

Использование циклодекстринов для разделения энантиомеров

О.А.Шпигун, И.А.Ананьева, Н.Ю.Буданова, Е.Н.Шаповалова

Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова, Химический факультет
119992 Москва, Ленинские горы, факс (095)939–4675

Обобщены литературные данные по использованию циклодекстринов в качестве хиральных селекторов в высокоэффективной жидкостной хроматографии и капиллярном электрофорезе. Рассмотрены механизмы разделения энантиомеров, а также факторы, влияющие на селективность и эффективность разделения в различных вариантах хроматографии и капиллярного электрофореза. Приводится большое число примеров практического использования циклодекстринов для разделения оптических изомеров.

Библиография — 325 ссылок.

Оглавление

I. Введение	1167
II. Циклодекстрины и их производные	1168
III. Циклодекстрины как хиральные селекторы в высокоэффективной жидкостной хроматографии	1169
IV. Разделение энантиомеров методом капиллярного электрофореза	1174
V. Заключение	1180

I. Введение

Необходимость разделения стереоизомеров (в частности, энантиомеров) в значительной степени связана с их различным биологическим действием.^{1–4} Эта задача возникает в разных областях химии, биохимии, фармакологии, а также в агрохимической промышленности. Для определения энантиомерного состава хиральных соединений обычно используют хроматографические методы и капиллярный электрофорез (КЭ).

Разделение энантиомеров можно осуществить только с помощью систем, содержащих хиральный селектор, который призван распознавать пространственную конфигурацию двух идентичных по химическим и физическим свойствам изомеров.⁵ Возможны два варианта разделения: в одном из них используется хиральная неподвижная (НФ) и ахиральная подвижная (ПФ) фазы, в другом, наоборот, — ахиральная неподвижная и хиральная подвижная фазы. В хроматографии чаще используется первый вариант, в капиллярном электрофорезе — второй.

Энантиоселективность хирального селектора заключается в различии его взаимодействия с парой энантиомеров. Рассматривают два вида энантиоселективности: кинетическую и термодинамическую. Первая отражает различия в скорости взаимодействия хирального селектора с двумя энантиомерами, вторая — различия в стабильности двух возможных диастереомерных аддуктов, образующихся в процессе взаимодействия. Для объяснения механизма разделения оптических изомеров используют модели хирального распознавания, которые во многих случаях основаны на модели «трехточечного взаимодействия» Далглиша.^{6,7} Взаимодействие хирального селектора и энантиомеров определяется совокупностью разнообразных сил связывания и отталкивания. Отталкивающие взаимодействия возникают обычно из-за стерических препятствий и реже из-за диполь-дипольного отталкивания, тогда как связывающие взаимодействия могут иметь самую разную природу: это водородные связи, электростатическое или диполь-дипольное притяжение, образование комплексов с переносом заряда (КПЗ), гидрофобные взаимодействия (в водных системах) и др.

В процессах энантиоселективной сорбции наиболее важную роль играет образование комплексов с переносом заряда и комплексов включения. Для образования КПЗ необходимо наличие у взаимодействующих соединений π -электронных систем. Ароматические системы, выступающие и как донорная, и как акцепторная компоненты, часто образуют стабильные КПЗ. Такие π – π -взаимодействия совместно с электростатическими взаимодействиями и водородными связями обеспечивают высокую активность хиральных селекторов. Комплексы включения образуют соединения, молекулы которых благодаря особенностям их строения (наличие полости) могут захватывать и удерживать подходящие «гостевые» молекулы. Жесткие требования, обуславливающие возможность формирования комплексов типа «хозяин–гость», предполагают стереоселективность этого процесса, т.е. при использовании хирального «хозяина» можно полностью разделить энантиомерные «гостевые»

О.А.Шпигун. Доктор химических наук, профессор, заведующий лабораторией хроматографических методов анализа кафедры аналитической химии химического факультета МГУ.

Телефон: (095)939–1382, e-mail: shpigun@analyt.chem.msu.ru

И.А.Ананьева. Кандидат химических наук, младший научный сотрудник той же лаборатории. Телефон: (095)939–5464, e-mail: ananieva@analyt.chem.msu.ru

Н.Ю.Буданова. Аспирантка той же лаборатории.

Телефон: (095)939–1568, e-mail: natasha_budanova@mail.ru

Е.Н.Шаповалова. Кандидат химических наук, доцент.

Телефон: (095)939–5464, e-mail: shapovalova@analyt.chem.msu.ru

Область научных интересов авторов: аналитическая химия, хроматография, капиллярный электрофорез, энантиораспознавание.

Дата поступления 24 января 2003 г.

молекулы. К хиральным селекторам, действие которых основано на эффекте включения, относятся циклодекстрины и краун-эфир.

Наконец, в некоторых случаях хиральное распознавание можно осуществить на основе только стерического соответствия. Идея метода «молекулярных отпечатков» состоит в создании в полимерной сетке жесткой хиральной полости, подходящей только для одного из двух энантиомеров.²

Из большого числа известных хиральных селекторов наиболее широкое применение в хроматографии и капиллярном электрофорезе нашли полисахариды⁸ и циклодекстрины (ЦД).^{9–12} Последние особенно универсальны, так как их модифицирование дает возможность получать селекторы с новыми свойствами. Наименее исследованы в высокоэффективной жидкостной хроматографии ЦД, модифицированные полярными группами, и практически не изучен аминированный β -ЦД. Применение этого хирального селектора в ВЭЖХ впервые описано авторами данного обзора.^{13, 14}

Широкому применению ЦД в жидкостной хроматографии способствовало получение на их основе устойчивых хиральных сорбентов посредством химического модифицирования силикагелей. Впервые такой сорбент был получен Фуджимурой с соавт.¹⁵ путем взаимодействия тозилрованного ЦД с аминопропилированным силикагелем, но этот сорбент легко подвергался гидролизу. Армстронг с соавт.¹⁶ использовал спейсеры, содержащие от 2 до 20 атомов углерода. Удалив неселективные полярные центры адсорбции, он получил модифицированные циклодекстринами силикагели, обладающие высокой гидролитической устойчивостью, что обусловило быстрое развитие хиральной жидкостной хроматографии. Недавно Крини с соавт.¹⁷ синтезировал хиральные фазы обработкой силикагеля циклодекстринсодержащими полимерами, но сорбенты такого типа имеют недостаточно высокую селективность, и требуется их дальнейшее усовершенствование.

Циклодекстрины как хиральные селекторы используются в газовой^{18–20} и жидкостной хроматографии и в капиллярном электрофорезе. Опубликовано большое число работ по их применению для разделения энантиомеров и ряд статей обзорного характера,^{10, 12, 21–35} посвященных обсуждению как основных теоретических закономерностей, так и практического использования хиральных разделений на ЦД. Однако в отечественной периодике в целом мало публикаций по хиральным разделением (в значительной степени это работы Даванкова и соавт. по хиральной лигандообменной

хроматографии^{21, 36–38}) и совсем нет обзоров, посвященных циклодекстриновым хиральным селекторам.

Цель настоящего обзора — восполнить этот пробел. В работе рассмотрены механизмы разделения энантиомеров и факторы, определяющие энантиоселективность ЦД различного строения. Приводится большое число примеров практического использования ЦД для разделения оптических изомеров. Огромное число публикуемых работ в данной области не позволяет рассмотреть их все, основное внимание уделено результатам исследований по высокоэффективной жидкостной хроматографии, капиллярному электрофорезу и электрокапиллярной хроматографии, опубликованным в 2000–2001 гг. В обзоре проведено сравнение хиральных разделений на ЦД методами газовой, жидкостной хроматографии и капиллярного электрофореза.

II. Циклодекстрины и их производные

Циклодекстрины представляют собой циклические олигосахариды, по форме молекул похожие на краун-эфир. Они образуются при действии фермента амилазы из микроорганизма *Bacillus macerans* на крахмал и состоят из 6–12 остатков D-глюкозы, связанных друг с другом α -(1,4)-связями. Циклодекстрины с 6–8 остатками глюкозы получили названия α -, β - и γ -ЦД соответственно (рис. 1).

Физические и химические характеристики ЦД представлены в табл. 1. Как видно из таблицы, растворимость β -ЦД в воде очень низкая по сравнению с растворимостью других олигосахаридов, однако она существенно возрастает при использовании водно-органических растворов (метанол или этанол, < 30%), высоких pH, фонового электролита, а также при переходе к различным производным β -ЦД.

Гидроксильные группы ЦД могут быть достаточно легко модифицированы посредством химических реакций, при этом получают производные ЦД с различной степенью замещения. Химический состав получаемых продуктов определяется целым рядом факторов: условиями проведения реакции, свойствами используемых реагентов, их соотношением и т.д. В зависимости от вводимых заместителей образуются незаряженные или заряженные модифицированные ЦД; к первым относятся метилированный, ацилированный, гидроксипропилированный, гидроксипропилированный ЦД, ко вторым — аминированный, метиламинированный, карбоксиметилированный, сульфатированный, фосфатированный ЦД и т.д.^{10, 13, 14, 23, 39}

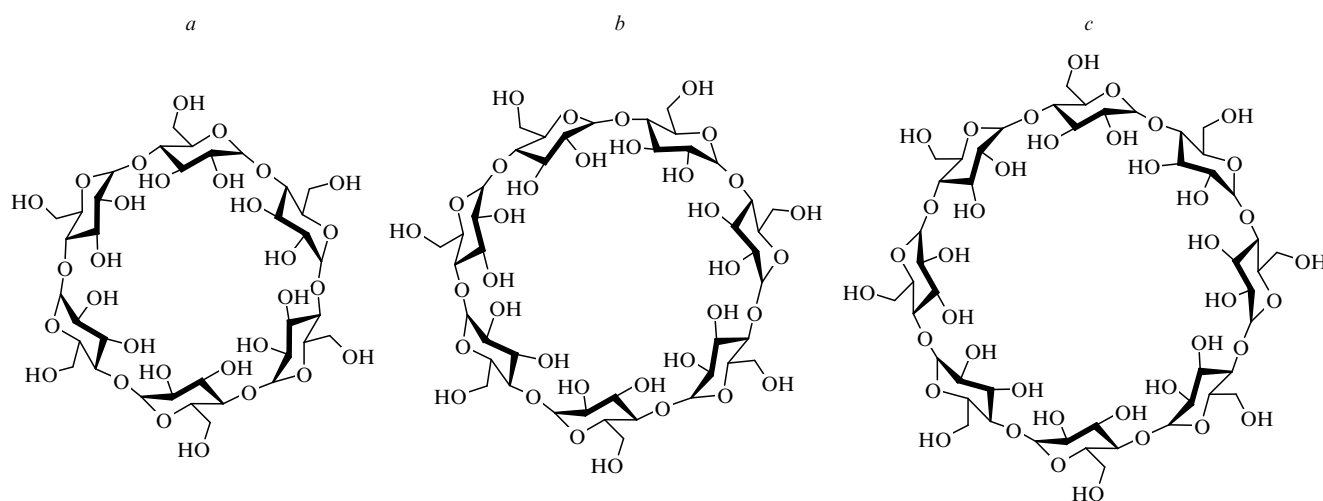


Рис. 1. Строение молекул циклодекстринов: α -циклодекстрин (a); β -циклодекстрин (b); γ -циклодекстрин (c).

Таблица 1. Некоторые химические и физические характеристики циклодекстринов.^{10, 39}

Параметр	Циклодекстрин		
	α	β	γ
Число глюкозных остатков	6	7	8
Молекулярная масса	972	1135	1297
Внутренний диаметр, нм	0.57	0.78	0.95
Глубина полости, нм	0.78	0.78	0.78
Удельное вращение (25°C), град	150.5	162.5	177.4
Растворимость (25°C), г/100 мл H ₂ O	14.5	1.85	23.2
pK _a	12.33	12.20	12.08

Следует отметить, что получение производных циклодекстринов — процесс достаточно сложный, возможно замещение или по всем гидроксильным группам, или только по некоторым, и не всегда структура полученного селектора полностью исследована. В оригинальных работах названия селекторов часто не детализированы, указан лишь тип заместителя, что приводит к существованию большого числа тривиальных названий, затрудняет сравнение результатов исследований и их трактовку. В настоящем обзоре приводятся названия селекторов, которые были использованы авторами цитируемых работ.

Модифицированные ЦД отличаются по свойствам от немодифицированных. За счет увеличения растворимости, способности к образованию вторичных связей, регулирования степени гидрофобности полости ЦД можно улучшать селективность разделения энантиомеров.¹⁰ Например, диметил- β -ЦД (ДМ- β -ЦД) лучше растворим и обладает большей поверхностью взаимодействия по сравнению с β -ЦД. Заряженные или способные заряжаться гидроксильные группы заместителя в структуре β -ЦД могут быть весьма полезны для оптимизации разделения в ВЭЖХ и КЭ.

β -Циклодекстрин с гидроксипропильными заместителями представляет интерес для разделения энантиомеров, молекулы которых содержат одно ароматическое или гетероциклическое кольцо и 2–4-членную углеродную цепь с заместителями, способными к образованию водородных связей или являющимися акцепторами протонов.²³ Присутствие гидроксильных групп в модифицирующих заместителях обеспечивает дополнительные центры для образования водородных связей. Следует отметить, что ацилированные β -ЦД и β -ЦД с гидроксипропильными группами работают как в обращенно-фазовом, так и в «полярно-органическом» режиме ВЭЖХ и в КЭ, тогда как метилированный β -ЦД используется только в обращенно-фазовом режиме ВЭЖХ.

Для разделения энантиомеров методом ВЭЖХ часто используют β -ЦД с объемными заместителями, например (*S*)- и (*R*)-нафтилэтилкарбаматы и 3,5-диметилфенилкарбаматы.¹⁰

III. Циклодекстрины как хиральные селекторы в высокоэффективной жидкостной хроматографии

Разделение энантиомеров чаще всего осуществляется с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии, в последнее десятилетие этот метод активно развивается. Большие достижения в данной области стали возможны благодаря углубленному изучению процессов хирального распознавания энантиомеров и факторов, оказывающих на него влияние. Использование циклодекстринов в ВЭЖХ позволило глубже понять закономерности распознавания энантиомеров и расширить область его применения.

1. Механизмы разделения на циклодекстриновых хиральных фазах

В водных средах циклодекстрины принимают конформацию тороидального тела с гидрофобной внутренней поверхностью, так как все гидроксильные группы располагаются вне полости молекулы. По этой причине во внутренней полости охотно размещаются углеводородные фрагменты многих органических соединений, образуя с ЦД своеобразные соединения включения. Циклодекстрины способны участвовать как в гидрофобных, так и в полярных взаимодействиях и в образовании водородных связей с сорбируемыми молекулами, что обеспечивает данному хиральному селектору достаточно широкий спектр действия. Главное условие энантиоселективности разделения на ЦД — определенный размер молекулы сорбата, поскольку основным фактором является образование комплекса включения сорбата с ЦД.

Устойчивость комплекса включения в значительной степени зависит от гидрофобности и стерического соответствия «гостя» и «хозяина» (ЦД). Очевидно, что если диаметр молекулы больше, чем полость ЦД, то комплекс включения возникнуть не может. Если же размер молекулы меньше полости, то образование комплекса возможно, но константа его образования много меньше, чем для молекулы, способной жестко фиксироваться в полости. Экспериментально установлено, что соединения с одним ароматическим кольцом (например, бензол) имеют подходящий размер для α -ЦД, соединения с двумя ароматическими кольцами (например, нафталин) подходят для разделения на β -ЦД, а соединения типа замещенных пиренов — на γ -ЦД. Появление одной или нескольких полярных групп в молекуле сорбата способствует образованию водородных связей с гидроксильными группами ЦД.

Селективность комплексообразования обусловлена разницей в энергиях образования комплексов включения ЦД с энантиомерами. В большинстве случаев энантиомеры содержат ароматическое (часто не одно) кольцо. Установлено,^{40, 41} что разделение зависит от положения хирального центра и его окружения. Разрешение энантиомеров выше, если хиральный центр находится в кольце и связан с двумя-тремя sp^2 -гибридизованными атомами углерода. Оптимально для разделения энантиомеров, если хиральный центр заключен в своеобразный «сэндвич» из двух π -систем, одна из которых — ароматическое кольцо, а вторая является либо карбонильной группой, либо другим ароматическим кольцом. Успех разделения связан с большой жесткостью молекулы, а хиральный центр оказывается точкой, относительно которой может происходить вращение фрагментов молекулы.

Большинство опубликованных экспериментальных данных показывает, что размер полости β -ЦД является оптимальным для разделения широкого ряда оптически активных соединений, в том числе используемых в фармацевтической промышленности.²³ Следует подчеркнуть, что молекула сорбата не обязательно должна целиком входить в полость ЦД, известно множество примеров разделения на β -ЦД энантиомеров, содержащих в структуре три или четыре ароматических кольца.¹⁰ Оказывается, вполне достаточно, чтобы только часть молекулы сорбата входила в полость и образовывала комплекс включения.

Подавляющее число разделений энантиомеров проведено с использованием β -ЦД и его различных производных.¹⁰ Для того чтобы понять причины такого преимущества при разделении самых различных веществ, следует рассмотреть строение молекулы ЦД (рис. 2). Гидрофобные молекулы, подобные бензолу, способны входить и выходить из полости и обратно сорбируются на такой поверхности. Однако в отсутствие гидрофобных сорбатов в полость могут проник-

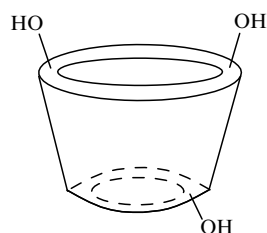


Рис. 2. Форма молекулы β -циклодекстрина в водных растворах.²³

нуть любые другие частицы, включая и ионы. Кроме того, молекулы сорбата могут образовывать водородные связи с гидроксильными группами поверхности ЦД и/или вступать во взаимодействие с заместителями, расположенными вне полости (у модифицированных ЦД), и остаточными силанольными группами силикагеля.

Для расширения области применения и повышения селективности хиральных неподвижных ЦД-фаз используют замещенные ЦД с различными функциональными группами.^{10, 23} Наличие таких групп обеспечивает дополнительные взаимодействия между сорбатом и поверхностью, что позволяет существенно расширить спектр разделяемых рацематов, поэтому интенсивные исследования в этой области продолжаются. Авторами обзора предложен новый хиральный селектор — аминированный β -ЦД. Силикагель, модифицированный аминированным β -ЦД, является эффективным сорбентом для разделения производных аминокислот, с его применением спектр разделяемых производных аминокислот значительно расширился. Так, было проведено разделение *N*-мет-бутоксикарбонильных производных аминокислот, что ранее удавалось осуществить только на гидросипропильных производных β -циклодекстрина.^{13, 14}

В случае модифицированных β -ЦД с гидрофобными заместителями, например (*S*)-нафтилэтилкарбаматом или 3,5-диметилфенилкарбаматом, механизм взаимодействия на поверхности иной. На этих хиральных неподвижных фазах в зависимости от типа подвижной фазы преобладают следующие взаимодействия сорбата с поверхностью: в нормальной фазе — образование π -комплексов, в полярно-органической — образование водородных связей, в обращенной фазе — образование комплексов включения.¹⁰

Описанные выше хиральные селекторы являются мультимодальными, так как успешно применяются для разделения огромного количества самых разных энантиомеров, взаимодействуя с ними по различным механизмам. Выбор подвижной фазы определяется структурой анализируемого вещества, его устойчивостью и растворимостью в подвижной фазе. Наиболее предпочтителен нормально-фазовый режим, за ним следует «полярно-органический» и, наконец, обращенно-фазовый. Последнее место обращенно-фазового режима объясняется низким разрешением, сравнительно коротким временем жизни таких хроматографических колонок и небольшими факторами емкости.

