Eaton L.D. and Groopman J.D. eds.), Academic Press, New York, NY, USA: pp. 383-406;). Фільтри (наприклад фільтруючі колонії) і аналогічні пристосування можна подібним чином застосовувати для видалення мікотоксинів.

Згідно з цим винаходом також запропоновані системи і способи забезпечення різних аспектів продукту (наприклад, продукти або компоненти продуктів згідно з цим винаходом і/або експлуатація з використанням цього винаходу). Згідно з цим винаходом також запропоновані системи та способи забезпечення продуктів компанії для сторони поза компанією, наприклад, система і спосіб забезпечення покупця або дистриб'ютора продукту продуктом компанії, таким як один або більше ПМВ (наприклад, ПМВ, націлені на специфічні мікотоксини). Наприклад, згідно з деякими з варіантів реалізації цього винаходу запропонована система керування виробництвом, яка може бути окремо або в комбінації з системою простежуваності. Наприклад, зразки матеріалів можна аналізувати для визначення, присутні або відсутні мікотоксини в матеріалі; якщо мікотоксини присутні, можна ідентифікувати специфічні мікотоксини. Отриману інформацію можна використовувати для простежуваності (наприклад, щоб показати відсутність усіх або деяких мікотоксинів). Отриману інформацію також можна використовувати для створення системи керування виробництвом ПМВ, у якій можна створювати специфічні комбінації ПМВ і комбінувати між собою із забезпеченням специфічного націлювання на мікотоксини, присутні в матеріалі зразка.

Згідно з деякими з варіантів реалізації, компанія одержує вхідні дані (наприклад, у вигляді замовлення, інформації або матеріалів (наприклад, біологічного зразка (наприклад, рідкого зразка, у якому передбачається наявність цільових сполук)) від сторони поза компанією (наприклад, дистриб'ютора і/або покупця) у відділ замовлень; і забезпечує результати на виході (наприклад, у вигляді продукту, що доставляється відділом доставки (наприклад, дистриб'юторові і/або покупцеві) або у вигляді звіту даних (наприклад, прослідковуваність у вигляді послуги аналітичної лабораторії)). Згідно з деякими з варіантів реалізації, організовують систему керування виробництвом для оптимізації одержання замовлень і доставки (наприклад, у економічно вигідний спосіб) продуктів (наприклад, композицій, що містять один або більше ПМВ (наприклад, ПМВ, специфічних до мікотоксинів)) в сторону поза компанією; і для одержання платежів за зазначений продукт від зазначеної сторони. Згідно з деякими з варіантів реалізації, організовують систему керування виробництвом для ідентифікації штрих-кодами зразків або матеріалів, прийнятих на аналіз, і доставки (наприклад, у економічно вигідний спосіб) звіту даних (наприклад, рівнів деяких мікотоксинів, які були проаналізовані шляхом застосування ПМВ-ТФЕ або ВЕРХ-колонок, виготовлених з ПМВ (наприклад, ПМВ, специфічних до мікотоксинів)) стороні поза компанією; і для одержання платежів за зазначені послуги від зазначеної сторони.

Згідно з деякими з варіантів реалізації, компанія включає виробництво і адміністрацію. Композиції згідно з цим винаходом можна одержувати на виробництві і/або від третьої сторони, і можна зберігати роздільно в компанії як є, на складі матеріалів і/або на складі інших компонентів (наприклад, складі продуктів), і/або додатково збирати (наприклад, комбінувати (наприклад, один або більше ПМВ можна комбінувати з одним або більше ПМВ інших типів, і/або з іншими компонентами (наприклад, носіями і/або іншими біоактивними компонентами згідно з цим описом))) і зберігати (наприклад, в пристрої і/або на складі продуктів). Згідно з деякими з варіантів реалізації, адміністрація включає інший відділ (наприклад, відділ, що одержує введення у формі замовлення на продукт від покупця і/або дистриб'ютора). Відділ замовлень може потім робити висновок у формі інструкцій відділу перевезень для виконання замовлення (тобто, для відправлення замовлених продуктів покупцеві або дистриб'юторові). Згідно з деякими з варіантів реалізації, відділ перевезень, крім виконання замовлення на продукт або послугу, може також надавати інформацію/дані відділу рахунків. Згідно з деякими з варіантів реалізації, інші компоненти компанії можуть включати відділ обслуговування покупців (наприклад, який може одержувати увід від покупця і/або робити висновок у формі зворотного зв'язку або інформації для покупця, і/або може одержувати увід або робити висновок будь-якому іншому компоненту компанії). Наприклад, відділ обслуговування покупців може також одержувати увід від покупця у формі запитаної технічної інформації, наприклад, для підтвердження, що продукт і способи згідно з цим винаходом можна застосовувати для конкретної потреби покупця, і може робити висновок покупцеві у формі відповіді на запитану

технічну інформацію.

Так, згідно з деякими з варіантів реалізації, компоненти компанії мають структуру, що прийнятна для взаємодії один з одним для полегшення транспортування матеріалів і частин, пристроїв, інших компонентів, продуктів, таблиць та інформації всередині та поза компанією. Наприклад, можна застосовувати фізичний шлях для транспортування продуктів зі складу у відділ перевезення при одержанні відповідного уводу з відділу замовлень, або зі складу зразків в аналітичний відділ при прийманні запиту на терміновий аналіз. Відділ замовлень, для порівняння, може бути зв'язаний електронними засобами з іншими компонентами компанії, наприклад, шляхом комунікаційної мережі (наприклад, комп'ютерної мережі, наприклад інтернет і/або інтрамережа), і може додатково бути організований так, щоб одержувати увід, наприклад, від покупця за допомогою телефонної мережі, за допомогою пошти або іншої служби зв'язку, або через Інтернет.

Згідно з деякими з варіантів реалізації, система керування виробництвом додатково включає одну або більше систем збору даних.

Згідно з деякими з варіантів реалізації, компанія може застосовувати ряд програмних додатків для забезпечення компонентів компанії інформацією і/або для забезпечення частини поза компанією доступу до одного або декількох компонентів компанії (наприклад, доступу у відділ замовлень і/або у відділ обслуговування покупців, і/або сховище даних/склад). Зазначені програмні додатки можуть включати комунікаційну мережу, таку як інтернет, локальну мережу або інтрамережу. Наприклад, у додатку на основі інтернет, покупець може мати доступ до відповідного вебсайту і/або веб-серверу, який співпрацює з відділом замовлень, так що покупець може помістити увід у форму замовлення для відділу замовлень. У відповідь, відділ замовлень може зв'язатися з покупцем для підтвердження, що замовлення було отримано, і додатково зв'язатися з відділом перевезень, зробивши увід, що продукти згідно з цим винаходом (наприклад, композиції, що містять один або більше різних типів ПМВ (наприклад, ПМВ, специфічні до мікотоксинів)) повинні бути відвантажені покупцеві, або з аналітичним відділом, зробивши увід, що слід провести аналізи з використанням продуктів згідно з цим винаходом (наприклад, композицій, що містять один або більше різних типів ПМВ (наприклад, ПМВ, специфічні до мікотоксинів), упакованих у розділювальні пристрої). Так, у описаний спосіб, можна ефективно здійснювати бізнес компанії.

Так, згідно з деякими з варіантів реалізації, у мережній організації, різні підкомпоненти компанії (наприклад, склад, аналітична лабораторія, відділ платежів і відділ перевезень) можуть взаємодіяти між собою за допомогою відповідних комп'ютерних систем. Згідно з деякими з варіантів реалізації цього винаходу, запропоновані способи забезпечення різних аспектів продукту (наприклад, продуктів і/або компонентів продуктів згідно з цим винаходом), а також інформації, що стосується різних аспектів продукту згідно з цим винаходом (наприклад, даних про продуктивність, статистики застосування, і т.д.) частинам (наприклад, покупцям/користувачам, дистриб'юторам, третім особам (наприклад, урядовим агентствам (наприклад, національним установам охорони здоров'я і/або центрам контролю захворювань), і т.д.)). Згідно з деякими з варіантів реалізації, продукт видаляють зі складу продуктів, наприклад, за участі відділу перевезень, і висилають стороні, що запитує, такий як покупець або дистриб'ютор. Звичайно таке перевезення відбувається у відповідь на те, що учасник розмістив замовлення, яке потім обробляють (наприклад, пересилають відповідному учаснику) всередині організації і у результаті учаснику відправляють замовлений продукт або учаснику надають послугу. Дані, що стосуються перевезення продукту або бланків даних аналітичної послуги учаснику, можуть бути передані додатково всередині організації, наприклад, з відділу перевезень або аналітичного відділу у відділ платежів, який, у свою чергу, може вислати рахунок учаснику, або разом з продуктом або даними, або після того, як були вислані продукт або дані. Згідно з цим винаходом також запропоновані способи надання технічного обслуговування учасникам, що використовують продукт і/або компоненти продукту згідно з цим винаходом. Хоча зазначену функцію можуть здійснювати індивідууми, що беруть участь у дослідженні та розробці продукту, запити, пов'язані з технічним обслуговуванням може в загальному випадку обробляти, з'ясовувати і/або направляти адміністративний відділ організації (наприклад, відділ обслуговування покупців). Взаємодія, пов'язана з технічним обслуговуванням (наприклад, вирішення проблем, пов'язаних із застосуванням продукту або окремих компонентів продукту), може вимагати обміну інформацією між користувачем (наприклад, покупцем) і відділом обслуговування покупців.

Як відзначено вище, будь-яке число варіантів способу забезпечення продуктів (наприклад, продуктів і/або компонентів продуктів згідно з цим описом) і/або послуг користувачеві можливе, і зазначене будь-яке число варіантів входить в обсяг цього винаходу. Отже, цей винахід включає

способи (наприклад, способи комерційної діяльності), які торкаються (1) виробництво продуктів (наприклад, продукту і/або компонентів продукту згідно з цим описом); (2) одержання замовлень на зазначені продукти; (3) відправлення продуктів учасникам, що розмістили зазначені замовлення; (4) відправлення рахунків учасникам, зобов'язаним оплатити відправлені їм продукти; і/або (5) одержання платежів за продукти, відправлені учасникам. Наприклад, запропоновані способи, що включають дві або більше з наступних стадій: (а) одержання частин, матеріалів і/або компонентів від постачальника; (b) одержання одного або більше перших продуктів (наприклад, одного або більше компонентів згідно з цим описом (наприклад, шаблону ПМВ згідно з цим описом і/або одного або більше типів ПМВ, отриманих з використанням шаблону ПМВ)); (с) зберігання одного або більше перших продуктів, отриманих на стадії (b); (d) комбінування одного або більше перших продуктів, отриманих на стадії (b), з одним або більше іншими компонентами для одержання одного або більше других продуктів (наприклад, композиції, що містить два або більше різних типів ПМВ); (е) зберігання одного або більше перших продуктів, отриманих на стадії (b), або одного або більше других продуктів, отриманих на стадії (d); (f) одержання замовлення на перший продукт стадії (b) або на другий продукт стадії (d); (g) відправлення або першого продукту стадії (b), або другого продукту стадії (d) учаснику, що розмістив замовлення на стадії (f); (h) відстеження даних, що стосуються суми грошей, належних від учасника, якому відправлений продукт на стадії (g); (i) відправлення рахунка учаснику, якому відправлений продукт на стадії (g); (j) одержання платежу за продукт, відправлений на стадії (g) (звичайно, але не обов'язково, платіж здійснює учасник, якому був відправлений продукт на стадії (g)); і (k) обмін технічною інформацією між організацією і учасником, що володіє продуктом, відправленим на стадії (d) (звичайно, учасником, якому був відправлений продукт на стадії (g)).

Покупець може виявити бажання купити один або безліч різних типів ПМВ. Згідно з деякими з варіантів реалізації, композиція, що містить безліч різних типів ПМВ, виготовляється за вимогами покупця (наприклад, на основі інформації, що стосується наявності одного або більше типів цільових сполук, які необхідно видалити/відокремити). Перевагою зазначеного варіанта є те, що покупець може пристосувати конкретний продукт до своїх потреб (наприклад, купити композицію, що містить безліч різних типів ПМВ, специфічних для кожної з цільових сполук, а не купувати окремо композиції, що містять тільки один тип ПМВ, а потім застосовувати кожну із зазначених композицій у комбінації одна з одною).

Згідно з цим винаходом додатково запропоновані способи, пов'язані з розробкою продуктів на замовлення. Зазначені способи включають, наприклад, (1) одержання замовлення від замовника на продукт зі специфічними підкомпонентами і/або методику експлуатації зазначеного продукту, (2) одержання продукту зі специфічними підкомпонентами і/або методики експлуатації зазначеного продукту, (3) і надання (наприклад, відправлення) продукту (b) замовникові.

#### ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

Наступні приклади представлені для демонстрації і додаткової ілюстрації деяких кращих варіантів реалізації та аспектів цього винаходу, і не повинні розглядатися як обмежуючі обсяг цього винаходу.

##### Приклад 1

##### Синтез шаблону охратоксину А

Одержання 2-ацетокси-3,5-дихлорбензойної кислоти. Круглодонну трьохгорлу колбу об'ємом 1 л, обладнану механічною мішалкою, термометром і краплинною лійкою об'ємом 125 мл з вирівнюванням тиску поміщали на водяну баню, температуру якої підтримували рівною 65 °С. Наступні реагенти послідовно вводили в колбу при ефективному перемішуванні: 250 мл сухого толуолу, 2,5 мл концентрованої сірчаної кислоти і 207 г добре здрібною твердої 3,5-дихлорсаліцилової кислоти, яка утворювала рухливу суспензію. Коли температура при постійному перемішуванні досягала 60 °С (підтримували температуру у водній бані 65 °С), починали додавати по краплях 108 г (100 мл) оцтового ангідриду, і завершували додавання протягом 30 хвилин. У процесі додавання оцтового ангідриду температурі реакційної суміші не дозволяли перевищувати 75 °С. Після завершення додавання суміш перемішували і нагрівали до 70 °С протягом ще 4 годин. Після зазначеного часу перемішування зупиняли і прохолоджували реакційну суміш протягом ночі до кімнатної температури. Білі кристали, відділені від суміші, відфільтровували, промивали 2 × 10 мл крижаного толуолу та сушили у вакуумі при 50 °С, одержуючи 206 г (вихід 82,7 %) 2-ацетокси-3,5-дихлорбензойної кислоти. Додатково 30,6 г продукту (вихід 12,3 %) виділяли шляхом концентрування фільтрату до ½ початкового об'єму, охолодження розчину на льодоводяній бані, відфільтрування кристалічного продукту і сушіння у вакуумі при 50 °С.

Одержання *in situ* хлориду 2-ацетокси-3,5-дихлорбензойної кислоти і його застосування для одержання етилового ефіру N-(2-ацетокси-3,5-дихлорбензоїл)-L-фенілаланіну (для безпеки персоналу процес проводили у витяжній шафі).

Систему для одержання збирали з реактора об'ємом 3 л, обладнаного ефективною механічною мішалкою (Ace Glass Inc, Louisville, KY, cat#13650-12/23), краплинною лієюю об'ємом 250 мл, зворотним холодильником з осушувальною трубкою, наповненою  $\text{CaCl}_2$ , з виводом, приєднаним до поглинача кислих пар, введенням сухого азоту і термометром, поміщеного на водяну баню з температурою 22 °С. Один літр сухого толуолу, 5 мл диметилформаміду і 103 г 2-ацетокси-3,5-дихлорбензойної кислоти поміщали в реактор при перемішуванні. По краплях додавали до реакційної суміші 217 мл (1,05 екв.) 2 М розчину оксалілхлориду в метилendioхлориді при перемішуванні протягом 2,5 год. Потік суміші токсичних газів:  $\text{HCl}$ ,  $\text{CO}$  і  $\text{CO}_2$ , що одержується у реакції, поглинали в 1 л 10 % розчину гідроксида натрію, поміщеного в уловлювач, що охолоджується водопровідною водою. Після закінчення додавання оксалілхлориду, що супроводжувалося повним розчиненням твердих речовин, пропускали сильний потік сухого азоту через розчин протягом 1 години для видалення більшої частини кислих газів ( $\text{HCl}$ ,  $\text{CO}_2$ ), які залишалися розчиненими в реакційній суміші. Після зазначеного часу вміст колби прохолоджували нижче 15 °С на льодоводяній бані і додавали до суміші 95 г (1,0 екв.) твердого етилового ефіру L-фенілаланіну гідрохлориду. Встановлювали нову краплинну лієюю об'ємом 500 мл замість лійки об'ємом 250 мл, і наповнювали лієюю розчином 145 мл триетиламіну (2,55 екв.) у 350 мл толуолу. Потім додавали розчин триетиламіну протягом 2 годин в охолоджену на льодоводяній бані реакційну суміш при перемішуванні. У процесі додавання температуру реакційної суміші підтримували нижче 25 °С. Зазначену температуру підтримували протягом 4 год. після закінчення додавання триетиламіну, потім відфільтровували гідрохлорид триетиламіну і промивали білий осад на фільтрі двома порціями по 100 мл толуолу. Потім фільтрат переносили в ділільну лієюю об'ємом 3 л і промивали двома порціями по 500 мл води та однією порцією 500 мл розчину солі. Потім толуольний шар концентрували до об'єму 500 мл і залишали протягом ночі в холодильнику для кристалізації. Білі кристали збирали на фільтрі та промивали один раз 100 мл крижаного толуолу, одержуючи 108,7 г (вихід 62 %) етилового ефіру N-(2-ацетокси-3,5-дихлорбензоїл)-L-фенілаланіну.

$^1\text{H}$  ЯМР (дейтерований хлороформ (що скорочено позначається  $\text{CDCl}_3$ ), м.д.): 7,78 д, J 2,8, 1H; 7,55 д, J 2,4, 1H; 7,30 – 7,27 м, 3H; 7,11 ушир. д, J 8,0, 1H; 7,08 дкв, J 8,0 і 1,6, 1H; 4,99 кв, J 6,0, 1H; 4,24 кв, J 7,0, 2H; 3,29 дд, J 5,6 і 14,4, 1H; 3,21 дд, J 9,2 і 14,0, 1H; 2,11 с, 3H; 1,31 т, J 7,2, 3H.

