



УДК 39.543.544

Разделение энантиомеров нестероидных противовоспалительных средств и β -блокаторов в условиях высокоэффективной тонкослойной хроматографии

Карцова Л.А., Объедкова Е.В., Протасова И.Д.

Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург

Поступила в редакцию 12.12.2012 г.

Аннотация

Предложены различные способы модификации хроматографических систем хиральными селекторами (аминокислоты, циклодекстрины, макроциклические антибиотики) с последующим одномерным, двумерным, или двукратным элюированием в условиях высокоэффективной тонкослойной хроматографии (ВЭТСХ) с денситометрическим детектированием для разделения энантиомеров нестероидных противовоспалительных средств (НПВС) (*ибупрофена, кетопрофена и кеторолака*) и β -блокаторов (*карведилола, пропранолола и соталола*). Выявлены возможности хиральной лигандообменной ВЭТСХ для разделения энантиомеров НПВС (модификация подвижной фазы комплексами Cu^{2+}/L -пролин или Cu^{2+}/L -гидроксипролин), β -блокаторов (модификация неподвижной фазы комплексами Cu^{2+}/L -пролин).

Ключевые слова: высокоэффективная тонкослойная хроматография, разделение энантиомеров, нестероидные противовоспалительные препараты, β -блокаторы, хиральная лигандообменная хроматография

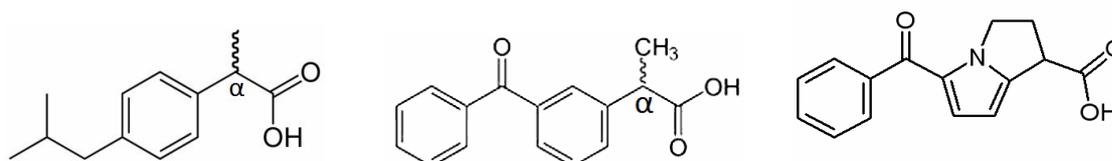
Different ways of chromatographic system modification by chiral selectors (amino acids, cyclodextrins, macrocyclic antibiotics) and modes of elution (one-dimensional, two-dimensional or two-fold) using high-performance thin-layer chromatography with densitometric detection for the separation of enantiomers of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) (ibuprofen, ketoprofen and ketorolac) and β -blockers (carvedilol propranolol and sotalol) were proposed. The possibilities of chiral ligand-exchange HPTLC for the enantioseparation of NSAIDs (modification of stationary phase by Cu^{2+}/L -proline or Cu^{2+}/L -hydroxyproline), β -blockators (modification of stationary phase by Cu^{2+}/L -proline) were shown.

Keywords: high-performance thin-layer chromatography, separation of enantiomers, non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs), β -blockers, chiral ligand-exchange chromatography

Введение

Эффекты различных лекарственных препаратов, их органолептические и аллергические воздействия на живой организм, в первую очередь, связаны с хиральной чистотой этих соединений, которые составляют около половины всех синтезируемых органических соединений. Из десятков тысяч получаемых органических веществ только 30% фармацевтических соединений и 25% соединений, используемых в агрохимии, являются гомохиральными.

Многие нестероидные противовоспалительные средства поставляются на фармацевтический рынок в виде рацемических смесей. При этом лишь один из изомеров оказывает положительное воздействие. Нестероидные противовоспалительные средства (НПВС) представляют собой обширную и разнообразную по химическому строению группу лекарственных средств, широко применяемых в клинической практике. Они обладают выраженным противовоспалительным, жаропонижающим и обезболивающим действием. Такие препараты, как кетопрофен, ибупрофен и кеторолак (рис. 1), используются при лечении артритов, артрозов, а также в комплексной терапии больных с нарушениями стероидогенеза для устранения побочных эффектов, вызванных приемом синтетических стероидных лекарств.



