

УДК 543.544.5.068.7

РАЗДЕЛЕНИЕ ЭНАНТИОМЕРОВ β -БЛОКАТОРОВ НА СИЛИКАГЕЛЕ, МОДИФИЦИРОВАННОМ НАНОЧАСТИЦАМИ ЗОЛОТА С ИММОБИЛИЗОВАННЫМ МАКРОЦИКЛИЧЕСКИМ АНТИБИОТИКОМ ВАНКОМИЦИНОМ

© 2018 г. И.А. Ананьева¹, Я.А. Полякова, Е.Н. Шаповалова, А.Г. Мажуга, О.А. Шпигун

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, химический факультет
119991 Россия, Москва, ГСП-1, Ленинские горы, 1, стр. 3

¹E-mail: irishan@mail.ru

Поступила в редакцию 12.05.2017 г.

После доработки 20.07.2017 г.

Получен новый хиральный сорбент на основе меркаптосиликагеля, модифицированного наночастицами золота, с последующей их обработкой 3-меркаптопропионовой кислотой и макроциклическим антибиотиком ванкомицином. Исследовано энантиоразделение изомеров β -блокаторов (надолол, атенолол, метопролол, алпренолол, окспренолол, пиндолол) на синтезированном сорбенте методом ВЭЖХ. Изучены влияние состава подвижной фазы (природа и содержание органического растворителя, концентрация и pH буферного раствора) на времена удерживания энантиомеров β -блокаторов, селективность разделения и разрешение хроматографических пиков. Лучшее разделение достигнуто для пиндолола и метопролола. Методика применена для определения энантиомеров пиндолола в препарате “Вискен” и метопролола в препарате “Вазокардин”.

Ключевые слова: β -блокаторы, энантиомеры, высокоэффективная жидкостная хроматография, макроциклический антибиотик, ванкомицин, наночастицы золота.

DOI: 10.7868/S0044450218020032

Современные тенденции развития фармацевтической промышленности свидетельствуют о растущей потребности в получении оптически чистых лекарственных форм. Многие синтетические препараты существуют в виде двух или нескольких пространственных изомеров. Фармакологическая активность рацемических лекарственных средств обычно связана с действием лишь одного энантиомера. Второй или обладает менее выраженной активностью, или совсем не активен, или обнаруживает другие фармакологические эффекты [1].

Один из лучших методов разделения энантиомеров – жидкостная хроматография с использованием сорбентов, модифицированных хиральным селектором. Природа селектора и способ модифицирования оказывает значительное влияние на энантиоселективность. Известным классом хиральных селекторов являются гликопептидные антибиотики, к которым относятся ванкомицин, тейкопланин, ристоцетин А и др. Они успешно зарекомендовали себя в качестве хиральных селекторов в методах ВЭЖХ и капиллярного электрофореза для энантиоразделения большого

круга лекарственных препаратов [2–5]. Наличие в их структуре различных по строению фрагментов, способных к разным типам взаимодействий с разделяемыми веществами, позволяет разделять широкий круг оптически активных соединений, включая аминокислоты и их производные, β -блокаторы, профены и др. Хиральные неподвижные фазы на основе антибиотиков сочетают достоинства полисахаридных фаз и фаз, модифицированных белками, и отличаются высокими емкостью и производительностью, а также стабильностью, возможностью использования широкого круга растворителей, разделением энантиомеров в разных вариантах ВЭЖХ [6].

Наиболее популярным антибиотиком является ванкомицин, что связано с его доступностью и относительно невысокой стоимостью по сравнению с другими. Ванкомицин содержит различные функциональные группы, такие как карбокси-, гидроксо-, amino-, амидные, которые отвечают за ионизацию при разных значениях pH и составах буферных растворов. Значения pK_a ванкомицина составляют 2.9 (карбоксильная группа),

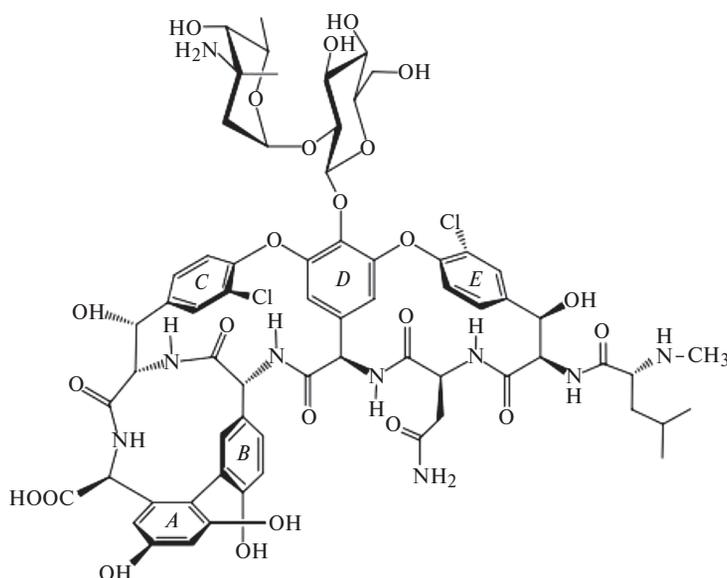


Схема 1. Структурная формула ванкомицина.