Одержання N-(3,5-дихлор-2-гідроксибензоїл)-L-фенілаланіну (шаблон ОТА). Сто вісім грам етилового ефіру N-(2-ацетокси-3,5-дихлорбензоїл)-L-фенілаланіну розчиняли в 1 л безводного етилового спирту і поміщали в круглодонну колбу об'ємом 2 л, обладнану магнітною мішалкою і поміщену на водяну баню при кімнатній температурі. В отриману суміш додавали за одне приймання розчин 33,33 г гідроксиду натрію в 37,2 мл води, і перемішували суміш при кімнатній температурі протягом 17 год. (протягом ночі). Потім при перемішуванні додавали 68,6 мл концентрованої соляної кислоти, і продовжували перемішування ще протягом 2 год. Хлорид натрію, що випав в осад, відфільтровували і випарювали фільтрат досуха при 60 °С и тиску 30 тор. Отриманий залишок масою 88,9 г (вихід 98 %) тверднув після охолодження з утворенням безбарвного склоподібного продукту, добре розчинного в толуолі або ацетонітрилі, у такий спосіб одержували шаблон ОТА (наприклад, для застосування при одержанні ПМВ-ОТА). МС:  $\text{M}^+ 354$  і  $356$   $^1\text{H}$  ЯМР ( $\text{CDCl}_3$ , м.д.): 12,2 дуже широкий с, 1H; 7,49 д, J 2,4, 1H; 7,35 – 7,28 м, 3H; 7,20 д, J 2,0, 1H; 7,18 – 7,16 м, 2H; 6,80 уш. д, J 6,4, 1H; 6,4 дуже широкий с, 1H; 5,07 дд, 5,2 і 5,2, 1H; 3,34 дд, J 14,0 і 5,2, 1H; 3,27 дд, J 13,6 і 5,2, 1H.

#### Приклад 2

##### Синтез ПМВ-ОТА в суміші толуол-циклогексан

П'ятсот мілілітрів толуолу, 35,42 г (0,1 М) шаблону ОТА, 16,18 мл (0,15 М) 2-вінілпіридину, 12,13 мл (0,1 М) 2-гідроксиетилметакрилату, 235,75 мол (1,25 М) етиленгліколю диметакрилату і 2,46 г (15 мМ) азобісізобутиронітрилу (АІБН) поміщали в чотирьохгорлу колбу об'ємом 3 л, обладнану механічною мішалкою, зворотним холодильником, термометром і введенням/виведенням азоту. Отриманий прозорий розчин перемішували протягом 1 год. при кімнатній температурі та постійному потоці азоту, що пропускається через посудину (наприклад, для видалення кисню, який може інгібувати полімеризацію). Потім колбу нагрівали до 60 °С та інтенсивно перемішували суміш. Полімеризація відбувалася, коли температура розчину підвищувалася до  $\square 55$  °С (наприклад, спостерігали по збільшенню в'язкості розчину). Через п'ятдесят хвилин від початку полімеризації додавали за одне приймання 600 мл (1:1) суміші циклогексан/толуол, щоб сприяти відділенню сферичних частинок полімеру від розчину.

- Продовжували енергійне перемішування суміші і додавали ще 500 мл толуолу через 30 хв для поліпшення загального перемішування об'єму суспензії твердого ПМВ, який ще збільшується, у відносно низькому об'ємі розчинника. Підтримували температуру 60 °С і здійснювали перемішування ще протягом 5 год., після чого перемішування зупиняли, щоб дати можливість осісти сферичним частинкам ПМВ. Надосадову рідину декантували і переносили гранули в колбу ротаційного випарника об'ємом 2 л для видалення розчинників, що залишилися, зі сферичних частинок ПМВ при температурі 40 °С і зниженому тиску 30 тор. Висушені сферичні частинки подрібнювали приблизно до розміру 140 меш і промивали 5 разів шляхом перемішування з 1,5 л 0,2 % мас./об. розчину гідроксиду натрію протягом 30 хв і декантації.
- Кінцеву порцію сферичних частинок ПМВ-ОТА змішували з 1,5 л 0,5 % об./об. розчину оцтової кислоти, який також декантували, і 1,5 л деіонізованої води. Отримані вологі сфери ПМВ-ОТА (□1,0 л об'ємом), що не містять шаблон, сушили в лабораторній печі при 80 °С протягом 4 год., на чотирьох скляних лотках. Отриманий порошкоподібний ПМВ-ОТА важив 248 г (вихід 93 %). Різні зразки, показані в Таблиці 1 нижче, синтезували з використанням описаного способу.
- Для цієї та наступних методик синтезу інігібітори полімеризації видаляли з мономерів агентів, що зшивають, шляхом вакуумної перегонки, перед застосуванням для полімеризації, а розчинники, що застосовуються для полімеризації, мали чистоту, яка відповідає стандарту ACS. Концентрацію шаблону при наступних промиваннях одержували шляхом порівняння інтенсивності червоно-помаранчевого офарблення комплексу шаблону з  $\text{Fe}^{3+}$  при довжині хвилі  $\lambda_{\text{max}}$  385 нм по каліброваній кривій, побудованій для концентрацій шаблону від 10 мкг/мл до 1 мг/мл.

Таблиця 1

## Ідентифікація зразків, синтезованих у суміші толуол/циклогексан

Номер зразка	Толуол-Циклогексан (мл)	Останнє промивання	Морфологія
523-29/30	45/15	Етанол	Сфери, білий порошок
523-31	65/15	Етанол	Сфери, білий порошок
523-34	65/35	Етанол/ NaOH	Сфери, білий порошок
523-35	55/22	Етанол/ $\text{NEt}_3/\text{H}_2\text{O}$	Білий порошок, згустки
523-36	90/30	NaOH/ $\text{H}_2\text{O}$	Білі згустки

## Приклад 3

## Синтез ПМВ ОТА в ацетонітрилі

- П'ятсот мілілітрів ацетонітрилу, 17,71 г (50 мМ) шаблону ОТА, 8,1 мл (75 мМ) 2-вінілпіридину, 6,1 мл (50 мМ) 2-гідроксиетилметакрилату, 117,9 мл (625 мМ) етиленгліколю диметакрилату і 1,23 г (15 мМ) АІБН поміщали в чотирьохгорлу колбу об'ємом 3 л, що нагрівається електричним нагрівальним кожухом, обладнану механічною мішалкою, краплинною лійкою об'ємом 500 мл з вирівнюванням тиску, термометром і введенням/виведенням азоту. Отриманий прозорий розчин перемішували протягом 1 год. при кімнатній температурі та постійному потоці азоту, що пропускається через посудину (наприклад, для видалення кисню, який може інігувати полімеризацію). Потім колбу нагрівали до 60 °С та інтенсивно перемішували суміш. Полімеризація відбувалася, коли температура розчину підвищувалася до □55 °С (наприклад, спостерігали по збільшенню в'язкості розчину). Через тридцять хвилин після початку полімеризації (наприклад, при спостережуваному утворенні гелю) швидко додавали 1,5 л ацетонітрилу (попередньо нагрітого до 55 °С і продутого азотом для видалення кисню), трьома частинами по 500 мл через краплинну лійку, щоб уникнути утворення блоку полімера і сприяти відділенню полімерних сфер від розчину. Інтенсивне перемішування та нагрівання суміші продовжували ще протягом 17 годин (протягом ночі). Після цього нагрівання і перемішування відключали та дозволяли сферам ПМВ осісти. Надосадову рідину декантували і переносили гранули в колбу ротаційного випарника об'ємом 2 л для видалення розчинників, що залишилися, зі сферичних частинок ПМВ при температурі 40 °С і зниженому тиску 30 тор. Висушені сферичні частинки подрібнювали приблизно до розміру 140 меш і промивали 5 разів шляхом перемішування з 1,5 л 0,2 % мас./об. розчину гідроксиду натрію протягом 30 хв і декантації. Кінцеву порцію сферичних частинок ПМВ-ОТА змішували з 1,5 л 0,5 % об./об. розчину оцтової кислоти, який також декантували, і 1,5 л деіонізованої води. Отримані вологі сфери ПМВ-ОТА (□1,2 л об'ємом), що не містять шаблон, сушили в лабораторній печі при 80 °С протягом 6 год., на чотирьох скляних лотках. Білий

порошкоподібний ПМВ-ОТА масою 115 г (вихід 86,2 %). Різні зразки, показані в Таблиці 2 нижче, синтезували із застосуванням описаного способу.

Таблиця 2

Ідентифікація зразків, синтезованих в ацетонітрилі

Номер зразка	Ацетонітрил (мл)	Останнє промивання*	Морфологія
523-48	100 (+ толуол 50 мл)	NaOH	Сфери/згустки, жовтий
523-49	50 (+ вода 150 мл)	NaOH	Сфери, жовтий/жовтогарячий
523-59	225 мл	NaOH	Сфери, білий
523-60	190 м	NaOH	Сфери, білий

\* після 4х промивань 0,2 % NaOH, 1х промивання 1 % AcOH, після чого промивання 1х H<sub>2</sub>O.

#### 5 Приклад 4

Великомасштабний синтез ПМВ-ОТА в толуолі

Синтез проводили в реакторі об'ємом 3 л з чотирьохгорлою кришкою, обладнаному механічною мішалкою з двома пропелерами, установленими на дні і на половині висоти, кожухом з електричним підігрівом, термометром, краплинною лійкою об'ємом 1,5 л з вирівнюванням тиску і введенням азоту, та зворотним холодильником, обладнаним бульбашковим лічильником для контролю потоку азоту. У реактор поміщали наступні реагенти: 54,54 г (154 мМ) N-(3,5-дихлор-2-гідроксибензоїл)-L-фенілаланіну (шаблон ОТА), 25 мл (231 мМ) 2-вінілпіридину, 18,7 мл (154,0 мМ) етиленгліколю монометакрилату, 363 г (1,925 М) етиленгліколю диметакрилату, 770 мл толуолу і 5,0 г (30,8 мМ) АІБН. Додатково 1,5 л толуолу поміщали в краплинну лійку. Реакційну суміш інтенсивно перемішували і видаляли розчинений газ, пропускаючи сильний потік азоту при кімнатній температурі протягом 45 хв, спочатку через толуол, поміщений у краплинну лійку, а пізніше через порожній об'єм реактора. Слабкий потік азоту підтримували протягом усього часу полімеризації. Полімеризацію ініціювали нагріванням реакційної суміші до 55 °С. Через 15 хв в'язкість реакційної суміші збільшувалася і перемішування ставало менш ефективним. У цей момент вводили через краплинну лійку додатковий об'єм толуолу (при кімнатній температурі). Додавання робили досить швидко, щоб запобігти перегріву реакційної суміші через екзотермічні властивості реакції, і підтримувати в'язкість реакційної суміші досить низькою для можливості ефективного перемішування під час утворення і відділення сфер полімеру. Температуру 60 – 70 °С і перемішування продовжували протягом наступних 5 годин, а потім залишали суміш без перемішування при кімнатній температурі до наступного дня. Потім шар толуолу об'ємом 1,75 л декантували з частинок ПМВ, змочені толуолом частинки ПМВ подрібнювали і переносили в колбу ротаційного випарника об'ємом 2,0 л. Відганяли зі сфер ПМВ більшу частину толуолу (~0,45 л), захопленого всередині частинок ПМВ, при злегка зниженому тиску і температурі нижче 70 °С. Наприкінці видалення толуолу порошкоподібний продукт, що утворюється, виявляв тенденцію до утворення пилу. У цей момент випарювання припиняли і частинки ПМВ промивали 2 порціями етанолу по 500 мл кожна. Потім з твердої речовини декантували близько 0,75 л етанолу і випарювали, одержуючи 30 г (55 %) регенованого шаблону ОТА та 700 мл регенованого етанолу. Потім дрібнодисперсну білу тверду речовину промивали 4 рази порціями по 0,5 л 0,2 % мас./об. розчину NaOH, з наступним одним промиванням 500 мл 1 % об./об. оцтової кислоти та однієї порції 500 мл ДІ води. Отриманий "вологий" ПМВ-ОТА потім сушили протягом 24 год. у лабораторній печі при 80 °С. Одержували білий порошкоподібний продукт масою 411,4 г (вихід 96,6 %) і фракціонували з використанням стандартних сит. Описану методику застосовували для синтезу різних зразків, зазначених у Таблиці 3. Докладні дані про розподіл за розміром представлено в Таблиці 4.

Таблиця 2

Ідентифікація зразків, синтезованих у толуолі або полівініловому спирті  
(що скорочено позначається ПВС)

Номер зразка	Толуол або ПВС (мл)	Кінцеве промивання	Морфологія
514-37/39	150 мл толуолу	NaOH*	Сфери/згустки, білий
523-40	5 мл ПВС +100 мл води	NaOH*	Сфери/згустки, білий
514-41	5 мл ПВС+ 50 мл води	NaOH*	Сфери/згустки, білий
514-42/44	388+776 мл толуолу	NaOH*	Сфери/згустки, білий

\* 4х промивання 0,2 % NaOH, 1х промивання 1 % AcOH, після чого промивання 1х водою.

Таблиця 3

Розподіл за розміром отриманого ПМВ-ОТА

Розмір фракції	Маса фракції (г)	Мас. % ПМВ-ОТА
>106 мкм	212,81	51,8
45 мкм – 106 мкм	127,72	31,1
20 мкм – 45 мкм	56,97	13,9
<20 мкм	13,28	3,2

#### Приклад 5

5 Полімеризація/синтез ПМВ-ОТА і ПБО, що ініціюється УФ при низькій температурі.

Установка для фотохімічних реакцій. Кварц, заглибне фотохімічне джерело УФ (Ace Glass, Catalogue # 7856-10), обладнане УФ лампою 450 Вт (ACE Glass, Catalogue #7825-34) і джерелом живлення 450 Вт у корпусі (ACE Glass, Catalogue #7830-58), приєднане до циркуляційного охолоджувача WKL 230 LAUDA (що поставляється Brinkmann Instruments, Inc.) і воді, що проохолоджує, з температурою 4 °C, що протікає крізь кожух джерела під час роботи УФ лампи.

10

Полімеризація (Таблиця 5). Мономери, шаблон, ініціатор (АІБН) і агент, що зшиває, поміщали в прозору поліетиленову пляшку (Nalgene® style 2105) і пропускали через отриману суміш потік аргону протягом 15 хв для видалення всього кисню, який, як відомо, інгібує вільнорадикальну полімеризацію. Потім пляшку закривали і приєднували до заглибного джерела, на рівні центру УФ лампи, і разом з установкою для фотохімічної реакції занурювали в льодоводяну баню. Через кожух лампи пропускали охолоджувальну воду, потім увімкнули світло і робили опромінення реакційної суміші протягом чотирьох годин (необхідні окуляри, що захищають від УФ, протягом усього часу роботи УФ лампи). Додавали додатковий лід і зливали надлишок води з бані протягом усієї УФ полімеризації, для підтримки температури охолодної бані 4 °C. Після завершення полімеризації пляшку відкривали, полімер розбивали і подрібнювали на дрібні шматки, які промивали: один раз етанолом, десять разів 0,2 % розчином гідроксиду натрію, один раз 1 % розчином оцтової кислоти і три рази етанолом, для видалення шаблону з полімеру і забезпечення максимальної активності ПМВ, який наприкінці сушили в лабораторній печі для видалення залишків етанолу. Виходи ПМВ-ОТА становили 56,7 % і 49 % відповідно для #555-54A і 555-54B.

15

20

25

Таблиця 4

Ідентифікація зразків ПМВ-ОТА, синтезованих  
з використанням низької температури й УФ випромінювання

ПМВ-ОТА	Стирол (мМ)	2-вінілпіридин (мМ)	Етиленгліколю монометакрилат (мМ)	Етиленгліколю диметакрилат (мМ)	АІБН (мМ)	Шаблон ОТА (мМ)
555-54A	10,73	-	7,16	89,5	1,07	7,16
555-54B	-	10,73	7,16	89,5	1,07	7,16



## Приклад 6

Секвестраційна здатність ПМВ у відношенні мікотоксинів – стосовно до ОТА

Полімери ПМВ, отримані в толуолі-циклогексані, ацетонітрилі або толуолі, випробовували у відношенні до мікотоксину ОТА (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) для видалення мікотоксину ОТА з рідкого або напіврідкого середовища за допомогою хімічної взаємодії. Отримані ПМВ застосовували, щоб показати відмінності в афінності секвестрації мікотоксину ОТА і щоб оцінити специфічність матеріалу. ПМВ в кількості 12,5 г поміщали в прилад для ультрацентрифужного фільтрування Amicon (5000 Да). Препарат готували разом з нульовим зразком, що не містить матеріалу ПМВ, і з позитивним контролем, що містить тільки токсин ОТА, що тестується. Випробування секвестрації проводили в цитратному буферному розчині 50 мМ, доведеному до рН 4,0. Усі зразки інкубували протягом 90 хв в орбітальному ротаційному шейкері (Brunswick, Champaign, IL, USA) при 150 об/хв, температуру підтримували 37 °С. У системі випробовували три кінцеві концентрації ОТА, 50, 100, 250 частин на мільярд (млрд<sup>-1</sup>) у кінцевому об'ємі 12,5 мл. Після інкубування мікроцентрифужні пробірки центрифугували при 10000 об/хв протягом 10 хв. Надосадову рідину збирали в силанізовані віали для ВЕРХ із жовтого скла, охороняючи від будь-якої взаємодії мікотоксину з віалюю, і розраховували за даними ВЕРХ (Alliance, Waters Corp., Milford, MA, USA) у комбінації сигналів флуориметричного і діодно-матричного детекторів (наприклад, для детектування кількості мікотоксину і секвестрованого мікотоксину) згідно зі стандартними способами (див., наприклад, Entwistle A.C., Williams A.C., Mann P.J., Slack P.T., Gilbert J., 1995. Liquid chromatography method with immunoaffinity column cleanup for determination of ochratoxin A in barley: Collaborative study. Journal of AOAC, 83: 1377-1383).

Результати (див. Таблицю 5) показали, що обидва полімери, ПМВ, отриманий з шаблоном ОТА, і без шаблону (ПБВ – полімер без відбитків) у концентрації 1,00 г/л мали дуже високу спорідненість до молекули мікотоксину ОТА при рН 4,0. Згідно зі способом одержання, ПМВ, отриманий після полімеризації осадженням (позначений як # 523-31 синтезований у толуолі, # 523-34, -35, -36 синтезовані в суміші толуол-циклогексан; і # 523-48 синтезований у суміші толуол-ацетонітрил) мали ефективність секвестрації вище 98,8 %, тоді як ПМВ, отриманий після емульсійної полімеризації (позначений як # 523-40 і -41 синтезовані у воді та полівінілового спирту; і 49 синтезований в ацетонітрилі) мали більш низьку афінність, нижче 63 %. Молекула ПБВ також здатна взаємодіяти з ефективністю секвестрації 98,8 %. На зазначеній стадії група полімеризації осадженням не показала статистичних відмінностей між ПБВ і ПМВ, тоді як група емульсійної полімеризації показала значні відмінності між ПМВ і ПБВ, а також між ПМВ.