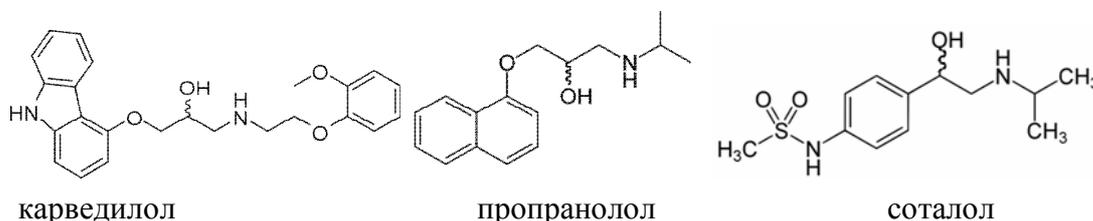
Ибупрофен

Кетопрофен

Кеторолак

Рис. 1. Структурные формулы ибупрофена, кетопрофена и кеторолака

Еще одной группой препаратов, основным свойством которых является способность обратимо блокировать β -адренергические рецепторы, являются β -адреноблокаторы (рис. 2). Их используют при терапии гипертонической болезни. Некоторые бета-блокаторы также используются в лечении стенокардии, инфарктов, нарушений сердечного ритма, глаукомы и мигреней. Несмотря на то, что практически вся β -антагонистическая активность находится в одном энантиомере, большинство β -блокаторов применяются в виде рацемических смесей. Исключение составляют только левобунолол, тимолол и пенбутолол, используемые в виде (S)-энантиомеров. Для проверки энантиочистоты и состава фармпрепаратов в лекарствах и биологических жидкостях используют методы ВЭЖХ, ГХ, ТСХ. В ВЭТСХ прямое разделение пропранолола, атенолола и метопролола было достигнуто с использованием хиральных неподвижных фаз, импрегнированных такими селекторами как N-(3,5-динитробензоил)-R-(-)- α -фенилглицин и N-(3,5-динитробензоил)-L-лейцин [1], L-аспартамовая кислота [2], L-аргинин [3, 4], L-лизин [5] (Рис.6), D(-) винная кислота [6].



карведилол

пропранолол

соталол

Рис. 2. Структурные формулы β -адреноблокаторов

Простота и экспрессность метода ТСХ, возможность одновременного определения различных объектов и стандартов позволяют использовать его для серийных анализов аналитов практически всех классов. Следует отметить, что при анализе фармацевтических препаратов на долю этого метода приходится 60% работ.

Впервые разделение энантиомеров ибупрофена в тонкослойной хроматографии было выполнено Бушаном и Паршадом при двумерном проявлении силикагелевых пластин, модифицированных L-аргинином [7].

Первые эксперименты с использованием лигандообменной тонкослойной хроматографии были проведены независимо друг от друга Гюнтером с соавт. [53] и Вейнштейном [54] в 1984 г. Вейнштейн имрегнировал ОФ ТСХ пластинки комплексами меди (II) с N,N-ди-n-пропил-L-аланином и осуществил разделение энантиомеров α -аминокислот и их дансилпроизводных. Гюнтер и соавт. синтезировали (2S,4R,2'RS)N-(2'-гидроксидодецил)-4-гидроксипролин и покрыли им ОФ-18 ТСХ пластинки, которые были выпущены в промышленности под названиями ChiralPlate и HPTLC-CHIR.

В лигандообменной хроматографии (ЛОХ) формируются тройные комплексы между ионами металла, молекулами хирального селектора и энантиомера. Стабильность комплекса в большей степени зависит от его стереохимии.

Первые лигандообменники, на которых была практически осуществлена колоночная ЛОХ энантиомеров, получены Даванковым и Рогожиным из сшитого хлорметилированного полистирола и природных α -аминокислот [8].

В данной работе предложены различные варианты разделения энантиомеров НПВС и бета-блокаторов с использованием разнообразных хиральных селекторов, способов модификации хроматографических систем, видов элюирования в условиях высокоэффективной и лигандообменной ТСХ с денситометрическим детектированием.