7.2, 8.6 (аминогруппы), 9.6, 10.4, 11.7 (фенольные группы), изоэлектрическая точка равна 7.2 [7]. Структурная формула ванкомицина представлена на схеме 1. Молекула содержит 18 хиральных центров, пять ароматических колец (*A–E*), окруженных тремя полостями включения, и два сахаридных остатка. Разделение энантиомеров разных классов органических соединений (кислот, аминов, амидов, эфиров) на сорбентах с ванкомицином происходит за счет образования водородных связей, π – π -взаимодействий, гидрофобных взаимодействий и образования комплексов включения. Механизм разделения энантиомеров на сорбентах с макроциклическими антибиотиками до конца не ясен, поскольку большое количество хиральных центров затрудняют интерпретацию данных по энантиоразделению.

Регулировать энантиоселективность сорбентов на основе макроциклических антибиотиков можно изменением не только структуры антибиотика, но и способа иммобилизации. Большое влияние на энантиоселективность оказывают именно способ иммобилизации, длина и природа спейсера, связывающего селектор и носитель. Описанные в литературе способы иммобилизации антибиотиков [8–10] имеют ряд недостатков: часто синтез осуществляется при температуре от 95 до 105°C, что может приводить к частичному разрушению антибиотиков; при закреплении антибиотика на поверхности силикагеля остаются свободные силанольные группы, которые вносят непрогнозируемый вклад в удерживание; многие способы иммобилизации требуют значительного времени для полного протекания реакции, иногда вплоть до недели [11]. Перспективным, но пока мало исследованным способом получения сорбентов для ВЭЖХ является иммобилизация на поверхность носителя

наночастиц золота (**НЧЗ**), стабилизированных различными лигандами. Показано [12–17], что такие сорбенты обладают хорошей эффективностью и уменьшают продолжительность анализа.

Цель данной работы – синтез нового хирального сорбента на основе силикагеля, модифицированного НЧЗ с иммобилизованным антибиотиком ванкомицином, исследование его хроматографических свойств на примере разделения энантиомеров β -блокаторов.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Аппаратура. Работу выполняли на жидкостном хроматографе Shimadzu LC-20 Prominence (Япония) с диодно-матричным детектором SPD-M20A. Сбор данных и обработку хроматограмм проводили с помощью программного обеспечения LC Solution фирмы “Shimadzu”.

Реагенты и растворы. В качестве матрицы для синтеза сорбента использовали силикагель Kromasil 100–5-Sil (сферический, размер частиц 5 мкм, площадь поверхности 300 м²/г, размер пор 100 Å, Ekachemicals, Швеция).

Для синтеза сорбента использовали следующие реагенты: $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ х.ч., $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 5.5\text{H}_2\text{O}$ ос.ч. (обе соли Мерск, Германия), 3-меркаптопропилтриметоксисилан (95%, Acros Organics, США), 3-меркаптопропионовая кислота х.ч., *N,N'*-дициклогексилкарбодиимид х.ч., 4-(диметиламино)пиридин х.ч., гидрохлорид ванкомицина, этиловый спирт х.ч. (Sigma-Aldrich, США).

Для приготовления буферных растворов использовали точные навески твердых и жидких препаратов ацетата аммония ч.д.а. (Лабтех, Россия),

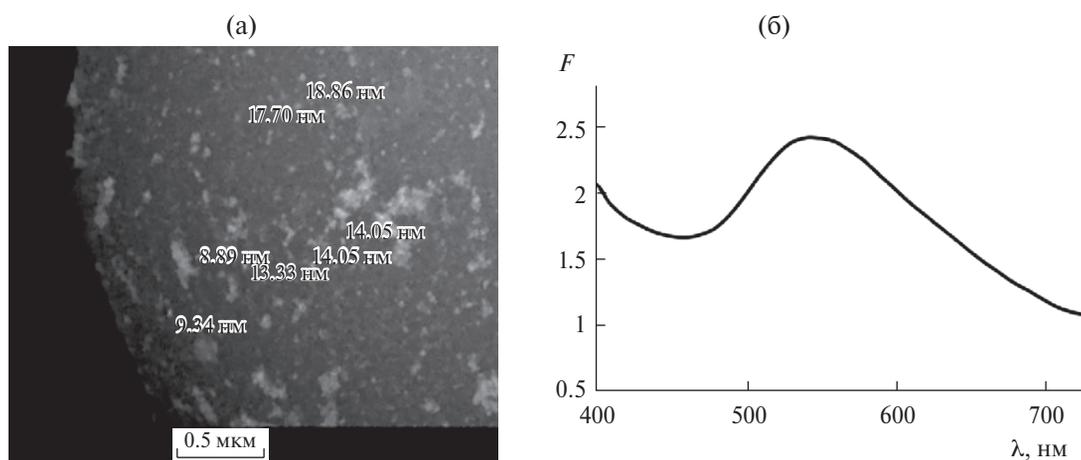


Рис. 1. Микрофотография, полученная методом сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) (а), и спектр диффузного отражения (б) сорбента $\text{SiO}_2\text{-S-Au-S-COOH-ванкомицин}$.