Дві послідовні стадії промивання 15 % етанолом/гідроксидом натрію, 1 % розчином оцтової кислоти, застосовували для оцінки здатності двох груп ПМВ запобігати взаємодії і для оцінки сили секвестрації (див. Таблицю 6). Група емульсійної полімеризації показала сильне виділення ОТА з ПМВ, а також виділення шаблону ОТА, що залишився, який елюється разом з мікотоксином ОТА, згідно з негативним відсотком поглинання. Відповідно, згідно з цим винаходом запропоновано, що методика емульсійної полімеризації не прийнятна для створення ефективного адсорбенту молекул ОТА. Згідно з цим винаходом також запропоновано, що група полімеризації осадженням має значно більш високу афінність до ОТА, дозволяючи максимально десорбуватися тільки 26,3 % молекул ОТА з ПМВ, синтезованого в суміші толуолу-ацетонітрилу, без якої-небудь взаємодії з шаблоном, що залишився.

Таблиця 5

Активність секвестрації ПМВ і ПБВ, синтезованих у толуолі, ацетонітрилі та суміші толуол-циклогексан у відношенні охратоксину А, і стабільність взаємодії після двох послідовних промивань 15 % етанолом/гідроксидом натрію

Номер зразка	Середнє ще адсорбоване (%)			Середнє десорбоване (%)		
	Вихідний	1-е промивання	2-е промивання	Вихідний	1-е промивання	2-е промивання
ПБВ 523-31 <sup>#</sup>	98,84	92,52	86,66	1,162	7,478	13,342
ПМВ 523-34 <sup>#</sup>	98,95	93,05	89,50	1,048	6,955	10,500
ПБВ 523-35 <sup>#</sup>	99,04	90,60	86,09	0,963	9,397	13,915
ПМВ 523-36 <sup>#</sup>	99,00	86,76	82,83	1,000	13,238	17,175
ПМВ 523-48 <sup>#</sup>	99,73	85,76	73,71	0,273	14,242	26,293

<sup>#</sup> полімеризація осадженням

## Приклад 7

Титрування кількості ПМВ для секвестрації охратоксину А

Дослід по титруванню проводили для вивчення відносин включення ПМВ, від 0,01 г/л до 1,00 г/л (або від 0,001 до 0,1 % відношення включення). Препарат готували разом з нульовим зразком, що не містить ПМВ, і позитивним контролем, що містить тільки досліджуваний токсин ОТА. Випробування на секвестрацію проводили в цитратному буферному розчині 50 мМ, доведеному до рН 4,0. Усі зразки інкубували протягом 90 хв на орбітальному ротаційному шейкері (Brunswick, Champaign, IL, USA) при 150 об/хв, температуру підтримували 37 °С. У системі випробовували три кінцеві концентрації ОТА, 50, 100, 250 частин на мільярд (млрд<sup>-1</sup>) у кінцевому об'ємі 12,5 мл. Після інкубування мікроцентрифужні пробірки центрифугували при 10000 об/хв протягом 10 хв. Надосадову рідину збирали в силанізовані віали для ВЕРХ з жовтого скла, охороняючи від будь-якої взаємодії мікотоксину з віалюю, і розраховували за даними ВЕРХ (Alliance, Waters Corp., Milford, MA, USA) у комбінації сигналів флуориметричного й діодно-матричного детекторів (наприклад, для детектування кількості мікотоксину і секвестрованого мікотоксину) згідно зі стандартними способами (див., наприклад, Entwistle et al., 2000 як зазначено раніше).

Як показано на Фігурі 3, при 0,05 г/л оптимальна ефективність була вище 80 % величини секвестрації і досягала в середньому 86,4±1,5 % секвестрації. Вплив рівня включення сполук ПМВ оцінювали, вивчаючи секвестраційну активність для 0,010, 0,025, 0,050, 0,075, 0,100, 0,50 і 1,00 г/л ПМВ #523-34 (синтезованого в суміші толуол-циклогексан) і #523-60 (синтезованого в ацетонітрилі) у відношенні 50, 100, 200 млрд<sup>-1</sup> ОТА в умовах кислотного буферного розчину (рН 4,0). Розмір частинок ПМВ становив від 45 до 106 мкм, оскільки зазначена фракція показала найкращий результат секвестрування і представлена найбільшою часткою розмірів частинок у сумі синтезованого продукту ПМВ.

Кожний ПМВ, #523-34 і #523-60, був здатний адсорбувати 91,53±10,86 і 81,75±23,67 % ОТА, відповідно, як середнє по всьому секвеструванню незалежно від рівня включення. Точка відхилення була виявлена на секвестраційній кривій для рівнів включення ПМВ 0,05 і 0,10 г/л відповідно для зразків #523-34 і #523-60. Середня спорідненість секвестрації для включення від 0,05 до 1,00 і від 0,10 до 1,00 г/л для #523-34 становила 96,31±2,23 і 97,39±0,70 % відповідно. Середня спорідненість секвестрації для включення від 0,05 до 1,00 г/л і від 0,10 до 1,00 г/л для #523-60 становила 94,51±6,54 і 97,76±0,91 % відповідно. Таким чином, згідно з цим винаходом запропоновано, що ПМВ, синтезований у суміші толуол-циклогексан був кращим через високий рівень афінності при секвестрації ОТА для включення 0,01 г/л з відношенням афінності 72,42±2,58 %, тоді як зразок, отриманий в ацетонітрилі, був менш ефективний з відношенням афінності 47,40±6,08 і 84,77±1,96 відповідно при включенні продукту 0,01 і 0,05 г/л.

## Приклад 8

Афінність різних ПМВ і ПБВ та характеристика специфічності до охратоксину А

При розробці варіантів реалізації цього винаходу проводили експерименти для оцінки афінності різних ПМВ/ПБВ, синтезованих в ацетонітрилі або в толуолі, як розчинників для полімеризації. Зразки #523-31 (толуол) і #523-59 (ацетонітрил) синтезували без якого-небудь шаблону ОТА (визначені як полімер без відбитків), а зразки #523-34 (суміш толуол-циклогексан) і #523-60 (ацетонітрил) полімеризували на шаблоні-аналозі ОТА. Потім зразки просівали з використанням сит з різною границею пропускання за розміром. Випробувані діапазони розмірів частинок були описано в Прикладі 4. Одержання ПМВ в основному приводило до одержання частинок розміром приблизно від 45 до 106 мкм у діаметрі (як показано на Фігурі 4). Препарат готували разом з нульовим зразком, що не містить матеріалу ПМВ, і позитивним контролем, що містить тільки досліджуваний токсин ОТА. Випробування на секвестрацію проводили в цитратному буферному розчині 50 мМ, доведеному до рН 4,0. Усі зразки інкубували протягом 90 хв в орбітальному ротаційному шейкері (Brunswick, Champaign, IL, USA) при 150 об/хв, температуру підтримували 37 °С. У системі випробовували три кінцеві концентрації ОТА, 50, 100, 250 частин на мільярд (млрд<sup>-1</sup>) у кінцевому об'ємі 12,5 мл. Після інкубування мікроцентрифужні пробірки центрифугували при 10000 об/хв протягом 10 хв. Надосадову рідину збирали в силанізовані віали для ВЕРХ з жовтого скла, охороняючи від будь-якої взаємодії мікотоксину з віалюю, і розраховували за даними ВЕРХ (Alliance, Waters Corp., Milford, MA, USA) у комбінації сигналів флуориметричного і діодно-матричного детекторів (наприклад, для детектування кількості мікотоксину і секвестрованого мікотоксину).

Порівняння афінності до ОТА показало тільки обмежені відмінності в одному акті секвестрації без наступних стадій промивання при трьох різних концентраціях токсину (50, 100, 250 млрд<sup>-1</sup>). Тільки зразок #523-59, виготовлений з ПБВ без просівання, показав більш низькі секвестраційні здатності при будь-яких рН і концентрації ОТА. Більш низькі значення

секвестрації були також виявлені для зразка ПМВ #523-34 при концентрації ОТА 50 млрд<sup>-1</sup>, особливо для розмірів частинок від 20 до 45, і меншою мірою від 45 до 106 мкм у діаметрі. Так, згідно з деякими з варіантів реалізації цього винаходу запропоновано, що розмір частинок ПМВ, отриманого у відповідності зі способами згідно з цим винаходом впливає на загальну афінність адсорбенту до ОТА, при цьому афінність коливається, у найгіршому разі, від 78 до 99 % частинок секвестрації. ПБВ мають меншу ефективність за своїми секвестраційними властивостям, ніж ПМВ, беручи до уваги специфічність ПМВ до взаємодій з мікотоксином ОТА.

#### Приклад 9

Витяг введеного у вино ОТА з використанням ПМВ і пряма фільтрація введеного охратоксину А у вині із застосуванням фільтруючого обладнання з ПМВ на зразок твердофазної екстракції (ТФЕ)

Випробовували стандартну методику екстракції зразка білого вина (Chardonnay 2005 – California) з використанням імуноафінної колонки. Екстракцію проводили як у чистому зразку вина, так і при введенні в зразок вина 5, 10, 20 млрд<sup>-1</sup> чистого кристалічного ОТА. Середня початкова концентрація ОТА у вині становила 1,676±0,269 млрд<sup>-1</sup> (наприклад, при визначенні за стандартною методикою екстракції). Витяг введеного зразка 5 млрд<sup>-1</sup> становив 100 %, і близько 77,7 % для 10 млрд<sup>-1</sup>.

Препарат готували разом з нульовим зразком, що не містить матеріалу ПМВ, і позитивним контролем, що містить тільки досліджуваний токсин ОТА. Випробування на секвестрацію проводили в цитратному буферному розчині 50 мМ, доведеному до рН 4,0. Усі зразки інкубували протягом 90 хв в орбітальному ротаційному шейкері (Brunswick, Champaign, IL, USA) при 150 об/хв, температуру підтримували 37 °С. У системі випробовували три кінцеві концентрації ОТА, 50, 100, 250 частин на мільярд (млрд<sup>-1</sup>) у кінцевому об'ємі 12,5 мл. Після інкубування мікроцентрифужні пробірки центрифугували при 10000 об/хв протягом 10 хв. Надосадову рідину збирали в силанізовані віали для ВЕРХ з жовтого скла, охороняючи від будь-якої взаємодії мікотоксину з віалою, і розраховували за даними ВЕРХ (Alliance, Waters Corp., Milford, MA, USA) у комбінації сигналів флуориметричного і діодно-матричного детекторів (наприклад, для детектування кількості мікотоксину і секвестрованого мікотоксину).

Секвестрацію ОТА з вина оцінювали за стандартною методикою секвестрації мікотоксину на первісно найбільш продуктивному ПМВ #523-34 (суміш фенол-циклогексан). Секвестрація варіювала в середньому від 43,29±4,08 до 67,15±4,94 до 91,75±1,59 до 95,612±1,201 % для рівня включення 0,05, 0,10, 0,50 і 1,00 г/л відповідно. Титруванням ПМВ визначили оптимальну афінність при застосуванні рівня включення 0,5 і 1,0 мг/мл (див. Фігуру 5).

Так, згідно з деякими з варіантів реалізації цього винаходу запропоновані композиції та способи застосування зазначених композицій для захоплення/адсорбції мікотоксинів (наприклад, ОТА) з вина (наприклад, частинками ПМВ, які застосовують (наприклад, при струшуванні) для ефективного зв'язування і адсорбції мікотоксинів з вина).

Наприклад, згідно з деякими з варіантів реалізації цього винаходу запропоновані ПМВ (наприклад, отримані у відповідності зі способами згідно з цим описом) для захоплення і/або адсорбції мікотоксинів (наприклад, одного або безлічі різних типів мікотоксинів (наприклад, присутніх у рідких середовищах або екстракційному розчині зі складної матриці (наприклад, корму, їжі, рослини, тварини, і т.д.))).

Фільтруючі пристрої на зразок пристроїв твердофазної екстракції (ТФЕ-подібні) виготовляли для еквівалента включення ПМВ 0,1 г/л. Були потрібні віали з силанізованого скла, щоб забезпечити стабільність ОТА у водних розчинниках і запобігти будь-якій неспецифічній взаємодії між ОТА і скляними віалами. Спосіб силанізування, який застосовували до найлонових і ПТФЕ/ПЕ фільтрів і трубок, заснований на способах, що звичайно застосовуються у цій галузі техніки (див., наприклад, Entwisle et al., 2000 як зазначено раніше). Віали і фільтри готували, наповнюючи або занурюючи в силанізуючий реагент (SURFASIL). Через 1 хвилину їх промивали один раз толуолом, а потім двічі метанолом, з наступним трикратним промиванням водою, і сушили. Проводили силанізацію та одержували значне зменшення взаємодії матеріалу з молекулами ОТА при здійсненні на практиці. Наприклад, спостерігали менше 5 % впливу (наприклад, у порівнянні з приблизно 16 – 26 % впливу без попередньої силанізації матеріалів при використанні фільтрів ПЕ/ПТФЕ). Найлон був не прийнятний для силанізації. Усі поліпропіленові трубки заміняли скляними силанізованими трубками.

Створювали ТФЕ-подібні фільтруючі пристрої для захоплення ОТА з вина після прямої фільтрації зразка через колонку. Ефективність ПМВ випробовували по усуненню ОТА з вина (Chardonnay 2005 – California) з введеним 5 і 10 млрд<sup>-1</sup> ОТА. Отримані результати показали для 5 і 10 млрд<sup>-1</sup> введеного ОТА 55,41±5,542 і 56,937±5,739 % негайного зменшення вмісту ОТА у вині, відповідно. Отже, згідно з деякими з варіантів реалізації цього винаходу запропоновані

специфічні до мікотоксинів ПМВ (наприклад, отримані у відповідності зі способами згідно з цим описом), які застосовують у ТФЕ або ТФЕ-подібних фільтруючих пристроях для видалення мікотоксинів з рідини (наприклад, вина), що містить мікотоксини.

#### Приклад 10

5 Витяг охратоксину А із застосуванням ТФЕ-подібних фільтруючих пристроїв, що містять ПМВ, отримані при термічному ініціюванні та при низькотемпературному УФ ініціюванні, і оцінка селективності до основних складових вина

Фільтруючі пристрої на зразок твердофазної екстракції (ТФЕ-подібні) виготовляли для еквівалента включення ПМВ 0,1 г/л. Були потрібні віали з силанізованого скла щоб забезпечити стабільність ОТА у водних розчинниках і запобігти будь-якій неспецифічній взаємодії між ОТА та скляними віалами. Спосіб силанізування, який застосовували до найлонових і ПТФЕ/ПЕ фільтрів і трубок, заснований на способах, що звичайно застосовуються у цій галузі техніки (див., наприклад, Entwisle et al., 2000 як зазначено раніше). Віали і фільтри готували, наповнюючи або занурюючи в силанізуючий реагент (SURFASIL). Через 1 хвилину їх промивали 15 один раз толуолом, а потім двічі метанолом, з наступним трикратним промиванням водою, і сушили. Проводили силанізацію та одержували значне зменшення взаємодії матеріалу з молекулами ОТА при здійсненні на практиці. Наприклад, спостерігали менше 5 % впливу (наприклад, у порівнянні з приблизно 16 – 26 % впливу без попередньої силанізації матеріалів при використанні фільтрів ПЕ/ПТФЕ). Найлон був не прийнятний для силанізації. Усі 20 поліпропіленові трубки заміняли скляними силанізованими трубками.

Вихідні розчини дванадцяти сполук, включаючи поліфеноли: кавову кислоту (Caf A), катехіну гідрат (CH), епікатехін (ECH), ферулову кислоту (Fer), транс-3-гідроксикоричну кислоту (3-HCA), 2-гідроксикоричну кислоту (2-HCA), малвідин-3-галактозид хлорид (Mal), мірицетин (Myr), кверцетину дегідрат (QH), транс-ресвератрол (Res), рутин тригідрат (Rut) та індол-3-оцтову кислоту (IAA) (Sigma, St Louis, MO, USA), готували шляхом розчинення в метанолі (якості для ВЕРХ) і додавання води та 85 % ортофосфорної кислоти для зниження рН приблизно до 3,0. Надосадову рідину збирали в силанізовані віали для ВЕРХ з жовтого скла, запобігаючи 25 будь-якій взаємодії аналіта з віалою, і розраховували за даними ВЕРХ (Alliance, Waters Corp., Milford, MA, USA) у комбінації сигналів флуориметричного і діодно-матричного детекторів (наприклад, для детектування кількості мікотоксину та секвестрованого мікотоксину). Застосовували колонкові C18 для обернено-фазової ВЕРХ SpHerisorb ODS 5 мкм, 4,6 мкм x 250 мм (Waters Corp., Milford, MA, USA), що термостатується при 30 °C. Довжини хвиль порушення і випущення встановлювали 225 нм і 365 нм відповідно. Діодно-матричний детектор УФ-видимого світла встановлювали в режим повного сканування на довжинах хвиль від 210 до 799 нм. 35 Рухливі фази складалися з води/фосфорної кислоти (99,5 %:0,5 % об./об.) і (В) ацетонітрилу (якості для ВЕРХ)/води/ фосфорної кислоти (50 %/49,5 %/0,5 % об./об./об.).

Усі ПМВ показали гарну адсорбцію ОТА в буферному розчині, у всіх випадках адсорбція була вище 80 %. ПМВ 555-52 показав найкращу адсорбцію, близьку до 100 %. Цікаво, що ОТА 40 залишався адсорбованим під час промивань усіх ПМВ буферним розчином, але десорбувався в процесі промивання метанолом, особливо з ПМВ, отриманих термічним ініціюванням #555-52 і #523-34 і значно при найвищій концентрації ОТА. ОТА залишається адсорбованим у ПМВ, отриманих УФ-ініціюванням при низькій температурі #555-54А і #555-54В при метанольному промиванню, більшою мірою, ніж в термічно ініційованих ПМВ, при цьому в середньому зберігається більше 50 % адсорбції в ПМВ, ініційованих УФ при низькій температурі, під час 45 метанольного промивання (див. Фігуру 6).