Циклодекстрины широко используются для разделения энантиомеров в качестве хиральной добавки в подвижную фазу. Процесс распознавания энантиомеров в этом случае происходит за счет распределения сорбата между неподвижной фазой и комплексом включения в подвижной фазе. Разрешение и селективность в таких системах зависят от типа и концентрации ЦД, природы подвижной и неподвижной фаз и температуры. В некоторых случаях ЦД могут сорбироваться на поверхности неподвижной фазы и образовывать псевдонеподвижную фазу.⁴²

2. Разделение энантиомеров в обращенно-фазовом варианте высокоэффективной жидкостной хроматографии

Большинство разделений с использованием хиральных неподвижных фаз на основе ЦД проводилось в обращенно-фазовом варианте жидкостной хроматографии, так как образование комплексов включения возможно только в водных и водно-органических растворах. Константы устойчивости комплексов обычно имеют большие значения в воде и уменьшаются с добавлением органического растворителя. Известно, что использование различных органических растворителей в составе элюента может изменять селективность разделения энантиомеров. Этот эффект наблюдается и для неподвижных фаз на основе ЦД.¹⁰

а. Выбор подвижной фазы

В качестве органических добавок в подвижную фазу используют метанол и ацетонитрил, значительно реже — этанол, пропанол, диоксан, диметилформамид, тетрагидрофуран. Растворителем с наименьшей элюирующей способностью является вода, для спиртов полярность возрастает в ряду метанол < этанол < пропанол; тетрагидрофуран и ацетонитрил по полярности близки к пропанолу. Растворители, менее полярные, чем вода, размер молекул которых соответствует полостям ЦД, склонны удерживаться на неподвижных ЦД-фазах, поэтому факторы емкости сорбатов зависят от того, насколько быстро молекулы растворителя вытеснят определяемое вещество из полости ЦД. Например, необходимо использовать больший процент метанола, чем пропанола, для того чтобы время удерживания сорбата в обоих случаях было соизмеримо.

Существуют разные пути оптимизации содержания органического растворителя в подвижной фазе. Известны три типа хроматографического поведения веществ на поверхности неподвижной ЦД-фазы. Соответствующие зависимости удерживания от концентрации органического растворителя в подвижной фазе показаны на рис. 3 (см.⁴³). Наиболее общая зависимость представлена кривой 1 — при возрастании концентрации органического компонента в подвижной фазе удерживание уменьшается. Кривая достигает минимума, т.е. «мертвого времени», и дальнейшее добавление органического растворителя не влияет на удерживание. Такое хроматографическое поведение характерно

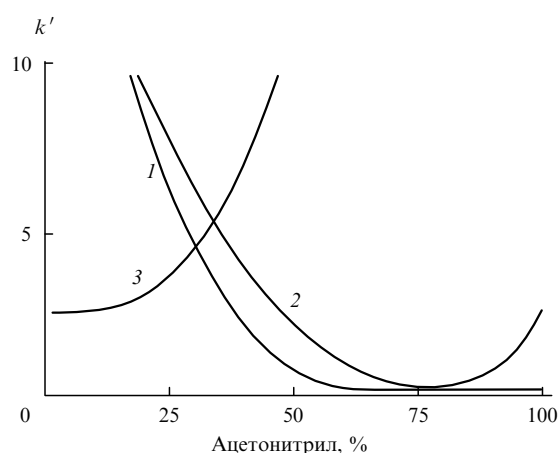


Рис. 3. Влияние состава подвижной фазы на удерживание различных соединений.⁴³

Описание кривых 1–3 см. в тексте.

для соединений, растворимых в органических растворителях (фенолы, анилины и другие ароматические и гетероциклические соединения).

Кривая 2 иллюстрирует уникальные свойства неподвижных ЦД-фаз, которые позволяют существенно расширить круг разделяемых веществ за счет использования «полярно-органического режима» жидкостной хроматографии. Уменьшение соотношения буфер/органический растворитель в подвижной фазе приводит к уменьшению удерживания (и разрешения). Минимум удерживания достигается в интервале 50–80% органического растворителя в подвижной фазе.⁴³ Дальнейшее увеличение содержания органического растворителя приводит к росту удерживания. Таким образом, можно предположить, что механизмы распознавания на неподвижных ЦД-фазах при элюировании сорбатов подвижными фазами с доминирующим содержанием органического растворителя и в обращенно-фазовом режиме значительно различаются.

Третий тип поведения описывается кривой 3, которая также может иметь минимум, однако в этом случае вид кривой не является результатом уникальных свойств неподвижных ЦД-фаз, это следствие нерастворимости или малой растворимости сорбатов в органических растворителях. Такое поведение демонстрируют многие аминокислоты, аналогичный вид зависимости для аминокислот был получен и на традиционных обращенно-фазовых колонках.⁴³

Замена одного органического растворителя на другой приводит к сдвигу кривой влево или вправо, при этом характер зависимости не меняется.

6. Солевой эффект и влияние pH подвижной фазы

В ряде случаев природа органического растворителя оказывается менее важной, чем pH и ионная сила подвижной фазы. Влияние концентрации добавляемой соли на удерживание и энантиоселективность изучено на примере 5-диметиламинонафталин-1-сульфонилпроизводных аминокислот (дансил-аминокислот). Как видно из данных, приведенных в табл. 2, добавление в подвижную фазу небольших количеств соли приводит к значительному изменению удерживания (k') и разрешения (R_s) пиков энантиомеров, а на коэффициент селективности (α) практически не влияет. Улучшение разрешения происходит благодаря уменьшению размытия хроматографической полосы, и в ряде случаев эффективность колонки увеличивается в 4 раза.¹⁰

Сравнение экспериментальных данных, полученных при использовании добавок различных солей в подвижную фазу, показывает, что во всех случаях в присутствии соли проис-

Таблица 2. Влияние ионной силы подвижной фазы на процесс разделения энантиомеров дансиламиноокислот.⁴³

Вещество	[Na ₂ HPO ₄], моль · л ⁻¹	k'_1 (см.а)	α	R_s
Дансил-DL-валин	0	3.9	1.16	0.4
	0.005	0.6	1.20	0.5
	0.01	0.7	1.20	0.6
	0.02	1.4	1.17	1.1
	0.03	1.2	1.18	1.1
Дансил-DL-фенилаланин	0	10.5	1.15	0.5
	0.005	1.7	1.18	0.7
	0.01	2.0	1.19	0.9
	0.02	3.4	1.16	1.1
	0.03	3.2	1.17	1.2

Примечание. Подвижная фаза: метанол–вода (25:75), скорость потока 1 мл · мин⁻¹. а Фактор емкости первого энантиомера.

Таблица 3. Влияние различных солевых добавок на процесс разделения энантиомеров дансиламиноокислот.⁴³

Добавка ^а	Дансил-DL-валин			Дансил-DL-фенилаланин		
	k'_1 (см.б)	α	R_s	k'_1 (см.б)	α	R_s
LiClO ₄	1.7	1.16	1.3	3.9	1.17	1.4
NaClO ₄	1.8	1.17	1.4	3.9	1.18	1.5
KClO ₄	2.2	1.16	1.3	4.7	1.16	1.3
CsBr	2.4	1.16	1.5	4.9	1.17	1.6
NH ₄ Cl	2.4	1.16	1.5	5.3	1.19	1.5
Ca(NO ₃) ₂	1.7	1.15	1.2	3.5	1.15	1.3
Cd(NO ₃) ₂	2.3	1.14	1.4	4.6	1.15	1.3

Примечание. Подвижная фаза: метанол–вода (40:60), скорость потока 1 мл · мин⁻¹. а Концентрация соли 0.02 моль · л⁻¹; б фактор емкости первого энантиомера.

ходит уменьшение фактора емкости колонки и увеличение разрешения (табл. 3). Эффект уменьшения удерживания сорбатов при добавлении соли в подвижную фазу может быть скомпенсирован варьированием pH и концентрации самой соли.

Из литературных данных известно, что в качестве добавки в подвижную фазу рекомендуют ацетат триэтиламина, так как с его помощью можно изменять pH, используя буферные растворы. Влияние pH на удерживание дансил-L-валина показано на рис. 4. Кривая 2 характеризует зависимость удерживания от концентрации органического растворителя в подвижной фазе (смесь метанола и воды) в отсутствие добавки соли. Следует отметить минимум, который отсутствует на кривых 1 и 3. Также необходимо подчеркнуть различие в поведении сорбатов в кислой и щелочной средах (кривые 1 и 3 соответственно). Высокая энантиоселективность неподвижных ЦД-фаз при разделении соединений кислой и нейтральной природы наблюдается чаще всего при pH ~4.0. Это связано с ионным состоянием сорбатов и определяется значениями их pK_a. Например, для большинства производных аминокислот, разделяемых на β-ЦД, оптимальное значение pH ~4, так как в этих условиях

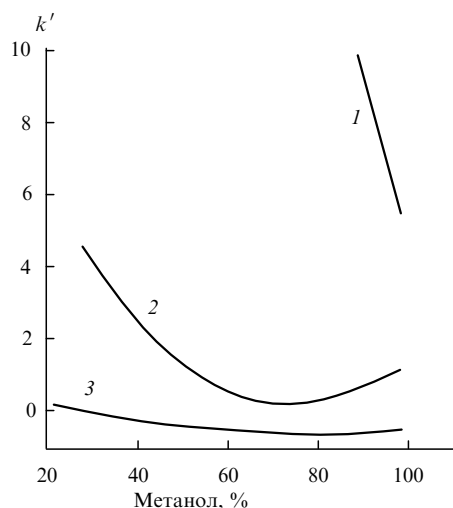


Рис. 4. Влияние pH и концентрации органического растворителя на удерживание дансил-DL-валина.

В качестве водного компонента подвижной фазы использовали 0.1%-ный буферный раствор ацетата триэтиламина (pH 4.1 — кривая 1, pH 8.0 — кривая 3) и чистую воду (кривая 2).⁴³

соединения существуют преимущественно в молекулярной форме.

в. Влияние температуры

Известно, что константы взаимодействия сорбатов с поверхностью циклодекстрина зависят от температуры.¹⁰ Как видно из табл. 4, при понижении температуры удерживание, коэффициент селективности и разрешение увеличиваются. Однако увеличение разрешающей способности происходит не всегда, так как при низких температурах скорость массопереноса на поверхности замедляется и происходит уширение хроматографической полосы. Таким образом, при низких температурах положительного эффекта от роста селективности при увеличении ширины пика наблюдаться не будет. Если же существует возможность сузить хроматографическую полосу путем замены органического растворителя или введения различных добавок в подвижную фазу, использование низких температур становится выгодным.

Таблица 4. Влияние температуры на процесс разделения энантиомеров дансиламиноокислот.⁴³

Вещество	$T, ^\circ\text{C}$	k'_1 (см. ³)	α	R_s
Дансил-DL-валин	23	2.4	1.16	1.5
	4	3.7	1.23	1.7
Дансил-DL-фенилаланин	23	5.3	1.19	1.5
	4	8.8	1.3	1.8

Примечание. Подвижная фаза: метанол–0.02 М NH_4Cl (40:60), скорость потока 0.5 мл·мин⁻¹.^а Фактор емкости первого энантиомера.

В интервале температур 60–90°C большинство комплексов включения на неподвижных ЦД-фазах разрушается, этим пользуются для элюирования сорбатов, когда их удерживание на поверхности очень велико. Следует отметить, что влияние температуры на удерживание сорбатов на неподвижных ЦД-фазах более заметно, чем на традиционных образно-фазовых сорбентах.

г. Влияние скорости подвижной фазы

Стандартная скорость потока, используемая для коммерческих ЦД-колонок 250×4.6 мм и зернением сорбента 5–10 мкм, составляет от 0.5 до 2 мл·мин⁻¹. Для некоторых соединений в отсутствие буфера или солевых добавок в подвижной фазе при скорости потока 1–2 мл·мин⁻¹ наблюдается сильное размывание хроматографической полосы. Это происходит из-за особенностей кинетики образования комплекса включения, для которого замедлена скорость массопереноса на поверхности неподвижной фазы. Изменение скорости подвижной фазы с 1–2 мл·мин⁻¹ до 0.4–0.5 мл·мин⁻¹ может улучшить эффективность колонки в 1.5–3 раза.¹⁰

3. Разделение энантиомеров при большом содержании органического растворителя в подвижной фазе («полярно-органический» режим)

При работе с подвижными фазами, содержащими от 90 до 100% ацетонитрила или метанола, закономерности разделения существенно меняются по сравнению с обращенно-фазовым вариантом. В том случае, когда в подвижной фазе доминирует органический растворитель, образование комплекса включения не происходит, так как полости ЦД оказываются занятыми молекулами растворителя (рис. 5). Армстронг с соавт.^{22, 24} предполагает, что в данном случае

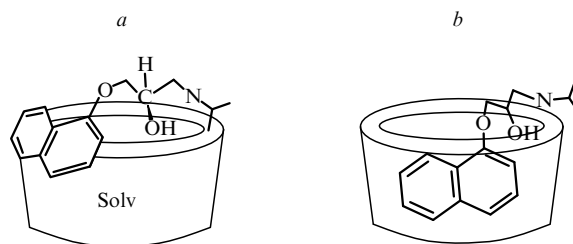


Рис. 5. Схема энантиоселективного механизма удерживания на β-циклодекстринах в «полярно-органическом» (а) и нормально-фазовом (б) хроматографических режимах.¹⁰

реализуется новый вариант хроматографии, который он назвал «полярно-органическим вариантом жидкостной хроматографии».

а. Структурные особенности хирального распознавания

При элюировании подвижными фазами, в которых преобладает органический растворитель, удерживание и энантиоселективность разделения на ЦД обусловлены не гидрофобными взаимодействиями (формирование комплексов включения), а образованием водородных связей и диполь-дипольными взаимодействиями между молекулами сорбата и гидроксильными группами ЦД.^{10, 22} Кроме того, в хиральном распознавании могут играть существенную роль стерические факторы, что характерно для неподвижных фаз на основе производных ЦД.

Вещества, разделяемые в «полярно-органическом» режиме, должны обладать способностью к образованию водородных связей. Например, замена водорода у вторичного атома азота, находящегося рядом с хиральным центром, на метильную группу приводит к уменьшению или потере энантиоселективности. Этот пример позволяет предположить, что наличие кислотного атома водорода, т.е. донора протонов, оказывается важным для распознавания энантиомеров.⁴⁴

Для того чтобы разделить энантиомеры на немодифицированном ЦД, необходимо присутствие в молекуле сорбата по крайней мере двух групп, способных к образованию водородных связей.¹⁰ На производных циклодекстрина удерживание и разделение происходит за счет образования π–π-комплексов или водородных связей. Привитые группы на поверхности ЦД также вносят вклад в хиральное распознавание за счет возникновения стерических взаимодействий.

Использование подвижных фаз с высоким содержанием органического растворителя дает ряд преимуществ по сравнению с обращенно-фазовым и нормально-фазовым вариантами жидкостной хроматографии и позволяет значительно расширить круг разделяемых рацематов. Например, разделение соединений, подобных β-блокаторам (пропранолол, атенолол, тимолол и др.), возможно на β-ЦД только в «полярно-органическом» режиме.¹⁰

б. Влияние состава подвижной фазы

Удерживание и энантиоселективность сорбатов в «полярно-органическом» варианте зависит от природы и содержания органического растворителя. Наибольшее число разделений энантиомеров проведено с использованием ацетонитрила.

Поскольку молекулы ацетонитрила, который используют как основной компонент подвижной фазы, в отличие от молекул сорбата, не образуют водородные связи с циклодекстрином, удерживание анализируемых веществ может быть очень велико. Небольшие добавки в подвижную фазу

метанола, который способен к образованию водородных связей с циклодекстрином и молекулами сорбата, приводит к уменьшению удерживания до приемлемого времени. Однако большой избыток метанола может привести к потере энантиоселективности. Для улучшения распознавательной способности и эффективности разделения в качестве добавки в подвижную фазу рекомендуют использовать небольшие количества триэтиламина и уксусной кислоты ($\leq 1\%$).^{10, 44} Соотношение этих добавок в подвижной фазе определяется в основном селективностью разделения и зависит от природы сорбатов.

Одно из преимуществ «полярно-органического» варианта — возможность разделения ряда органических солей, нерастворимых в воде. Эту задачу нельзя решить в нормально-фазовом режиме, где сорбаты должны быть электро-нейтральны.²³

4. Разделение энантиомеров в нормально-фазовом варианте высокоэффективной жидкостной хроматографии

Неподвижные фазы на основе ЦД применяют для разделения некоторых веществ в нормально-фазовом режиме.^{10, 23} В качестве подвижных фаз используют смеси гексан–изопропанол в различных соотношениях. В этом случае компоненты неполярной подвижной фазы стремятся занять полости циклодекстрина, поэтому удерживание и разделение происходит за счет образования водородных связей между сорбатом и гидроксильными группами циклодекстрина, а также благодаря π – π -взаимодействиям. Удовлетворительные результаты получены при разделении в нормально-фазовом режиме различных структурных изомеров (замещенные бензойные кислоты, фенолы, анилины и др.).²³

Разделению энантиомеров на неподвижных фазах на основе ЦД в нормально-фазовом варианте жидкостной хроматографии посвящено небольшое число публикаций, все они относятся к производным β -ЦД, причем энантиоселективность в большинстве случаев выше, чем у традиционных хиральных полисахаридных фаз для нормально-фазовой хроматографии.

5. Практическое использование разделений энантиомеров

Молекулы большинства соединений, представляющих интерес с точки зрения фармакологии и биохимии, содержат один или несколько асимметрических центров. Поскольку оптические изомеры обычно различаются по фармакологической и биологической активности, интерес к проблеме разделения энантиомеров постоянно растет. Особую популярность приобрел метод ВЭЖХ, поскольку он обеспечивает высокую эффективность и селективность разделения энантиомеров при относительно невысокой стоимости анализа и незначительных временных затратах.

Различия в физиологическом действии энантиомеров β -адреноблокаторов (так называемых β -блокаторов) обусловили необходимость исследований по хроматографическому разделению энантиомеров подобных соединений. Известно, что (*S*)-форма таких соединений часто в 50–100 раз более эффективна, чем (*R*)-энантиомер, последний даже может быть токсичным. Эти соединения слишком полярны, чтобы их можно было разделять методом газовой хроматографии без предварительной дериватизации, поэтому оптимальным методом является ВЭЖХ. В литературе имеются сведения об использовании β -ЦД и его производных для определения и разделения энантиомеров β -блокаторов. Была изучена распознавательная способность следующих циклодекстринов: β -ЦД,^{9, 45} перфенилкарбамата (ПФК) β -ЦД,⁴⁶ карбокси-

метил- β -ЦД (КМ- β -ЦД),⁴⁷ гептакис-(2,3-ди-*O*-метил)- β -ЦД,⁹ фенилкарбамата (ФК) β -ЦД,⁴⁸ моно-6-азидо-6-дезоксипФК- β -ЦД.⁴⁹ Кроме того, определение β -блокаторов представляет большой интерес при исследовании состава крови и мочи человека. Так, было проведено определение содержания энантиомеров пропранолола в человеческой моче и плазме, чувствительность анализа составила $1.5 \text{ нг} \cdot \text{мл}^{-1}$ для каждого энантиомера; экспериментально было обнаружено, что содержание (*S*)-формы всегда выше, чем (*R*)-формы.⁵⁰

Разделение энантиомеров гидантоина и его производных, которые применяются как противосудорожные средства, было проведено с использованием хиральных добавок β -ЦД;^{51, 52} β -ЦД, заряженного β -ЦД и КМ- β -ЦД;⁵³ α -ЦД, β -ЦД и их перметилированных (ПМ) производных,⁵⁴ а также хиральных неподвижных фаз на основе β -ЦД и триметил- β -ЦД (ТМ- β -ЦД).⁵⁵ Заряженный β -ЦД также использовали как неподвижную фазу для разделения противоспазматических лекарственных препаратов.⁵⁶

Опубликованы результаты исследования хроматографического поведения антидепрессантов и их метаболитов на ацилированном β -ЦД;⁵⁷ лекарственных препаратов, используемых при лечении рака,⁵⁸ антиконвульсантов и их метаболитов на β -ЦД;⁵⁹ антиэпилептиков и их метаболитов,⁶⁰ лекарственных препаратов, применяемых при аллергических ринитах,⁶¹ производных имидазола^{62, 63} при использовании добавки β -ЦД в подвижную фазу и производных имидазола на β -ЦД;⁶⁴ местного анестетика прокаина,⁶⁵ противоспазматического препарата напроксена^{66, 67} при использовании различных производных β -ЦД как хиральных добавок в подвижную фазу и в качестве неподвижной фазы; профенов на β -ЦД.⁶⁸ Предложена методика обнаружения успокоительного препарата лоразепама в плазме человека на производном β -ЦД.⁶⁹

Опубликован ряд работ по определению и разделению пентастатина при использовании подвижной фазы с добавкой сульфированного β -ЦД,⁷⁰ метилсалсолинола и его производных с β -ЦД в подвижной фазе; в работе⁷¹ изучены биологические и токсические свойства данных соединений, а в работе⁷² исследовано поведение замещенных декалинов на различных хиральных неподвижных ЦД-фазах. Целый ряд исследований посвящен обнаружению различных лекарственных препаратов и биологически активных веществ: метадона и его метаболитов в основных человеческих биологических жидкостях на β -ЦД и его производных,⁷³ 7-десметилормелоксифена (метаболита левормелоксифена)⁷⁴ с добавкой в подвижную фазу сульфатированного β -ЦД, пирлиндол на β -ЦД,⁷⁵ тропикамида на 2-гидроксипропил- β -ЦД (ГП- β -ЦД),⁷⁶ доксазоцина на КМ- β -ЦД,⁷⁷ тримипрамина с β -ЦД в подвижной фазе;⁷⁸ карбизокаина на β -ЦД,⁷⁹ симендана и левосимендана на β -ЦД,⁸⁰ салсолинола и метилсалсолинола,^{81, 82} терфенадина,⁸³ таломида⁸⁴ с добавкой β -ЦД в подвижную фазу; зопиклона и его метаболитов на β -ЦД⁸⁵ и других.^{9, 47}

Циклодекстрины в качестве хиральных добавок в подвижную фазу (α -ЦД,⁸⁶ β -ЦД,⁸⁷ α - и β -ЦД совместно⁸⁸) используют и для разделения терпенов ($(\pm)$ - α -пинена, $(\pm)$ - β -пинена, $(\pm)$ -камфена, $(\pm)$ -лимонена). Энантиомерная чистота этих углеводородов, как правило, определялась поляриметрически, что объясняется сложностью разделения этих неполярных соединений, не содержащих функциональных групп, способных к дериватизации или взаимодействию с селектором. Следовательно, используемый для энантиоселективного разделения рацематов насыщенных углеводородов хроматографический метод должен базироваться на образовании комплексов включения, так как в этом случае решающую роль играют стерические эффекты. Именно по этой

причине для разделения энантиомеров используют циклодекстрины.