Эксперимент

Материалы и реагенты. Ацетонитрил (ч.д.а., «Криохром», СПб), этанол (ч.д.а., «Sigma»), метанол (ч.д.а. «Sigma»), толуол (ч.д.а., «Вектон», Россия), трихлорметан (ч.д.а.), этилацетат (х.ч., «Вектон», Россия), n-бутанол, ацетат аммония, соляная кислота, ледяная уксусная кислота, β -циклодекстрин («Sigma»), 2-гидроксипропил- β -циклодекстрин («Sigma»), кеторол (мед. препарат, активный компонент кеторолак, «Dr. Reddys»), кетонал (мед. препарат, активный компонент кетопрофен, Lek, Словения), ибупрофен (мед. препарат, активный компонент ибупрофен, «Татхимфармпрепараты», Россия), L-пролин («Sigma», 99%), L-гидроксипролин («Sigma», 99%), L-тирозин («Sigma», 98%), акрилол (мед. препарат, активный компонент – карведилол, «Акрихим»), анаприлин (активный компонент – пропранолол, «Производственная фармацевтическая компания Обновление», Россия), сотагексал (активный компонент – соталол, «Гексал АГ»), L-тирозин («Sigma», 98%), L-лизин («Sigma»), DL-лизин, L-лейцин («Sigma»), DL-лейцин, L-триптофан («Sigma»), DL-триптофан, хлороформ (ч.д.а., «Вектон»), тетрахлорметан (ч.д.а., «Вектон»), ванкомицин («Sigma»), эремомицин, сверхсшитый полистирол (Purosep 270).

Оборудование: Видеоденситометр «Sorbfil-денситометр» (г. Краснодар), УФ-спектрофотометр Shimadzu UV 1800, ИК-Фурье спектрометр Bruker Tensor 27; микродозаторы переменного объема вместимостью 0,1-2,5, 200-1000 мм³ и пределом допускаемой погрешности измерения не более $\pm 5\%$, микрошприц «Hamilton» (10 мкл), США, весы аналитические Shimadzu AUX 220, e = 1мг, d = 0,1 мг; ТСХ-камеры (10x10 см), лабораторный pH-метр pH 211, Hanna Instrumens, ультразвуковая баня Branson 1510, шприцы медицинские одноразовые вместимостью 5 см³, пробирки для микропроб Эппендорфа полипропиленовые

вместимостью 1,5 мл, хроматографические пластинки "Sorbfil" ПТСХ-П-А-УФ (г. Краснодар).

Стандартные растворы нестероидных противовоспалительных средств (ибупрофен, кетопрофен, кеторолак) готовили растворением точных навесок каждого вещества (масса активного вещества 10 мг) в 1 мл ацетонитрила во фторопластовых пробирках; хранили при +4-6°C. Стандартные растворы аминокислот готовили растворением точных навесок каждого вещества (5 мг) в водном растворе этанола (70%); хранили при +4-6°C. Стандартные растворы β -блокаторов готовили растворением точных навесок, содержащих 10 мг активного вещества в спирте: метиловом (для карведилола), этиловом (для пропранолола, соталола); хранили при +4-6°C. Рабочие растворы готовили разбавлением стандартных в необходимое количество раз с помощью микрошприца и автоматического дозатора. Полученные растворы до анализа хранили в холодильнике при +4-6°C.

Для разделения энантиомеров НПВС использованы следующие варианты:

- 1) модифицирование хиральным селектором стационарной фазы;
- 2) введение хирального селектора в состав элюента;
- 3) использование модифицированной стационарной фазы и хирального элюента.

В качестве хиральных селекторов взяты аминокислоты: L-пролин, L-тирозин, L-лизин; β -циклодекстрин и 2-гидроксипропил- β -циклодекстрин; макроциклические антибиотики: ванкомицин, эремомицин; комплекс ионов Cu^{2+} с L-гидроксипролином и комплекс ионов Cu^{2+} с L-пролином.

Модификация пластин осуществлялась в растворах хиральных селекторов требуемой концентрации: а) L-пролином: 0,5%, 1%, 2%, 2,5%, б) L-лизином: 0,5%-ный раствор, в) L-тиозином: 0,5%, 2%-ный растворы (по массе), г) β -циклодекстрином: насыщенный раствор с концентрацией $\sim 3,3$ ММ, д) 2-гидроксипропил- β -циклодекстрином: 5 мМ, 10 мМ, 15 мМ раствор/

Навеску вещества растворяли в дистиллированной воде или в водном растворе метанола ($\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O} = 1:19$ (объемн.) (при модификации комплексами меди(II)), затем горизонтально погружали пластину на 2 мин, после чего ее извлекали, сушили на воздухе в течение суток. Проявление хроматограмм проводили при комнатной температуре $20 \pm 5^\circ\text{C}$ в условиях восходящей ТСХ. При двумерном проявлении пластина высушивалась в течение 40 мин при 35°C после первого элюирования. Детектирование осуществлялось с помощью видеоденситометра. Пределы детектирования НПВС получали по графическим зависимостям, определяя количество вещества, соответствующее 2 и 3 уровням шума на денситограмме, и находили среднее значение. Они составили для ибупрофена $1,08 \pm 0,22$ мкг; кетопрофена $0,41 \pm 0,15$ мкг; кеторолака $1,5 \pm 0,7$ мкг.