дигидрофосфата калия, тригидрата гидрофосфата калия, фосфорной кислоты (85%), уксусной кислоты (Реахим, Россия), триэтиламина (99%, Acros Organics, США).

Использовали триметиламин (99%, Acros Organics, США), ацетонитрил, метанол, изопропанол “для хроматографии” (Panreac, Испания), растворы β -блокаторов (надолол, атенолол, метопролол, алпренолол, окспренолол, пиндолол) (Sigma-Aldrich, США) с концентрацией 1 мг/мл в органических растворителях, приготовленные по точной навеске.

Для получения сорбента силикагель предварительно модифицировали 3-меркаптопропилтриметоксисилоном, затем последовательно обрабатывали НЧЗ, стабилизированными цитрат-ионами, и 3-меркаптопропионовой кислотой. На полученный сорбент иммобилизовали антибиотик посредством образования амидной связи между -COOH -группой кислоты и -NH_2 -группами ванкомицина.

Модифицирование силикагеля 3-меркаптопропилтриметоксисилоном. Навеску оксида кремния (3.000 г) суспендировали в 300.0 мл свежеперегнанного толуола в трехгорлой колбе емк. 300.0 мл, доводили суспензию до кипения, добавляли 3.0 мл 3-меркаптопропилтриметоксисилана и кипятили в течение 4 ч в атмосфере аргона. Затем модифицированный силикагель фильтровали через стеклянный пористый фильтр в атмосфере аргона.

Модифицирование тиолированного силикагеля наночастицами золота (10 нм), стабилизированными цитрат-ионами. Полученный тиолированный силикагель (около 2.100 г) суспендировали в 150.0 мл раствора свежеприготовленных НЧЗ при тщательном перемешивании механической верхнеприводной мешалкой при комнатной температуре в инертной атмосфере. В течение 24 ч смесь перемешивали, фильтровали через стеклянный пористый фильтр. Вещество на фильтре промывали последовательно водой и этиловым спиртом и высушивали при 50°C в течение 24 ч.

Модификация наночастиц золота на силикагеле 3-меркаптопропионовой кислотой. Полученный силикагель суспендировали в 100.0 мл воды и добавляли 5.0 мл 3-меркаптопропионовой кислоты при интенсивном перемешивании в течение 1 ч. Полученный раствор фильтровали, вещество на фильтре промывали последовательно водой и этиловым спиртом, и высушивали при комнатной температуре в течение 24 ч.

Иммобилизация ванкомицина на модифицированный золотыми наночастицами (10 нм) тиолированный силикагель. К полученному силикагелю при интенсивном перемешивании добавляли 100 мг растворенного в воде антибиотика ванкомицина, трехкратный избыток (35 мг на данное количество антибиотика) N, N'-дициклогексилкарбодимида и каталитические количества 4-(диметиламино)пиридина. Полученный раствор перемешивали в течение 24 ч при комнатной температуре, отделяли фиолетовый осадок фильтрованием на воронке Бюхнера со стеклянным фильтрующим дном и промывали его водой, а затем этанолом. Сорбент высушивали в течение 24 ч и хранили в сухом бюксе на воздухе. Результат элементного анализа: 6.3% C, 1.37% H, 1.64% S, 0.64% N. Данные элементного анализа показали, что плотность иммобилизации ванкомицина составила 51 ммоль/г. При этом с модифицированной поверхностью силикагеля прореагировало 74% ванкомицина, введенного в реакцию.

Микрофотография сорбента $\text{SiO}_2\text{-S-Au-S-ванкомицин}$ приведена на рис. 1а. Видно, что золото равномерно распределено по поверхности силикагеля. В спектре диффузного отражения (рис. 1б) наблюдается явно выраженный интенсивный максимум при 540 нм, характерный для НЧЗ. Рассмотрение карт распределения золота по поверхности силикагеля методом СЭМ (рис. 2а) позволяет более наглядно увидеть, что действительно вся поверхность силикагеля покрыта золотом, при этом имеется небольшое количество золотых агрегатов на поверхности, а также определенное количество золота распределено по