Огромное число публикаций начала 1990-х гг. связано с разделением производных аминокислот на хиральных циклодекстриновых неподвижных фазах. Наиболее подробно исследованы производные аминокислот со следующими модифицирующими заместителями: 4-диметиламиноазобензол-4'-сульфонил (дабсил), дансил, 9-флуоренилметоксикарбонил (ФМОК), 2,4-динитрофенил (ДНФ), 3,5-динитропиридил (ДНП), фталил, бензилоксикарбонил (КБЗ), бензоил-, *трет*-бутоксикарбонил (БОК) и производные *о*-фталевого альдегида (ОФА).^{10,23} Изучен механизм удерживания и разделения энантиомеров дансиламино-кислот на ПМ-β-ЦД,⁸⁹ дансил- и 3,5-динитробензоиламинокислот на метил-β-ЦД (М-β-ЦД),⁹⁰ ДНФ-аминокислот на 3-*О*-метил-β-ЦД,⁹¹ дансил- и дабсиламинокислот на β-ЦД,⁹² ФМОК-аминокислот и некоторых пептидов на β-ЦД и γ-ЦД,⁹³ ФМОК- и дансилпроизводных DL-серина на γ-ЦД,⁹⁴ дансиламинокислот на β-ЦД, гептакис-(2,3-ди-*О*-метил)-β-ЦД⁹ и γ-ЦД, модифицированном производными азобензола,⁹⁵ 3,5-динитробензоил- и дансиламинокислот на нафтилэтилкарбамате (НЭК) β-ЦД,⁹⁶ 1-фтор-2,4-динитрофенил-5-*L*-аланинамидопроизводных аминокислот на β-ЦД,⁹⁷ КБЗ-, бензоил-, дансил-, ДНФ-, ДНП-, ОФА-, БОК-, ФМОК-, фталилпроизводных аминокислот на гептакис(6-амино-6-дезоксид)-β-ЦД.¹³ В работе¹⁴ проведено сравнение хиральной способности этого аминированного β-ЦД и немодифицированного β-ЦД на примерах различных производных аминокислот.

Интересные экспериментальные хроматографические данные были получены при использовании хиральной неподвижной фазы на основе β-ЦД, модифицированного *L*-тирозином, для разделения дансилпроизводных аминокислот.⁹⁸ Ряд статей посвящен разделению немодифицированных аминокислот на ЦД-фазах: энантиомеров DL-селенометионина⁹⁹ и различных аминокислот из табака¹⁰⁰ на β-ЦД.

Как видно из приведенных данных, основное число разделений было проведено с использованием ЦД в качестве хиральных неподвижных фаз, но в некоторых случаях используют хиральные добавки ЦД в подвижную фазу, например для разделения нафталинсульфопроизводных аминокислот.¹⁰¹

Было проведено разделение энантиомеров бициклических 1,3-аминоспиртов на НЭК-β-ЦД,¹⁰² аналогов краун-эфиров на β-ЦД и гептакис-(2,3-ди-*О*-метил)-β-ЦД,⁹ полихлорбифенилов и некоторых пестицидов на гептакис(три-*О*-метил)-β-ЦД (ГТМ-β-ЦД),¹⁰³ энантиомеров варфарина на β-ЦД,¹⁰⁴ феноксипропионатов на перметилированном β-ЦД,¹⁰⁵ некоторых карборанов на β-ЦД и ацилированном β-ЦД,¹⁰⁶ соединений, аналогичных изофлавонолу, на β-ЦД,¹⁰⁷ флуоксетина и норфлуоксетина при использовании ЦД как в виде хиральных добавок в подвижную фазу, так и в качестве неподвижной фазы.^{108, 109}

Ряд работ посвящен определению и разделению биологически активных веществ, в частности аминоспиртов, которые являются одним из важнейших классов хиральных соединений. Они играют важную роль в метаболических процессах в организме и широко применяются в медицине и фармакологии. Определяли оптическую чистоту адреналина, используя в качестве неподвижной фазы 2,6-ДМ-β-ЦД,¹¹⁰ и содержание в биологических жидкостях адреналина и его аналогов с добавкой ТМ-β-ЦД в подвижную фазу,¹¹¹ адреналина и норадреналина на β-ЦД,¹¹² эфедрина и метиламфетамина на β-ЦД,¹¹³ метилendioксиамфетаминов на β-ЦД и ГП-β-ЦД,¹¹⁴ метамфетамина на фенил-β-ЦД.¹¹⁵

IV. Разделение энантиомеров методом капиллярного электрофореза

Капиллярный электрофорез — современный метод анализа, позволяющий проводить быстрое разделение веществ с высокой эффективностью. Поскольку энантиомеры обладают одинаковыми физико-химическими свойствами, для их успешного разделения методом КЭ необходимо селективно изменять их эффективные, т.е. собственные, электрофоретические подвижности. Это достигается при формировании стереоселективных комплексов за счет гидрофобных, π–π-, дипольных, ван-дер-ваальсовых взаимодействий и водородных связей. В капиллярном электрофорезе для разделения энантиомеров хиральный селектор добавляют в фоновый электролит (ФЭ) или химически прививают к стенке капилляра или к неподвижной фазе. При использовании циклодекстринов в качестве хиральных селекторов разделяемые вещества полностью или частично включаются в полость ЦД, образуя комплексы включения, стабилизированные вторичными связями между полярными группами хирального селектора и разделяемых веществ.

1. Некоторые аспекты механизма хиральных разделений методом капиллярного электрофореза

Впервые модель разделения пары энантиомеров в КЭ была предложена в 1992 г.¹¹⁶ Предполагается, что хиральное разделение осуществляется в том случае, если энантиомеры имеют различную степень сродства к хиральному селектору, т.е. разные константы связывания K_1 и K_2 , и если различаются электрофоретические подвижности свободного и связанного энантиомеров. Разница в электрофоретических подвижностях выражается следующим уравнением:¹¹⁶

$$\Delta\mu = \frac{[C](\mu_1 - \mu_2)(K_2 - K_1)}{1 + [C](K_1 + K_2) + K_1K_2[C]^2}, \quad (1)$$

где μ_1, μ_2 — электрофоретические подвижности свободного и связанного энантиомеров соответственно (предполагается, что эти параметры одинаковы для обоих энантиомеров), $[C]$ — концентрация хирального селектора. Решив уравнение $d\Delta\mu/d[C] = 0$, можно найти оптимальную концентрацию хирального селектора, в этой модели она зависит только от констант связывания K_1 и K_2 :

$$[C]_{\text{opt}} = \frac{1}{\sqrt{K_1K_2}}. \quad (2)$$

Из уравнения (1) следует, что разница в электрофоретических подвижностях больше, если комплекс энантиомер–хиральный селектор мигрирует в направлении, противоположном направлению миграции свободного энантиомера. Это подтверждают экспериментальные результаты, полученные при использовании заряженных ЦД, когда разделяемые вещества и хиральный селектор мигрируют в разных направлениях.

В работе¹¹⁷ исследовано влияние двух факторов, обуславливающих энантиоселективное разделение дансиламинокислот методом КЭ: различие в константах связывания энантиомеров с хиральным селектором (ГП-β-ЦД) и энантиоселективное изменение pK_a при комплексообразовании в интервале pH $pK_a \pm 2$, приводящее к различным зарядам комплексов энантиомер–хиральный селектор и, следовательно, к различным эффективным подвижностям комплексов. Внутри- и межмолекулярные взаимодействия часто сильно влияют на кислотно-основные равновесия и приводят к изменениям pK_a кислотных и основных групп в молекуле. Энантиомеры по-разному включаются в полость ЦД, обра-

зуют разные по силе и направлению водородные связи, по-разному участвуют в диполь-дипольных взаимодействиях, что приводит к разному изменению pK_a amino- и карбоксильных групп для двух энантиомеров. Энантиоселективное изменение pK_a при комплексообразовании может приводить к различию в значении pK_a двух энантиомеров вплоть до 0.4 (для карбоксильной группы дансилтриптофана). В интервале pH $pK_a \pm 2$ наблюдается инверсия порядка миграции энантиомеров при изменении концентрации хирального селектора. Это явление наблюдается в том случае, если более прочный комплекс энантиомер–хиральный селектор обладает большей эффективной подвижностью и подвижность комплексов меньше, чем подвижность свободных энантиомеров.

Зависящее от pH обращение порядка миграции энантиомеров ди- и трипептидов при использовании β -ЦД и его производных исследовано в работе¹¹⁸. Возможность такой инверсии зависит от структуры циклодекстрина, аминокислотного состава и аминокислотной последовательности в пептидах. Фенилаланин с карбоксильной группой на конце аминокислотной цепи благоприятствует обращению порядка миграции. Отмечается, что зависящее от pH обращение порядка миграции в ди- и трипептидах наблюдается в области $pH \approx pK_a$ карбоксильных групп.

2. Факторы, влияющие на разделение энантиомеров в капиллярном электрофорезе

На эффективность разделения энантиомеров методом КЭ влияет целый ряд факторов: тип и концентрация хирального селектора, pH и состав ФЭ, органические и неорганические модификаторы ФЭ, температура капилляра; в следующих разделах коротко обсуждается влияние каждого из перечисленных факторов.

а. Тип и концентрация хирального селектора

α -, β -, и γ -Циклодекстрины содержат в своей структуре разное число глюкозных остатков, и, следовательно, их полости различаются по внутреннему диаметру. Поскольку механизм разделения энантиомеров основан на возможности включения субстрата в полость ЦД, и размер, и форма молекул «гостя» и «хозяина» имеют огромное значение для хирального разделения. Эти эффекты были изучены в работах^{119–129}. Важность выбора типа ЦД, применяемого в качестве хирального агента, была продемонстрирована в различных вариантах КЭ (капиллярный гель-электрофорез, изотахофорез, капиллярный зонный электрофорез).^{119–121}

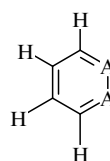
В работе¹³⁰ изучено применение различных метилированных β -ЦД для разделения энантиомеров дансильных производных аминокислот. Метилирование ЦД в положение 6 не влияет на стереоселективность разделения по сравнению с исходным (нативным) ЦД, в то время как модифицирование положения 2 делает невозможным хиральное разделение. Эти данные свидетельствуют о ключевой роли гидроксильных групп ЦД в хиральном распознавании дансиламино-кислот. В работе¹³¹ показано значение выбора типа ЦД при хиральном разделении нескольких гербицидов с использованием селективно модифицированных α -, β - и γ -ЦД.

Изучено¹³² влияние концентрации нового положительно заряженного ЦД — гептакис(6-дезоксигептаметокси-6-метоксигептамино)- β -ЦД — на разделение энантиомеров профенов и гербицидов (хлорфеноксипропионовых кислот). Установлена последовательность уменьшения степени комплексообразования энантиомеров профенов с хиральным селектором (по разнице времен миграции в присутствии и в отсутствие селектора). Отмечается, что независимо от концентрации производного ЦД разрешение пиков падает в

обратном порядке. Наилучшее разрешение пиков энантиомеров получено для индопрофена и фенопрофена (R_s равно 11 и 14 соответственно). Для хлорфеноксипропионовых кислот более сильное комплексообразование с хиральным селектором улучшает разрешение пиков энантиомеров; было достигнуто разделение смеси энантиомеров шести разных гербицидов.

Различные циклодекстрины были широко изучены в работах^{133–136}; например, при использовании ГП- β -ЦД были разделены рацематы 42 лекарственных препаратов из 86 изученных.

В обзоре¹³⁷ представлены данные по изучению разделения энантиомеров при использовании ТМ- β -ЦД: из 86 лекарственных препаратов 47 были успешно разделены. Рассмотрено влияние структуры анализируемых веществ и хиральных селекторов (ТМ- α -ЦД, ТМ- β -ЦД, ТМ- γ -ЦД) на разделение энантиомеров. На основании большого количества данных установлено, что так называемая «субструктура 4Н»,



где $A = C, N$ и т.д., значительно влияет на электрофоретическое разделение. Вещества, имеющие в своем составе эту субструктуру, не только обладают большим сродством к циклодекстринам, но и с высокой степенью вероятности могут быть разделены на энантиомеры с использованием перечисленных выше хиральных селекторов.

Интересные результаты получены при использовании различных ЦД¹²³ (α -, β -, γ -, ДМ- α -, ДМ- β -, ТМ- α -, ТМ- β -ЦД) для разделения энантиомеров дансиламино-кислот.

Преимущество заряженного ЦД в процессе хирального разделения показано в работе¹²², посвященной разделению энантиомеров дансиламино-кислот на заряженном моно-(6-амино-6-дезоксигептаметокси)- β -ЦД.

Сульфобутиловый эфир β -ЦД (СБЭ- β -ЦД) представляет собой важный хиральный селектор, широко используемый в КЭ. Во многих исследованиях показаны преимущества этого производного ЦД для разделения большого числа рацематов хиральных соединений.^{138–146} Необходимо отметить, что при использовании заряженных ЦД в КЭ часто наблюдается размывание пиков, особенно при низком значении pH при анализе основных соединений.¹⁴⁷ Смесь различных по типу замещения сульфированных ЦД была использована в работе¹⁴⁸ для разделения энантиомеров 56 лекарственных препаратов.

Разделение дансиламино-кислот с использованием новых производных ЦД — 6-дезоксигептаметокси-6-гистамино- β -ЦД и 6-дезоксигептаметокси-6-[4-(2-аминоэтил)имидазолил]- β -ЦД — изучено в работе¹⁴⁹. Первый хиральный селектор представляет собой монозамещенный положительно заряженный β -ЦД, в котором гистаминная часть связана с атомом С(6) моносахаридного фрагмента кольца ЦД через аминогруппу. Во втором хиральном селекторе гистаминная часть связана с атомом С(6) через имидазолильную группу. Число положительных зарядов в молекулах этих хиральных селекторов можно изменять в зависимости от pH , поскольку амино- и имидазолильная группы имеют разные значения pK_a . Лучшее разделение дансиламино-кислот получено при использовании второго хирального селектора. Те же производные ЦД были применены для разделения энантиомеров α -гидроксикислот и карбоновых кислот.¹⁵⁰ Разделение при использовании первого хирального селектора достигнуто при концентрации

1 ммоль·л⁻¹ и полностью отсутствует при использовании второго хирального селектора, что указывает на важную роль близости положительного заряда к полости ЦД для хирального разделения.

Новые производные ЦД были предложены в работах^{151–153} для разделения энантиомеров нейтральных и заряженных веществ. Гептакис(2,3-диметил-6-сульфо)-β-ЦД формирует менее стабильные комплексы с анализируемыми веществами, чем два других производных — гептакис(2,3-ди-*O*-ацетил-6-сульфо)-β-ЦД (ГДАС-β-ЦД) и гептакис(6-сульфо)-β-ЦД, — и обладает наилучшей стереоселективностью из трех изученных производных. Увеличение концентрации хирального селектора вызывает изменение порядка выхода энантиомеров нейтральных веществ. Энантиомеры слабых оснований и кислот были разделены при pH меньше и больше 7 соответственно.¹⁵¹

Для разделения основных и кислотных рацемических соединений введен цианоэтилированный β-ЦД.¹⁵⁴ Преимущество этого хирального селектора заключается в относительно высокой растворимости в воде и органических растворителях.

Моно(6-глутамиламино-6-дезоксид)-β-ЦД представляет собой цвиттер-ионный ЦД для разделения энантиомеров незаряженных веществ.¹⁵⁵ Заряд хирального селектора можно варьировать, изменяя pH ФЭ: при pH 2.3 хиральный селектор заряжен положительно, при pH 10.3–11.2 — отрицательно.

Энантиомеры гербицидов, дансиламинокислот, профенов были разделены при использовании гептакис(6-гидроксиэтиламино-6-дезоксид)-β-ЦД.¹⁵⁶ Изменение pH ФЭ влияло на стереоселективность разделения энантиомеров, хиральные разделения получены в интервале pH 4–7.

Растворимые полимеры, полученные по реакции β-ЦД или карбоксиметил-β-ЦД с эпихлоргидрином, были успешно использованы в хиральном КЭ.^{157–161}

Концентрация ЦД в фоновом электролите играет чрезвычайно важную роль в методе КЭ. Очень часто хиральное разделение не происходит, хотя добавление ЦД вызывает уменьшение эффективных подвижностей энантиомеров. Одна из причин — неправильный выбор концентрации ЦД. В работе¹¹⁶ теоретически описано существование оптимальной концентрации ЦД (уравнение 2), при которой ожидается максимум разделения энантиомеров. В некоторых случаях максимальное разрешение пиков не наблюдается (R_s увеличивается с ростом концентрации ЦД), так как оптимальная концентрация циклодекстрина не может быть достигнута из-за его низкой растворимости в воде.

На основании опубликованных исследований можно заключить, что полость β-ЦД (в отличие от полостей α- и γ-ЦД) является наиболее подходящей для хирального разделения большого числа веществ, особенно используемых в настоящее время лекарственных препаратов. Большинство коммерчески доступных производных циклодекстринов синтезированы на основе β-ЦД. Как уже отмечалось выше, модифицированные циклодекстрины заметно отличаются по свойствам от нативного β-ЦД (обладают повышенной растворимостью, способностью к образованию вторичных связей, различной гидрофобностью полости), что может быть использовано для улучшения селективности разделения энантиомеров. Экспериментальные трудности при использовании заряженных циклодекстринов связаны с тем, что большинство коммерчески доступных селекторов — сложные смеси, содержащие большое число изомеров. Изменение концентрации заряженных циклодекстринов в ФЭ приводит к большим изменениям ионной силы; в присутствии циклодекстринов сложно точно определить скорость электроосмотического потока (ЭОП).