Определение селективности разделения энантиомеров НПВС и факторов разрешения.

В качестве подвижной фазы использовали систему $\text{MeCN}/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ (7,5:1,5:1,5; объемн) с добавкой уксусной кислоты. Хиральный селектор (комплекс Cu^{2+} и L-гидроксипролина; комплекс Cu^{2+} и L-пролина в соотношении 1:2) добавлялся в состав элюента (1мМ и 2мМ, 2мМ и 4мМ, 3мМ и 6мМ). Все эксперименты выполнялись не менее трех раз. Полученные факторы разрешения энантиомеров НПВС представлены в табл. 1-2.

Таблица 1. Факторы разрешения энантимеров нестероидных противовоспалительных препаратов на пластинах, импрегнированных L-пролином; элюент: CH₃CN/MeOH/H₂O (7,5:1,5:1,5; объемн.) + AcOH (0,1мл) при двумерном проявлении

Содержание L-пролина (% масс)	Rs		
	Ибупрофен	Кетопрофен	Кеторолак
0.5	2.29	3.18	7.62
1	2.57	2.70	8.86
2	2.93	3.68	10.00
2.5	3.31	5.50	10.35

Таблица 2. Значение факторов разрешения при разных концентрациях хирального селектора в подвижной фазе

Хиральный селектор	Rs	
	ибупрофен	кетопрофен
Cu(II)/пролин		
(1мМ:2мМ)	3.14	2.04
(2мМ:4мМ)	2.59	2.17
(3мМ:6мМ)	1.41	2.46
Cu(II)/гидроксипролин		
(1мМ:2мМ)	3.12	3.23
(2мМ:4мМ)	3.95	2.20
(3мМ:6мМ)	2.93	2.71

Разделение энантимеров β-блокаторов

Модификацию пластин осуществляли, как описано выше: пластину помещали горизонтально в водный раствор навески хирального селектора на 2 мин, затем извлекали и сушили на воздухе в течение суток.

Хиральная лигандообменная тонкослойная хроматография

Разделение проводилось в условиях восходящей ТСХ с одномерным проявлением; элюент: MeCN/MeOH/H₂O (1:3:5, объемн.). Хроматографические фазы модифицировались тремя способами (введение хирального селектора в элюент; в стационарную фазу; модификация пластины L-аминокислотой, а подвижной фазы – раствором соли металла-комплексобразователя) раствором соли Cu²⁺ (2мМ) и L-гидроксипролина (4мМ). Требуемое значение рН ПФ ~7-7,5 получали добавлением ионов NH₄⁺ (ацетат аммония). Детектирование УФ λ=254 нм.

Комплекс Cu²⁺ (2мМ) с L-пролином (4мМ) добавляли в подвижную фазу MeCN/MeOH/H₂O (1:3:5); значение рН 6,85 достигнуто добавлением ионов аммония (в форме ацетата). Подвижные фазы, модифицированные комплексами меди (II) с L-пролином, L-гидроксипролином (2мм и 4 мм), со значением рН 7 (создано введением ионов аммония): MeCN/MeOH/H₂O = 18:4:2; MeCN/MeOH/H₂O = 3:1:1

Одномерное проявление. УФ-детектирование λ=254 нм. Проводили серию экспериментов с ПФ состава MeCN/MeOH/H₂O (15:2:1): Элюент модифицировали комплексами меди (II) с L-пролином; L-гидроксипролином. Количество ионов металла и аминокислоты составляло 1мМ и 2мМ, 2мМ и 4мМ, соответственно, с добавлением ионов аммония для достижения рН 8.

Подвижную фазу модифицировали ионами меди (II): 2мМ, пластины на основе силикагеля, модифицированные L-гидроксипролином (4мМ); 3мМ; пластины на основе силикагеля, модифицированные L-гидроксипролином (6мМ) с добавлением ионов аммония для создания требуемого значения рН 7,6-7,9.