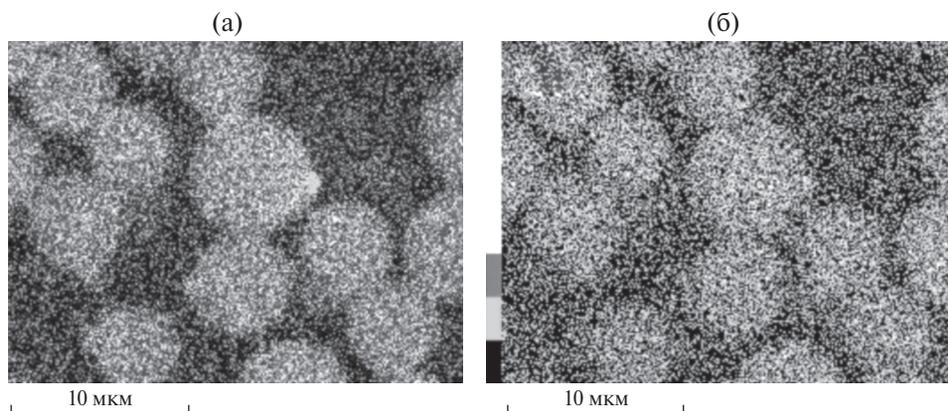


Рис. 2. Карты распределения золота (а) и серы (б) на поверхности $\text{SiO}_2\text{-S-Au-S-COOH}$ -ванкомицин, полученные методом СЭМ.

объему. На карте распределения серы (рис. 2б) также отчетливо видно, что максимальная концентрация серы наблюдается на самих сферах силикагеля.

Анализ лекарственных препаратов “Вискен” и “Вазокардин”. Таблетку препарата растирали в фарфоровой ступке до однородного состояния. Полученный порошок количественно переносили с помощью 25.0 мл ацетонитрила в коническую колбу. Суспензию обрабатывали в ультразвуковой ванне в течение 15 мин, аликвоту 2.0 мл центрифугировали в течение 5 мин при скорости 1500 об/мин. Надосадочную жидкость дополнительно фильтровали и 20 мкл фильтрата вводили в хроматографическую колонку. Условия хроматографического определения: фосфатный буферный раствор (25 мМ, рН 4.0)– CH_3CN (95 : 5, по объему), расход подвижной фазы (ПФ) 0.5 мл/мин, длина волны детектора 270 нм. Из хроматограммы рассчитывали сумму площадей пиков двух энантиомеров.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Хроматографические свойства полученного сорбента изучали на примере разделения энантиомеров β -блокаторов, структурные формулы которых представлены на схеме 2. β -Адреноблокирующие агенты (или β -блокаторы) относятся к классу N-гидроксипропиламинов. Их применяют для связывания адренорецепторов сердечной и/или гладкой мышцы, при этом они ингибируют действие адреноагентов, таких как амфетамин, адреналин, катехоламины и др. β -Блокаторы способны уменьшать силу и темп сокращения сердечной мышцы [18, 19]. Большинство β -блокаторов хиральны, их энантиомеры обладают различным фармакологическим эффектом. Вследствие этих различий актуально разделение изомеров β -адреноблокирующих агентов [20, 21].

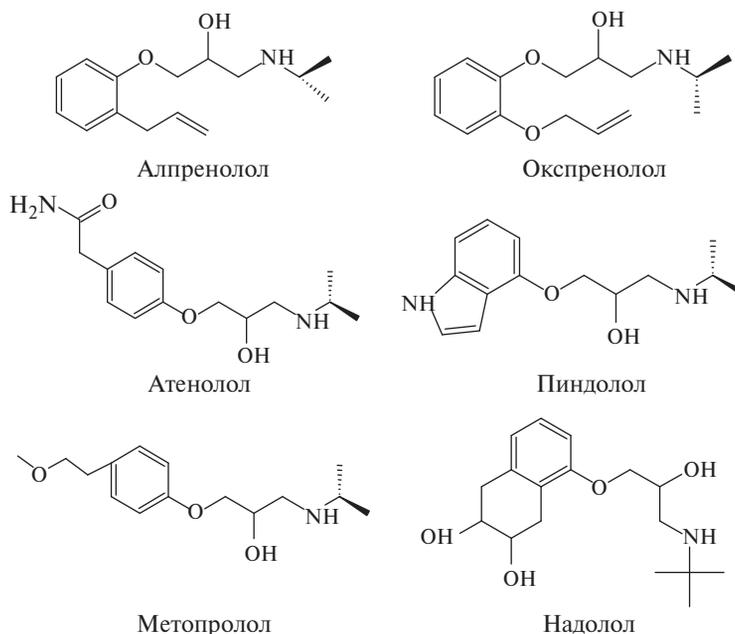


Схема 2. Структурные формулы изученных β -блокаторов.