Заряженные производные β-ЦД используют для разделения энантиомеров нейтральных и заряженных веществ. Для последних заряженные хиральные селекторы приводят к большим значениям R_s , чем нейтральные. Как уже было сказано выше, миграция хирального селектора в направлении, противоположном миграции анализируемого вещества, способствует разделению энантиомеров, поскольку вызывает увеличение разницы в электрофоретических подвижностях свободного и связанного энантиомеров.¹¹⁶

б. Концентрация и pH фонового электролита

Выбор соответствующего фонового электролита (тип и концентрация буферного раствора, ионная сила, pH) имеет огромное значение для достижения оптимальных экспериментальных условий разделения энантиомеров. Изменяя значение pH, можно контролировать ЭОП, изменять ионное состояние как разделяемых веществ, так и хирального селектора. Влияние pH ФЭ на энантиоселективность изучено практически во всех упомянутых выше работах. Ионная сила влияет на ЭОП и времена миграции веществ. Электромиграционная дисперсия может быть уменьшена при увеличении ионной силы буфера, что, однако, сопровождается увеличением тока в системе. В работе¹⁶² изучено влияние ионной силы на разделение энантиомеров варфарина, буфером служил *N*-трис(гидроксиэтил)метил-3-аминопропансульфонат, содержащий в качестве хиральной добавки ЦД; ионную силу увеличивали добавлением хлорида натрия. При увеличении ионной силы буфера наблюдалось уменьшение скорости ЭОП, увеличение времен миграции и улучшение разрешения пиков энантиомеров варфарина. В работе¹⁶³ при использовании относительно высоких концентраций ФЭ (250 мМ раствор ацетата натрия) было достигнуто оптимальное разделение энантиомеров изопроterenоло с максимумами эффективности, селективности и разрешения пиков.

в. Температура капилляра

Температура капилляра — очень важный параметр, который необходимо контролировать в хиральных анализах при использовании электромиграционных методов. Температура влияет на подвижность анализируемых веществ, на кинетику и термодинамику образования комплексов с циклодекстринами и т.д. Влияние температуры капилляра на хиральное разделение изучено в работах^{164–171}, установлено уменьшение времен миграции и разрешения пиков при увеличении температуры. В некоторых случаях наблюдается обратная зависимость.^{172, 173}

г. Органические и неорганические модификаторы фонового электролита

Добавление ахиральных соединений в ФЭ меняет ЭОП, вязкость, растворимость анализируемых веществ и/или хирального селектора, в результате изменяются электрофоретические подвижности, что приводит к разделению энантиомеров. Энантиомеры *трео*-хлорамфеникола и кетотифена были разделены при использовании гептакис(2,6-ди-*O*-метил)-β-ЦД и добавлении в ФЭ гидрофильных производных целлюлозы.¹⁷⁴ Улучшение разделения авторы работы объясняют снижением ЭОП и уменьшением адсорбции анализируемых веществ на стенках капилляра. Подобный эффект отмечен при изучении влияния поливинилового спирта на хиральное разделение нескольких токаинов.¹⁷⁵ Введение в ФЭ короткоцепочечных алкильных аммониевых катионов сильно влияет на хиральное разделение некоторых лекарственных веществ. Было изучено разделение энантио-

меров 22 лекарственных препаратов при использовании β -ЦД, ДМ- β -ЦД, ТМ- β -ЦД, ГП- β -ЦД с добавками бромида тетраметил- или тетрабутиламмония.¹⁷⁶ Использование аммониевых солей вызвало обращение ЭОП, увеличение времени миграции и улучшение разделения пиков энантиомеров. Было также улучшено разделение энантиомеров нескольких анестетиков при использовании тетрапропил- и тетрабутиламмониевых катионов в ФЭ, содержащем ДМ- β -ЦД.¹⁷⁷ Влияние небольших органических катионов на хиральное разделение соединений, обладающих основными свойствами, было изучено в работе¹⁷⁸. Оптические изомеры алпренолола, амфетамина, анизодамина, изопреналина, пинацидила, синефрина и верапамила разделены при использовании ГП- β -ЦД в присутствии трис(гидроксиметил)-метиламина (Трис), диэтанолamina, триэтанолamina, диэтиламина и триэтиламина. Среди использованных добавок триэтаноламин является наиболее эффективным для улучшения селективности.

Энантиомеры неполярных первичных аминов трудно разделить методом КЭ, используя только ЦД. Для достижения или улучшения хирального разделения аминов в работе¹⁷⁹ использовали ДМ- β -ЦД, гидроксипропил- β -ЦД (ГЭ- β -ЦД), γ -ЦД в сочетании с 18-краун-6. Анализируемые вещества образуют комплексы включения и с хиральным селектором, распознающим энантиомеры аминов, и с 18-краун-6. Механизм разделения энантиомеров при использовании ЦД и 18-краун-6 был изучен в работе¹⁸⁰. Вещества, содержащие аминогруппу, разделены при использовании β -ЦД или его производных в присутствии ахирального краун-эфира (30 ммоль $\cdot$ л⁻¹). Сочетание хирального селектора (β -ЦД или сукцинил- β -ЦД) с ахиральным комплексообразующим агентом (боратный буфер) позволило разделить энантиомеры фенилэтан-1,2-диола, 3-бензилоксипропан-1,2-диола, гидроксипропанола, 3-(*N*-бензил-*N*-метиламино)пропан-1,2-диола.¹⁸¹ Борат-анион является комплексообразующим агентом для вицинальных диолов. Катионный ион-парный реагент хинин сильно влияет на разделение энантиомеров кислотных и основных веществ при использовании циклодекстринов.¹⁸²

Введение органических модификаторов в ФЭ может привести к изменению таких параметров, как константы связывания хирального селектора и энантиомера, скорость ЭОП, проводимость ФЭ, растворимость хирального селектора и/или анализируемых веществ. В результате меняется время, необходимое для проведения анализа. При введении в ФЭ органических модификаторов разделение энантиомеров может быть улучшено или ухудшено. Хиральное разделение нескольких аминокислот было достигнуто в капилляре, заполненном полиакриламидным гелем, при добавлении 10% метанола в ФЭ,¹¹⁹ содержащий ЦД; пропранолол был разделен на энантиомеры только при добавлении в ФЭ (фосфатный буфер – мочевины – β -ЦД) метанола (10–30%).¹⁸³ Улучшение хирального разделения при добавлении метанола отмечено для миндальной кислоты,¹⁷⁰ варфарина¹⁶² и производных имидазола.¹⁸⁴ Теоретические закономерности влияния органического модификатора на хиральное разделение рассмотрены в работе¹⁸⁵. В некоторых случаях его добавление ухудшает хиральное разделение, поскольку происходит уменьшение констант связывания и разности эффективных подвижностей энантиомеров при достижении оптимальной концентрации ЦД. В качестве примеров можно привести разделение кленбутерола,¹⁸⁶ денопамина и триметохинола,¹⁸⁷ депренила,¹⁸⁸ диоксипрометазина,¹⁸⁹ верапамила и пропафенона¹⁹⁰ и дансильных производных фенилаланина, лейцина и пропранолола при использовании β -ЦД и добавлении в ФЭ спиртов, содержащих от одного до шести атомов углерода.¹⁹¹

3. Методы оптимизации разделения при использовании циклодекстринов

Принимая во внимание большое число коммерчески доступных циклодекстринов, используемых в КЭ, трудно сформулировать общие правила для выбора условий разделения энантиомеров. В настоящее время уровень понимания процессов разделения энантиомеров не позволяет выбрать *a priori* наилучший хиральный селектор для конкретного рацемата. Однако для рационального выбора условий разделения может быть применена модель миграции при использовании заряженного хирального агента (Charged Resolving Agent Migration Model, CHARM-модель), сформулированная Вильямсом и Вигом.¹⁹² С ее помощью можно быстро оценить способность различных заряженных циклодекстринов к хиральному разделению любого рацемата.

Успешное разделение энантиомеров зависит от многих параметров. Инструментальные факторы (потенциал разделения, температура) достаточно хорошо и предсказуемо контролируются в большинстве современных приборов. Селективность разделения в КЭ определяется отношением эффективных подвижностей разделяемых компонентов и может быть оптимизирована на основании зависимости эффективной подвижности от состава фонового электролита. Однако только для некоторых из композиционных переменных ФЭ (рН, концентрация и заряд хирального селектора, эффективный заряд энантиомера, скорость ЭОП) эффект предсказуем. Такие факторы, как структура хирального селектора и добавление органических или неорганических модификаторов, могут вызвать заметные, но непредсказуемые изменения. CHARM-модель основана на рассмотрении равновесий протонирования и комплексообразования энантиомеров с заряженным хиральным селектором (предполагаемое соотношение энантиомер:селектор равно 1:1) и влияния этих равновесий на эффективный заряд энантиомеров, их эффективную подвижность и на селективность разделения. В работе¹⁹² приводятся аналитические выражения для расчета перечисленных выше параметров для веществ различной природы: неэлектролитов, сильных и слабых электролитов. Показано, что рассчитанные величины зависят от ионной подвижности связанных в комплекс и несвязанных протонированной и непротонированной форм энантиомеров, от констант протонирования, от констант образования комплекса энантиомер – селектор для протонированной и непротонированной форм, а также от рН и концентрации селектора в ФЭ. Если известны значения констант связывания, ионных зарядов и ионных подвижностей разных форм энантиомеров, можно рассчитать теоретическую величину разрешения.

CHARM-Модель помогает сделать рациональный выбор состава фонового электролита. Для селекторов, являющихся сильными многозарядными электролитами, в отсутствие ЭОП разделение нейтральных и заряженных аналитов не зависит от рН. Для слабых электролитов величина R_s велика при низком рН для разделения слабых кислот в недиссоциированной форме и для разделения слабых оснований в виде ионов. При высоких значениях рН величина R_s велика для разделения слабых кислот в виде ионов и для разделения слабых оснований в недиссоциированной форме. Следовательно, в отсутствие ЭОП (т.е. в капилляре с нейтральным покрытием) для нахождения наилучших условий разделения необходимо выполнить только две серии измерений: одну при низком значении рН фонового электролита (например, рН 2.2) и одну при высоком рН (например, рН 9.5). При каждом значении рН варьируется тип ЦД и его концентрация для нахождения максимума R_s . Если найден оптимальный хиральный селектор, можно варьировать скорость ЭОП, изменяя свойства стенок капилляра (анионное или катионное

покрытие, без покрытия), чтобы улучшить разрешение пиков, ускорить разделение или изменить порядок миграции энантиомеров. Наконец, для достижения разделения или его улучшения можно попробовать использовать систему из двух хиральных селекторов, органические модификаторы, поверхностно-активные вещества (ПАВ), однако это не означает *a priori* улучшения результатов.

Часто электромиграционная дисперсия, вызванная разницей в подвижностях между ионами пробы и буфера, приводит к уширению пиков (пики фронтальные или с «хвостами»). Это явление можно уменьшить путем увеличения ионной силы ФЭ или использования буфера, проводимость которого совпадает с проводимостью зоны пробы.

4. Мицеллярная электрокинетическая хроматография

Метод мицеллярной электрокинетической хроматографии (МЭКХ) позволяет разделять незаряженные компоненты пробы за счет различной вероятности их нахождения в водной подвижной и псевдостационарной фазах. Додецилсульфат натрия (ДДСН) является наиболее широко используемым ПАВ в капиллярном электрофорезе для разделения энантиомеров в присутствии циклодекстринов (метод ЦД-МЭКХ). Мицеллы ДДСН имеют отрицательный заряд и, следовательно, обладают электрофоретической подвижностью в направлении анода. На рис. 6 показана схема электрофоретического разделения незаряженных веществ методом ЦД-МЭКХ при использовании ДДСН, электроосмотический поток направлен в сторону катода. Если вклад электрофоретической подвижности мицелл меньше вклада электроосмотической подвижности, то мицеллы движутся в сторону катода, т.е. детектора. Незаряженные энантиомеры образуют комплексы включения с ЦД в водной фазе или включаются внутрь мицелл и движутся со скоростью мицеллы. Разделение нейтральных энантиомеров основано на их различном распределении между буферным раствором, содержащим ЦД, и внутренней частью мицелл. Вследствие того что молекулы пробы взаимодействуют с псевдостационарной фазой, метрологические характеристики метода ЦД-МЭКХ соответствуют характеристикам хроматографического метода. Следует подчеркнуть, что метод МЭКХ с использованием ЦД позволяет разделять как незаряженные, так и заряженные энантиомеры, если они включаются в мицеллы.

В первой работе по разделению энантиомеров методом ЦД-МЭКХ¹⁹³ изучено влияние типа хирального селектора на примере α -, β -, γ -, ДМ- β -, ТМ- β -ЦД в буфере, содержащем 50 мМ ДДСН и 4 М мочевины (рН 9.0), на хиральное разделение тиопентала, пентобарбитала, фенобарбитала,

барбитала. γ -Циклодекстрин, имеющий наибольший диаметр полости, оказался самым эффективным хиральным агентом. Добавление других хиральных веществ совместно с ЦД, например D-камфор-10-сульфоната, улучшило хиральное разделение изученных соединений.

Метод МЭКХ применяли для хирального разделения различных соединений: производных аминокислот,^{194–197} ингибиторов ароматазы и барбитуратов,¹⁶⁵ β -блокаторов,¹⁹⁸ производных триазола,^{199, 200} дигидропиридиновых производных,²⁰¹ циклетанина,²⁰² мефенитоина, фенитоина и их 4-гидроксипроизводных,²⁰³ производных пептидов,^{204, 205} пестицидов²⁰⁶ и т.д. В ЦД-МЭКХ также используют желчные кислоты, относящиеся к хиральным ПАВ, и их соли для разделения энантиомеров дансиламиноокислот,^{207–209} баклофена и его аналогов, мефенитоина и фенолдопама и их производных,²⁰⁷ производных аминокислот типа *N*-замещенных 1-цианобензо[*f*]изоиндолов (ЦБИ-аминокислот),²⁰⁸ ОФА-аминокислот,²¹⁰ фенилэтиламинов (диклофенина, эфедрина, метамфетамина, β -блокаторов),²¹¹ бинафтильных производных;²¹² смешанные мицеллярные смеси ДДСН и тауродезоксихолевой кислоты с β -ЦД — для разделения ЦБИ-селенометионина и селеноэтионина.²¹³ Для разделения энантиомеров дансиламиноокислот в работе²¹⁴ было использовано ахиральное полимерное ПАВ (натриевая соль сополимера бутилакрилат-бутилметакрилат-метакриловая кислота) в сочетании с β -ЦД и получено лучшее разрешение пиков, чем при использовании системы β -ЦД – ДДСН.

5. Неводный хиральный капиллярный электрофорез

В обзоре³¹ представлены данные по разделению энантиомеров методом неводного КЭ; обсуждается влияние концентрации и типа хирального селектора, кажущегося рН, ионной силы и температуры, органических растворителей на подвижность энантиомеров, селективность и эффективность разделения энантиомеров.

Одно из наиболее важных преимуществ неводного КЭ — возможность исследования нерастворимых или плохо растворимых в воде веществ. Растворимость циклодекстринов во многих растворителях намного больше, чем в воде. Например, в *N*-метилформамиде растворимость β -ЦД более 700 ммоль·л⁻¹, а в воде — 18 ммоль·л⁻¹ (см.²¹⁵). Таким образом, возможно улучшение хирального разделения при использовании более высоких концентраций циклодекстринов в органических средах.^{215–223} В работе²¹⁶ изучено хиральное разделение основных трициклических лекарственных веществ при использовании β -ЦД, М- β -ЦД, ГП- β -ЦД, γ -ЦД в формамиде, *N*-метилформамиде и *N,N*-диметилформамиде. В данном случае меняется характер взаимодействия энантиомеров и хирального селектора: предполагают, что гидрофобное взаимодействие между энантиомерами и хиральным селектором практически отсутствует, образование комплексов включения происходит в очень малой степени. Вероятно, разделяемые соединения плоско ложатся на «конус» ЦД и взаимодействуют с его гидроксильными группами. Это согласуется с полученными значениями констант связывания тримипрамина, миансерина и триоридазина, которые уменьшаются от $\sim 10^4$ в воде до $\sim 10^{-2}$ в *N,N*-диметилформамиде. Образование комплексов включения предпочтительно в более полярном растворителе, например в формамиде, чем в менее полярном *N*-метилформамиде, поскольку различие полярности между растворителем и полостью ЦД в этом случае больше. Наилучшие хиральные разделения трициклических соединений получены при использовании β -ЦД и его производных, но не γ -ЦД, хотя у последнего диаметр полости больше и ближе к размерам разделяемых молекул.

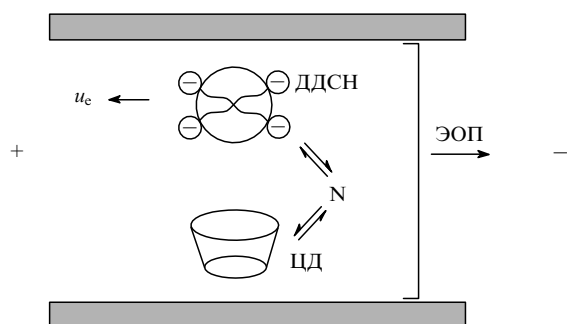


Рис. 6. Схема электрофоретического разделения незаряженного вещества методом ЦД-МЭКХ.³⁹

u_c — скорость электрофоретического перемещения, N — энантиомер.

Недостатком указанных растворителей является их интенсивное поглощение при 214 нм и ниже. Прозрачные в УФ-области фоновые электролиты могут быть приготовлены из метанола или из смесей на его основе. В работе²²⁴ разделены энантиомеры 40 основных веществ в фоновом электролите $\text{H}_3\text{PO}_4 - \text{NaOH} - \text{CH}_3\text{OH}$ при использовании гептакис(2,3-диметил-6-сульфо)- β -ЦД. Изучены зависимости эффективных подвижностей, коэффициентов селективности и разрешения пиков от концентрации хирального селектора в интервале 0–40 ммоль $\cdot$ л⁻¹ и установлено, что они подчиняются теоретическим предсказаниям миграционной модели при использовании заряженного хирального селектора (CHARM-модели).¹⁹²

6. Электрохроматография

Капиллярная электрохроматография (КЭХ) — современный комбинированный метод, сочетающий преимущества ВЭЖХ и КЭ. В хиральной КЭХ используются принципы молекулярного распознавания энантиомеров хиральной неподвижной фазой (ХНФ) и электрическое поле как движущая сила переноса энантиомеров. Основное преимущество КЭХ по сравнению с ВЭЖХ — большая эффективность колонок, являющаяся результатом плоского «поршневидного» профиля потока подвижной фазы.

Основные принципы хиральной КЭХ обсуждаются в обзоре²²⁵. Перенос энантиомеров через капиллярную колонку осуществляется прежде всего за счет ЭОП, который обусловлен двойным электрическим слоем вблизи заряженной поверхности НФ. Линейная скорость осмотического потока u_{eo} пропорциональна ζ -потенциалу, который характеризует двойной электрический слой, а также зависит от свойств ПФ (диэлектрической проницаемости ϵ , вязкости η , ионной силы) и от напряженности электрического поля E . Кроме переноса за счет ЭОП, заряженные вещества имеют собственную электрофоретическую миграцию в направлении, определяемом зарядом иона. Увеличение линейной скорости веществ возможно при приложении давления к колонке. Кажущаяся линейная скорость миграции вещества u_{app} складывается из линейной скорости ЭОП u_{eo} , скорости электрофоретического перемещения u_{ep} и увеличения скорости за счет приложенного давления u_{press} :

$$u_{app} = u_{eo} + u_{ep} + u_{press}. \quad (3)$$

Хиральное разделение всегда основывается на энантиоселективных молекулярных взаимодействиях между веществом и ХНФ или псевдо-НФ (хиральные добавки), в то время как электрофоретическая миграция вносит вклад только в общий перенос веществ, поскольку энантиомеры обладают одинаковыми электрофоретическими подвижностями. Время элюирования t_e зависит от длины колонки L , хроматографического коэффициента удерживания k и от линейной скорости миграции вещества u_{app} .²²⁶

$$t_e = \frac{L(1+k)}{u_{app}} \quad (4)$$

Для непосредственного разделения энантиомеров в КЭХ используют два различных подхода: хиральный селектор может быть добавлен в ПФ либо иммобилизован на твердом носителе или на стенке капилляра (ХНФ).