Користь антиоксидантних поліфенольних сполук вина для здоров'я добре підтверджена документально. У стратегії фільтрації мікотоксину з рідини (наприклад, вина), такого як ОТА, також фундаментальним є оцінити вплив секвеструючого матеріалу на деякі корисні сполуки, такі як поліфеноли. Згідно з деякими з варіантів реалізації, і як документально підтверджено в 50 цьому описі (див., наприклад, з Прикладу 6 по Приклад 9), ПМВ, отримані шляхом термічно ініційованої полімеризації #555-52 і #523-34 були здатні ефективно взаємодіяти з мікотоксином ОТА, присутнім у рідкому середовищі, з рівнями адсорбції вище 95 %, тоді як ПМВ, отримані шляхом полімеризації, що ініціюється УФ при низькій температурі #555-54 і #555-54Х давали ефективність адсорбції в діапазоні від 80 до 92 % від ефективності секвестрації (Фігура 6).

55 Згідно з деякими з варіантів реалізації, композиції згідно з цим винаходом, що містять ПМВ, отримані шляхом полімеризації, що ініціюється УФ при низькій температурі, показали специфічність до ОТА при оцінці в суміші з різними поліфенолами, антоціаніном та індол-3-оцтовою кислотою. У цьому випадку ПМВ #555-54А і #555-54В показали високу адсорбцію ОТА (вище 80 %) і в той же час не робили адсорбцію поліфенолів або індол-3-оцтової кислоти 60 (наприклад, що зберігало органолептичні і антиоксидантні характеристики (наприклад, вина)).

При дослідженні ПМВ, отриманих шляхом полімеризації, що ініціюється УФ при низькій температурі, час інкубації усували, і пропускали зразки вина та промивні рідини через ПМВ або фільтр негайно. Спостерігалася дуже мала адсорбція (Фігура 7). Так, згідно з деякими з варіантів реалізації цього винаходу запропоновані ПМВ, що показують специфічність до мікотоксину (наприклад, ОТА) і одночасно показують мале або відсутність зв'язування (наприклад, адсорбції) корисних сполук (наприклад, поліфенолів і/або індол-3- оцтової кислоти). Кількісне визначення мірицетину, ресвератролу і рутину підтвердило невірність через їхню присутність у дуже низьких концентраціях, близьких до межі виявлення і межі кількісного визначення аналітичного інструмента ВЕРХ, що приводило до більших стандартних відхилень і негативних значень. Згідно з цим варіантом реалізації, ПМВ, отримані шляхом полімеризації, що ініціюється УФ при низькій температурі, були ефективні при захопленні ОТА, і не впливали на вміст поліфенолів у рідкому середовищі вина, демонструючи специфічність отриманого матеріалу ПМВ.

#### Приклад 11

Нанесення покриття ПМВ на сітку зі скловолокна для застосування як фільтруючого приладу. При розробці варіантів реалізації цього винаходу проводили експерименти по випробуванню нанесення покриття ПМВ-ОТА на сітку зі скловолокна (див. Фігуру 8). Застосовували різні концентрації ОТА для визначення афінності кожного препарату. Різні виготовлені ПМВ показано в Таблиці 7 нижче. Три сита із сітки покривали ПМВ при різних концентраціях агента, що зшиває, що впливало на крихкість (розчини мономерів 1, 2, 3 і 1Н). Сітку, отриману при нанесенні покриття ПМВ, нарізали виходячи з маси до і після нанесення покриття ПМВ, щоб одержати 50, 100 і 200 мг ПМВ за результатами зважування по різниці. Випробування на секвестрацію проводили при зануренні сіток, покритих ПМВ, у пробірки типу "Фалькон" об'ємом 20 мл, з визначенням секвестраційних характеристик до ОТА у винному середовищі після 90 хв інкубування в ротаційному шейкері. В 1 мл з пробірки, що містить винний розчин, вносили три різні концентрації ОТА, які вимірювали до і після інкубування з фільтруючими сітками ПМВ-ОТА. Зразки збирали в силанізовані віали для ВЕРХ з жовтого скла, охороняючи від будь-якої взаємодії мікотоксину з віалюю, і розраховували за даними ВЕРХ (Alliance, Waters Corp., Milford, MA, USA) у комбінації сигналів флуориметричного та діодно-матричного детекторів (наприклад, для детектування кількості мікотоксину і секвестрованого мікотоксину).

Таблиця 6

Опис умов полімеризації для нанесення покриття ПМВ на сітку зі скловолокна

Параметри	Функція	Розчин мономера			
		1	2	3	1Н
Аналог охратоксину А (мг)	Шаблон	1000	500	250	1000
2-вінілпіридин (мкл)	Основа, що утворює сіль з ОТА	1000	500	250	1000
Етиленгліколю диметакрилат (мол)	Агент, що зшиває	5	5	5	5
2-гідроксиетилметакрилат (мкл)	Зв'язувальна молекула	800	400	200	800
Азобісизобутиронітрил (мг)	Ініціатор полімеризації	66	55	50	66
Затверднення (пекти)	Для сушіння сітки	65 °C	65 °C	65 °C	80-90 °C
Розчинник	Розчинення твердих речовин	Немає	Немає	Немає	500 мкл толуолу

Отримані результати показують, що максимальна секвестрація ОТА залежить від рівня включення ПМВ. Максимум секвестрації був отриманий з 500 мг шаблону, 250 мг вінілпіридину і 200 мг гідроксиетилметакрилату, при цьому був отриманий ПМВ, що адсорбує до 46,5 % ОТА при концентрації 100 млрд<sup>-1</sup> у вині (див. Фігуру 9). Навпаки, той же експеримент, проведений з отриманим таким же способом ПМВ, нанесеним на сітку зі скловолокна, показав менше 15 % секвестрації (до 1 %) від ефективності секвестрації залежно від методики одержання (див. Фігуру 10), таким чином, показавши приклад специфічності матеріалу ПМВ-ОТА до ОТА.

#### Приклад 12

Хроматографічна ємність утримання ПМВ

ПМВ #523-34 (синтезований у суміші толуол-циклогексан) застосовували як нерухливу фазу в колонці ВЕРХ 4,6 × 150 мм після набивання матеріалу з використанням ультразвукового впливу на водяній бані, а потім застосовуючи протягом ночі безперервне пропускання

ацетонітрилу через колонку з витратою 5,0 мл/хв (ПМВ з використанням подвійного насоса для BPERX Waters Alliance (Waters Corp, Milford, MA, USA)). Визначили, що тиск у колонці становить близько 400 фунт/кв. дюйм, що порівняно з іншими умовами BPERX, описаними в інших роботах (див., наприклад, Baggiani et al., 2002 as previously cited; Jodlbauer J., Maier N.M., and Lindner W. Journal of Chromatography A, 945: 45-63; Maier N.M., Buttinger G., Welhartizki S., Gavioli E., Lindner W., 2004. Journal of Chromatography B, 804: 103-11). Колонку стабілізували при витраті ацетонітрилу 1,0 мл/хв протягом 48 год. і сильно промивали метанолом 99 % і триетиламіном 1 % для видалення з колонки шаблону ОТА, що залишився. Проводили визначення характеристик ОТА методом фронтального аналізу BPERX-ДМД-ПІД із застосуванням колонки ПМВ.

Довговічність колонки оцінювали в умовах різних рухливих фаз і при різних параметрах градієнтного потоку через колонку, що підтримується при постійній температурі 30 °С. Випробовували кілька градієнтів, включаючи перехід від 100 % води до 100 % ацетонітрилу або 100 % метанолу і назад; а також від 1 % триетиламіну в метанолі до 100 % метанолу протягом 60 хвилин. Колонка зберігалася без яких-небудь змін у нерухливій фазі після підвищення тиску до 1600 фунт/кв. дюйм, що показувало довговічність колонки при високих тисках. Для оцінки вільного об'єму колонки застосовували ін'єкцію ацетону з елююванням аналізованої речовини протягом 2 хвилин. Елюювання ОТА оцінювали в тих же умовах, що застосовуються для звичайного профілю елюювання ODS C18 (85 % ацетонітрилу). Утримання ОТА оцінювали через 5 хв на колонці ПМВ з використанням ізократичного градієнта. Для збільшення часу утримання ОТА забезпечували градієнт, який дозволяв збільшити час утримання ОТА до 19,5 хв.

Остаточні обрані умови наведено на Фігурі 11, а умови градієнта докладно зазначені у пов'язаній таблиці. Спостерігали два піка, первинний пік елювання ОТА між 17 і 22 хв (при 63 % ацетонітрилу) і другий пік, пов'язаний з вивільненням фракції сильно зв'язаного ОТА, що залишився, при додаванні в колонку 1 % триетиламіну.

#### Приклад 13

##### Синтез шаблону споридесміну

Одержання N-трет-бутоксикарбоніл-2,3-диметоксианіліну з 2,3-диметоксибензойної кислоти. Триста мілілітрів безводного трет-бутилового спирту, 50,0 г (274 мМ) 2,3-диметоксибензойної кислоти і 28,33 г (280 мМ, 39 мл) безводного триетиламіну поміщали в круглодонну двогорлу колбу об'ємом 1 л, обладнану краплинною лійкою об'ємом 120 мл з вирівнюванням тиску і бульбашковим лічильником, важким якорем магнітної мішалки та термометром. Вміст колби перемішували за допомогою магнітної мішалки і нагрівали до 80 °С на масляній бані. Додавали по краплях у реакційну суміш 77,04 г (280 мМ, 60,5 мл) дифенілфосфоразидату, з достатньо повільною швидкістю, щоб контролювати розвиток виділення газів. Нагрівання до 80 °С і перемішування за допомогою магнітної мішалки продовжували протягом ночі. Потім випарювали летучі компоненти суміші на ротаційному випарнику при тиску 30 тор і температурі нижче 55 °С. Маслянистий продукт переносили в ділильну лійку об'ємом 1 л і розчиняли в суміші 500 мл циклогексану та 200 мл етилацетату. Отриманий розчин промивали три рази по 200 мл ДІ води і один раз 200 мл насиченого водяного розчину хлориду натрію, і сушили над безводним сульфатом натрію протягом 15 хв, фільтрували та концентрували на ротаційному випарнику при тиску 30 тор і температурі 80 °С. Одержували N-трет-бутоксикарбоніл-2,3-диметоксианілін 67,88 г (вихід 98 %) у вигляді безбарвної олії.

ТШХ, SiO<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:циклогексан (що скорочено позначається ц-Гекс) (1:2); R<sub>f</sub>=0,66 детектування УФ, гарячий 5 % KMnO<sub>4</sub> яскраво-жовтий.

ІК-ФП плівки (см<sup>-1</sup>): 3319, 2941, 1669, 1601, 1529, 1477, 1459, 1416, 1369 1296, 1258, 1090, 998, 978, 780, 737.

<sup>1</sup>H ЯМР, (400 МГц), CDCl<sub>3</sub>, δ (м.д.): 1,53 с, 9H; 3,86 с, 3H; 3,862 с, 3H; 6,593 дд, J=8,4&1,6 Гц, 1H; 7,004 т, J=8,4&8,0, 1H; 7,135 уш с, 1H; 7,725 д, J=8,0 Гц.

Одержання 2,3-диметоксианіліну з N-трет-бутоксикарбоніл-2,3-диметоксианіліну. 580 мол метанолу, 67,88 г (268 мМ) N-трет-бутоксикарбоніл-2,3-диметоксианіліну і 66,45 мл 12,1 М HCl поміщали в колбу об'ємом 1 л, обладнану якорем магнітної мішалки і поміщену на водяну баню з температурою 50 °С. Нагрівання і перемішування продовжували протягом 2 год., а потім залишали при перемішуванні на ніч при кімнатній температурі. Потім, після охолодження розчину на крижаній бані, додавали при перемішуванні 130,5 мл 6,16 М розчину гідроксиду натрію.

Метанол випарювали з суміші на ротаційному випарнику при температурі нижче 40 °С і тиску 30 тор. Отриманий напівтвердий залишок розбавляли 180 мл толуолу і фільтрували. Осад промивали ще два рази по 180 мл толуолу і переносили фільтрати в ділильну лійку об'ємом 1 л.

Збирали верхній шар і сушили над сульфатом натрію, концентрували та переганяли у вакуумі. Одержували 34,6 г 2,3-диметоксианіліну (вихід 94,0 %), що збирається при 105 – 107 °C і 8 тор, у вигляді безбарвної олії, що кристалізується.

ТШХ, SiO<sub>2</sub>, ц-Гекс:тетрагідрофуран (що скорочено позначається ТГФ) (6:1); R<sub>f</sub>=0,35 детектування УФ, 5 % KMnO<sub>4</sub> гарячий/коричнево-зелений.

ІК-ФП плівка (см<sup>-1</sup>): 3463, 3368, 2939, 1609, 1497, 1475, 1319, 1262, 1226, 1129, 1085, 1050, 999, 773, 729, 694.

<sup>1</sup>H ЯМР, (400 МГц), CDCl<sub>3</sub>, δ (м.д.): 3,75 уш с, 2H; 3,83 с, 3H; 3,84 с 3H; 6,34 д, J=8,1 Гц, 1H; 6,38 д, J=8,1 Гц, 1H; 6,84 т, J=8,1 Гц, 1H.

10 Синтез етил-3-гідрокси-6,7-диметокси-2-індолон-3-карбоксилату з 2,3-диметоксианіліну і диетилкетомалонату. Розчин 69,33 г (398,1 мМ) диетилкетомалонату в 250 мл толуолу поміщали в круглодонну колбу об'ємом 1 л, обладнану краплинною лійкою з вирівнюванням тиску і якорем магнітної мішалки, поміщену на водяну баню. У краплинну лійку наливали розчин 56,769 г (370,6 мМ) 2,3-диметоксианіліну в 200 мл толуолу. Починали перемішування і повільно  
15 додавали в колбу розчин 2,3-диметоксианіліну, при безперервному охолодженні та перемішуванні реакційної суміші за допомогою магнітної мішалки. Додавання завершували протягом 4 годин, залишали отриману суміш нагрітися до кімнатної температури і залишали при перемішуванні протягом ночі, усього протягом 22 год. Потім суміш нагрівали до 80 °C протягом 2 год., з наступним збільшенням температури суміші до 100 °C. Збирали 25 мл дистилату, включаючи 4 мл води і 21 мл толуолу. ТШХ SiO<sub>2</sub> (PhMe:ТГФ/6:1, УФ, гарячий KMnO<sub>4</sub>) показала присутність: диетилкетомалонату R<sub>f</sub> 0,86; 2,3-диметоксианіліду моноетилкетомалонату R<sub>f</sub> 0,66; 2,3-диметоксианіліну R<sub>f</sub> 0,43; диетилкетомалонату моногідрату R<sub>f</sub> 0,30 і бажаного продукту, етилового ефіру 3-гідрокси-6,7-диметокси-2-індолон-3-карбонової кислоти R<sub>f</sub> 0,20. Нагрівання при 100 °C продовжували протягом 24 год., після чого в колбі утворювався білий осад. Потім  
20 вміст колби нагрівали при перемішуванні і 80 – 90 °C ще протягом 48 год. Після зазначеного часу суміш проохолоджували до кімнатної температури, осад відфільтровували і промивали 50 мл толуолу. Після сушіння одержували 16,1 г етил-3-гідрокси-6,7-диметокси-2-індолон-3-карбоксилату (вихід 24,0 %). Фільтрат концентрували в ротаційному випарнику і піддавали ЖХ на SiO<sub>2</sub> з використанням суміші циклогексан:ТГФ з вмістом ТГФ від 7,5 до 20 %. Збирали ще  
25 12,2 г (вихід 18,2 %) прозорого чистого продукту.

Т. пл. 150 – 151 °C.

ТШХ, SiO<sub>2</sub>, Толуол (що скорочено позначається PhMe):ТГФ (6:1), R<sub>f</sub>=0,12 детектування УФ, 5 % KMnO<sub>4</sub> нагрівання/ канарково-жовтий.

35 ІК-ФП плівка (см<sup>-1</sup>): 3293, 2937, 1728, 1726, 1636, 1505, 1466, 1336, 1236, 1234, 1164, 1084, 1016, 1192, 729.

<sup>1</sup>H ЯМР, (400 МГц), CDCl<sub>3</sub>, δ (м.д.): 1,191 т, J=7,2 Гц, 3H; 3,892 с, 3H; 3,898 с, 3H; 4,152 – 4,319 м, 16 ліній, дкв×2, всі J=7,2 Гц з центрами квартету на: 4,179, 4,205, 4,265, 4,292, 2H; 4,346 уш с, 1H; 6,575 д, J=8,4 Гц, 1H, 6,961 дд, J=8,4&0,4 Гц, 1H; 7,744 уш с, 1H.

40 Синтез 6,7-диметоксиізатину з етил-3-гідрокси-6,7-диметокси-2-індолон-3-карбоксилату. Розчин 10,67 г (40,2 мМ) етил-3-гідрокси-6,7-диметокси-2-індолон-3-карбоксилату в 100 мл етанолу перемішували на водяній бані при кімнатній температурі. У зазначену суміш по краплях додавали розчин 4,828 г (120,7 мМ) гідроксиду натрію в 25 мл води. Через реакційну суміш пропускали потік повітря, що не містить CO<sub>2</sub>, при енергійному перемішуванні. Пропускання повітря і перемішування суміші при кімнатній температурі продовжували протягом ночі. Суміш  
45 набула інтенсивне червоно-коричневе офарблення. Розчин нейтралізували додаванням 5 мл концентрованої соляної кислоти. Утворювався білий осад неорганічної солі, який відфільтровували, концентрували фільтрат у ротаційному випарнику до об'єму 20 мл і залишали для кристалізації в холодильнику. Збирали жовто-оранжеві кристали і сушили на повітрі. Одержували 2,24 г (вихід 26,9 %) чистого 6,7-диметоксиізатину. Додатково 0,54 г (вихід 6,5 %) продукту виділяли з фільтрату за допомогою рідинної хроматографії з використанням SiO<sub>2</sub> і суміші PhMe:ТГФ (4:1).

Т. пл. 209 – 210 °C.

ТШХ, SiO<sub>2</sub>, PhMe:ТГФ (6:1), R<sub>f</sub>=0,18 жовта пляма, детектування УФ, 5 % KMnO<sub>4</sub> нагрівання/ канарково-жовтий.