Оптимизацию разделения веществ, содержащих более чем одну функциональную группу, на сорбентах с ванкомицином рекомендуют начинать с полярно-органического варианта хроматографии, где содержание органического модификатора в ПФ превышает 90% [22]. При этом наилучшей начальной ПФ является метанол с добавками ледяной уксусной кислоты и триэтиламина (по 0.1 об.%). Все исследуемые β -блокаторы элюируются данной ПФ на синтезированном сорбенте менее чем за 1 мин. Уменьшение количества добавок кислоты и амина вплоть до 0.01% не привело к увеличению удерживания и энантиоразделению. В связи с этим перешли к обращенно-фазовому варианту ВЭЖХ. Так как энантиоразделение в этом варианте хроматографии зависит от pH буферного раствора, его концентрации, природы буферного раствора и органического модификатора, исследовали влияние всех этих факторов на разрешение пиков и селективность разделения энантиомеров. Исходя из данных [22, 23], в качестве стартовой ПФ выбрали триэтиламин-ацетатный буферный раствор (ТЭАА) (50 мМ, pH 4.0) с добавкой 5 об.% ацетонитрила. Данная ПФ позволила разделить энантиомеры четырех β -блокаторов: пиндолола, метопролола, окспренолола и алпренолола. При этом разрешение для этих блокаторов не превышает 0.5, а времена выходов компонентов варьируются от 1.5 до 3 мин. В случае атенолола и надолола R_S составило меньше 0.2. С увеличением концентрации ацетонитрила удерживание блокаторов уменьшается, что соответствует закономерностям обращенно-фазовой хроматографии. При замене в составе подвижной фазы ацетонитрила на метанол или изопропанол разрешение пиков энантиомеров уменьшается.

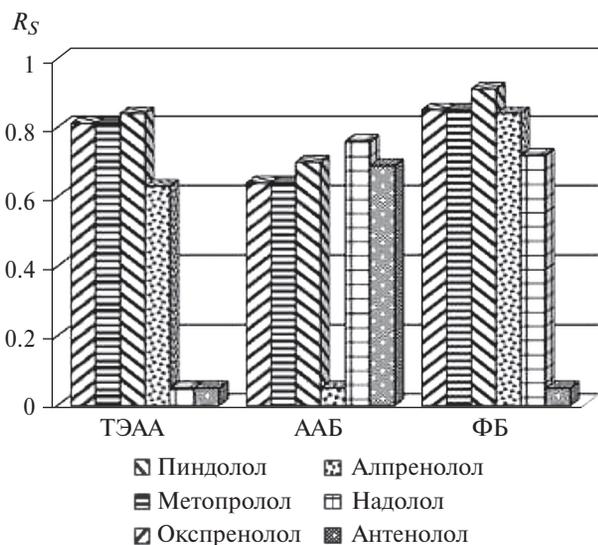


Рис. 3. Влияние природы буферного раствора в ПФ буферный раствор (50 мМ, pH 4.0)– CH_3CN (95 : 5, по объему) на разрешение пиков энантиомеров β -блокаторов на сорбенте $\text{SiO}_2\text{-S-Au-S-COOH}$ –ванкомицин.

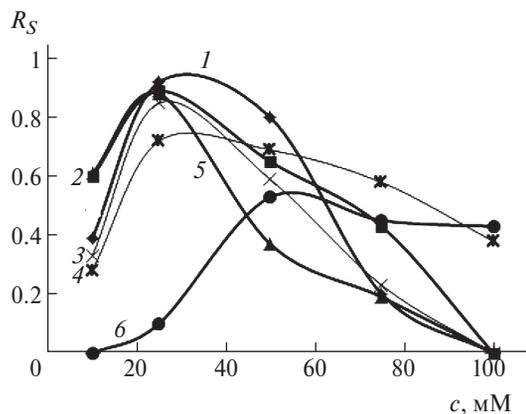


Рис. 4. Влияние концентрации буферного раствора в ПФ буферный раствор (pH 4.0 – CH_3CN (96 : 4, по объему) на разрешение пиков энантиомеров пиндолола (1), метопролола (2), алпренолола (3), надолола (4), окспренолола (5), атенолола (6) на сорбенте $\text{SiO}_2\text{-S-Au-S-COOH}$ –ванкомицин. 1–5 – ФБ, 6 – ААБ.

На разрешение пиков энантиомеров могут влиять природа и концентрация буферного раствора. В качестве элюента при разделении энантиомеров β -блокаторов использовали 50 мМ ТЭАА, ФБ и аммонийно-ацетатный буферный раствор (ААБ) с pH 4.0 и добавкой 5 об.% ацетонитрила; полученные результаты показаны на рис. 3. Оказалось, что при замене ТЭАА на ААБ значительно улучшается энантиоразделение надолола и атенолола. Для четырех блокаторов (пиндолола, метопролола, алпренолола и окспренолола) лучшее разделение достигнуто при использовании ФБ (R_S меняется от 0.84 до 0.92 соответственно), для надолола ($R_S = 0.76$) и атенолола ($R_S = 0.69$) – при использовании ААБ.