При использовании хиральных добавок в ПФ для разделения энантиомеров обычно используют коммерчески доступные обращенно-фазовые ахиральные колонки. Механизм разделения в этом варианте КЭХ достаточно сложен, поскольку включает электрофоретическую (для заряженных энантиомеров) и хроматографическую составляющие. Энантиоселективность разделения достигается за счет различия в

константах образования комплексов энантиомер–хиральный селектор, различия в эффективных подвижностях свободного и связанного энантиомеров, разделения диастереомерных комплексов на НФ.²²⁶ Если ЭОП и электрофоретическая миграция заряженных веществ имеют разные направления, то возможно обращение порядка выхода энантиомеров при изменении ПФ — эффект, хорошо известный в КЭ.¹¹⁷ Наиболее часто в качестве добавок в ПФ используют α -, β - и γ -ЦД и их производные. Энантиомеры хлорталидона были разделены на колонке с октадецилсиликагелем (ОДС) (3 мкм) с ГП- β -ЦД в качестве хирального селектора;²²⁷ энантиомеры фенилэфрина и синефрина разделены на колонке с силикагелем, хиральный селектор — ГП- β -ЦД.²²⁸ В работе²²⁶ выполнено разделение энантиомеров салсолинола методом КЭХ при использовании колонки на основе ОДС, β -ЦД как хиральной добавки и гептансульфоната натрия как ахирального ион-парного реагента, а также подробно обсуждается механизм разделения в КЭХ при добавлении хирального селектора в ПФ и предлагается теоретическая модель энантиоселективности в таких системах, применимая к нейтральным и заряженным анализируемым веществам. Вариант КЭХ с использованием хирального селектора в ПФ не имеет преимуществ по сравнению с энантиоселективным КЭ.

Для разделения энантиомеров методом КЭХ наиболее перспективно использование хиральной неподвижной фазы. В настоящее время существуют три различных подхода к капиллярным колонкам на основе ХНФ.²²⁹

1. Открытые капиллярные колонки (open tubular columns), стенки которых химически или физически модифицированы хиральным селектором. Для разделения энантиомеров требуются капиллярные колонки с внутренним диаметром ~ 50 мкм, который является оптимальным одновременно для высокой эффективности колонок и для УФ-детектирования (стандартного способа детектирования в большинстве приборов для КЭ). Электроосмотический поток создается остаточными силанольными группами на поверхности силикагеля (для нейтральных хиральных селекторов). Единственный недостаток данного подхода — маленькая площадь поверхности, доступная для модифицирования хиральным селектором. Как следствие, колонки могут быть легко перегружены, что проявляется в асимметрии пиков и ухудшении эффективности. На эффективность разделения влияет толщина слоя НФ: на более тонких пленках получается большее число теоретических тарелок (т.т.).

Впервые разделение энантиомеров в открытой капиллярной колонке при использовании пленки полидиметилсилоксана толщиной 0.2 мкм с ковалентно привитым через октаметиленовый спейсер перметилированным β -ЦД (16%) (Chirasil-Dex) осуществлено для 1-фенилэтанола и других соединений.²³⁰ В другой работе²³¹ капилляр, модифицированный перметилированным γ -ЦД (Chirasil- γ -Dex), был использован для хирального разделения ибупрофена, фторбипрофена, циклопрофена, 1-фенилэтанола. Изучено влияние pH буфера, приложенного напряжения и толщины слоя НФ. Увеличение толщины пленки от 0.2 до 0.4 и 0.8 мкм привело к значительной потере эффективности: от 30 500 (300 000 т.т. $\cdot$ м⁻¹) до 24 000 и 9500 т.т. на колонку; селективность разделения при этом оставалась практически одинаковой (1.17, 1.19 и 1.12 соответственно). В обзоре²³² обсуждается разделение энантиомеров при использовании пленок Chirasil-Dex в открытых капиллярных колонках.

2. Набивные (packed) колонки с ХНФ, в которых используются стандартные хроматографические носители (силикагель или полимеры), химически модифицированные хиральным селектором. Для таких хиральных неподвижных фаз используют кварцевые капилляры с внутренним диаметром 75 или 100 мкм. Колонки данного типа аналогичны стандартным хроматографическим колонкам, но позволяют

получать большее число теоретических тарелок. Для ХНФ могут быть использованы меньшие по размеру частицы и/или более длинные колонки, поскольку в КЭХ нет таких ограничений на используемое давление, как в ВЭЖХ. Необходимо отметить, что внешнее давление, приложенное к капилляру, может уменьшать время анализа, но вместе с тем искажать плоский профиль потока, типичный для электромиграционных систем, и давать параболический профиль потока, что приводит к уменьшению эффективности колонки. Как уже упоминалось, разделение энантиомеров в ВЭЖХ осуществляется в нормально-фазовом, обращенно-фазовом и «полярно-органическом» режимах. Для КЭХ в основном используются два последних варианта, причем условия разделения часто могут быть прямо перенесены из ВЭЖХ без потери энантиоселективности. Механизм разделения энантиомеров методом КЭХ идентичен механизму разделения в ВЭЖХ и обсуждался ранее. Силу взаимодействия энантиомера с хиральным селектором можно контролировать, изменяя состав подвижной фазы. В КЭХ это не так просто, как в ВЭЖХ, поскольку регулирование удерживания и/или селективности разделения в КЭХ всегда влияет на скорость ЭОП, а в случае заряженных веществ также на их электрофоретическую миграцию. В большинстве случаев в состав ПФ входят смеси на основе ацетонитрила, которые дают большой ЭОП, и буферы с низкой ионной силой. Ацетонитрил как органический модификатор наиболее удобен для достижения высокой скорости ЭОП, и обычно ему отдают предпочтение перед метанолом. Высокая скорость и стабильность ЭОП являются важными условиями в КЭХ. ζ -Потенциал рабочих условий, а также скорость и направление электроосмотического потока определяются свойствами подвижной и хиральной неподвижной фаз. Выбор соответствующего носителя для приготовления ХНФ, используемой в КЭХ, более критичен, чем в ВЭЖХ. Силикагели могут значительно различаться по количеству силанольных групп, что приводит к разной скорости ЭОП для приготовленных на их основе ХНФ. Ниже приведен ряд примеров использования колонок данного типа. Энантиомеры бензоина, гексобарбитала, дансил- и 3,5-ДНФ-аминокислот были разделены на капиллярной колонке с ХНФ, содержащей β -ЦД (5 мкм, Cyclobond I).²³³ Замена фосфатного буфера раствором ацетата триэтиламмония привела к обращению ЭОП и улучшила разделение кислотных соединений. Такое обращение ЭОП, наблюдаемое для ПФ, которые содержат небольшое количество метанола (не больше 15%), нельзя объяснить адсорбцией ионов триэтиламмония на поверхности НФ и образованием динамического анионообменника. Разделение энантиомеров хлорталидона и миансерина на ХНФ на основе ГП- β -ЦД (коммерческая колонка 5 мкм Cyclobond I 2000 RSP) осуществлено в работе²²⁷. В работе²³⁴ использована ХНФ на основе перметилированного β -ЦД (размер пор 300 Å, 5 мкм) для разделения энантиомеров нескольких барбитуратов, бензоина, глутемина, метилтиогидантоина пролина и метилового эфира миндальной кислоты (эффективность от 20 000 до 40 000 т.т.·м⁻¹). Сравнение разделения энантиомеров мексобарбитала методами микро-ВЭЖХ и КЭХ на этой капиллярной колонке показало, что использование КЭХ привело к трехкратному увеличению эффективности разделения и улучшению разрешения пиков от 2.08 до 3.39 без потери энантиоселективности. Разделение энантиомеров тех же веществ, а также эфиров арилоксикарбоновых кислот, выполненное на перметилированном β -ЦД, ковалентно связанном через спейсер (октаметилен) с полидиметилсилоксаном на силикагеле (размер пор 300 Å, Chirasil-Dex), привело к дальнейшему улучшению эффективности колонок до 70 000 т.т.·м⁻¹ (см.²³⁵). Гидрофобное микроокружение и защита полярных силанольных групп полисилоксановой пленкой улучшили

энантиоселективность. Так, 1-(2-нафтил)этанол был разделен только на Chirasil-Dex, а не на ХНФ на основе ковалентно пришитого перметилированного β -ЦД.

3. Специально созданные монолитные ХНФ, приготовленные полимеризацией *in situ* в капилляре; такие ХНФ имеют хиральные селекторы или хиральные полости, введенные в непрерывную полимерную матрицу. Положительно и отрицательно заряженные полиакриламидные гели (дают соответственно катодный и анодный ЭОП), физически или химически модифицированные β -циклодекстрином, были приготовлены в капиллярах, которые уже содержали метакрилатные группы.^{236–238} Преимущество этих монолитных ХНФ состоит в том, что для разделения энантиомеров в ПФ не нужно вводить органический модификатор, который может уменьшить энантиоселективность. Разделение энантиомеров тербуталина, пропранолола и бензоина было проведено при использовании отрицательно заряженного геля.^{236, 237} Дансиламиноокислоты и некоторые другие кислотные соединения были разделены на положительно заряженном полиакриламидном геле с ковалентно прикрепленным аллилкарбамоил- β -ЦД.²³⁸ Эффективность колонок достигала 150 000 т.т.·м⁻¹.

7. Практическое использование разделений энантиомеров

Данные по разделению энантиомеров методом КЭ при использовании циклодекстринов в качестве хиральных селекторов обобщены в обзорах^{29, 39, 239–244}. В табл. 5 приведены некоторые примеры хиральных разделений, выполненные за 2000–2002 гг. (сгруппированы в соответствии с типом ЦД).

Несмотря на то что число публикаций по использованию циклодекстринов в КЭ для хиральных разделений очень велико, работ по определению энантиомеров в реальных образцах довольно мало. Определение содержания энантиомеров в реальных образцах выполняется в фармацевтике, медицине, биологии, при изучении объектов окружающей среды. Следует подчеркнуть, что при выполнении стереоселективных анализов лекарственных препаратов необходимо определять количество нежелательного энантиомера при его содержании меньше 1%. Точное определение соотношения энантиомеров 99.9:0.1 часто является более сложной задачей, чем «простое» разделение рацематов. Некоторые примеры определений энантиомеров в реальных образцах приведены в обзорах^{29, 39}, а данные за 2000–2002 гг. представлены в табл. 6.

В обзорах^{245, 246} обсуждаются принципы и наиболее важные аспекты хирального анализа лекарственных препаратов, определение энантиомеров лекарств и их метаболитов в биологических жидкостях, приведены примеры практического применения определения энантиомеров для объяснения возможных механизмов фармакокинетики и стереоселективности метаболизма лекарств.

Обзор²⁴⁷ посвящен хиральному разделению аминокислот и пептидов. Приведено большое количество примеров, иллюстрирующих современное состояние разделения энантиомеров и диастереоизомеров аминокислот и пептидов, обсуждаются способы улучшения селективности и методы оптимизации параметров хирального разделения при использовании математического планирования эксперимента.

V. Заключение

Огромное количество публикаций по использованию циклодекстринов для разделений энантиомеров показывает важность этих хиральных селекторов в самых разных вариантах хроматографии и капиллярного электрофореза. Каждый метод имеет свои преимущества и ограничения, поэтому

Таблица 5. Примеры энантиоселективных разделений методом КЭ с использованием различных типов циклодекстринов.

Соединения	ЦД	Фоновый электролит, метод детектирования ^a	Ссылки
Ароматические производные аминифосфористой и аминифосфорноватистой кислот	α -ЦД	100 мМ фосфатный буфер, pH 7.5 и 40 мМ ХС ^b	248
5,11-Дигидро-11-[2-[2-[(<i>N,N</i> -дипропиламинометил)-пиперидин-1-ил]этиламино]карбонил]-6 <i>H</i> -пиридо-[2,3- <i>b</i>][1,4]бензодиазепин-6-он	Сульфо- α -ЦД	25 мМ фосфат триэтиламмония, pH 2.5 и 5% ХС	249
Лобелин, бензексол	β -ЦД	50 мМ Трис–фосфорная кислота, pH 2.5 и 14% смеси: β -ЦД, P ₂ O ₅ , L-глутаминовая кислота	250
Бромфенирамин	β -ЦД	100 мМ фосфорная кислота – триэтанолламин, pH 3.0 и 18 мг·мл ⁻¹ ХС	251
ОФА-аминокислоты	β -ЦД	40 мМ боратный буфер, pH 9.0, 60 мМ тауро-холат натрия, 15% пропан-2-ола и 30 мМ β -ЦД	210
Прометазин	β -ЦД	30 мМ Na ₂ HPO ₄ , 15 мМ лимонная кислота, pH 2.5 и 1 мМ ХС; амперометрическое детектирование	252
Ибупрофен	β -ЦД	200 мМ MES, ^c pH 4.4, 0.3% гидроксиэтилцеллюлозы и 15 мМ ХС	253
Тиомочевины (продукты реакции флуоресцеин-5-изотиоцианата с аминокислотами)	β -ЦД	80 мМ боратный буфер, pH 9.3, 30 мМ таурохолат натрия и 20 мМ β -ЦД; ФД ^d	254
Декстроморамид	ГП- β -ЦД	100 мМ фосфорная кислота – триэтанолламин, pH 3.0 и 15 мМ ХС	255
2-(4,5-Дигидро-1 <i>H</i> -имидазол-2-ил)-2-метокси-5-фторбензо[1,4]диоксан	ГП- β -ЦД	50 мМ формиат аммония, pH 4 и 10 мМ ХС; КЭ-МС ^e	256
Цизолиртин и продукты его деградации	ГП- β -ЦД	50 мМ боратный буфер, pH 9.2, 150 мМ ДДСН, 5% <i>n</i> -бутанола и 60 мМ ХС	257
3,4-Метилендиоксиметамфетамин и 2 его метаболита	ГП- β -ЦД	50 мМ фосфорная кислота, pH 2.5 и 50 мМ ХС	258
Бис(фенэтил)амины, их циклические аналоги	ГДАС- β -ЦД	50, 100 мМ фосфатный буфер, pH 3.0, 6.0, 7.5 и 0.5–9 мМ ХС	259
Синтетический аналог яда осы	ГДМ- β -ЦД ^f	50 мМ 6-аминокапроновая кислота, pH 4.0 и 30 мМ ХС	260
1-(1-Нафтил)этиламин, 1-аминоиндан, 1,2,3,4-тетрагидро-1-нафтиламин	ГДМ- β -ЦД ^f	200 мМ Трис – 300 мМ боратный буфер, pH 7.0, 10 мМ 18-краун-6 и 10 мМ ХС	261
Миансерин, циклопентолат, флуоксетин, низоксетин, верапамил, аминоглутетимид, диметинден, доксапрам, гидроксизин, меклозин, кетопрофен	ГДМК- β -ЦД ^g	50 мМ фосфатный буфер, pH 7.0 и 18–72 мМ ХС	262
[5-(4-Гидроксibuтил)-5'-метил-2,2'-бипиридил]-бис-(2,2'-бипиридил)-Ru(II)-бис(гексафторантимонат)	КМ- β -ЦД	40 мМ боратный буфер, pH 9.5 и 7.5 мг·мл ⁻¹ ХС	263
Производные 4-(3-изобутиламино-2-гидроксипропокси)-3-алкоксиметилацетофенона	КМ- β -ЦД	80 мМ Трис-ацетатный буфер, pH 4.7 и 10 мМ ХС	264
Хлорфенирамин, метадон	КМ- β -ЦД	100 мМ фосфорная кислота – триэтанолламин, pH 4.0; 3.5 и 5 мМ ХС	265
Адреналин, норадреналин (1), эфедрин, псевдо-эфедрин (2)	КМ- β -ЦД	1) 20 мМ фосфатный буфер, pH 2.5, 12 мМ 18-краун-6 и 5.2 мг·мл ⁻¹ ХС; 2) 100 мМ NaOH, pH 12.9 и 16; 3.9 мг·мл ⁻¹ ХС; амперометрическое детектирование	266
Селенометионин, селеноцистеин, селеноэтионин	Сульфо- β -ЦД	35 мМ цитратный буфер, pH 7 и 1% ХС	267
Фунгициды	Сульфо- β -ЦД	фосфатный буфер, pH 3.0 или фосфатный буфер, 2 М мочевины, pH 3.0 и 2% ХС	268
Ормелоксифен и его производные	Сульфо- β -ЦД	10 мМ NaH ₂ PO ₄ , pH 3.0 и 2% ХС	269
Производное спиро(2 <i>H</i> -бензофуоро[2,3- <i>a</i>]хинолизин-2,4'-(1' <i>H</i>)пиримидин)-2'-(3' <i>H</i>)-она, <i>цис</i> -аминоинданол	Сульфо- β -ЦД	25 мМ Na ₃ PO ₄ , pH 2.5 и 1.5% ХС, капилляр с покрытием из ПВС; 25 мМ Na ₃ PO ₄ , pH 6.5 и 0.3% ХС	270
Кленбутерол, сальбутамол, тулобутерол	Сульфо- β -ЦД	50 мМ фосфатный буфер, pH 2.24 и 0.25% ХС	271
Никардипин	Сульфо- β -ЦД	20 мМ фосфат триэтанолламмония, pH 3 и 5% ХС	272

Таблица 5 (продолжение).

Соединения	ЦД	Фоновый электролит, метод детектирования ^а	Ссылки
Вориконазол	СБЭ-β-ЦД	50 мМ NaH ₂ PO ₄ , pH 7.0 и 1 мМ ХС	273
Флобуфен	ГТМ-β-ЦД	87.5 мМ ацетатный буфер, pH 5.5, 10% метанола и 30 мМ ХС	274
Диметинден	ГТМ-β-ЦД	100 мМ фосфорная кислота – триэтанолламин, pH = 3.0 и 150 мг·мл ⁻¹ ХС	275
Напроксен	ГТМ-β-ЦД	25 мМ H ₃ PO ₄ – 25 мМ CH ₃ COOH – 25 мМ H ₃ BO ₃ – NaOH, pH 5.0 и 3 мМ ХС, полиакриламидное покрытие капилляра	276
Пропранолол, мексилетин, лобелин, пропafenон, изопреналин, бупивакаин, верапамил, кетамин	МФК-β-ЦД ^h	40 мМ боратный буфер, pH 9.18 и 2.5 мМ ХС	190
Метилловый эфир 4-(3,4-дифторфенил)-6-метоксиметил-2-оксо-1,2,3,4-тетрагидропиримидин-5-карбоновой кислоты, продукты гидролиза	ЧА-β-ЦД ⁱ	25 мМ Трис-ацетатный буфер, pH 8.3 и 2.5% ХС	277
2-(2,4-Дихлорфенокси)-, 2-(2-метил-4-хлорфенокси)-пропионовые кислоты	ЭК-β-ЦД ^j	45 мМ NaH ₂ PO ₄ , pH 5 и 12 мМ ХС	278
Ди- и трипептиды	β-ЦД, ПМ-β-ЦД, ГДМ-β-ЦД, ГТМ-β-ЦД, ГП-β-ЦД	50 мМ фосфатный буфер, pH 2.5 – 3.5 и 20 мг·мл ⁻¹ ХС	118
3-(3,4-Дигидроксифенил)аланин, 3-(3,4-дигидроксифенил)-2-гидразино-2-метилпропионовая кислота	ГДАС-β-ЦД, КМ-β-ЦД	20 мМ фосфатный буфер, pH 2.5 и 20 мМ ХС	279
1,3,4-Тио-, 1,3,4-селенодиазиновые производные	ГЭ-β-ЦД, ГП-β-ЦД, М-β-ЦД	25 мМ CH ₃ COONH ₄ – 1 М CH ₃ COOH или 25 мМ лимонная кислота – 12 мМ Трис в метаноле, формамиде или смеси формамид : ацетонитрил (1 : 2) и 200 мМ ХС	280
Алкиловые эфиры аминокислот, БОК-, КБЗ-аминокислоты	ГП-β-ЦД, КМ-β-ЦД, СБЭ-β-ЦД	100 мМ фосфорная кислота – триэтанолламин, pH 2.5; 4.0; 5.5; 0 – 30% метанола и 5 – 30 мМ ХС	281
Пропранолол, гидробензоин, атенолол, нефопам, хлорциклизин, 1,1'-бинафтил-2,2'-диилфосфат, тримипрамин, примакин, канадин, пипероксан	Сульфо-β-ЦД, фосфатированный β-ЦД	50 мМ фосфатный буфер, pH 5.0 и 2% ХС	282
Синтетический аргининсодержащий пептид и его производные	СБЭ-β-ЦД + β-ЦД	50 мМ цитратный буфер, pH 2.5 и 20 мМ ХС ₁ + 5 мМ ХС ₂ , капилляр с покрытием из ПВС	283
Сертралин	Сульфо-β-ЦД + ГП-β-ЦД	20 мМ боратный буфер, pH 9.0, 50 мМ хлат натрия, 15 мМ ХС ₁ + 5 мМ ХС ₂	284
Фенопрофен, флурбипрофен, ибупрофен, кетопрофен	Сульфо-β-ЦД + ГТМ-β-ЦД	100 мМ фосфорная кислота – триэтанолламин, pH 2.5 и 2 – 3 мМ ХС ₁ + 10 – 20 мМ ХС ₂	285
Аминоглутетимид	α-ЦД + ГДМ-β-ЦД; α-ЦД + ГТМ-β-ЦД	100 мМ фосфатный буфер, pH 2.5 и 10 – 95% ХС ₁ + 90 – 5% ХС ₂ , общая концентрация ЦД 15 мМ	286
ДНФ-производные аспарагиновой кислоты, аланина, глутамина, гомосерина, пролина, норвалина и глутаминовой кислоты	Сополимер аллил-амин и «2-гидрокси-3-метакрилоил-β-ЦД»	50 мМ ацетатный буфер, pH 4.0 и 4 – 20 мМ ХС	287
2-Фенокси-, 2-(4-хлорфенокси)-, 2-(3-хлорфенокси)-пропионовые кислоты	Трегалозоцистеамин-ГСД ^k	22 мМ Na ₃ PO ₄ , pH 6.0 и 2.5 мМ ХС	288
	Трегалозоцистеамин-ГСД, трегалозо-аммоний-ГСД, трегалозо-β-аланин-амид-ГСД	22 мМ фосфатный буфер, pH 6.0 и 1.50 – 5.00 мМ ХС; 22 мМ боратный буфер, pH 9.5 и 5.00 мМ ХС	289
Продукт реакции гомоцистеина с 4-аминосulьфонил-7-фтор-2,1,3-бензоксадиазолом	γ-ЦД	50 мМ Na ₃ PO ₄ , pH 2.25 и 50 мМ ХС	290
1-Метил-3-фенилпропиламин, 1,2,3,4-тетрагидро-1-нафтиламин	γ-ЦД	50 мМ фосфатный буфер, pH 2.0, 10 мМ 18-краун-6 и 40 мМ ХС	291

Таблица 5 (окончание).