55 ІК-ФП плівка (см<sup>-1</sup>): 3218, 1747, 1707, 1623, 1507, 1452, 1442, 1337, 1286, 1240, 1184, 1082, 1041, 973, 949, 794, 685, 702, 662.

<sup>1</sup>H ЯМР, (400 МГц), CDCl<sub>3</sub>, δ(м.д.): 3,91 с 3H; 3,98 с 3H; 6,60 д, J=8,4 Гц, 1H; 7,42 д, J=8,4 Гц, 1H; 7,74 уш с, 1H.

60 Синтез 6,7-диметокси-1-метилізатину з 6,7-диметоксиізатину. Розчин 2,255 г (20,1 мМ) трет-бутилату калію в 20 мл безводного ТГФ додавали зі шприца за допомогою гумової перегородки

в круглодонну колбу об'ємом 50 мл, що містить розчин 2,78 г (13,4 мМ) 6,7-диметоксиізатину в 15 мл безводного ТГФ, при перемішуванні за допомогою магнітної мішалки і охолодженні на льодоводяній бані. До отриманої суміші додавали 3,8 мл (8,65 г, 60 мМ) метилйодиду за допомогою шприца, і отриману суміш з важким осадом, що негайно утворювався, перемішували протягом ночі при 35 °С. ТШХ (SiO<sub>2</sub>, PhMe:ТГФ (6:1)) підтвердила повну конверсію субстрату (6,7-диметоксиізатину)  $R_f=0,18$  в 6,7-диметокси-1-метилізатин  $R_f=0,34$ . Осад відфільтровували і промивали три рази по 20 мл безводного ТГФ. Об'єднані фільтрати випарювали досуха і збирали отриманий продукт у вигляді фракції яскраво-червоного кольору за допомогою флеш-хроматографії. Застосовували SiO<sub>2</sub> і суміш PhMe:ТГФ (9:1). Після випарювання досуха елюента червоного кольору збирали 2,517 г (вихід 84,8 %) яскраво-жовтих кристалів.

Т. пл. 190 – 191 °С.

ТШХ, SiO<sub>2</sub>, PhMe:ТГФ (6:1),  $R_f=0,34$  помаранчево-червона пляма, детектування УФ, 5 % KMnO<sub>4</sub> нагрівання/ канарково-жовтий.

ІК-ФП плівка (см<sup>-1</sup>): 2955, 1724, 1614, 1497, 1450, 1373, 1264, 1205, 1168, 1131, 1086, 1044, 1028, 979, 975, 828, 800, 775, 654.

<sup>1</sup>H ЯМР, (400 МГц), CDCl<sub>3</sub>, δ (м.д.): 3,490 с, 3H; 3,877 с, 3H; 3,982 с, 3H; 6,575 д, J=8,4 Гц, 1H; 7,416 д, J=8,4 Гц, 1H.

Синтез 5-хлор-6,7-диметокси-1-метилізатину. 2,517 г (11,38 мМ) 6,7-диметокси-1-метилізатину, 1,823 г (13,65 мМ) N-хлорсукциніміду і 30 мл ДМФА поміщали в круглодонну колбу об'ємом 100 мл, обладнану якорем магнітної мішалки та краплинною лійкою об'ємом 10 мл з вирівнюванням тиску, поміщену на льодоводяну баню. У краплинну лійку поміщали 10 мл розчину 1,125 мл (13,6 мМ) концентрованої соляної кислоти в ДМФА і додавали по краплі в реакційну суміш, що перемішується та охолоджується. По закінченню додавання розчин перемішували при кімнатній температурі ще протягом 2 год. Потім випарювали розчинник на ротаційному випарнику при 8 тор і 50 °С, і піддавали отриманий залишок флеш-хроматографії на SiO<sub>2</sub> з використанням суміші PhMe:ТГФ (19:1). Елюент, що містить цегляно-червону смугу продукту, збирали і випарювали досуха на ротаційному випарнику, одержуючи 1,83 г (вихід 62,9 %) цегляно-червоних кристалів 5-хлор-6,7-диметокси-1-метилізатину.

Т. пл. 140 – 142 °С.

ТШХ, SiO<sub>2</sub>, PhMe:ТГФ (6:1),  $R_f=0,51$  червона пляма, детектування УФ, 5 % KMnO<sub>4</sub> нагрівання/ канарково-жовтий.

УФ/вид. (нм) конц.-0,143 мг/мл в етанолі: 318, ε 2,75, 433, ε 0,70.

ІК-ФП плівка (см<sup>-1</sup>): 2951, 1726, 1602, 1457, 1442, 1423, 1404, 1359, 1292, 1263, 1232, 1093, 1046, 1005, 979, 941, 897, 881, 797, 766, 668.

<sup>1</sup>H ЯМР, (400 МГц), CDCl<sub>3</sub>, δ (м.д.): 3,475 с, 3H; 3,935 с, 3H; 4,027 с, 3H; 7,434 с, 1H.

Молекулярна структура споридесміну і шаблону 5-хлор-6,7-диметокси-1-метилізатину показано на Фігурі 12. Схема синтезу показана на Фігурі 13.

Приклад 14

Синтез ПМВ і ПБВ споридесміну (з метакриловою кислотою)

Розчин 1,8 г (7,04 мМ) 5-хлор-6,7-диметокси-1-метилізатину, 1,194 мл (1,212 г, 14,08 мМ) метакрилової кислоти, 3,415 мл (3,664 г, 28,16 мМ) 2-гідроксиетилметакрилату, 39,83 мл (41,86 г, 211,2 мМ) етиленгліколю диметакрилату і 1,0 г (6,09 мМ) АІБН в 100 мл толуолу поміщали в чотирьохгорлу круглодонну колбу об'ємом 500 мл, обладнану краплинною лійкою об'ємом 120 мл з вирівнюванням тиску, механічною мішалкою, зворотним холодильником з лічильником пухирців і термометром. 120 мл толуолу поміщали в краплинну лійку, починали перемішування, пропускали азот через толуол у краплинній лійці та над поверхнею суміші в колбі, і випускали через лічильник пухирців. Через 30 хвилин перемішування і продування азотом витрати газу зменшували до окремих пухирців і збільшували температуру в колбі до 65 °С, занурюючи колбу у водяну баню з температурою 70 °С. Протягом 15 хвилин починалася полімеризація, і розчин ставав усе більш і більш густим. Коли ставало важко підтримувати енергійне перемішування, додавали толуол з краплинної лійки, настільки швидко, наскільки це можливо, для розведення суміші. Енергійне перемішування та нагрівання продовжували протягом 4 год. Протягом зазначеного часу утворювалися дрібні сфери ПМВ. Суміш залишали без перемішування і нагрівання протягом ночі. Ранком сфери ПМВ відфільтровували і промивали 13 разів по 150 мл етанолу. Фільтрати червоно-помаранчевого кольору збирали і концентрували на ротаційному випарнику. 5-хлор-6,7-диметокси-1-метилізатин (шаблон споридесміну) виділяли шляхом флеш-хроматографії з використанням PhMe:ТГФ (98:2) і збирали цегляно-червону смугу шаблону. Ротаційне випарювання давало 1,572 г (виділення 87,3 %) дуже чистого кристалічного 5-хлор-6,7-диметокси-1-метилізатину. Сфери ПМВ сушили протягом ночі при кімнатній температурі та ще одну годину при 80 °С у лабораторній печі.



Одержували 45,362 г споридесмінового ПМВ (метакрилова кислота) у вигляді дрібних матово-білих сфер, та ідентифікували як ПМВ #519-98.

Споридесміновий ПБВ (метакрилова кислота) 45,883 г у вигляді білосніжних сфер, одержували відповідно тій же методиці, але без додавання в реакційну суміш споридесмінового шаблону, і проводячи тільки три промивання етанолом (по 150 мл кожне). Полімер ідентифікували як ПМВ #555-99.

Як ПМВ, так і ПБВ легко відфільтровували і промивали на фільтрі зі спеченого скла.

#### Приклад 15

Синтез споридесмінових ПМВ і ПБВ (з 2-вінілпіридином)

Розчин 1,5 г (5,86 мМ) 5-хлор-6,7-диметокси-1-метилізатину, 1,260 мл (1,232 г, 11,72 мМ) 2-вінілпіридину, 2,845 мл (3,053 г, 23,46 мМ) 2-гідроксиетилметакрилату, 33,191 мл (34,833 г, 176 мМ) етиленгліколю диметакрилату і 0,833 г (5,07 мМ) АІБН у 80 мл толуолу поміщали в чотирьохгорлу круглодонну колбу об'ємом 500 мл, обладнану краплинною лійкою об'ємом 100 мл з вирівнюванням тиску, механічною мішалкою, зворотним холодильником з лічильником пухирців і термометром. 120 мл толуолу поміщали в краплинну лійку, починали перемішування, пропускали азот через толуол у краплинній лійці та над поверхнею суміші в колбі, і випускали через лічильник пухирців. Через 30 хвилин перемішування і продування азотом витрати газу зменшували до окремих пухирців і збільшували температуру в колбі до 65 °С, занурюючи колбу у водяну баню з температурою 70 °С. Протягом 15 хвилин починалася полімеризація, і розчин ставав усе більш і більш густим. Коли ставало важко підтримувати енергійне перемішування, додавали толуол з краплинної лійки, настільки швидко, наскільки це можливо, для розведення суміші. Енергійне перемішування і нагрівання продовжували протягом 4 год. Протягом зазначеного часу утворювалися дрібні сфери ПМВ. Суміш залишали без перемішування і нагрівання протягом ночі. Потім сфери ПМВ відфільтровували і промивали 13 разів по 150 мл етанолу. Усі фільтрати після промивання ПМВ збирали та випарювали досуха на ротаційному випарнику. Червоний залишок розчиняли в 20 мл толуолу і поміщали у верхню частину колонки для рідинної хроматографії (24 мм x 50 см), наповненої 200 мл SiO<sub>2</sub> у толуолі. Червону смугу вимивали PhMe:ТГФ (5:1). Випарюванням на ротаційному випарнику одержували 1,489 г (виділення 99,2 %) кристалічного 5-хлор-6,7-диметокси-1-метилізатину. Сфери ПМВ сушили на повітрі протягом ночі при кімнатній температурі і додатково протягом двох годин при 80 °С у лабораторній печі. Одержували 37,936 г споридесмінового ПМВ (2-вінілпіридин) у вигляді дрібних матово-білих сфер, та ідентифікували як ПМВ #519-101.

Споридесміновий ПБВ (2-вінілпіридин). 39,2 г у формі білосніжних сфер одержували відповідно тій же методиці, але не додаючи в реакційну суміш споридесмінового шаблону і проводячи тільки три промивання етанолом (по 150 мл кожне). Полімер ідентифікували як ПМВ #555-102.

#### Приклад 16

Полімеризація/синтез споридесмінових ПМВ з ініціюванням УФ при низькій температурі

Установка для фотохімічних реакцій. Кварц, заглибне фотохімічне джерело УФ (Ace Glass, Catalogue # 7856-10), обладнане УФ лампою 450 Вт (ACE Glass, Catalogue #7825-34) і джерелом живлення 450 Вт у корпусі (ACE Glass, Catalogue #7830-58), приєднаний до циркуляційного охолоджувача WKL 230 LAUDA (що поставляється Brinkmann Instruments, Inc.) і воді, яка проохолоджує, з температурою 4 °С, що протікає крізь кожух джерела під час роботи УФ лампи.

Процес полімеризації. Суміш мономерів: метакрилової кислоти 1,2 г (13,95 мМ) і етиленгліколю монометакрилату 3,631 г (13,95 мМ), споридесміновий шаблон 1,783 г (6,97 мМ), ініціатор (АІБН) 0,991 г (6,03 мМ) і агент, що зшиває, етиленгліколю диметакрилат 41,444 г (209,1 мМ) поміщали в прозору поліетиленову пляшку (Nalgene® style 2105) і пропускали через отриману суміш потік аргону протягом 15 хв для видалення всього кисню, який, як відомо, інгібує вільнорадикальну полімеризацію. Потім пляшку закривали і приєднували до заглибного джерела, на рівні центру УФ лампи, і разом з установкою для фотохімічної реакції занурювали в льодоводяну баню. Через кожух лампи пропускали охолоджувальну воду, потім увімкнули світло і робили опромінення реакційної суміші протягом трьох з половиною годин (необхідні окуляри, що захищають від УФ, протягом усього часу роботи УФ лампи). Додавали додатковий лід і зливали надлишок води з бані протягом усієї УФ полімеризації, для підтримки температури охолоджувальної бані 4 °С. Після завершення полімеризації пляшку відкривали, полімер розбивали і подрібнювали на дрібні шматки, які промивали: три рази етанолом, два рази 1:1 сумішшю вода-етанол, шість разів 3:1 сумішшю вода-етанол і ще один раз етанолом, для видалення шаблону з полімеру і забезпечення максимальної активності ПМВ, який наприкінці сушили в лабораторній печі для видалення залишків етанолу, одержуючи 41,1 г (вихід 89 %)

продукту.

#### Приклад 17

Секвестраційна здатність ПМВ у відношенні мікотоксинів – стосовно до аналогів споридесміну

- 5 Полімери ПМВ і ПБВ, отримані шляхом термічно ініційованої полімеризації осадженням з використанням мономерів метакрилової кислоти або 2-вінілпіридину в толуолі (див., наприклад, Приклад 14 і Приклад 15) випробовували з використанням шаблону 5-хлор-6,7-диметокси-1-метилізатину (див., наприклад, Приклад 13) і гліотоксину, аналога молекули споридесміну, що містить аналогічну піперазидіонову кільцеву систему з дисульфідним містком (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) для видалення мікотоксинів шаблону або гліотоксину з рідкого або напіврідкого середовища шляхом хімічних взаємодій. Отримані ПМВ і ПБВ застосовували, щоб показати відмінності в афінності секвестрації. Експеримент по секвестрації проводили, поміщаючи наважку 400 мг матеріалу ПМВ/ПБВ в бурштинові бутлі Шотта і додаючи 100 мл робочого розчину досліджуваної речовини, що визначається, для одержання співвідношення
- 10 включення секвестрантів у середовищі 0,4 г/л. Препарат готували разом з нульовим зразком, що не містить матеріалу ПМВ, і з позитивним контролем, що містить шаблон 5-хлор-6,7-диметокси-1-метилізатину або гліотоксин. Випробування на секвестрацію проводили в цитратному буферному розчині 50 мМ, доведеному до рН 4,0. Усі зразки інкубували протягом 90 хв в орбітальному ротаційному шейкері (Brunswick, Champaign, IL, USA) при 150 об/хв, температуру підтримували 37 °С. Випробовували п'ять кінцевих концентрацій шаблону 5-хлор-6,7-диметокси-1-метилізатину або гліотоксину в системі – 500; 1000; 1500; 2000; 2500 частинок на мільярд (млрд<sup>-1</sup>) або 1000; 2000; 3000; 4000; 5000. Після інкубування мікроцентрифужні пробірки центрифугували при 10000 об/хв протягом 10 хв. Надосадову рідину збирали в силанізовані віали для ВЕРХ з жовтого скла, охороняючи від будь-якої взаємодії мікотоксину або шаблону з віалюю, і розраховували за даними ВЕРХ (Alliance, Waters Corp., Milford, MA, USA) у комбінації з сигналом діодно-матричного детекторів (наприклад, для детектування кількості мікотоксину і секвестрованого мікотоксину) згідно зі стандартними способами. ВЕРХ аналіз гліотоксину проводили з використанням суміші ацетонітрилу/оцтової кислоти/трифтороцтової кислоти (34,9:65:0,1, об./об.) як рухливої фази. Спосіб ВЕРХ для детектування шаблону 5-хлор-6,7-диметокси-1-метилізатину вибирали згідно зі стандартними параметрами елюювання при аналізі споридесміну, що представляє суміш ацетонітрилу/води/метанолу (45:45:10, об./об.). Детектування здійснювали за допомогою УФ-фотодіодної матриці з повним скануванням по довжинах хвиль (268,1 нм давав оптимальний сигнал для гліотоксину; 258,8 нм давав оптимальний сигнал для шаблону).
- 35 Результати показали, що ПМВ #519-98 і #519-101 і ПБВ #519-99 і #519-10X були здатні взаємодіяти більш ніж з 90,8 % гліотоксину в діапазоні від 500 до 2500 млрд<sup>-1</sup> для рівня включення адсорбентів 0,4 % при рН 4,0 (див. Таблицю 8). Адсорбція шаблону 5-хлор-6,7-диметокси-1-метилізатину була також вивчена, показавши афінність більше 94,9 % для ПМВ #519-98 і #519-101 і ПБВ #519-99 і #519-10X при концентраціях шаблону від 1000 до 5000 млрд<sup>-1</sup> молекули шаблону, що присутня у середовищі при рН 4,0 для рівня включення адсорбентів 0,4 % (Таблиця 8). Так, згідно з деякими з варіантів реалізації цього винаходу запропоновано, що ПМВ, синтезовані в толуолі, обоє були кращі для адсорбції аналогів споридесміну (наприклад, гліотоксину і шаблону 5-хлор-6,7-диметокси-1-метилізатину), зі слабкою перевагою у ПМВ #519-101, синтезованого використанням мономера 2-вінілпіридину, при додаванні з рівнем включення 4 г/л при рН 4,0 з афінністю секвестрації до 97,82±4,25 % відношення афінності і до 95,85±1,25 % відповідно для гліотоксину та шаблону -хлор-6,7-диметокси-1-метилізатину. Відмінності між ПМВ і ПБВ були мінімальні для кожної з приготовлених сполук.