Зависимость разрешения пиков энантиомеров β -блокаторов от концентрации буферного раствора представлена на рис. 4. Концентрацию буферного раствора варьировали в диапазоне 10–100 мМ. Видно, что существует определенная концентрация буферного раствора, обеспечивающая максимальное разделение энантиомеров. Для пиндолола, метопролола, окспренолола, алпренолола и надолола лучшее разрешение пиков наблюдается при использовании 25 мМ ФБ ($R_S = 0.72\text{--}0.92$), для атенолола – 50 мМ ААБ ($R_S = 0.53$). Концентрация буферного раствора также влияет и на удерживание β -блокаторов: с ростом концентрации удерживание исследуемых соединений немного возрастает. Также стоит отметить, что удерживание соединений хорошо коррелирует с изменением гидрофобности: более гидрофобные блокаторы дольше удерживаются на сорбенте. Однако разница во временах удерживания β -блокаторов невелика. Такая закономерность подтверждает реализацию обращенно-фазового механизма удерживания. Небольшое возрастание времени выхода исследуемых соединений при увеличении концентрации

Таблица 1. Хроматографические параметры разделения β -блокаторов на колонке $\text{SiO}_2\text{-S-Au-S-COOH-ванкомицин}$

β -Блокатор	$t_{r1}(t_{r2})$, мин	$k'_1(k'_2)$	R_S	α	$N_1(N_2)$, тт/м	ПФ
Надолол	1.62 (1.85)	0.62 (0.85)	0.71	1.38	8200 (9700)	ААБ (25 мМ, рН 4.0)– CH_3CN (96 : 4, по объему)
Атенолол	1.57 (1.73)	0.57 (0.73)	0.53	1.28	7600 (10500)	ААБ (50 мМ, рН 4.0)– CH_3CN (96 : 4, по объему)
Метопролол	2.11 (2.40)	1.11 (1.40)	0.92	1.27	10100 (13200)	ФБ (25 мМ, рН 4.0)– CH_3CN (96 : 4, по объему)
Алпренолол	2.23 (2.58)	1.23 (1.58)	0.81	1.28	10700 (12600)	
Оксспренолол	2.10 (2.43)	1.10 (1.43)	0.91	1.30	13000 (16300)	
Пиндолол	1.94 (2.22)	0.94 (1.22)	0.93	1.30	16400 (13200)	

Таблица 2. Метрологические характеристики методик определения пиндолола и метопролола ($n = 3$, $P = 0.95$)

β -Блокатор	Диапазон определяемых концентраций, мг/л	Уравнение градуировочной зависимости	r	s_r
Пиндолол	0.001–500	$y = (1819 \pm 30)c - (0.3 \pm 0.7)$	0.9994	0.06
Метопролол	0.005–100	$y = (1278 \pm 15)c + (13 \pm 3)$	0.9998	0.05

буферного раствора можно объяснить усилением гидрофобных взаимодействий.

Значительное влияние рН ПФ на удерживание и энантиоразделение обусловлено наличием ионизирующихся групп как у хирального селектора, так и у разделяемых веществ. С увеличением рН в диапазоне 3.5–5.0 времена удерживания всех β -блокаторов немного увеличиваются, зависимость R_S от рН при этом имеет вид кривой с максимумом при рН 4.0, спадая до нуля при рН 5.0. Отсутствие разделения при рН 3.5 связано с тем, что при этих условиях β -блокаторы элюируются практически в мертвом объеме. В изученном диапазоне рН в условиях обращенно-фазового режима ванкомицин является цвиттер-ионом (содержит COO^- - и NH_3^+ -группы), а молекулы β -блокаторов заряжены положительно. С ростом рН увеличивается отрицательный заряд ванкомицина, что приводит к увеличению удерживания β -блокаторов за счет электростатических взаимодействий между карбоксильной группой ванкомицина и аминогруппой блокаторов. Энантиоразделение, скорее всего, реализуется также за счет образования водородных связей и дипольных взаимодействий с амидными и гидроксильными группами ванкомицина и за счет гидрофобных взаимодействий. Слабое влияние пространственного строения β -блокаторов

на удерживание и практически одинаковые закономерности влияния состава ПФ на разделение говорят о слабой роли гидрофобных и π - π -взаимодействий и о преобладающем значении ионных взаимодействий хирального центра блокаторов, окружение которого одинаково для всех соединений, с одним из участков ванкомицина.

Таким образом, для пиндолола, метопролола, окспренолола, алпренолола наилучшее энантиоразделение достигнуто с ПФ: ФБ (25 мМ, рН 4.0)– CH_3CN (96 : 4, по объему), для надолола: ААБ (25 мМ, рН 4.0)– CH_3CN (96 : 4, по объему), для атенолола – ААБ (50 мМ, рН 4.0)– CH_3CN (96 : 4, по объему). Хроматографические параметры разделения β -блокаторов в выбранных оптимальных условиях приведены в табл. 1. Видно, что время выхода всех исследуемых соединений не превышает 3 мин. Лучшее энантиоразделение среди изученных соединений достигнуто для пиндолола ($R_S = 0.93$), метопролола ($R_S = 0.92$) и окспренолола ($R_S = 0.91$). Для этих же блокаторов достигается и максимальное число теоретических тарелок на метр (16400 для пиндолола). Минимальное значение разделительной способности данного сорбента наблюдали для надолола ($R_S = 0.71$) и атенолола ($R_S = 0.53$), которые обладают и наименьшим удерживанием.