Соединения	ЦД	Фоновый электролит, метод детектирования ^а	Ссылки
Тиомочевины (продукты реакции изотиоцианатов с аминокислотами)	γ-ЦД	100 мМ боратный буфер, pH 9.4, 30 мМ ДДСН и 10 мМ ХС; ФД	292
1-Аминоиндан, β-блокаторы, бупивакаин, бупропион, хлорфедианол, 4-хлорамфетамин, хлорфенирамин, эпинефрин, изопротеренол, кетамин, метапротеренол, метоксифенамин, 1-(1-нафтил)этиламин, оксифенцикламин, фенилпропаноламин, пипероксан, пропafenон, тербуталин, тетрагидропаверолин, тетрагидрозолин, толперизон, тригексифенидил	ОДАС-γ-ЦД ¹	25 мМ H ₃ PO ₄ , 12.5 мМ NaOH, CH ₃ OH и 2.5–30 мМ ХС	293
Алкиларилфосфаты	ОДАС-γ-ЦД ¹	25 мМ MES, 12.5 мМ NaOH, 0–10% метанола и 5–20 мМ ХС	294
Униконазол, диниконазол	КМ-γ-ЦД	50 мМ фосфатный буфер, pH 6.5 и 5 мМ ХС	295
Эфедрин и амфетамин, дериватизированные 4-фтор-7-нитробензофуразаном	Сульфо-γ-ЦД	50 мМ фосфатный буфер, pH 7.35, 1.5 мМ ДДСН и 10 мМ ХС; ФД	296
Прометазин, этопропазин, тимепразин, триоридазин	β-ЦД, ГП-β-ЦД, γ-ЦД	40 мМ фосфатный буфер, pH 3.0 и 0.02–3.0 мМ ХС ₁ или 0.4–6.0 мМ ХС ₂ или 2.5–6.0 мМ ХС ₃	297
Ацебутолол, бепридил, клоперастин, диперодон, дизопирамид, доксиламин, гомохлорциклizin, гидроксизин, кетамин, оксифеноний бромид, фенирамин, пропиомазин	КМ-β-ЦД, КМ-γ-ЦД	100 мМ фосфатный или боратный буфер, pH 6, 7, 8 и 2.5% ХС	298
Полихлорбифенилы	КМ-γ-ЦД, β-ЦД, ПМ-β-ЦД	50 мМ MES, pH 6.5, 2 М мочевины и 20 мМ ХС ₁ + 10 мМ ХС ₂ или 20 мМ ХС ₁ + 20 мМ ХС ₃	299
26 Лекарственных препаратов и их синтетических интермедиатов	СБЭ-β-ЦД + γ-ЦД + ГДМ-β-ЦД	50 мМ NaH ₂ PO ₄ , pH 2.5 и 5% ХС ₁ + 25 мМ ХС ₂ + 25 мМ ХС ₃	300

^а Метод не указан, если использовался УФ-детектор; ^б ХС — хиральный селектор; ^с MES — 2-морфолиноэтансульфоновая кислота; ^д ФД — флуоресцентное детектирование; ^е МС — масс-спектрометрия; ^г ГДМ — гептакис(2,6-ди-*O*-метил); ^з ГДМК — гептакис(2-*N,N*-диметилкарбамоил); ^и МФК — моно-3-*O*-фенилкарбамоил; ¹ ЧА — четвертичная аммониевая соль; ² ЭК — этилкарбонат; ³ ГСД — гемисферодекстрин; ¹ ОДАС — октакис(2,3-диацетил-6-сульфо).

Таблица 6. Применение энантиоселективных разделений с использованием циклодекстринов в анализе реальных образцов методом КЭ.

Соединение	Образец	ЦД	Фоновый электролит, метод детектирования ^а	Ссылки
Эпимеры амигдалина	Китайские травяные сборы	α-ЦД	20 мМ Трис – HCl, pH 9.0, 80 мМ дезоксихолат натрия и 25 мМ α-ЦД	301
ЦБИ-баклофен	Плазма	α-ЦД	50 мМ боратный буфер, pH 9.5 и 7 мМ ХС; ФД	302
Роглетимид	Сыворотка	α-ЦД	10 мМ NaH ₂ PO ₄ –5 мМ Na ₂ B ₄ O ₇ , pH 2.5, 0.03 мМ ГТАБ ^б и 60 мМ ХС	303
ЦБИ-аспарагиновая кислота	Мозг крыс	β-ЦД	50 мМ боратный буфер, pH 9.0, 50 мМ ДДСН, 15% метанола и 20 мМ ХС; ФД	304
ЦБИ-производные селенометионина и селеноэтионина	Коммерческий препарат L-SeMet	β-ЦД	30 мМ NaH ₂ PO ₄ –10 мМ H ₃ BO ₃ , pH 7, 50 мМ ДДСН, 50 мМ тауродезоксихолевая кислота и 20 мМ β-ЦД	213
Метадон, кокаин, амфетамин и его 3,4-метилendioкси-производные	Героин	β-ЦД	100 мМ K ₃ PO ₄ , pH 3.23 и 20 мМ ХС	305
Молочная кислота	Пищевые продукты	ГП-β-ЦД	90 мМ фосфатный буфер, pH 6.0 и 240 мМ ХС	306
	Биологические жидкости	ГП-β-ЦД	200 мМ фосфатный буфер, pH 6.0 и 413 мМ ХС, полиакриламидное покрытие капилляра	307
Тербуталин	Биологическая жидкость	ГП-β-ЦД	50 мМ фосфатный буфер, pH 2.5 и 10 мМ ХС	308
Метилфенидат	Коммерческие образцы	ГДМ-β-ЦД	100 мМ H ₃ PO ₄ –триэтанолламин, pH 3.0 и 15 мМ ХС	255

Таблица 6 (окончание).

Соединение	Образец	ЦД	Фоновый электролит, метод детектирования ^а	Ссылки
Эфедрин, пропранолол, адреналин, фенилаланин	Спинномозговая жидкость, фарм. препараты Grixex и Nurofen	КМ-β-ЦД	20 мМ Na ₂ B ₄ O ₇ , рН 7.5 и 20 мМ ХС	309
Амфетамин, метамфетамин	Биологические жидкости	КМ-β-ЦД	100 мМ фосфатный буфер, рН 2.5 и 10 мМ ХС	310
Метапролол, его метаболит, О-десметилметапролол	То же	КМ-β-ЦД	100 мМ ацетатный буфер, рН 4.0, 5% пропан-2-ола и 10 мМ ХС	311
Альбендазол сульфоксид	Спинномозговая жидкость	Сульфо-β-ЦД	20 мМ Трис, рН 7.0 и 3% ХС	312
Атропин	Офтальмологический раствор	Сульфо-β-ЦД	55 мМ фосфатный буфер, рН 7 и 2.9 мМ ХС	313
Офлоксацин	Биологические жидкости	Сульфо-β-ЦД	50 мМ фосфатный буфер, рН 2.5 и 0.35 мМ ХС	314
Празиквантел, транс-4-гидроксиразиквантел	Плазма	Сульфо-β-ЦД	20 мМ боратный буфер, рН 10, 20 мМ дезоксихолат натрия и 2% ХС	315
Дизопирамид, моно-N-дез-алкилдизопирамид	»	Сульфо-β-ЦД	20 мМ ацетатный буфер, рН 5.0 и 0.2% ХС	316
Этиклоприд, сульпирид	Сыворотка	Сульфо-β-ЦД	20 мМ цитратный буфер, рН 2.90 и 2% ХС	317
Офлоксацин, десметилофлоксацин, офлоксацин-N-оксид	Биологические жидкости	СБЭ-β-ЦД	100 мМ фосфатный буфер – триэтиламин, рН 2.0 и 0.65 мг · мл ⁻¹ ХС; ФД	318
Трамадол, его метаболиты	Плазма	СБЭ-β-ЦД	40 мМ ацетат аммония, рН 4.0 и 2.5 мг · мл ⁻¹ ХС; капилляр с покрытием из ПВС; КЭ-МС	319
Венлафаксин, его метаболит	Клинические образцы	Фосфатированный γ-ЦД	50 мМ фосфатный буфер, рН 2.5 и 20 мг · мл ⁻¹ ХС	320
Трамадол	Биологические жидкости	КМ-β-ЦД + М-β-ЦД	50 мМ боратный буфер, рН 10.0 и 40 мг · мл ⁻¹ ХС ₁ + 22.5 мг · мл ⁻¹ ХС ₂ ; ФД	321
Карведилол	Плазма	Сукцинил-β-ЦД + М-α-ЦД	150 мМ фосфатный буфер, рН 3.0 и 7.5 мг · мл ⁻¹ ХС ₁ + 15 мг · мл ⁻¹ ХС ₂ ; ФД	322
Амфетамин, метамфетамин, эфедрин, норэфедрин, их производные (одновременное определение)	Биологические жидкости	β-ЦД + ГДМ-β-ЦД	75 мМ Трис – Н ₃ РО ₄ , рН 2.5 и 3 мМ ХС ₁ + 10 мМ ХС ₂	323
Диастереомеры флаванон-7-О-глюкозидов	Лимонный сок	γ-ЦД	200 мМ боратный буфер, рН 10.0 и 5 мМ ХС	324
Веститон, медикарпин (одновременное определение)	Экстракты транс-генных растений	ГП-β-ЦД + ГП-γ-ЦД	25 мМ боратный буфер, рН 10.0, 10% метанола и 2 мМ ХС ₁ + 20 мМ ХС ₂	325

^а Метод не указан, если использовался УФ-детектор; ^б ГТАБ — гексадецилтриметиламмоний бромид.

полезно сравнить возможности хиральных разделений в капиллярной газовой, высокоэффективной жидкостной хроматографии, капиллярной электрохроматографии и капиллярном электрофорезе и обсудить перспективы использования хиральных фаз на основе ЦД.

Наиболее широкое применение находит высокоэффективная жидкостная хроматография. Для разделения энантиомеров используют различные ЦД и их производные, как полярные, так и гидрофобные. Преимущества ВЭЖХ обусловлены наличием коммерческих колонок, их высокой селективностью и достаточно хорошей эффективностью, разнообразием и высокой чувствительностью детекторов, хорошей воспроизводимостью результатов, большим коли-

чеством литературных данных о разделении энантиомеров различной природы.

Капиллярная газовая хроматография с циклодекстриновыми фазами используется реже, что связано с технологическими проблемами производства колонок, но число используемых ЦД, как и в жидкостной хроматографии, достаточно велико. Этот метод позволяет разделять энантиомеры с точкой кипения не выше 260°C. В отличие от ВЭЖХ метод газовой хроматографии позволяет разделить соединения, не содержащие в своей структуре ароматическое кольцо. Развитие капиллярной газовой хроматографии с ЦД-фазами позволило углубить понимание процессов, ответственных за разделение оптических изомеров. В зависимости

от типа ЦД определяющими могут быть либо образование комплексов включения (β -ЦД и его полярные производные), либо поверхностные взаимодействия — образование водородных связей и π - π -взаимодействия с заместителями в кольце ЦД (γ -ЦД и гидрофобные производные β -ЦД). Доминирование процесса образования водородных связей и π - π -взаимодействий с заместителями в кольце ЦД обеспечивает повышение эффективности хиральных разделений, поскольку скорость этих процессов заметно выше, чем скорость образования комплексов включения. Применение подобных селекторов позволяет разделять энантиомеры с близкими термодинамическими характеристиками.

Преимущество капиллярного электрофореза состоит в более высокой эффективности разделения и легкости варьирования природы селектора при добавлении в фоновый электролит различных ЦД. Выбор хиральных селекторов в КЭ ограничен их растворимостью в водных растворах, которые используются в качестве ФЭ. В ряде случаев могут применяться и водно-органические смеси (с ацетонитрилом, метанолом, диметилсульфоксидом). Это основное ограничение при использовании КЭ для разделения оптических изомеров. Отчасти данное затруднение компенсируется легкостью и гибкостью варьирования состава фонового электролита: можно менять селектор, его концентрацию, pH электролита, использовать смешанные хиральные селекторы и вводить специфические ахиральные добавки.

Существенной проблемой капиллярного электрофореза является воспроизводимость результатов. Для ее достижения необходимо каждое следующее разделение проводить со свежим раствором фонового электролита и промывать им капилляр между разделениями. Это ведет к повышенному расходу хирального селектора и увеличению времени анализа.

Еще одной проблемой является детектирование энантиомеров. Чаще всего используют УФ-детектор; сорбаты регистрируют в виде диастереомерных комплексов с хиральным селектором. Вследствие поглощения самого селектора, входящего в состав ФЭ, уменьшается чувствительность определения сорбатов, причем для разных энантиомеров, образующих различные по устойчивости диастереомерные комплексы, она может существенно различаться.

При переходе к капиллярной электрохроматографии техника эксперимента приближается к ВЭЖХ, поэтому можно шире варьировать природу селектора; в результате повышается чувствительность определения и воспроизводимость результатов. Заметно выше становится удерживание сорбатов (увеличивается емкость неподвижной фазы), что повышает селективность разделения. При этом эффективность разделения остается сопоставимой с эффективностью в методе КЭ.

Все сказанное выше подтверждает широкие перспективы развития КЭХ, которая в дальнейшем при проведении хиральных разделений сможет потеснить и КЭ, и ВЭЖХ. Однако необходимым условием для этого является развитие технологии изготовления колонок для КЭХ, повышение стабильности их характеристик, а также доступность различных типов коммерческих колонок.

Литература

1. Э.А.Коржавых. *Фармацевтический мир*, **1**, 20 (1997)
2. С.Алленмарк. *Хроматографическое разделение энантиомеров*. Мир, Москва, 1991
3. IUPAC Reports on Pesticides (37). *Pure Appl. Chem.*, **69**, 2007 (1997)
4. M.Friedman. *J. Agric. Food Chem.*, **47**, 3457 (1999)
5. V.A.Davankov. *Chirality*, **9**, 99 (1997)
6. C.E.Dalgliesh. *J. Chem. Soc.*, 3940 (1952)
7. T.D.Booth, D.Wahnon, I.W.Wainer. *Chirality*, **9**, 96 (1997)
8. Y.Okamoto, E.Yashima. *Angew. Chem., Int. Ed.*, **37**, 1021 (1998)
9. D.W.Armstrong, L.W.Chang, S.C.Chang, X.Wang, H.Ibrahim, G.R.Reid, T.E.Beesley. *J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.*, **20**, 3279 (1997)
10. *Cyclobond Handbook*. Advanced Separation Technologies Inc., USA, 1992
11. D.W.Armstrong, A.M.Stalcup, M.L.Hilton, J.D.Duncan, J.R.Faulkner, S.C.Chang. *Anal. Chem.*, **62**, 1610 (1990)
12. D.W.Armstrong, W.Li. *J. Chromatogr.*, **412**, 43 (1987)
13. И.А.Ананьева, Е.Н.Шаповалова, С.А.Лопатин, О.А.Шпигун, В.П.Варламов, В.А.Даванков. *Вестн. МГУ. Сер. 2. Химия*, **42**, 273 (2001)
14. И.А.Ананьева, Е.Н.Шаповалова, С.А.Лопатин, О.А.Шпигун, В.П.Варламов, В.А.Даванков, Д.В.Армстронг. *Журн. аналит. химии*, **57**, 393 (2002)
15. K.Fujimura, T.Ueda, T.Ando. *Anal. Chem.*, **55**, 446 (1983)
16. D.W.Armstrong, W.De Mond. *J. Chromatogr. Sci.*, **34**, 477 (1996)
17. G.Crini, N.Morin, M.Morcellet. *J. Chromatogr. Sci.*, **37**, 121 (1999)
18. D.W.Armstrong, W.Li, C.D.Chang, J.Pitha. *Anal. Chem.*, **62**, 914 (1990)
19. S.Chang, L.Wang, D.W.Armstrong. *J. Liq. Chromatogr.*, **15**, 1411 (1992)
20. D.W.Armstrong, J.Zukowski. *J. Chromatogr. A*, **666**, 445 (1994)
21. В.А.Даванков. *Журн. Всесоюз. хим. о-ва им. Д.И.Менделеева*, **34**, 377 (1989)
22. S.C.Chang, G.L.Reid, S.Chen, C.D.Chang, D.W.Armstrong. *TRAC Trends Anal. Chem.*, **12**, 144 (1993)
23. D.W.Armstrong. *LC-GC Curr. Issues HPLC Technol.*, **15**, 20 (1997)
24. K.B.Lipkowitz. *J. Chromatogr. A*, **694**, 15 (1995)
25. B.Chankvetadze. *TRAC Trends Anal. Chem.*, **18**, 485 (1999)
26. A.Amini. *Electrophoresis*, **22**, 3107 (2001)
27. G.Gübitz, M.G.Schmid. *Electrophoresis*, **21**, 4112 (2000)
28. T.De Boer, R.A.de Zeeuw, G.J.de Jong, K.Ensing. *Electrophoresis*, **21**, 3220 (2000)
29. R.Vespalec, P.Bocek. *Electrophoresis*, **20**, 2579 (1999)
30. V.Schurig, D.Wistuba. *Electrophoresis*, **20**, 2313 (1999)
31. F.Wang, M.G.Khaledi. *J. Chromatogr. A*, **875**, 277 (2000)
32. J.Ševčík, E.Tesarova, Z.Stransky. *Chem. Listy*, **95**, 139 (2001)
33. S.Wren. *Chromatographia*, **54**, S5 (2001)
34. B.Chankvetadze. *J. Separ. Sci.*, **24**, 691 (2001)
35. B.Chankvetadze, G.Blaschke. *J. Chromatogr. A*, **906**, 309 (2001)
36. В.А.Даванков, Дж.Навратил, Х.Уолтон. *Лигандообменная хроматография*. Мир, Москва, 1989
37. В.А.Даванков, А.А.Курганов, С.В.Рогозин. *Успехи химии*, **43**, 1960 (1974)
38. А.А.Курганов, Т.М.Пономарева, В.А.Даванков. *Докл. АН СССР*, **293**, 623 (1987)
39. S.Fanali. *J. Chromatogr. A*, **875**, 89 (2000)
40. A.Berthod, H.L.Jin, T.E.Beesley, J.D.Duncan, D.W.Armstrong. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **8**, 123 (1990)
41. S.M.Han, Y.I.Han, D.W.Armstrong. *J. Chromatogr. A*, **441**, 376 (1988)
42. E.Schneiderman, A.M.Stalcup. *J. Chromatogr. B*, **745**, 83 (2000)
43. D.W.Armstrong, W.Li. *Chromatography*, **2**, 43 (1987)
44. J.Zukowski, M.Pawlowski, M.Nagatkina, D.W.Armstrong. *J. Chromatogr.*, **629**, 169 (1993)
45. M.W.Matchett, S.K.Branch, T.M.Jefferies. *Chirality*, **8**, 126 (1996)
46. Y.Kudoro, Y.Suzuki, J.Y.He, T.Kawabata, A.Shibukawa, H.Wada, H.Fujima, Y.Go-oh, E.Imai, T.Nakagawa. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, 1749 (1995)
47. J.Szemán, K.Ganzler, A.Salgó, J.Szejtli. *J. Chromatogr. A*, **728**, 423 (1996)
48. C.B.Ching, P.Fu, S.C.Ng, Y.K.Xu. *J. Chromatogr. A*, **898**, 53 (2000)
49. S.C.Ng, L.Chen, L.F.Zhang, C.B.Ching. *Tetrahedron Lett.*, **43**, 677 (2002)
50. C.Pham-Huy, B.Radenen, A.Sahui-Gnassi, J.R.Claude. *J. Chromatogr. B*, **665**, 125 (1995)
51. R.H.Pullen, J.J.Brennan, G.Patonay. *J. Chromatogr. A*, **691**, 187 (1995)
52. T.W.Yao, S.Zeng, H.Q.Ding. *Sepu*, **15**, 316 (1997)