Таблиця 7

Середні значення афінності адсорбції, виражені у відсотках, для 2 ПМВ і 2 ПБВ до шаблону хлор-6, 1-метилізатину й гліотоксину, оцінювані при рН 4,0 і рівні включення адсорбенту 0,4 %

Номер зразка	Середня адсорбція	
	Гліотоксин (%)	Шаблон (%)
ПМВ 519-98	90,84±1,47	94,94±2,21
ПБВ 555-99	91,04±1,51	95,35±0,72
ПМВ 519-101	97,82±4,25	95,85±1,25
ПБВ 519-10X	97,14±4,02	95,86±1,02

## Приклад 18

Титрування кількості ПМВ для секвестрації аналогів споридесміну

Експеримент по титруванню проводили для вивчення рівнів включення ПМВ від 0,1 г/л до 1,00 г/л (або відношення включення від 0,01 до 0,1 %). Препарат готували разом з нульовим зразком, що не містить матеріалу ПМВ, і з позитивним контролем, що містить тільки шаблон 5-хлор-6,7-диметокси-1-метилізатину, що випробовується, або гліотоксин. Випробування на секвестрацію проводили в цитратному буферному розчині 50 мМ, доведеному до рН 4,0. Усі зразки інкубували протягом 90 хв в орбітальному ротаційному шейкері (Brunswick, Champaign, IL, USA) при 150 об/хв, температуру підтримували 37 °С. Випробовували п'ять кінцевих концентрацій шаблону 5-хлор-6,7-диметокси-1-метилізатину або гліотоксину в системі – 1000; 2000; 3000; 4000; 5000 млрд<sup>-1</sup> у кінцевому об'ємі 100 мл. Після інкубування мікроцентрифужні пробірки центрифугували при 10000 об/хв протягом 10 хв. Надосадову рідину збирали в силанізовані віали для ВЕРХ з жовтого скла, охороняючи від будь-якої взаємодії аналізованої сполуки з віалюю, і розраховували за даними ВЕРХ (Alliance, Waters Corp., Milford, MA, USA) у комбінації з сигналом діодно-матричного детектора згідно зі стандартними способами. (див., наприклад, Приклад 17).

Таблиця 8

Середня афінність адсорбції, виражена у відсотках, для 2 ПМВ і 3 ПБВ до шаблону хлор-6, 1-метилізатина, оцінювана при рН 4,0 і 4 рівнях включення адсорбенту

Номер зразка	% включення	Адсорбція (%)					
		Концентрація шаблону (млрд <sup>-1</sup> )					
		1000	2000	3000	4000	5000	Середнє
ПМВ 519-98	0,010	48,90	57,93	48,17	37,86	38,63	46,30
	0,025	61,50	69,25	61,98	65,94	50,74	61,88
	0,050	80,37	87,95	73,97	76,41	69,28	77,59
	0,100	94,10	91,35	89,72	86,74	84,73	89,33
ПБВ 519-99	0,010	59,83	53,83	41,80	42,17	38,40	47,21
	0,025	76,70	67,50	61,71	58,60	57,51	64,40
	0,050	89,63	83,18	73,08	75,46	77,25	79,72
	0,100	91,50	90,97	87,99	88,86	87,23	89,31
ПМВ 519-101	0,010	48,60	37,95	39,12	38,29	34,72	39,74
	0,025	72,73	62,12	60,53	51,69	54,58	60,33
	0,050	76,93	73,40	73,94	70,98	70,17	73,09
	0,100	90,83	87,50	87,66	89,16	84,41	87,91
ПБВ 519-10X	0,010	41,33	42,88	36,18	25,54	26,58	34,70
	0,025	58,67	57,45	53,56	47,35	46,85	52,77
	0,050	75,20	68,38	68,26	65,43	63,66	68,19
	0,100	83,57	84,02	82,04	78,64	75,09	80,67
ПБВ 519-47X	0,010	16,57	7,48	10,59	17,05	10,39	12,42
	0,025	13,20	10,25	7,61	13,26	18,61	12,59
	0,050	4,17	12,40	11,92	12,12	13,76	10,87
	0,100	10,13	10,52	11,59	17,88	24,72	14,97

Як показано на Фігурі 14, у Таблиці 9 і в Таблиці 10, згідно з деякими з варіантів реалізації, наприклад при рівні включення адсорбенту 0,05 г/л, цей винахід показав оптимальну ефективність вище 70 % величини секвестрації, і досяг майже 90 % секвестрації при 0,10 г/л. Так, згідно з деякими з варіантів реалізації цього винаходу запропоновано, що ПМВ/ПБВ, синтезовані з метакриловою кислотою, ще кращі, ніж ПМВ/ПБВ, синтезовані з 2-вінілпіридином, для адсорбції аналога споридесміну (наприклад, гліотоксину і шаблону 5-хлор-6,7-диметокси-1-метилізатину (наприклад, при додаванні з відношенням включення від 0,01 до 0,1 г/л при рН 4,0)). Однак відмінності між ПМВ і ПБВ були мінімальними для кожної з отриманих сполук, крім ПБВ, синтезованого шляхом полімеризації, що ініціюється УФ при низькій температурі, з рівнями адсорбції, що зростають зі збільшенням рівня включення адсорбенту від 10 до 15 %.

Таблиця 9

Характеристики ізотермічної адсорбції *in vitro* для ПМВ і ПБВ при чотирьох різних відношеннях включення стосовно шаблону споридесміну в середовищі цитратного буферного розчину при pH4

Включення (%)	ПБВ #519-99	ПМВ #519-98	ПБВ #519-10X	ПМВ #519-101	ПБВ #519-47X
0,010	47,207±9,159	46,302±8,297	34,703±7,837	39,737±5,229	12,416±4,197
0,025	64,404±7,894	61,882±6,983	52,774±5,517	60,331±8,136	12,585±4,101
0,050	79,720±6,683	77,594±7,047	68,186±4,396	73,087±2,671	10,873±3,817
0,100	89,309±1,858	89,329±3,702	80,671±3,767	87,912±2,375	14,967±6,288

#### Приклад 19

Афінність різних ПМВ і ПБВ та характеристика специфічності до аналогів споридесміну

Під час розробки варіантів реалізації цього винаходу проводили експерименти з метою оцінки афінності різних ПБВ/ПМВ, синтезованих у толуолі як розчинника, що застосовується для полімеризації осадженням, що термічно ініціюється. Отримані ПМВ були використані в цьому Прикладі, щоб показати відмінності в афінності секвестрації аналогів споридесміну (наприклад, гліотоксину і шаблону 5-хлор-6,7-диметокси-1-метилізатину) і для оцінки специфічності матеріалу. 30 мг ПМВ поміщали в колонку SEP-PAK з набиванням для твердофазної екстракції з силанізованого поліетилену. Застосовували силанізовані скляні віали, щоб гарантувати стабільність аналізованої речовини у водних розчинниках і запобігти будь-якій неспецифічній взаємодії аналізованої речовини зі скляними віалами. Спосіб силанізування, який застосовували до найлонових і ПТФЕ/ПЕ фільтрів і трубок, заснований на способах, що звичайно застосовуються у цій галузі техніки. Препарат готували разом з нульовим зразком, що не містить матеріалу ПМВ, і з позитивним контролем, що містить шаблон 5-хлор-6,7-диметокси-1-метилізатину або гліотоксин. Фільтруючі пристрої на зразок твердофазної екстракції (ТФЕ-подібні) виготовляли для еквівалента включення ПМВ 0,1 г/л, шляхом фільтрування через 30 мг матеріалу 1 мл розчину шаблону 5-хлор-6,7-диметокси-1-метилізатину або гліотоксину. Віали і фільтри готували, наповнюючи або занурюючи в силанізуючий реагент (SURFASIL, див., наприклад, Приклад 9). ТФЕ-подібні фільтруючі пристрої навантажували 1 мл розчину шаблону 5-хлор-6,7-диметокси-1-метилізатину або гліотоксину, що застосовується в одній концентрації 2000 млрд<sup>-1</sup>. Разом зі зразками проводили дослід з контрольним робочим розчином. Зразки і контроль інкубували при 37 °C протягом 2 хв, періодично струшуючи. Після періоду інкубування зразки пропускали через шприц, збирали в центрифужні пробірки об'ємом 15 мл і центрифугували при 100000 g протягом 10 хв. Надосадову рідину збирали в силанізовані віали для ВЕРХ з жовтого скла і аналізували. Для оцінки специфічності десорбції цільової молекули проводили шість стадій промивання матеріалу, що містить полімери ПМВ. Кожне з промивань збирали в центрифужні пробірки об'ємом 15 мл і центрифугували при 100000 g протягом 10 хв перед аналізом ВЕРХ. Проводили шість промивань зі зростаючою концентрацією органічного розчинника, включаючи перше промивання 50 мМ цитратним буферним розчином і п'ять послідовних промивань 20, 40, 60, 80, 100 % розчином метанолу у воді (об./об.), відповідно. У зазначеному експерименті використовували раніше отримані полімеризацією осадженням з термічним ініціюванням ПМВ #519-98 і #519-101 і ПБВ #519-99 і #519-10X (порошкоподібні форми), разом з кристалічними формами ПМВ і ПБВ, що ідентифікуються як #519-47 і #519-47X, які були отримані полімеризацією, що ініціюється УФ при низькій температурі (див., наприклад, Приклад 5). Надосадову рідину збирали в силанізовані віали для ВЕРХ з жовтого скла, запобігаючи будь-якій взаємодії мікотоксину або шаблону з віалюю, і розраховували за даними ВЕРХ (Alliance, Waters Corp., Milford, MA, USA) у комбінації з сигналом детектора фотодіодної матриці (наприклад, для детектування кількості мікотоксину та секвестрованого мікотоксину) згідно зі стандартними способами. ВЕРХ аналіз гліотоксину проводили з використанням суміші ацетонітрилу/оцтової кислоти/трифтороцтової кислоти (34,9:65:0,1, об./об.) як рухливої фази. Спосіб ВЕРХ для детектування шаблону 5-хлор-6,7-диметокси-1-метилізатину вибирали згідно зі стандартними параметрами елюювання при аналізі споридесміну, що представляють суміш ацетонітрилу/води/метанолу (45:45:10, об./об.). Детектування здійснювали за допомогою УФ-фотодіодної матриці з повним скануванням за довжинами хвиль (при 268,1 нм одержували оптимальний сигнал для гліотоксину; при 258,8 нм одержували оптимальний сигнал для шаблону).

Результати показали (див. Фігуру 15 і Таблицю 11), що ПМВ 1 #519-101 і #519-98 мали більш низькі величини десорбції при промиванні 40 % метанолом у порівнянні відповідно з ПБВ

#519-10X і #519-99 при адсорбції гліотоксину. Промивання, що містять більше 60 % метанолу, були однак здатні подвоїти майже всю кількість секвестрованого гліотоксину. Згідно з деякими з варіантів реалізації, ПМВ #519-101, синтезований з використанням мономерів 2-вінілпіридину, мав більш високу специфічність, ніж відповідний ПБВ #519-10X і ПБВ #519-99, ПМВ #519-98, ПБВ #519-47X і ПМВ 519-47 при застосуванні до системи промивання, що містить 20 % метанолу. Полімери 519-47X і 519-47 були нездатні адсорбувати більше 25 % гліотоксину. Застосування промивання буферним розчином було здатне видалити весь адсорбований гліотоксин.

Результати показують (див. Фігуру 16 і Таблицю 11), що ПМВ #519-101 мають більш низькі величини десорбції при промиванні 20 і 40 % метанолом у порівнянні з відповідним ПБВ #519-10X. Проте, специфічності ПМВ #519-98 і ПБВ #519-99 були порівнянні, без відмінностей у специфічності адсорбції 5-хлор-6,7-диметокси-1-метилізатинового шаблону. Промивання, що містять більше 60 % метанолу, були здатні, однак, видалити майже всю кількість секвестрованого 5-хлор-6,7-диметокси-1-метилізатинового шаблону. Згідно з деякими з варіантів реалізації, і як було виявлено для гліотоксину, ПМВ #519-101, синтезований з використанням мономерів 2-вінілпіридину, мав більш високу специфічність, ніж відповідний ПБВ #519-10X і ПБВ #519-99, ПМВ #519-98, ПБВ #519-47X і ПМВ 519-47 відповідно до системи промивань, що містять 20 і 40 % метанолу. Полімери 519-47X і 519-47 демонстрували відмінність в ефективності секвстрації на користь сполуки ПМВ. Однак хоча адсорбція 5-хлор-6,7-диметокси-1-метилізатинового шаблону була гірше 50 %, для нього виявлена краща афінність, ніж для гліотоксину, що показує кращу специфічність ПМВ до 5-хлор-6,7-диметокси-1-метилізатинового шаблону.

Таблиця 107

Адсорбційні властивості 3 ПМВ, 3 ПБВ до шаблону 5-хлор-6,7-диметокси-1-метилізатину і гліотоксину при pH 4,0 у конфігурації ТФЕ при рівні включення адсорбенту 0,1 %, і стійкість до промивань зі зростаючою концентрацією метанолу в суміші цитратного буферного розчину (розчин А) і метанолу (розчин В)

Адсорбент	Середній відсоток адсорбції						
	Вихідний	A: 100 % B: 0 %	A: 80 % B: 20 %	A: 60 % B: 40 %	A: 40 % B: 60 %	A: 20 % B: 80 %	A: 0 % B: 100 %
Гліотоксин (% адсорбції)							
ПБВ 519-10X	99,3±0,6	99,3±0,0	67,7±1,9	47,7±1,4	-0,3±2,0	0,8±1,6	-0,8±1,2
ПМВ 519-101	99,9±0,3	99,9±0,0	99,9±0,0	55,5±0,1	8,3±2,0	-4,6±3,1	-5,1±8,7
ПБВ 519-99	99,0±0,4	98,2±0,4	80,5±1,0	50,7±2,8	4,0±2,5	-8,4±6,1	-7,6±9,6
ПМВ 519-98	99,1±0,4	99,0±0,3	78,5±0,4	44,9±2,2	15,4±1,2	-9,6±14,8	-6,1±7,7
ПБВ 555-47X	22,7±1,2	-1,7±1,5	-10,6±0,4	-13,6±6,5	-28,4±2,7	-24,1±11,4	-33,4±5,7
ПМВ 519-47	25,1±2,6	-2,4±10,5	-18,5±13,2	-20,7±3,05	-28,2±2,4	-28,2±11,1	-36,5±8,2
Шаблон 5-хлор-6,7-диметокси-1-метилізатину (% адсорбції)							
ПБВ 519-10X	98,5±0,8	98,0±1,0	86,5±0,2	59,5±1,1	-1,8±1,0	-39,4±0,7	-19,5±1,8
ПМВ 519-101	99,9±0,1	99,4±0,6	94,8±0,1	72,4±0,1	-0,2±1,3	-2,2±1,5	-15,3±1,5
ПБВ 555-99	99,0±0,6	97,5±0,1	90,5±0,2	65,2±0,8	13,1±1,4	-1,85±1,0	-9,8±1,4
ПМВ 519-98	98,8±0,2	97,2±0,3	89,2±0,7	55,1±0,6	9,35±1,3	-7,9±0,4	-8,0±3,3
ПБВ 555-47X	44,8±5,6	33,0±0,8	9,7±3,9	6,2±0,9	-29,7±0,1	-17,5±1,4	-19,3±3,2
ПМВ 519-47	48,7±7,0	44,7±0,6	28,2±0,6	-17,1±0,8	-20,1±2,1	-21,3±13,6	-24,1±3,4

#### Приклад 20

Секвстраційні ємності ПМВ у відношенні мікотоксинів – стосовно до споридесміну

Полімер ПМВ, отриманий з використанням мономерів 2-вінілпіридину в толуолі (див., наприклад, Приклад 15) випробовували у відношенні споридесміну (AgResearch Limited, Ruakura Research Centre, Hamilton, New Zealand) для видалення мікотоксинів споридесміну (A 93 %; B, D, E від 2 до 17 %) з рідких або напіврідких середовищ шляхом хімічних взаємодій. Отриманий ПМВ застосовували для характеристики афінності секвстрації і для оцінки специфічності матеріалу. Експеримент по секвстрації проводили, поміщаючи наважку 50 і 400 мг матеріалу ПМВ в пляшки Шотта і додаючи 100 мл робочого розчину суміші споридесмінів, одержуючи відношення включення 0,5 і 4,0 г/л адсорбенту в середовищі. Препарат готували разом з

нульовим зразком, що не містить матеріалу ПМВ, і з позитивним контролем, що містить тільки споридесмін. Випробування на секвестрацію проводили в сукцинатному буферному розчині 50 мМ, доведеному до рН 6,0 для відповідності фізіологічним умовам у рубцевому відділі шлунка. Усі зразки інкубували протягом 90 хв в орбітальному ротаційному шейкері при 150 об/хв, температуру підтримували 37 °С. У системі випробовували три кінцеві концентрації споридесміну, 500; 1000; 2000 млрд<sup>-1</sup>. Після інкубування препарати центрифугували при 10000 об/хв протягом 10 хв. Надосадову рідину збирали в силанізовані віали для ВЕРХ з жовтого скла, і розраховували за даними ВЕРХ, у комбінації з сигналом УФ-детектора (наприклад, для детектування кількості мікотоксину і секвестрованого мікотоксину) згідно зі стандартними способами. У способі ВЕРХ для детектування споридесміну застосовували суміш ацетонітрил/вода/метанол (45:45:10, об./об.) для елюювання речовин, що аналізуються, і колонку С18 (4,6 мм × 25 см). Детектування проводили на УФ-детекторі (280 нм давав оптимальний сигнал для споридесмінів).

Продукт ПМВ #519-98 адсорбував від 80,5 до 85,7 % при відношенні включення 0,5 г/л і більше 98,5 % при відношенні включення 4 г/л, при концентраціях споридесміну 500; 1000 і 2000 млрд<sup>-1</sup> (див., наприклад, Таблицю 12). Розбіжності між повтореннями оцінювалися менше ніж 1 % від адсорбції. Слабкий ефект насичення міг спостерігатися при відношенні включення 0,5 г/л зі зменшенням величини адсорбції, отриманим у дослідженому діапазоні концентрацій споридесміну.

Таблиця 11

Ефективність адсорбції ПМВ #519-98 при співвідношенні включення 0,5 і 4,0 г/л по відношенню до трьох концентрацій споридесміну.

Відношення включення (%)	Середній відсоток адсорбції (%) для концентрації споридесміну, рівної:		
	500 млрд <sup>-1</sup>	1000 млрд <sup>-1</sup>	2000 млрд <sup>-1</sup>
0,05	85,65±0,87	84,03±0,70	80,51±1,37
0,40	99,13±0,00	98,85±0,00	98,54±0,09

Усі публікації і патенти, згадані в наведеному вище описі, включені в цю заявку за допомогою посилань. Різні модифікації і зміни описаних композицій та способів згідно з цим винаходом будуть очевидні фахівцям в цій галузі техніки, не відхиляючись від обсягу й сутності цього винаходу. Незважаючи на те, що цей винахід був описаний у зв'язку з конкретними кращими варіантами реалізації, слід розуміти, що заявлений винахід жодним чином не повинен бути обмежений зазначеними конкретними варіантами реалізації. У дійсності, можна здійснити різні модифікації описаних шляхів реалізації винаходу, зрозумілі фахівцям у зв'язаних галузях техніки, які повинні розглядатися як такі, що входять в обсяг цього винаходу.

#### ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

1. Композиція для зв'язування мікотоксинів, що містить полімер з молекулярними відбитками, синтезований із застосуванням мікотоксинового шаблону, вибраного з групи, яка включає: N-(2-гідрокси-3,5-дихлорбензоїл)-L-фенілаланін, 5-хлор-6,7-диметокси-1-метилізатин, етил-3-гідрокси-6,7-диметокси-2-індолон-3-карбоксилат, 6,7-диметоксіізатин і 6,7-диметокси-1-метилізатин.

2. Композиція за п. 1, у якій мікотоксиновий шаблон являє собою N-(2-гідрокси-3,5-дихлорбензоїл)-L-фенілаланін.

3. Композиція за п. 1, у якій мікотоксиновий шаблон являє собою 5-хлор-6,7-диметокси-1-метилізатин.

4. Композиція за п. 1, у якій полімер з молекулярними відбитками виготовлений шляхом забезпечення N-(2-гідрокси-3,5-дихлорбензоїл)-L-фенілаланінового шаблону і одного або більше мономерів, та одного або більше агентів, що зшивають; та контактування зазначеного мікотоксинового шаблону з одним або більше мономерами та одним або більше агентами, що зшивають, в умовах, що забезпечують полімеризацію зазначених одного або більше мономерів і зазначених одного або більше агентів, що зшивають, у присутності зазначеного шаблону.

5. Композиція за п. 4, у якій один або більше мономерів вибрані з групи, що складається з 2-вінілпіридину, 2-гідроксіетилметакрилату і метакрилової кислоти.

6. Композиція за п. 4, у якій один або більше агентів, що зшивають, включають етиленгліколю диметакрилат.
7. Композиція за п. 1, у якій полімер з молекулярними відбитками виготовлений шляхом забезпечення 5-хлор-6,7-диметокси-1-метилізатинового шаблону і одного або більше  
5 мономерів, та одного або більше агентів, що зшивають; та контактування зазначеного мікотоксинового шаблону з одним або більше мономерами та одним або більше агентами, що зшивають, в умовах, що забезпечують полімеризацію зазначених одного або більше мономерів і зазначених одного або більше агентів, що зшивають, у присутності зазначеного шаблону.
8. Композиція за п. 7, у якій один або більше мономерів вибрані з групи, що складається з 2-вінілпіридину, 2-гідроксіетилметакрилату і метакрилової кислоти.
- 10 9. Композиція за п. 7, у якій один або більше агентів, що зшивають, включають етиленгліколю диметакрилат.
10. Спосіб секвестрації мікотоксину з матеріалу, що включає:  
а) забезпечення:  
15 i) матеріалу, що містить мікотоксини; і  
ii) полімеру з молекулярними відбитками для зв'язування мікотоксинів, одержаного шляхом полімеризації одного або більше мономерів і одного або більше агентів, що зшивають, у присутності мікотоксинового шаблону, вибраного з групи, яка включає: N-(2-гідрокси-3,5-дихлорбензоїл)-L-фенілаланін, 5-хлор-6,7-диметокси-1-метилізатин, етил-3-гідрокси-6,7-  
20 диметоксі-2-індолон-3-карбоксилат, 6,7-диметоксіізатин і 6,7-диметокси-1-метилізатин; і  
b) здійснення контакту зазначеного полімеру з молекулярними відбитками із зазначеним матеріалом, що містить мікотоксини, в умовах, що забезпечують можливість зв'язування зазначеного мікотоксину зазначеним полімером з молекулярними відбитками.
11. Спосіб за п. 10, у якому з матеріалу, що містить мікотоксини, секвеструють охратоксин А.
- 25 12. Спосіб за п. 10, у якому з матеріалу, що містить мікотоксини, секвеструють споридесмін.
13. Спосіб за п. 10, у якому матеріал, який містить мікотоксини, вибраний із групи, що складається з напою, харчового продукту, корму для тварин, фармацевтичної композиції, нутрицевтичної композиції, косметичної композиції та речовини, необхідної для підтримання життя.
- 30 14. Спосіб за п. 13, у якому речовина, необхідна для підтримання життя, вибрана з групи, що складається з середовища для застосування в аквакультурі та газоподібного зразка, що містить кисень.
15. Спосіб за п. 10, у якому полімер з молекулярними відбитками, зв'язаний з мікотоксином, не відокремлюють від матеріалу, що містить мікотоксини.
- 35 16. Спосіб за п. 10, який додатково включає с) відокремлення зв'язаного мікотоксину від полімерів з молекулярними відбитками.
17. Спосіб за п. 16, у якому зазначене відокремлення включає екстракцію, концентрування або виділення зазначеного мікотоксину з матеріалу та з полімерів з молекулярними відбитками.
18. Спосіб за п. 17, у якому відокремлення здійснюють на хроматографічній або роздільній  
40 колонці або картриджі.
19. Спосіб за п. 17, у якому після відокремлення мікотоксини, зв'язані з полімерами з молекулярними відбитками, видаляють з полімерів з молекулярними відбитками шляхом промивання.
20. Спосіб за п. 19, у якому після видалення з полімерів з молекулярними відбитками мікотоксини піддають якісному або кількісному аналізу.
- 45 21. Спосіб за п. 20, у якому якісний і кількісний аналізи застосовують для забезпечення можливості відстеження.
22. Спосіб за п. 19, у якому полімер з молекулярними відбитками, з якого були вилучені мікотоксини, повторно застосовують для секвестрації мікотоксину з матеріалу, що містить  
50 мікотоксини.
23. Спосіб за п. 10, у якому полімер з молекулярними відбитками адсорбує від 1 до 10 разів більше води, у порівнянні з власною масою.
24. Спосіб за п. 23, у якому полімер з молекулярними відбитками адсорбує від 1 до 5 разів більше води, у порівнянні з власною масою.
- 55 25. Спосіб за п. 23, у якому полімер з молекулярними відбитками адсорбує від 1 до 2 разів більше води, у порівнянні з власною масою.
26. Спосіб за п. 10, у якому два або більше різних полімерів з молекулярними відбитками приводять у контакт із матеріалом, що містить мікотоксини, з метою секвестрації двох або більше конкретних мікотоксинів з матеріалу.
- 60 27. Спосіб одержання полімеру з молекулярними відбитками, у якому:

а) забезпечують:

i) мікотоксиновий шаблон, вибраний з групи, яка включає: N-(2-гідрокси-3,5-дихлорбензоїл)-L-фенілаланін, 5-хлор-6,7-диметокси-1-метилізатин, етил-3-гідрокси-6,7-диметоксі-2-індолон-3-карбоксилат, 6,7-диметоксіізатин і 6,7-диметокси-1-метилізатин; і

5 ii) один або більше мономерів та один або більше агентів, що зшивають; та

б) приводять у контакт мікотоксиновий шаблон з одним або більше мономерами та одним або більше агентами, що зшивають, в умовах, що забезпечують полімеризацію одного або більше мономерів і одного або більше агентів, що зшивають, у присутності мікотоксинового шаблону.

28. Спосіб за п. 27, у якому мікотоксиновий шаблон являє собою N-(2-гідрокси-3,5-дихлорбензоїл)-L-фенілаланін.

29. Спосіб за п. 27, у якому мікотоксиновий шаблон являє собою 5-хлор-6,7-диметокси-1-метилізатин.

30. Спосіб за п. 27, у якому один або більше мономерів вибрані з групи, що складається з 2-вінілпіридину, 2-гідроксietилметакрилату і метакрилової кислоти.

31. Спосіб за п. 27, у якому один або більше агентів, що зшивають, включають етиленгліколю диметакрилат.

32. Спосіб за п. 27, у якому полімеризацію ініціюють при низькій температурі шляхом УФ опромінення.

33. Спосіб за п. 27, у якому полімеризацію ініціюють шляхом формування вільних радикалів в органічному розчиннику при температурі від 55 до 110 °С.

34. Спосіб за п. 33, у якому вільні радикали формують шляхом розкладання азоізобутиронітрилу (АІБН).

35. Спосіб за п. 33, у якому органічний розчинник вибраний з групи, що складається з толуолу, циклогексану, ацетонітрилу, розчину полівінілового спирту (ПВС) у воді, і суміші двох або більше з розчинників, вибраних з толуолу, циклогексану, ацетонітрилу і розчину ПВС/вода.

36. Спосіб за п. 33, у якому температура становить від 55 до 75 °С.

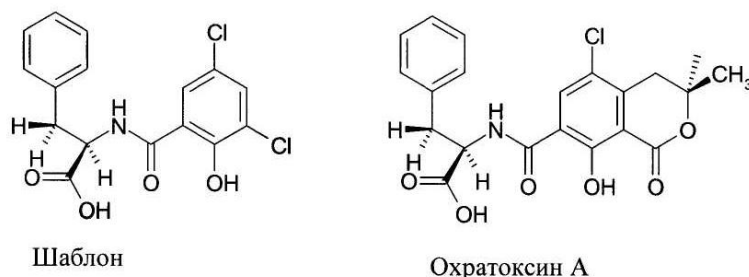
37. Спосіб за п. 27, у якому мікотоксиновий шаблон видаляють з полімеру з молекулярними відбитками після полімеризації одного або більше мономерів і одного або більше агентів, що зшивають.

38. Спосіб за п. 37, у якому застосовують одне або більше промивань розчином, вибраним з групи, що складається з органічного розчинника, буферного розчину, води та комбінації зазначених розчинів, для видалення мікотоксинового шаблону з полімеру з молекулярними відбитками.

39. Спосіб за п. 38, у якому органічний розчинник вибраний з групи, що складається з етилового спирту, метилового спирту, ацетонітрилу, толуолу і суміші зазначених розчинників.

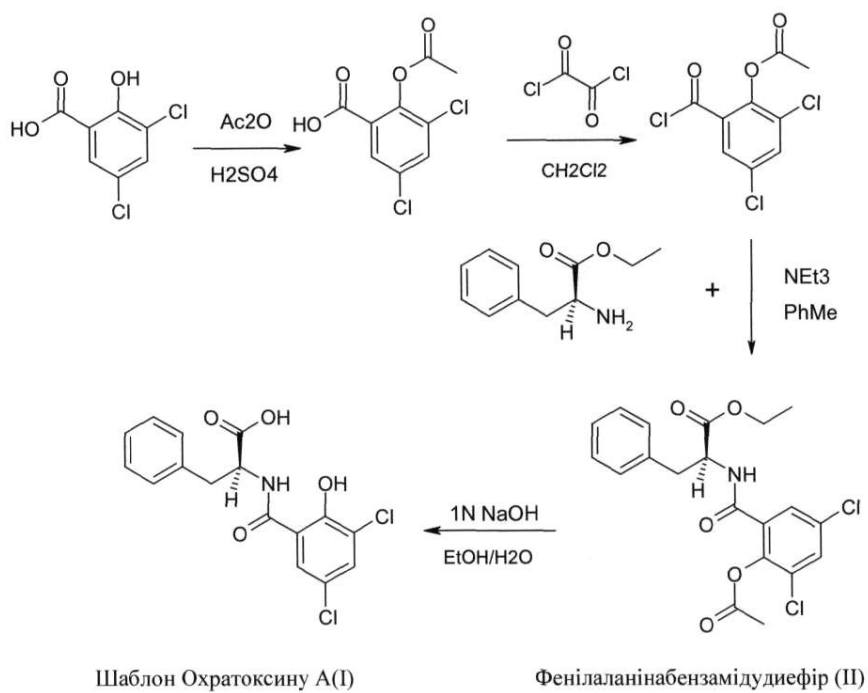
40. Спосіб за п. 38, у якому буферний розчин являє собою буферний розчин, одержаний при взаємодії гідроксиду натрію, лимонної кислоти, бурштинової кислоти та оцтової кислоти.

41. Спосіб за п. 38, у якому полімер з молекулярними відбитками сушать після одного або більше промивань.