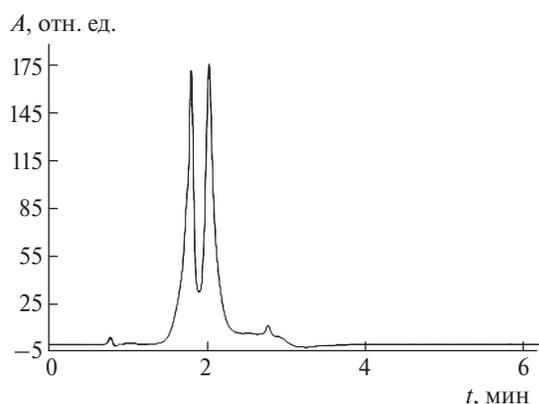


Рис. 5. Хроматограмма препарата "Вискен": колонка (100×4.6 мм) $\text{SiO}_2\text{-S-Au-S-COOH}$ –ванкомицин; ПФ – ФБ (25 мМ, рН 4.0)– CH_3CN (96 : 4, по объему), расход 0.5 мл/мин.

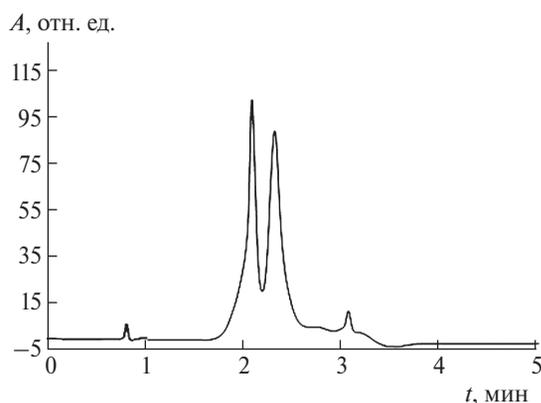


Рис. 6. Хроматограмма препарата "Вазокардин": колонка (100×4.6 мм) $\text{SiO}_2\text{-S-Au-S-COOH}$ –ванкомицин, ПФ – ФБ (25 мМ, рН 4.0)– CH_3CN (96 : 4, по объему), расход 0.5 мл/мин.

Разработаны методики определения пиндолола и метопролола на синтезированном сорбенте, аналитические характеристики представлены в табл. 2. Предложенные методики позволяют определять пиндолол и метопролол в широком диапазоне концентраций с хорошей воспроизводимостью.

Воспроизводимость (s_r) времени удерживания β -блокаторов на синтезированном сорбенте при работе в течение 3 мес составила 2%. Полученные значения R_s (0.91–0.93) приемлемы для оценки энантиомерного состава лекарственных препаратов β -блокаторов. Разработанные методики применены для разделения и определения β -блокаторов на примере анализа фармацевтических препаратов "Вискен" и "Вазокардин", содержащих в качестве действующих веществ пиндолол и метопролол соответственно. Показано, что препарат "Вискен" представляет собой рацемическую смесь с соотношением изомеров 48 : 52 (по массе), содержащую 4.7 ± 0.5 мг/табл. ($n = 5, P = 0.95$) активного компонента,

что согласуется с данными, заявленными производителем (5 мг). Определение метопролола в таблетках "Вазокардин" методом обращенно-фазовой хроматографии показало, что препарат также представляет собой рацемическую смесь (соотношение изомеров 46 : 54 (по массе)), содержащую 110 ± 10 мг/табл. ($n = 5, P = 0.95$) активного компонента. Наполнители и другие сопутствующие компоненты препарата не мешают определению. Хроматограммы препаратов "Вискен" и "Вазокардин" представлены на рис. 5 и 6 соответственно. Разработанные методики просты, продолжительность анализа таблеток препаратов с пробоподготовкой занимает 15–20 мин.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ № 15-03-05979а, Российского научного фонда № 17-14-01316 (физико-химические исследования сорбентов).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Lehninger A., Cox N.* Principles of Biochemistry // World Publishers. 1993. P. 58.
2. *Ilisz I., Berkecz R., Peter A.* Retention mechanism of high-performance liquid chromatographic enantioseparation on macrocyclic glycopeptide-based chiral stationary phases // J. Chromatogr. A. 2009. V. 1216. P. 1845.
3. *Armstrong D.W., Tang Y.B., Chen S.S., Zhou Y.W., Bagwill C., Chen J.R.* Macrocyclic antibiotics as a new class of chiral selectors for liquid chromatography // Anal. Chem. 1994. V. 66. P. 1473.
4. *Шаповалова Е.Н., Федорова И.А., Припорова А.А., Ананьева И.А., Шнигун О.А.* Определение энантиомерной чистоты пеметрекседа на сорбентах с иммобилизованными макроциклическими антибиотиками // Аналитика и контроль. 2016. Т. 20. № 2. С. 168.
5. *Шаповалова Е.Н., Федорова И.А., Припорова А.А., Ананьева И.А., Шнигун О.А.* Определение энантиомерной чистоты альбутерола на сорбентах, модифицированных макроциклическими антибиотиками // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия. 2017. Т. 58. № 1. С. 20.
6. *Алленмарк С.* Хроматографическое разделение энантиомеров. М.: Мир, 1991. 268 с.
7. *Aboul-Enein H.Y., Ali I.* Macrocyclic Antibiotics as Effective Chiral Selectors for Enantiomeric Resolution by Liquid Chromatography and Capillary Electrophoresis // Chromatographia. 2000. V. 52. P. 679.
8. *Berthod A., Kullman J.P., Armstrong D.W., Gaspati F., D'Acquarica I., Misiti D., Carotti A.* Evaluation of the macrocyclic glycopeptide A-40,926 as a high-performance liquid chromatographic chiral selector and comparison with teicoplanin chiral stationary phase // J. Chromatogr. A. 2002. V. 897. P. 113.