53. C.Roussel, A.Favrou. *J. Chromatogr. A*, **704**, 67 (1995)
54. A.Bielejewska, R.Nowakowski, K.Duszczek, D.Sybilska. *J. Chromatogr. A*, **840**, 159 (1999)
55. R.Nowakowski, A.Bielejewska, K.Duszczek, D.Sybilska. *J. Chromatogr. A*, **782**, 1 (1997)
56. A.Nardi, A.Eliseev, P.Bocek, S.Finali. *J. Chromatogr. A*, **638**, 247 (1993)
57. B.Carlsson, B.Norlander. *Chromatographia*, **53**, 266 (2001)
58. T.Cserháti, E.Forgacs. *J. Chromatogr. A*, **728**, 67 (1996)
59. W.Z.Zhong, M.G.Williams. *J. Chromatogr. A*, **871**, 201 (2000)
60. S.Eto, H.Noda, A.Noda. *J. Chromatogr. B*, **658**, 385 (1994)
61. S.Surapaneni, S.K.W.Khalil. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **14**, 1631 (1996)
62. N.Morin, Y.C.Guillaume, E.Peyrin, J.C.Rouland. *J. Chromatogr. A*, **808**, 51 (1998)
63. N.Morin, Y.C.Guillaume, E.Peyrin, J.C.Rouland. *Anal. Chem.*, **70**, 2819 (1998)
64. N.Morin, Y.C.Guillaume, J.C.Rouland. *Chromatographia*, **48**, 388 (1998)
65. S.M.Shuang, M.M.F.Choi. *J. Chromatogr. A*, **919**, 321 (2001)
66. L.L.Wang, S.J.Lu, P.Gao, H.X.Fu, S.B.Li. *Fenxi Ceshi Xuebao*, **16**, 6 (1997)
67. L.O.Healy, J.P.Murrihy, A.Tan, D.Cocker, M.McEnery, J.D.Glennon. *J. Chromatogr. A*, **924**, 459 (2001)
68. M.Gilar, E.Tesarova, Z.Deyl. *Chem. Listy*, **90**, 461 (1996)
69. H.Kanazawa, Y.Lukin, K.S.Nowinski. *J. Mol. Struct. (THEOCHEM)*, **503**, 221 (2000)
70. E.Ameyibor, J.Stewart. *J. Chromatogr. B*, **703**, 273 (1997)
71. C.Minami, Y.Deng, F.Urano, T.Kaiya, K.Kohda, M.Kawai, M.Naoi. *J. Chromatogr. B*, **702**, 245 (1997)
72. H.Dodziuk, O.Lukin, K.S.Nowinski. *J. Mol. Struct. (THEOCHEM)*, **503**, 221 (2000)
73. C.Pharm-Huy, N.Chikhi-Chorfi, H.Galons, N.Sadeg, X.Laqueille, N.Aymard, F.Massicot, J.-M.Warnet, J.-R.Claude. *J. Chromatogr. B*, **700**, 155 (1997)
74. J.Breinholdt, S.V.Lehmann, A.R.Varming. *Chirality*, **11**, 768 (1999)
75. A.Ceccato, P.Hubert, P.de Tullio, J.-F.Liegeois, A.Felikidis, J.Geczy, J.J.Crommen. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **18**, 605 (1998)
76. M.M.Hefnawy, J.T.Stewart. *Anal. Lett.*, **31**, 659 (1998)
77. P.K.Owens, A.F.Fell, M.W.Coleman, J.C.Berridge. *Chirality*, **9**, 184 (1997)
78. E.Ameyibor, J.T.Stewart. *J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.*, **20**, 3107 (1997)
79. J.Cizmarik, J.Lehotay, K.Hromulakova, M.Pokorna, M.Lacuska. *Pharmazie*, **52**, 402 (1997)
80. T.Wikberg, T.Korkolainen, M.Karlsson. *Chirality*, **8**, 511 (1996)
81. Y.Deng, W.Maruyama, H.Yamamura, M.Kawai, P.Dostert, M.Naoi. *Anal. Chem.*, **68**, 2826 (1996)
82. Y.Deng, W.Maruyama, M.Kawai, P.Dostert, H.Yamamura, T.Takahashi, M.Naoi. *J. Chromatogr. B*, **689**, 313 (1997)
83. S.Surapaneni, S.K.W.Khalil. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **14**, 1631 (1996)
84. J.C.Reepmeyer. *Chirality*, **8**, 11 (1996)
85. S.Piperaki, M.Parissi-Poulou. *J. Chromatogr. A*, **729**, 19 (1996)
86. A.Bielejewska, K.Duszczek, D.Sybilska. *J. Chromatogr. A*, **931**, 81 (2001)
87. I.Clarot, D.Cledat, S.Battu, P.J.P.Cardot. *J. Chromatogr. A*, **903**, 67 (2000)
88. C.Moeder, T.O'Brien, R.Thompson, G.Bicker. *J. Chromatogr. A*, **736**, 1 (1996)
89. Y.C.Guillaume, E.Peyrin, A.Villet, A.Nicolas, C.Guinchard, J.Millet, J.F.Robert. *Chromatographia*, **52**, 753 (2000)
90. T.Araki, S.Tsunoi, M.Tanaka. *Anal. Chim. Acta*, **410**, 37 (2000)
91. J.W.Ryu, D.W.Kim, K.P.Lee, D.Pyo, J.H.Park. *J. Chromatogr. A*, **814**, 247 (1998)
92. A.M.Rizzi, S.Cladrowa-Runge, H.Jonsson, S.Osla. *J. Chromatogr. A*, **710**, 287 (1995)
93. Y.Tang, J.Zukowski, D.W.Armstrong. *J. Chromatogr. A*, **743**, 261 (1996)
94. T.Y.Kim, H.J.Kim. *J. Chromatogr. A*, **933**, 99 (2001)
95. K.Yoshida, T.Nakagama, K.Uchiyama, T.Hobo. *Chromatography*, **19**, 310 (1998)
96. K.L.Williams, L.C.Sander, S.A.Wise. *J. Chromatogr. A*, **746**, 91 (1996)
97. G.Török, A.Péter, A.Gaucher, M.Wakselman, J.P.Mazaleyrat, A.W.Armstrong. *J. Chromatogr. A*, **846**, 83 (1999)
98. Y.Q.Feng, M.J.Xie, S.L.Da. *Anal. Chim. Acta*, **403**, 187 (2000)
99. S.Pérez Méndez, E.Blanco González, M.L.Fernandez Sánchez, A.Sanz-Medel. *J. Anal. At. Spectrom.*, **13**, 893 (1998)
100. J.P.Kullman, X.Chen, D.W.Armstrong. *Chirality*, **11**, 669 (1999)
101. P.Jandera, S.Bunceková, J.Planeta. *J. Chromatogr. A*, **871**, 139 (2000)
102. A.Péter, J.Kaman, F.Fulop, J.Eycken, D.W.Armstrong. *J. Chromatogr. A*, **919**, 79 (2001)
103. A.Jaus, M.Oehme. *J. Chromatogr. A*, **905**, 59 (2001)
104. M.Guillaume, A.Jaulmes, B.Sebille, N.Thuaud, C.Vidal-Madjar. *J. Chromatogr. B*, **753**, 131 (2001)
105. K.Weber, R.Kreusig, M.Bahadir. *Chemosphere*, **35**, 13 (1997)
106. B.Crüner, J.Holub, J.Plesek, T.Vanek, H.Votavova. *J. Chromatogr. A*, **793**, 249 (1998)
107. E.Alvira, J.I.Garcia, J.A.Mayoral. *Chem. Phys.*, **240**, 101 (1999)
108. S.Piperaki, S.G.Penn, D.M.Goodall. *J. Chromatogr. A*, **700**, 59 (1995)
109. S.Piperaki, M.Parissi-Poulou. *J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.*, **19**, 1405 (1996)
110. H.Li, W.Luo, X.M.Hu. *Sepu*, **17**, 403 (1999)
111. H.Li, X.M.Hu, Y.F.Xie. *Sepu*, **16**, 424 (1998)
112. T.Fukushima, K.Murayama, T.Santa, H.Homma, K.Imai. *Biomed. Chromatogr.*, **12**, 1 (1998)
113. K.Lemr, D.Jirovsky, J.Ševčík. *J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.*, **19**, 3173 (1996)
114. F.Sadeghipour, J.L.Veuthey. *Chromatographia*, **47**, 285 (1998)
115. Y.Makino, A.Suzuki, T.Ogawa, O.Shirota. *J. Chromatogr. B*, **729**, 97 (1999)
116. S.A.C.Wren, R.C.Rowe. *J. Chromatogr. A*, **603**, 235 (1992)
117. A.M.Rizzi, L.Kremser. *Electrophoresis*, **20**, 2715 (1999)
118. S.Sabbah, G.K.E.Scriba. *J. Chromatogr. A*, **894**, 267 (2000)
119. A.Guttman, A.Paulus, A.S.Cohen, N.Grinberg, B.L.Karger. *J. Chromatogr. A*, **448**, 41 (1988)
120. J.Snopek, I.Jelinek, E.Smolková-Keulemansova. *J. Chromatogr.*, **438**, 211 (1988)
121. S.Fanali. *J. Chromatogr. A*, **474**, 441 (1989)
122. S.Terabe. *TRAC Trends Anal. Chem.*, **8**, 129 (1989)
123. M.Tanaka, S.Asano, M.Yoshinaga, Y.Kawaguchi, T.Tetsumi, T.Shono. *Fresenius J. Anal. Chem.*, **339**, 63 (1991)
124. M.J.Sepaniak, R.D.Cole, B.K.Clark. *J. Liq. Chromatogr.*, **15**, 1023 (1992)
125. C.L.Copper, J.B.Davis, M.J.Sepaniak. *Chirality*, **7**, 401 (1995)
126. H.Wang, J.L.Gu, H.F.Hu, R.J.Dai, T.H.Ding, R.N.Fu. *Anal. Chim. Acta*, **359**, 39 (1998)
127. A.E.F.Nassar, F.J.Guarco, D.E.Gran, J.D.Stuart, W.M.Reuter. *J. Chromatogr. Sci.*, **36**, 19 (1998)
128. L.J.Jin, S.F.Y.Li. *J. Chromatogr. B*, **708**, 257 (1998)
129. X.Zhu, B.Lin, U.Epperlein, B.Koppenhoefer. *Chirality*, **11**, 56 (1999)
130. M.Yoshinaga, M.Tanaka. *J. Chromatogr. A*, **679**, 359 (1994)
131. M.Miura, Y.Terashita, K.Funazo, M.Tanaka. *J. Chromatogr. A*, **846**, 359 (1999)
132. J.L.Haynes III, S.A.Shamsi, F.Okeefe, R.Darcey, I.M.Warner. *J. Chromatogr. A*, **803**, 261 (1998)
133. B.C.Lin, X.F.Zhu, U.Epperlein, M.Schwierskott, R.Schlunk, B.Koppenhoefer. *J. High Resolut. Chromatogr.*, **21**, 215 (1998)
134. B.Lin, X.Zhu, S.Wuerthner, U.Epperlein, B.Koppenhoefer. *Talanta*, **46**, 743 (1998)
135. B.Koppenhoefer, U.Epperlein, A.Jakob, S.Wuerthner, X.Zhu, B.Lin. *Chirality*, **10**, 548 (1998)
136. X.Zhu, B.Lin, A.Jakob, S.Wuerthner, B.Koppenhoefer. *Electrophoresis*, **20**, 1878 (1999)
137. B.Koppenhoefer, X.Zhu, A.Jacob, S.Wuerthner, B.Lin. *J. Chromatogr. A*, **875**, 135 (2000)

138. B.Chankvetadze, G.Endresz, G.Blaschke. *Electrophoresis*, **15**, 804 (1994)
139. S.A.C.Wren. *Electrophoresis*, **16**, 2127 (1995)
140. R.J.Tait, D.O.Thompson, V.J.Stella, J.F.Stobaugh. *Anal. Chem.*, **66**, 4013 (1994)
141. C.Dette, S.Ebel, S.Terabe. *Electrophoresis*, **15**, 799 (1994)
142. C.Desiderio, S.Fanali. *J. Chromatogr. A*, **716**, 183 (1995)
143. B.Chankvetadze, G.Endresz, D.Bergenthal, G.Blaschke. *J. Chromatogr. A*, **716**, 245 (1995)
144. P.Morin, D.Bellessort, M.Dreux, Y.Troin, J.Gelas. *J. Chromatogr. A*, **796**, 375 (1998)
145. P.Morin, M.Dreux, S.Use, M.C.Viaud, G.Guillaumet. *Electrophoresis*, **20**, 2630 (1999)
146. D.J.Skanchy, G.-H.Xie, R.J.Tait, E.Luna, C.Demarest, J.F.Stobaugh. *Electrophoresis*, **20**, 2638 (1999)
147. E.C.Rickard, R.J.Bopp, D.J.Skanchy, K.L.Chetwyn, B.Pahlen, J.F.Stobaugh. *Chirality*, **8**, 108 (1996)
148. A.M.Stalcup, K.H.Gahm. *Anal. Chem.*, **68**, 1360 (1996)
149. G.Galaverna, R.Corradini, A.Dossena, R.Marchelli, G.Vecchio. *Electrophoresis*, **18**, 905 (1997)
150. G.Galaverna, R.Corradini, A.Dossena, R.Marchelli. *Electrophoresis*, **20**, 2619 (1999)
151. H.Cai, T.V.Nguyen, G.Vigh. *Anal. Chem.*, **70**, 580 (1998)
152. H.Cai, G.Vigh. *J. Microcolumn Sep.*, **10**, 293 (1998)
153. H.Cai, G.Vigh. *J. Chromatogr. A*, **827**, 121 (1998)
154. Z.Aturki, C.Desiderio, L.Mannina, S.Fanali. *J. Chromatogr. A*, **817**, 91 (1998)
155. F.Lelievre, C.Gueit, P.Gareil, Y.Bahaddi, H.Galons. *Electrophoresis*, **18**, 891 (1997)
156. F.O'Keefe, S.A.Shamsi, R.Darcy, P.Schwinte, I.M.Warner. *Anal. Chem.*, **69**, 4773 (1997)
157. Z.Aturki, S.Fanali. *J. Chromatogr. A*, **680**, 137 (1994)
158. H.Nishi, K.Nakamura, H.Nakai, T.Sato. *J. Chromatogr. A*, **678**, 333 (1994)
159. S.Fanali, Z.Aturki. *Electrophoresis*, **16**, 1505 (1995)
160. B.A.Engelse, F.M.Everaerts, C.Desiderio, S.Fanali. *J. Chromatogr. A*, **709**, 89 (1995)
161. B.A.Engelse, F.M.Everaerts, J.Sevcik, Z.Stransky, S.Fanali. *J. High Resolut. Chromatogr.*, **18**, 348 (1995)
162. P.Gareil, J.P.Gramond, F.Guyon. *J. Chromatogr.*, **615**, 317 (1993)
163. M.E.Hadwiger, S.R.Torchia, S.Park, M.E.Biggin, C.E.Lunte. *J. Chromatogr. B*, **681**, 241 (1996)
164. K.D.Altria, D.M.Goodall, M.M.Rogan. *Chromatographia*, **34**, 19 (1992)
165. E.Francotte, S.Cherkaoui, M.Faupel. *Chirality*, **5**, 516 (1993)
166. W.Schutznier, S.Fanali. *Electrophoresis*, **13**, 687 (1992)
167. R.Kuhn, F.Stoecklin, F.Erni. *Chromatographia*, **33**, 32 (1992)
168. A.Shibukawa, D.K.Lloyd, I.W.Wainer. *Chromatographia*, **35**, 419 (1993)
169. M.Heuermann, G.Blaschke. *J. Chromatogr.*, **648**, 267 (1993)
170. I.E.Valko, H.A.H.Billiet, J.Frank, K.C.A.M.Luyben. *Chromatographia*, **38**, 730 (1994)
171. W.Lindner, B.Bohs, V.Seidel. *J. Chromatogr. A*, **697**, 549 (1995)
172. I.Bechet, P.Paques, M.Fillet, P.Hubert, J.Crommen. *Electrophoresis*, **15**, 818 (1994)
173. P.Sun, G.E.Barker, G.J.Mariano, R.A.Hartwick. *Electrophoresis*, **15**, 793 (1994)
174. J.Snopek, H.Soini, M.Novotny, E.Smolikova-Keulemansova, I.Jelinek. *J. Chromatogr. A*, **559**, 215 (1991)
175. D.Belder, G.Schomburg. *J. Chromatogr. A*, **666**, 351 (1994)
176. C.Y.Quang, M.G.Khaledi. *J. Chromatogr. A*, **692**, 253 (1995)
177. O.Stalberg, H.Brotell, D.Westerlund. *Chromatographia*, **40**, 697 (1995)
178. Y.Y.Dong, Y.L.Sun, Z.P.Sun. *J. High Resolut. Chromatogr.*, **21**, 445 (1998)
179. W.X.Huang, S.D.Fazio, R.V.Vivilecchia. *J. Chromatogr. A*, **781**, 129 (1997)
180. D.W.Armstrong, L.W.Chang, S.S.C.Chang. *J. Chromatogr. A*, **793**, 115 (1998)
181. M.G.Schmid, K.Wirnsberger, T.Jira, A.Bunke, G.Gubitz. *Chirality*, **9**, 153 (1997)
182. T.Jira, A.Bunke, A.Karbaum. *J. Chromatogr. A*, **798**, 281 (1998)
183. S.Fanali. *J. Chromatogr. A*, **545**, 437 (1991)
184. B.Chankvetadze, G.Endresz, G.Blaschke. *J. Chromatogr. A*, **700**, 43 (1995)
185. S.A.C.Wren, R.C.Rowe. *J. Chromatogr. A*, **609**, 363 (1992)
186. M.M.Rogan, K.D.Altria, D.M.Goodall. *Chromatographia*, **38**, 723 (1994)
187. H.Nishi, Y.Kokusenia, T.Miyamoto, T.Sato. *J. Chromatogr. A*, **659**, 449 (1994)
188. E.Szöko, K.Magyar. *J. Chromatogr. A*, **709**, 157 (1995)
189. J.Ren, H.Liu. *J. Chromatogr. A*, **732**, 175 (1996)
190. G.Li, X.Lin, C.Zhu, A.Hao, Y.Guan. *Anal. Chim. Acta*, **421**, 27 (2000)
191. L.Y.Tang, C.E.Silverman, J.A.Blackwell. *J. Chromatogr. A*, **829**, 301 (1998)
192. B.A.Williams, G.Vigh. *J. Chromatogr. A*, **777**, 295 (1997)
193. H.Nishi, T.Fukuyama, S.Terabe. *J. Chromatogr. A*, **553**, 503 (1991)
194. T.Ueda, F.Kitamura, R.Mitchell, T.Metcalf, T.Kuwana, A.Nakamoto. *Anal. Chem.*, **63**, 2979 (1991)
195. H.Wan, P.E.Andersson, A.Engstrom, L.G.Blomberg. *J. Chromatogr. A*, **704**, 179 (1995)
196. H.Wan, A.Engström, L.G.Blomberg. *J. Chromatogr. A*, **731**, 283 (1996)
197. U.B.Nair, K.L.Rundlett, D.W.Armstrong. *J. Liq. Chromatogr.*, **20**, 203 (1997)
198. H.Siren, J.H.Jumppanen, K.Manninen, M.L.Riekkola. *Electrophoresis*, **15**, 779 (1994)
199. R.Furuta, T.Doi. *J. Chromatogr. A*, **676**, 431 (1994)
200. R.Furuta, T.Doi. *Electrophoresis*, **15**, 1322 (1994)
201. M.Gilar, M.Uhrova, E.Tesarova. *J. Chromatogr. B*, **681**, 133 (1996)
202. J.Prunonosa, R.Obach, A.Diez-Coscon, L.Gouesclou. *J. Chromatogr., Biomed.*, **574**, 127 (1992)
203. C.Desiderio, S.Fanali, A.Kupfer, W.Thormann. *Electrophoresis*, **15**, 87 (1994)
204. H.Wan, L.G.Blomberg. *J. Chromatogr. A*, **758**, 303 (1997)
205. H.Wan, L.G.Blomberg. *J. Chromatogr. A*, **792**, 393 (1997)
206. P.Schmitt, A.W.Garrison, D.Freitag, A.Kettrup. *J. Chromatogr. A*, **792**, 419 (1997)
207. G.N.Okafu, C.Bintz, S.E.Clarke, P.Camilleri. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **17**, 1189 (1992)
208. G.N.Okafu, P.Camilleri. *J. Microcolumn Sep.*, **5**, 149 (1993)
209. M.Lin, N.Wu, G.E.Barker, P.Sun, C.W.Huie, R.A.Hartwick. *J. Liq. Chromatogr.*, **16**, 3667 (1993)
210. L.-l.Yang, D.-q.Zhang, Z.-b.Yuan. *Anal. Chim. Acta*, **433**, 23 (2001)
211. A.Aumatell, R.J.Wells. *J. Chromatogr. A*, **688**, 329 (1994)
212. H.Nishi. *J. High Resolut. Chromatogr.*, **18**, 659 (1995)
213. S.P.Méndez, E.B.González, A.Sanz-Medel. *Anal. Chim. Acta*, **416**, 1 (2000)
214. H.Ozaki, Y.Tanaka, A.Ichihara, S.Terabe. *J. Chromatogr. A*, **709**, 3 (1995)
215. I.E.Valkó, H.Sirén, M.-L.Riekkola. *J. Chromatogr. A*, **737**, 263 (1996)
216. F.Wang, M.G.Khaledi. *Anal. Chem.*, **68**, 3460 (1996)
217. I.E.Valkó, H.Sirén, M.-L.Riekkola. *Electrophoresis*, **18**, 919 (1997)
218. I.E.Valkó, H.Sirén, M.-L.Riekkola. *Chromatographia*, **43**, 242 (1996)
219. F.Wang, M.G.Khaledi. *J. Chromatogr. B*, **731**, 187 (1999)
220. H.Cai, G.Vigh. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **18**, 615 (1998)
221. J.B.Vincent, G.Vigh. *J. Chromatogr. A*, **816**, 233 (1998)
222. F.Wang, M.G.Khaledi. *J. Chromatogr. A*, **817**, 121 (1998)
223. Y.Li, L.Xie, H.Liu, T.Hua. *Chin. Chem. Lett.*, **10**, 303 (1999)
224. M.Tacker, P.Glukhovskiy, H.Cai, G.Vigh. *Electrophoresis*, **20**, 2794 (1999)
225. M.G.Cikalo, K.D.Bartle, M.M.Robson, P.Myers, M.R.Euerby. *Analyst*, **123**, 87 (1998)
226. Y.L.Deng, J.H.Zhang, T.Tsuda, P.H.Yu, A.A.Boulton, R.M.Cassidy. *Anal. Chem.*, **70**, 4586 (1998)
227. F.Lelièvre, C.Yan, R.N.Zare, P.Gareil. *J. Chromatogr. A*, **723**, 145 (1996)
228. W.Wei, G.A.Luo, R.Xiang, C.Yan. *J. Microcolumn Sep.*, **11**, 263 (1999)