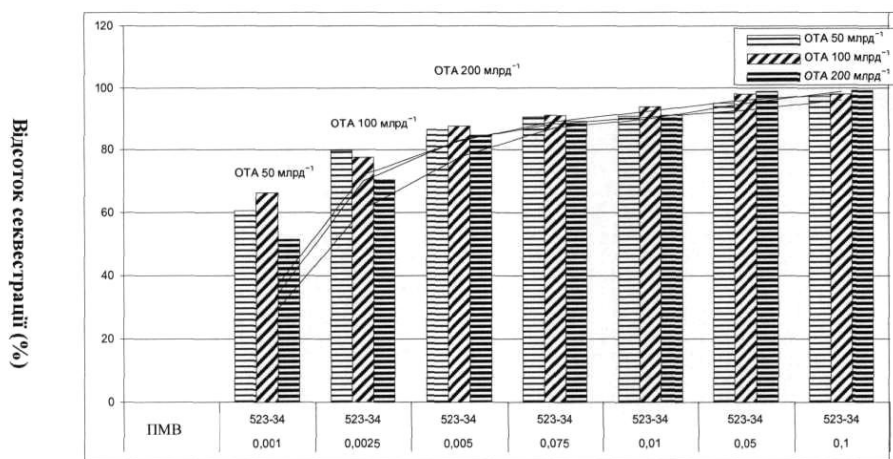


ФІГ. 1



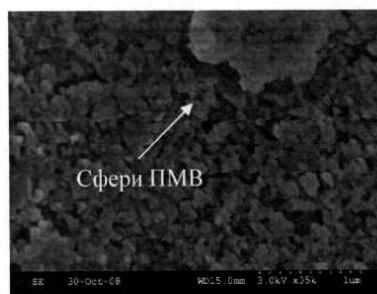


ФІГ. 2

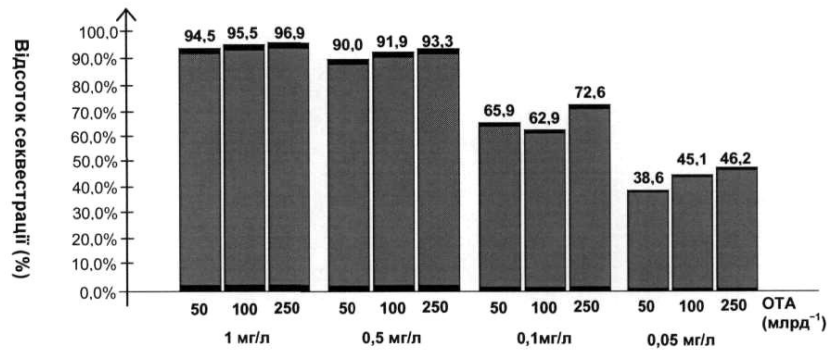


ФІГ. 3

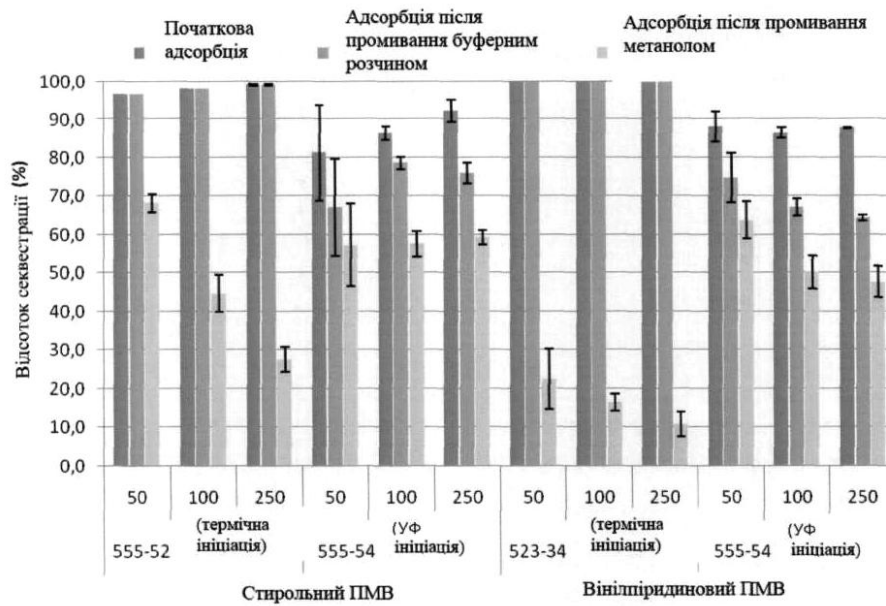
Picture 32506\_14



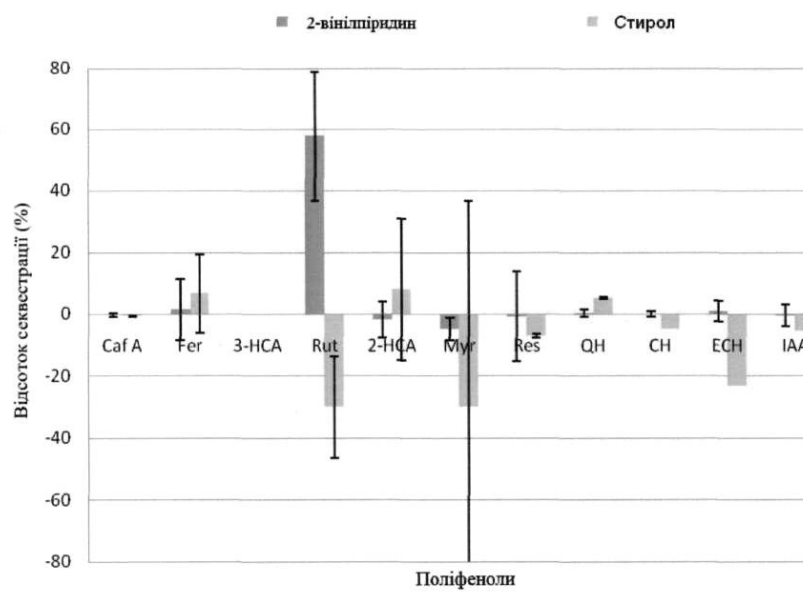
ФІГ. 4



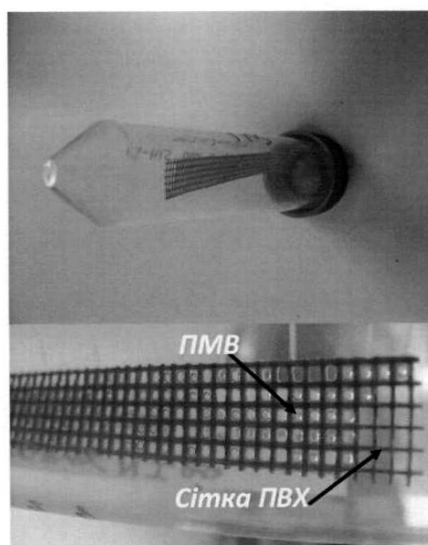
ФІГ. 5



ФІГ. 6

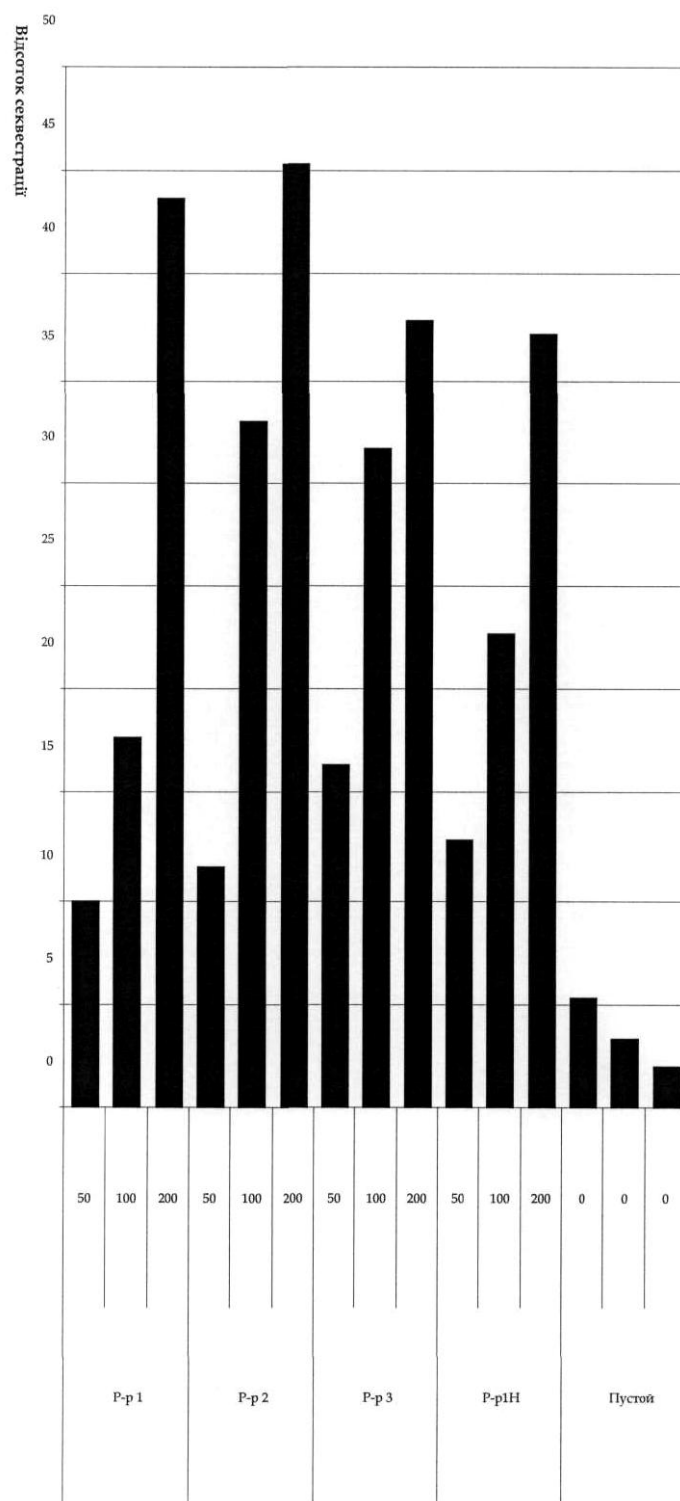


ФІГ. 7

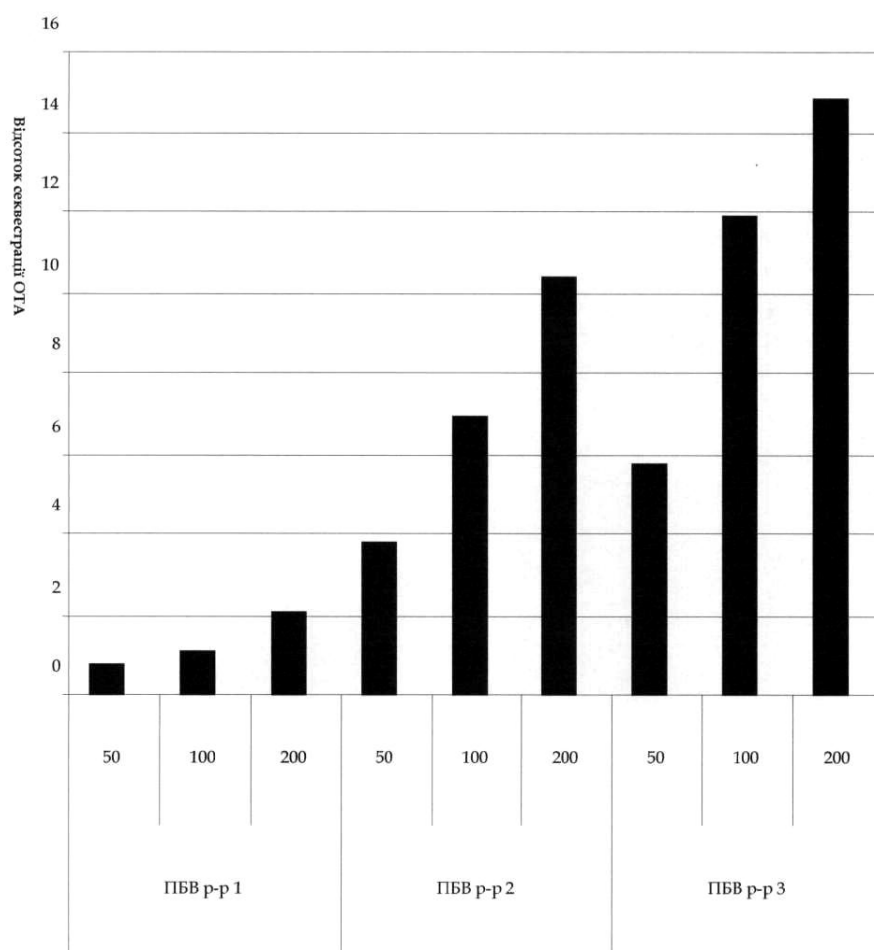


ФІГ. 8

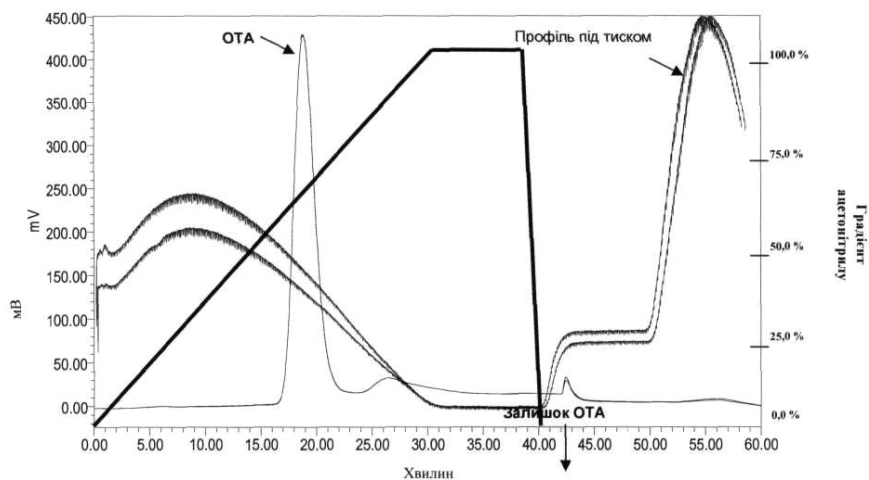
ФІГ. 9



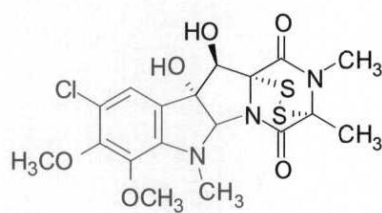
**ФІГ. 10**



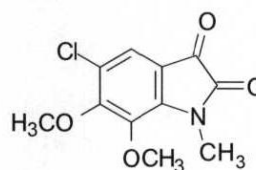
ФІГ. 11



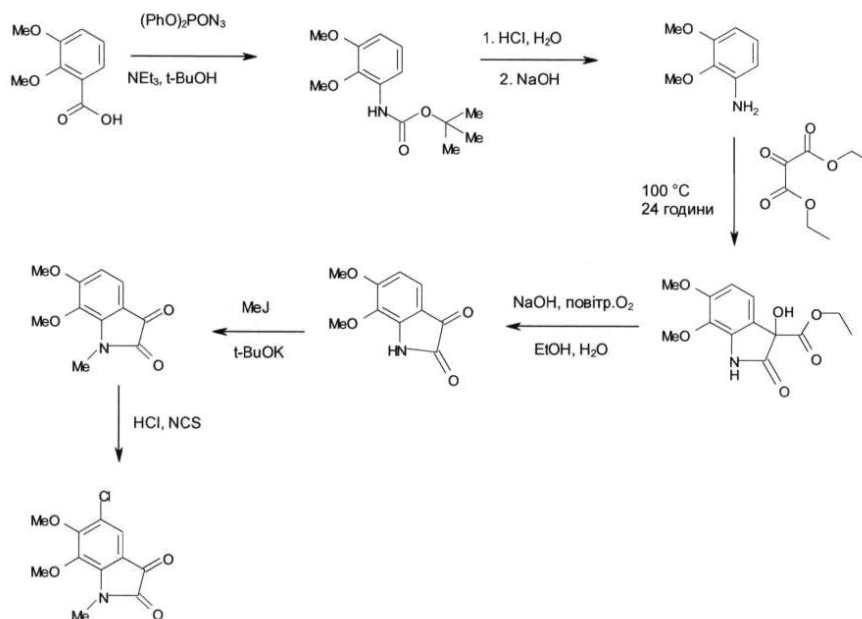
	Час	Витрати	% 1 % тетраетиламмоній у метанолі	% Ацетонітрил	% H <sub>2</sub> O
1	0,01	1,00	0,0	0,0	100,0
2	30,00	1,00	0,0	100,0	0,0
3	40,00	1,00	0,0	100,0	0,0
4	41,00	1,00	100,0	0,0	0,0
5	50,00	1,00	100,0	0,0	0,0
6	60,00	1,00	0,0	0,0	100,0
7	61,00	1,00	0,0	0,0	100,0
8	62,00	0,10	0,0	0,0	100,0



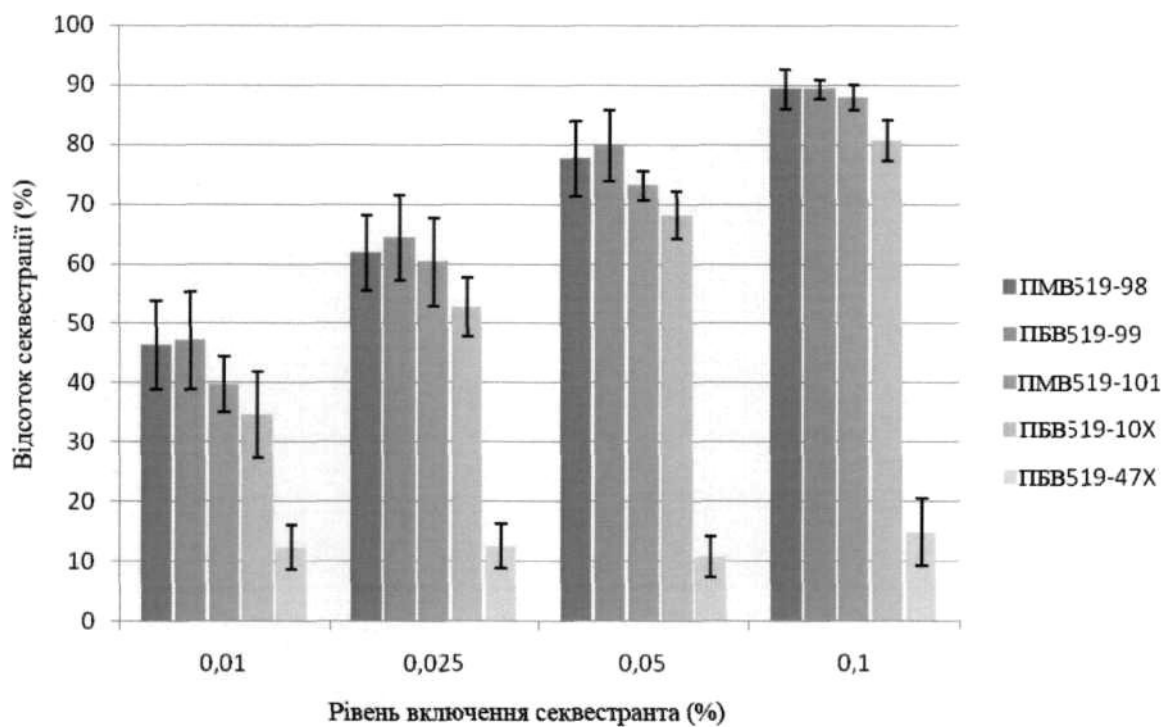
Мікотоксин – Споридесмін А

Шаблон Споридесміну А  
5-хлор-6,7-диметокси-1-метилізатин

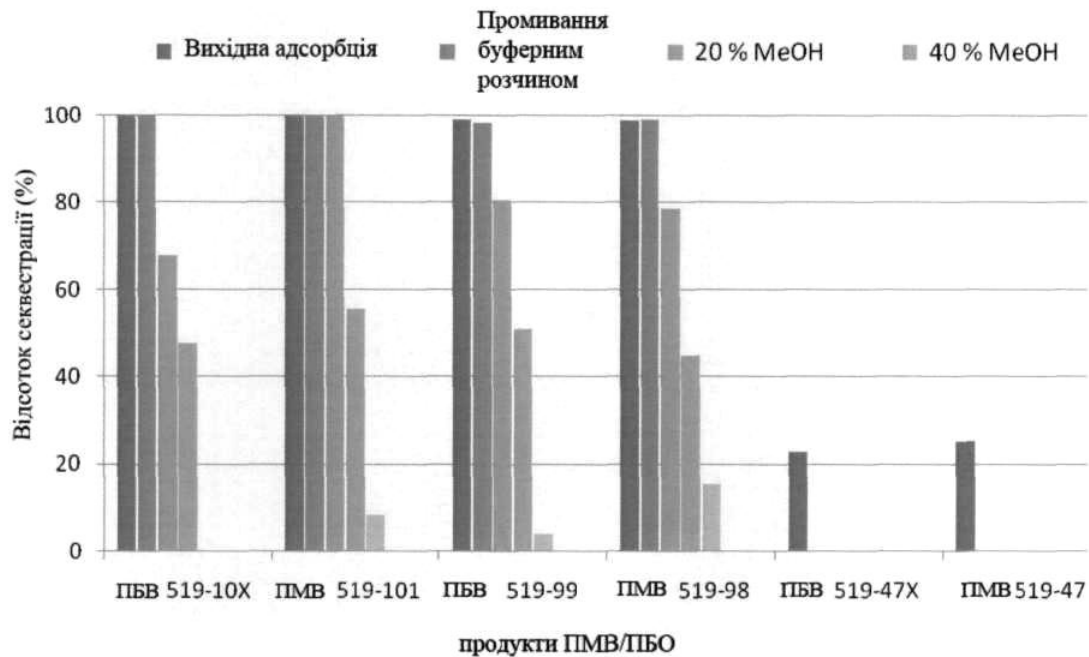
ФІГ. 12



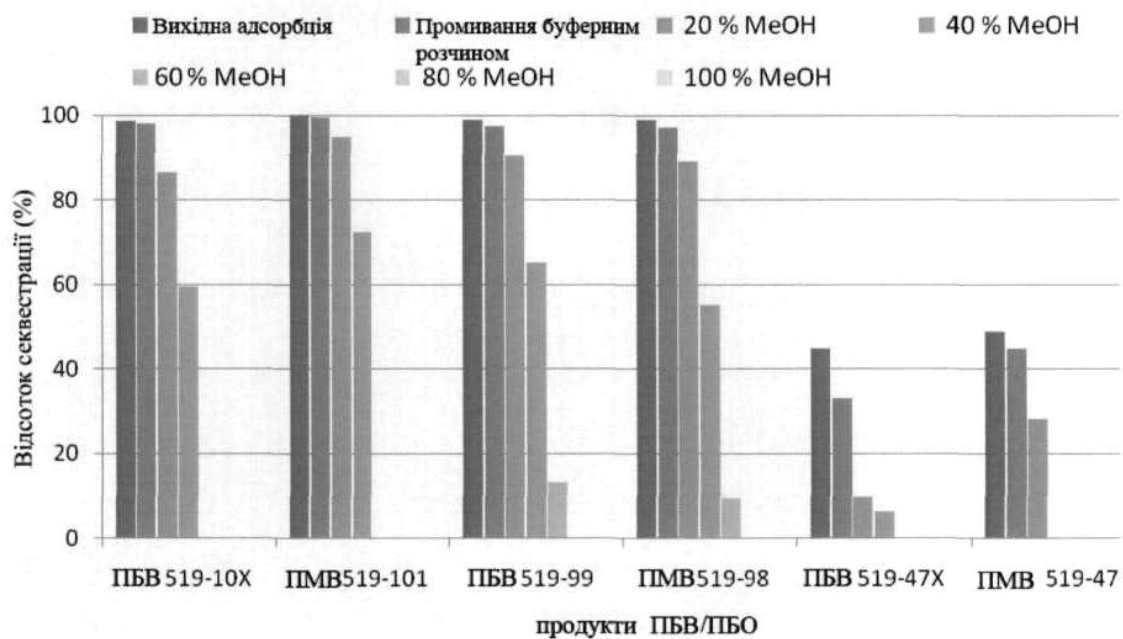
ФІГ. 13



ФІГ. 14



ФІГ. 15



ФІГ. 16

Комп'ютерна верстка М. Ломалова

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601