9. *D'Acquarica I.* New synthetic strategies for the preparation of novel chiral stationary phases for high-performance liquid chromatography containing natural pool selectors // *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2000. V. 23. P. 3.
10. *Svenson L.A., Owens P.K.* Enantioselective supercritical fluid chromatography using ristocetin A chiral stationary phase // *Analyst.* 2000. V. 125. P. 1037.
11. *Кузнецов М.А.* Дис. ... канд. хим. наук. Москва: МГУ им. М.В. Ломоносова, 2008. 131 с.
12. *Ананьева И.А., Елфимова Я.А., Мажуга А.Г., Рудаковская П.Г., Шаповалова Е.Н., Зык Н.В., Шпигун О.А.* Новый наногибридный функциональный материал для ВЭЖХ на основе наночастиц золота, стабилизированных L-цистеином // Сорбционные и хроматографические процессы. 2011. Т. 11. № 3. С. 281.
13. *Елфимова Я.А., Пичугина Д.А., Ананьева И.А., Мажуга А.Г., Шпигун О.А.* Закономерности удерживания аминопиридинов на силикагеле, модифицированном наночастицами золота // Журн. физ. химии. 2012. Т. 86. № 9. С. 1.
14. *Елфимова Я.А., Ананьева И.А., Мажуга А.Г., Шпигун О.А.* Определение замещенных гидразинов в виде производных с 2,3-нафталиндикарбокс-альдегидом методом ВЭЖХ на силикагеле, модифицированном наночастицами золота // Заводск. лаборатория. Диагностика материалов. 2012. Т. 78. № 6. С. 20.
15. *Шаповалова Е.Н., Ананьева И.А., Елфимова Я.А., Гринева Л.А., Мажуга А.Г., Шпигун О.А.* Разделение азотсодержащих соединений методом высокоэффективной жидкостной хроматографии на силикагеле, модифицированном наночастицами золота, стабилизированными хитозаном // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия. 2012. Т. 53. № 2. С. 108.
16. *Полякова Я.А., Ананьева И.А., Шаповалова Е.Н., Мажуга А.Г., Шпигун О.А.* Разделение водорастворимых витаминов методом ВЭЖХ на силикагеле, модифицированном наночастицами золота, стабилизированными L-цистеином // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия. 2016. Т. 57. № 1. С. 24.
17. *Majouga A., Pichugina D., Ananieva I., Kurilova S., Shpigun O., Kuz'menko N., Zyk N.* New separation materials based on gold nanoparticles // *J. Manufacturing Technology Management.* 2010. V. 21. № 8. P. 950.
18. *Харкевич Д.А.* Фармакология. М.: Медицина, 1987. 549 с.
19. *Armstrong D.W., Chen S., Chang C., Chang S.* A new approach for the direct resolution of racemic beta adrenergic blocking agents by HPLC // *J. Liq. Chromatogr.* 1992. V. 15. № 3. P. 545.
20. *Машковский М.Д.* Лекарственные средства. М.: Медгиз, 1954. 559 с.
21. *Pham-Huy C., Radenen B., Sahui-Gnassi A., Claude J.* High-performance liquid chromatographic determination of (S)- and (R)-propranolol in human plasma and urine with a chiral β -cyclodextrin bonded phase // *J. Chromatogr. B.* 1995. V. 665. P. 125.
22. *Aboul-Enein H.Y., Ali I.* Optimization strategies for HPLC enantioseparation of racemic drugs using polysaccharides and macrocyclic glycopeptide antibiotic chiral stationary phases // *IL Farmaco.* 2002. V. 57. P. 513.
23. *Bosakova Z., Curinova E., Tesarova E.* Comparison of vancomycin-based stationary phases with different chiral selector coverage for enantioselective separation of selected drugs in high-performance liquid chromatography // *J. Chromatogr. A.* 2005. V. 1088. P. 94.