229. M.Lämmerhofer, F.Svec, J.M.J.Fr chet, W.Lindner. *TRAC Trends Anal. Chem.*, **19**, 676 (2000)
230. S.Mayer, V.Schurig. *J. High Resolut. Chromatogr.*, **15**, 129 (1992)
231. S.Mayer, V.Schurig. *J. Liq. Chromatogr.*, **16**, 915 (1993)
232. V.Schurig, S.Mayer. *J. Biochem. Biophys. Methods*, **48**, 117 (2001)
233. S.Li, D.K.Lloyd. *J. Chromatogr. A*, **666**, 321 (1994)
234. D.Wistuba, H.Czesla, M.Roeder, V.Schurig. *J. Chromatogr. A*, **815**, 183 (1998)
235. D.Wistuba, V.Schurig. *Electrophoresis*, **20**, 2779 (1999)
236. T.Koide, K.Ueno. *Anal. Sci.*, **14**, 1021 (1998)
237. T.Koide, K.Ueno. *Anal. Sci.*, **15**, 791 (1999)
238. T.Koide, K.Ueno. *J. High Resolut. Chromatogr.*, **23**, 59 (2000)
239. S.Fanali, M.Cristalli, R.Vespalec, P.Bocek. In *Advances in Electrophoresis*. (Eds A.Chrambach, M.J.Dunn, B.J.Radola). VCH, Weinheim; New York, 1994. P. 1
240. H.Nishi, S.Terabe. *J. Chromatogr. A*, **694**, 245 (1995)
241. S.Fanali. *J. Chromatogr. A*, **735**, 77 (1996)
242. S.Fanali. *J. Chromatogr. A*, **792**, 227 (1997)
243. H.Nishi. *J. Chromatogr. A*, **735**, 57 (1996)
244. A.Aumatell. In *Handbook of Capillary Electrophoresis Applications*. (Eds H.Shintani, J.Polonsky). Blackie Academic and Professional, London, 1997. P. 345
245. S.Zaugg, W.Thormann. *J. Chromatogr. A*, **875**, 27 (2000)
246. G.Blaschke, B.Chankvetadze. *J. Chromatogr. A*, **875**, 3 (2000)
247. H.Wan, L.G.Blomberg. *J. Chromatogr. A*, **875**, 43 (2000)
248. P.D zygiel, E.Rudzi nska, P.Wieczorek, P.Kafarski. *J. Chromatogr. A*, **895**, 301 (2000)
249. J.Martin, A.Deagostino, C.Perrio, F.Dauphin, C.Ducandas, C.C.Morin, P.-L.Desb ne, M.C.Lasne. *Bioorg. Med. Chem.*, **8**, 591 (2000)
250. X.Lin, G.Li, W.Jiang, Y.Chu, P.Wu, G.Yafeng. *Anal. Chim. Acta*, **431**, 41 (2001)
251. B.Chankvetadze, N.Burjanadze, G.Pintore, D.Bergenthal, K.Bergander, C.M hlenbrock, J.Breitkreuz, G.Blaschke. *J. Chromatogr. A*, **875**, 471 (2000)
252. R.Y.Wang, X.N.Lu, M.J.Wu. *J. Separ. Sci.*, **24**, 658 (2001)
253. C.Sim , A.Gallardo, J.San Rom n, C.Barbas, A.Cifuentes. *J. Chromatogr. B*, **767**, 35 (2002)
254. X.Lu, Y.Chen. *J. Chromatogr. A*, **955**, 133 (2002)
255. O.M.Denk, D.G.Watson, G.G.Skellern. *J. Chromatogr. B*, **761**, 61 (2001)
256. S.Grard, Ph.Morin, M.Dreux, J.P.Ribet. *J. Chromatogr. A*, **926**, 3 (2001)
257. A.G mez-Gomar, E.Ortega, C.Calvet, R.Merc , J.Frigola. *J. Chromatogr. A*, **950**, 257 (2002)
258. N.Pizarro, R.de la Torre, M.Farr , J.Segura, A.Llebaria, J.Joglar. *Bioorg. Med. Chem.*, **10**, 1085 (2002)
259. M.Wedig, M.Thunhorst, S.Laug, M.Decker, J.Lehmann, U.Holzgrabe. *Fresenius J. Anal. Chem.*, **371**, 212 (2001)
260. K.Stromgaard, I.Bjornsdottir, K.Andersen, M.J.Brierley, S.Rizoli, N.Eldursi, I.R.Mellor, P.N.R.Usherwood, S.H.Hansen, P.Krogsgaardlarsen, J.W.Jaroszewski. *Chirality*, **12**, 93 (2000)
261. T.Koide, K.Ueno. *J. Chromatogr. A*, **923**, 229 (2001)
262. T.Christians, U.Holzgrabe. *J. Chromatogr. A*, **911**, 249 (2001)
263. E.Holder, G.Schoetz, V.Schurig, E.Lindner. *Tetrahedron: Asymmetry*, **12**, 2289 (2001)
264. B.Proksa, R. izm rikov . *Anal. Chim. Acta*, **434**, 75 (2001)
265. M.Wind, P.Hoffmann, H.Wagner, W.Thormann. *J. Chromatogr. A*, **895**, 51 (2000)
266. M.A.Schwarz, P.C.Hauser. *J. Chromatogr. A*, **928**, 225 (2001)
267. K.L.Sutton, R.M.C.Sutton, A.M.Stalcup, J.A.Caruso. *Analyst*, **125**, 231 (2000)
268. Y.S.Wu, H.K.Lee, S.F.Y.Li. *J. Chromatogr. A*, **912**, 171 (2001)
269. A.B.Bergholdt, K.W.J rgensen, L.Wendel, S.V.Lehmann. *J. Chromatogr. A*, **875**, 403 (2000)
270. L.Zhou, B.D.Johnson, C.Miller, J.M.Wyvratt. *J. Chromatogr. A*, **875**, 389 (2000)
271. J.Vela, E.G.Yanes, A.M.Stalcup. *Fresenius J. Anal. Chem.*, **369**, 212 (2001)
272. R.Pomponio, R.Gotti, C.Bertucci, V.Cavrini. *Electrophoresis*, **22**, 3243 (2001)
273. P.K.Owens, A.F.Fell, M.W.Coleman, J.C.Berridge. *J. Inclusion Phenom. Macrocycl. Chem.*, **38**, 133 (2000)
274. A.Lambert, J.-M.Ballon, A.Nicolas. *Pharmaceut. Res.*, **18**, 886 (2001)
275. B.Chankvetadze, G.Pintore, N.Burjanadze, D.Bergenthal, K.Bergander, J.Breitkreuz, C.M hlenbrock, G.Blaschke. *J. Chromatogr. A*, **875**, 455 (2000)
276. M.Cretich, M.Chiari, G.Carrea. *J. Biochem. Biophys. Methods*, **48**, 247 (2001)
277. F.Wang, T.Loughlin, T.Dowling, G.Bicker, J.Wyvratt. *J. Chromatogr. A*, **872**, 279 (2000)
278. O.Zerbinati, F.Trotta, C.Giovannoli. *J. Chromatogr. A*, **875**, 423 (2000)
279. S.Sara , B.Chankvetadze, G.Blaschke. *J. Chromatogr. A*, **875**, 379 (2000)
280. A.Karbaum, T.Jira. *J. Biochem. Biophys. Methods*, **48**, 155 (2001)
281. C.Perrin, M.G.Vargas, Y.van der Heyden, M.Maftouh, D.L.Massart. *J. Chromatogr. A*, **883**, 249 (2000)
282. E.G.Yanes, S.R.Gratz, R.M.C.Sutton, A.M.Stalcup. *Fresenius J. Anal. Chem.*, **369**, 412 (2001)
283. N.Dan, R.Ganesan, K.G.Flood, D.Tsai, V.D.Reif. *J. Chromatogr. A*, **891**, 115 (2000)
284. S.E.Lucangioli, L.G.Hermida, V.P.Tripodi, V.G.Rodriguez, E.E.L pez, P.D.Rouge, C.N.Carducci. *J. Chromatogr. A*, **871**, 207 (2000)
285. A.M.Abushoffa, M.Fillet, P.Hubert, J.Crommen. *J. Chromatogr. A*, **948**, 321 (2002)
286. X.Zhu, Y.Ding, B.Lin, A.Jacob, B.Koppenhoefer. *J. Chromatogr. A*, **888**, 241 (2000)
287. M.Chiari, M.Cretich, G.Crini, L.Janus, M.Morcellet. *J. Chromatogr. A*, **894**, 95 (2000)
288. V.Cucinotta, A.Giuffrida, G.Grasso, G.Maccarrone, G.Vecchio. *J. Chromatogr. A*, **916**, 61 (2001)
289. V.Cucinotta, A.Giuffrida, G.Grasso, G.Maccarrone, A.Mazzaglia, G.Vecchio. *Fresenius J. Anal. Chem.*, **370**, 363 (2001)
290. I.-J.Kim, S.-J.Park, H.-J.Kim. *J. Chromatogr. A*, **877**, 217 (2000)
291. W.X.Huang, H.Xu, S.D.Fazio, R.V.Vivilecchia. *J. Chromatogr. A*, **875**, 361 (2000)
292. I.Rodriguez, L.J.Jin, S.F.Y.Li. *Electrophoresis*, **21**, 211 (2000)
293. W.Zhu, G.Vigh. *J. Chromatogr. A*, **892**, 499 (2000)
294. W.Zhu, F.Wu, F.M.Raushel, G.Vigh. *J. Chromatogr. A*, **895**, 247, (2000)
295. Y.Martin-Biosca, C.Garcia-Ruiz, M.L.Marina. *Electrophoresis*, **21**, 3240 (2000)
296. S.R.Wallenborg, I.S.Lurie, D.W.Arnold, C.G.Bailey. *Electrophoresis*, **21**, 3257 (2000)
297. C.-E.Lin, K.-H.Chen. *J. Chromatogr. A*, **930**, 155 (2001)
298. J.Zukowski, V.D.Biasi, A.Berthod. *J. Chromatogr. A*, **948**, 331 (2002)
299. C.Garcia-Ruiz, Y.Martin-Biosca, A.L.Crego, M.L.Marina. *J. Chromatogr. A*, **910**, 157 (2001)
300. R.Sz cs, I.Caron, K.A.Taylor, S.P.Gee, P.D.Ferguson, M.A.Kelly, J.V.Beaman, A.M.Lipczynski, P.A.Hailey. *J. Microcolumn Sep.*, **12**, 568 (2000)
301. T.Isozaki, Y.Matano, K.Yamamoto, N.Kosaka, T.Tani. *J. Chromatogr. A*, **923**, 249 (2001)
302. M.-T.Chiang, S.Y.Chang, C.-W.Whang. *Electrophoresis*, **22**, 123 (2001)
303. M.M.Hefnawy, J.T.Stewart. *J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.*, **23**, 791 (2000)
304. S.Zhao, Y.Feng, M.H.LeBlanc, Y.-M.Liu. *J. Chromatogr. B*, **762**, 97 (2001)
305. M.Macchia, G.Manetto, C.Mori, C.Papi, N.Di Pietro, V.Salotti, F.Bortolotti, F.Tagliaro. *J. Chromatogr. A*, **924**, 499 (2001)
306. S.Kodama, A.Yamamoto, A.Matsunaga, T.Soga, K.Minoura. *J. Chromatogr. A*, **875**, 371 (2000)
307. L.Saavedra, C.Barbas. *J. Chromatogr. B*, **766**, 235 (2002)
308. M.Roig, R.Berges, R.Ventura, K.D.Fitch, A.R.Morton, J.Segura. *J. Chromatogr. B*, **768**, 315 (2002)
309. W.Maruszak, M.Trojanowicz, M.Margasinska, H.Engelhardt. *J. Chromatogr. A*, **926**, 327 (2001)

310. Y.J.Heo, Y.S.Whang, M.K.In, K.-J.Lee. *J. Chromatogr. B*, **741**, 221 (2000)
311. H.-K.Lim, P.T.Linh, C.-H.Hong, K.-H.Kim, J.-S.Kang. *J. Chromatogr. B*, **755**, 259 (2001)
312. F.O.Paias, V.L.Lanchote, O.M.Takayanagui, P.S.Bonato. *Electrophoresis*, **22**, 3263 (2001)
313. L.Mateus, S.Cherkaoui, P.Christen, J.-L.Veuthey. *J. Chromatogr. A*, **868**, 285 (2000)
314. T.De Boer, R.Mol, R.A.de Zeeuw, G.J.de Jong, K.Ensing. *Electrophoresis*, **22**, 1413 (2001)
315. V.A.P.Jabor, P.S.Bonato. *Electrophoresis*, **22**, 1399 (2001)
316. V.A.P.Jabor, V.L.Lanchote, P.L.Bonato. *Electrophoresis*, **22**, 1406 (2001)
317. X.H.Xu, J.T.Stewart. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **23**, 735 (2000)
318. C.Horstkötter, G.Blaschke. *J. Chromatogr. B*, **754**, 169 (2001)
319. S.Rudaz, S.Cherkaoui, P.Dayer, S.Fanali, J.-L.Veuthey. *J. Chromatogr. A*, **868**, 295 (2000)
320. S.Rudaz, C.Stella, A.E.Balantgorgia, S.Fanali, J.L.Veuthey. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **23**, 107 (2000)
321. U.B.Soetebeer, M.-O.Schierenberg, H.Schulz, P.Andresen, G.Blaschke. *J. Chromatogr. B*, **765**, 3 (2001)
322. F.Behn, S.Michels, S.Läer, G.Blaschke. *J. Chromatogr. B*, **755**, 111 (2001)
323. S.Chinaka, S.Tanaka, N.Takayama, K.Komai, T.Ohshima, K.Ueda. *J. Chromatogr. B*, **749**, 111 (2000)
324. N.Gel-Moreto, R.Streich, R.Galensa. *J. Chromatogr. A*, **925**, 279 (2001)
325. D.J.Allen, J.C.Gray, N.L.Paiva, J.T.Smith. *Electrophoresis*, **21**, 2051 (2000)

THE USE OF CYCLODEXTRINS FOR SEPARATION OF ENANTIOMERS

O.A.Shpigun, I.A.Ananieva, N.Yu.Budanova, E.N.Shapovalova

*Department of Chemistry, M.V.Lomonosov Moscow State University
Leninskie Gory, 119992 Moscow, Russian Federation, Fax +7(095)939-4675*

Data on the use of β -cyclodextrins as chiral selectors in high-performance liquid chromatography and capillary electrophoresis are surveyed. The mechanisms of separation of enantiomers and the factors influencing the separation selectivity and efficiency in various versions of chromatography and capillary electrophoresis are considered. Numerous examples of application of cyclodextrins for separation of optical isomers are given.

Bibliography — 325 references.

Received 24th January 2003