Немодифицированная ПФ; пластины на основе силикагеля модифицированы:
- комплексом меди (II) с L-гидроксипролином (4мМ) (рН раствора с ХС, куда погружали пластины, 7,5);

- комплексом меди (II) (2мМ) с L-гидроксипролином (4мМ) (без изменения рН раствора с хиральным селектором);

- комплексом меди (II) (2мМ) с L-гидроксипролином (4мМ) (без изменения рН раствора с хиральным селектором);

- комплексом меди (II) (3мМ) с L-гидроксипролином (6мМ) (без изменения рН раствора с хиральным селектором);

Во всех случаях проводили одномерное элюирование. Разделения энантиомеров β -блокаторов не происходило. Пятна пропранолола и соталола оказались сильно размытыми.

Обсуждение результатов

Определение изомерного состава соединений относится к наиболее трудным видам анализа. Изомеры имеют одинаковый химический состав и, как следствие, обладают близкими физико-химическими свойствами. В особенности это относится к энантиомерам.

Из литературных данных известно, что энантиомеры НПВС и β -блокаторов разделяют в условиях высокоэффективной жидкостной хроматографии и капиллярного электрофореза, используя в качестве хиральных селекторов различные классы соединений. В условиях ТСХ число публикаций по разделению этих энантиомеров крайне незначительно.

В поисках условий разделения энантиомеров НПВС варьировался состав подвижной фазы (ПФ), тип и концентрация хирального селектора (ХС), способ модификации хроматографических фаз.

Использовали:

а) модифицированную стационарную фазу;

2) модифицированную подвижную фазу;

3) модифицированную неподвижную фазу с введением хирального селектора в состав элюента.

Реализованы различные режимы элюирования: одномерное, двумерное или двукратное.

При модификации ПФ хиральными селекторами лучшие результаты получены с использованием L-пролина. Достигнуто разделение энантиомеров всех определяемых НПВС (ибупрофена, кетопрофена и кеторолака) (рис. 3) с высокими значениями факторов разрешения (R_s от 2,29 до 10,35) (табл. 3) на пластинах, импрегнированных L-пролином в разных концентрациях (0,5%, 1%, 2%, 2,5% от массы модифицирующего раствора), в системе ацетонитрил/метанол/вода (7,5:1,5:1,5, объёмн.) с добавлением нескольких капель уксусной кислоты при двумерном проявлении.

В результате проведенных экспериментов достигнуто разделение (рис. 4) энантиомеров соталола и пропранолола (значения R_s от 1,11 до 2,16) (табл. 4) на пластинах, модифицированных β -циклодекстрином (1мМ и 4мМ) в ПФ

ДМФА/БуОН/МеСО₂Et. Установлено, что при увеличении концентрации β-циклодекстрина до 8 мМ и выше, энантимеры пропранолола уже не разделяются.

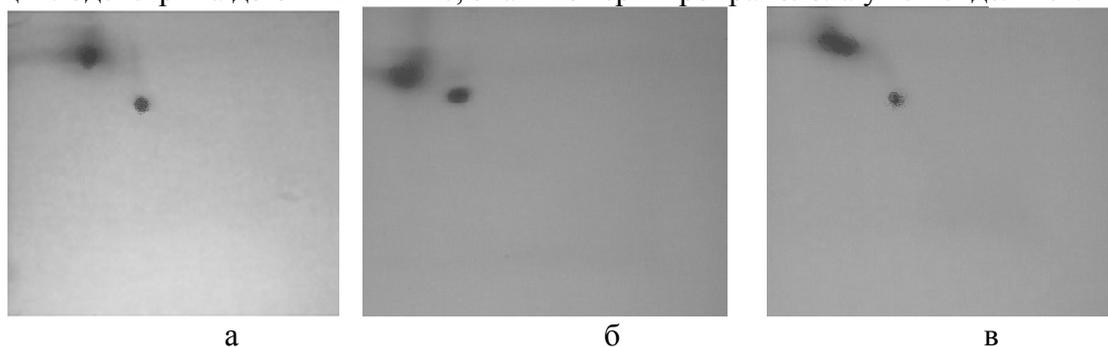


Рис. 3. Снимки модифицированных пластин (L-пролин (2%, масс.)) с нанесенными НПВС: а) – кеторолак, б) – кетопрофен, в) – ибупрофен. Подвижная фаза: ацетонитрил/метанол/вода (7,5:1,5:1,5, объемн.)+0,1мл АсОН.

Таблица 3. Значение коэффициентов энантиоселективности и факторов разрешения при разделении энантимеров НПВС, ПФ: МеСN/МеОН/Н₂O (7,5:1,5:1,5)+АсОН(0,1мл), пластины, импрегнированные L-пролином, двумерное проявление.

Концентрация L-пролина	Ибупрофен		Кетопрофен		Кеторолак	
	α	Rs	α	Rs	α	Rs
0.5%	1.65	2.29	1.65	3.18	2.72	7.62
1.0%	1.84	2.57	1.86	2.70	2.45	8.86
2.0%	2.19	2.93	1.97	3.68	3.33	10.00
2.5%	2.06	3.31	2.07	5.50	3.24	10.35

Таблица 4. Значение коэффициентов энантиоселективности и факторов разрешения энантимеров пропранолола и соталолола на пластинах, модифицированных ХС; ПФ: ДМФА/БуОН/МеСО₂Et (3:5:5), двукратное проявление

Хиральный селектор	Пропранолол		Соталол	
	α	Rs	α	Rs
β-циклодекстрин (1мМ)	2.63	1.92	2.89	2.16
β-циклодекстрин (4мМ)	2.37	1.22	2.15	1.11
β-циклодекстрин (8мМ)	1	-	1.41	0.64
2-HP-β-циклодекстрин (1мМ)	1.79	0.77	1.50	0.85

Если в качестве ХС использовать 2-гидроксипропил-β-циклодекстрин, импрегнированный на поверхность силикагеля, обнаружен следующий факт: энантимеры обсуждаемых аналитов разделяются лишь при концентрации модифицирующего раствора 1мМ (для пропранолола Rs=0,77, для соталолола Rs=0,85). С увеличением концентрации ХС пятна становятся размытыми, и разделения не происходит.

Используя L-лизин (0,5%), а также L-пролин (0,5%) в качестве модификаторов неподвижной фазы, разделились энантимеры карведилола (рис. 5) в двумерном варианте проявления (ПФ: МеСN/МеОН (7,5:2) (объемн.) с добавлением 0,2 мл гидроксида аммония) с высокими факторами разрешения (значения Rs 3,71 и 5,00 соответственно) (табл. 5).

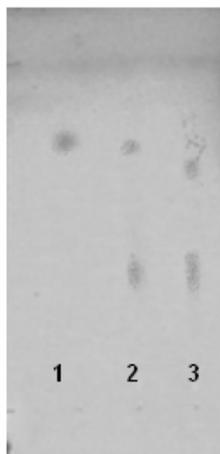


Рис. 4. Снимки пластины, модифицированной β -циклодекстрином (1мМ) с нанесенными β -блокаторами после двукратного проявления в ПФ ДМФА/BuOH/MeCO₂Et (3:5:5). 1 – карведилол, 2 – пропранолол, 3 – соталол.



Рис. 5. Снимок пластины после двумерного проявления. аналит: (\pm)карведилол; подвижная фаза MeCN/MeOH (7,5:2) + NH₃·H₂O (0,2мл); ТСХ-пластина, модифицированная L-лизинном (0,5%).

Таблица 5. Значения коэффициентов энантиоселективности и факторов разрешения, полученные при разделении энантиомеров β -блокаторов на модифицированных пластинах. Элюент: MeCN/MeOH (7,5:2) + NH₃·H₂O (0,2мл), двумерное проявление

Хиральный селектор	α	Rs
L-лизин (0,5%)	1.69	3.71
L-пролин (0,5%)	2.52	5.00

Особой задачей явилось выявление возможности лигандообменной хроматографии для разделения энантиомеров обсуждаемых лекарств.

β -блокаторы, являясь 1,2-аминоспиртами, могут выступать в роли бидентатных лигандов и образовывать пятичленные хелатные циклы с ионами меди (II). В работе применялись различные подходы: модификация подвижной и неподвижной фаз комплексом меди с L-аминокислотой, а также введение ионов меди в подвижную фазу, а аминокислот – в неподвижную. Энантиомеры пропранолола и соталолола разделялись при использовании пластин, импрегнированных комплексом меди с L-пролином. Лучшее разделение достигалось при концентрации комплекса 4мМ, но и в случае других концентраций значения коэффициентов энантиоселективности превысило 1,5, что позволяет рекомендовать эти системы даже для препаративного разделения.

В отличие от β -блокаторов, молекулы НПВС не способны выступать в роли бидентатных лигандов с образованием хелатного цикла с ионом меди, тем не менее разделение энантиомеров произошло. В литературе встречаются лишь единичные сообщения о подобных фактах. Механизм комплексообразования до конца не ясен, но можно предположить, что на место одной молекулы аминокислоты в координационной сфере иона меди временно становятся две молекулы НПВС.

Достигнутые результаты на модельных системах позволили нам перейти к анализу реальных объектов, где особое внимание было уделено процедуре

пробоподготовки, в основе которой — твердофазная экстракция. В качестве сорбента использовался сверхсшитый полистирол Purosep 270. Его отличительная особенность заключается в том, что он практически в одинаковой степени набухает в любых органических растворителях, независимо от их термодинамического сродства к полистиролу. И в отличие от других сополимеров стирола с дивинилбензолом сверхсшитый полистирол поглощает молекулы сорбата всем своим объемом, демонстрируя тем самым исключительно высокую сорбционную активность. В качестве элюента использовалась система метанол/дихлорметан (2:1, объемн.).

Исследовались образцы мочи здорового человека через 2 часа после приема рацемического ибупрофена. После концентрирования в условиях ТФЭ энантимеры ибупрофена разделялись на пластинах, модифицированных L-пролином (2%) при двумерном проявлении.

Список литературы

1. Wall P.E. Preparation and application of HPTLC plates for enantiomer separation // J. Planar Chromatogr. 1989. V. 2. P. 228 – 232.
2. Bhushan R., Arora, M. Direct enantiomeric resolution of (\pm)-atenolol, (\pm)-metoprolol, and (\pm)-propranolol by impregnated TLC using l-aspartic acid as chiral selector // Biomed. Chromatogr. 2003. V. 17. P. 226 – 230.
3. Bhushan R., Thiongo T.G. Direct enantioseparation of some β -adrenergic blocking agents using impregnated thin-layer chromatography // J. Chromatogr. B. 1998. V. 708. P. 330 – 334.
4. Sajewicz M., Pietka R., Kowalska T. Chiral separations of ibuprofen and propranolol by TLC. A study of the mechanism and thermodynamics of retention // J. Liq. Chrom. Rel. Technol. 2005. V. 28. P. 2499 – 2513.
5. Lucic B., et al. Direct separation of the enantiomers of (\pm)-metoprolol tartarate on impregnated TLC plates with d-(–)-tartaric acid as a chiral selector // J. Planar Chromatogr. 2005. V. 18. P. 294 – 299.
6. Armstrong D.W., He F.Y., Han S.M. Planar chromatographic separation of enantiomers and diastereoisomers with cyclodextrin mobile phase additives // J. Chromatogr. 1988. V. 448. P. 345 – 354.
7. Bhushan R., Parshad V. Thin-layer chromatographic separation of enantiomeric dansyl amino acids using a macrocyclic antibiotic as a chiral selector // J. Chromatogr. A. 1996. V. 736. P. 235 – 238.
8. Даванков В.А., Навратил Дж. Лигандообменная хроматография / Москва. 1990. 294 С.

Карцова Людмила Алексеевна – д.х.н., проф. кафедры органической химии Санкт-Петербургского государственного университета, Санкт-Петербург, тел. (812) 428-40-44

Протасова Инна Дмитриевна – студентка 5-го курса кафедры органической химии Санкт-Петербургского государственного университета, Санкт-Петербург

Обедкова Екатерина Валерьевна – аспирант кафедры аналитической химии Санкт-Петербургского государственного университета, Санкт-Петербург

Kartsova Ludmila A. – Dr.Sc.Chem. the professor of organic chemistry department of chemical faculty, St. Petersburg state university, St. Petersburg, email: kartsova@gmail.com

Protasova Inna D. – five-year student of organic chemistry department of chemical faculty, St. Petersburg state university, St. Petersburg

Obedkova Ekaterina V. – PhD student of analytical chemistry department of chemical faculty St. Petersburg state university, St. Petersburg, e-mail: obedkovaev@gmail.com