

Для цитирования: Аналитика и контроль. 2018. Т. 22, № 1. С. 51-60

УДК 543.545

DOI: 10.15826/analitika.2018.22.1.004

Разделение энантиомеров тирозина, триптофана и β -блокаторов методом капиллярного электрофореза с участием аминокислотной ионной жидкости 1-бутил-3-метилимидазолий L-пролинат [C₄MIm][L-Pro] в качестве хирального селектора

*Колобова Е.А.¹, Карцова Л.А.², Алопина Е.В.², Смирнова Н.А.²

¹Всероссийский Центр Экстренной и Радиационной Медицины им. А.М. Никифорова, Российская Федерация, 194044, г. Санкт-Петербург, ул. Оптиков, 54

²Санкт-Петербургский государственный университет, Институт химии, Российская Федерация, 198504, г. Санкт-Петербург, Петродворец, Университетский пр., 26

*Адрес для переписки: Колобова Екатерина Алексеевна, E-mail: ekatderyabina@mail.ru

Поступила в редакцию 18 января 2018 г., после доработки – 9 февраля 2018 г..

Работа посвящена синтезу аминокислотной ионной жидкости (ИЖ) 1-бутил-3-метилимидазолий L-пролинат [C₄MIm][L-Pro] и изучению ее возможностей в качестве хирального селектора при разделении энантиомеров аминокислот (триптофан и тирозин) и β -блокаторов (пропранолол и карведилол). Исследованы факторы, влияющие на разрешение стереоизомеров аминокислот в режиме лигандообменного капиллярного электрофореза (ЛОКЭ). Показано, что на разрешение энантиомеров влияют рН фонового электролита, концентрация хелатного комплекса, мольное соотношение «металл : лиганд», природа хирального селектора и металла-комплексообразователя. Значения энантиоселективности разделения, составившие 1.25 для энантиомеров триптофана и 1.17 для энантиомеров тирозина, были достигнуты с использованием фонового электролита, содержащего 50 мМ боратный буфер (рН = 12.2), 20 мМ [C₄MIm][L-Pro], 10 мМ CuSO₄. При разделении энантиомеров карведилола и пропранолола обнаружен синергетический эффект при совместном введении в фоновый электролит (20 мМ NaH₂PO₄, рН = 2.5) двух хиральных селекторов – синтезированной аминокислотной ИЖ [C₄MIm][L-Pro] и (2-гидроксипропил)- β -циклодекстрина. Достигнутые значения факторов разрешения для энантиомеров пропранолола ($R_s = 1.1$) и карведилола ($R_s = 1.6$) позволили определить соотношения энантиомеров действующих веществ в лекарственных препаратах.

Ключевые слова: лигандообменный капиллярный электрофорез, аминокислотные ионные жидкости, хиральный селектор, аминокислоты, β -адреноблокаторы, синергетический эффект, разделение энантиомеров.

For citation: *Analitika i kontrol'* [Analytics and Control], 2018, vol. 22, no. 1, pp. 51-60

DOI: 10.15826/analitika.2018.22.1.004

Separation of amino acids and β -blockers enantiomers by capillary electrophoresis with 1-butyl-3-methylimidazolium L-prolinate [C₄MIm][L-Pro] as a chiral selector

*Kolobova E.A.¹, Kartsova L.A.², Alopina E.V.², Smirnova N.A.²

¹Saint-Petersburg State University, Institute of Chemistry, 26 Universitetskii prospect, St. Petersburg, Petergof, 198504, Russian Federation

²The Nikiforov Russian Center of Emergency and Radiation Medicine, 54 Optikov st., St. Petersburg, 199034, Russian Federation

*Corresponding author: Ekaterina A. Kolobova, E-mail: ekatderyabina@mail.ru

Submitted 18 January 2018, received in revised from 09 February 2018

The current study is devoted to the synthesis of amino acid ionic 1-butyl-3-methylimidazolium L-proline $[C_4MIm][L-Pro]$ liquid and the investigation of its possibilities as a chiral selector for the separation of amino acids (tryptophan and tyrosine) and β -blockers (carvedilol and propranolol) enantiomers. The following factors affecting the resolution of amino acids stereoisomers under ligand exchange capillary electrophoresis were established: background electrolyte pH, concentration of chelate complex, molar ratio of metal and ligand and its nature. The enantioselectivity values of 1.25 for tryptophan enantiomers and 1.17 for tyrosine enantiomers were observed when the background electrolyte consisted of 50 mM borate buffer (pH = 12.2), 20 mM $[C_4MIm][L-Pro]$, and 10 mM $CuSO_4$. The synergetic effect of the synthesized ionic liquid and (2-hydroxypropyl)- β -cyclodextrine when added to the background electrolyte content (20 mM NaH_2PO_4 , pH = 2.5) was discovered during the separation of carvedilol and propranolol enantiomers. The achieved resolution for carvedilol ($R_s = 1.1$) and propranolol ($R_s = 1.6$) enantiomers allowed determining the enantiomers ratio of active ingredients in drug formulations.

Keywords: ligand exchange capillary electrophoresis, amino acid ionic liquids, chiral selector, amino acids, β -blockers, synergetic effect, enantioseparation.

Введение

Одно из важнейших направлений в аналитической химии - разделение энантиомеров биологически активных соединений, определение которых принципиально для органической химии, медицины и фармацевтики. Метод капиллярного электрофореза (**КЭ**) – один из наиболее распространенных для решения этой сложной задачи благодаря высокой эффективности, меньшим требованиям к пробоподготовке и низкой себестоимости по сравнению с высокоэффективной жидкостной хроматографией (**ВЭЖХ**). В качестве хиральных селекторов нашли широкое применение циклодекстрины и их производные, полисахариды, макроциклические антибиотики и полимерные поверхностно-активные соединения [1]. Поиск новых хиральных селекторов, а также их сочетание остается по-прежнему актуальным для хирального разделения с требуемой энантиоселективностью.

Роль хиральных селекторов могут выполнять и ионные жидкости (**ИЖ**). Эти соединения представляют собой органические соли с температурой плавления меньше 100 °С. Физико-химические свойства ИЖ зависят от входящих в их состав ионов (как правило, объемный органический катион, и органический или неорганический анион) [2-4]. ИЖ характеризуются низкой летучестью, высокой проводимостью и термостойкостью, способностью растворять полярные и неполярные соединения, а также соли металлов [4].

Интересные перспективы открываются при использовании ИЖ в методах разделения и концентрирования. Они уже нашли активное применение в различных вариантах пробоподготовки: в сорбционном концентрировании [5] и жидкостно-жидкостной микроэкстракции [6, 7]; в качестве стационарных фаз в газовой [8-11] и жидкостной хроматографии [12-16]. В капиллярном электрофорезе ИЖ применяют с целью динамической [17-18] и ковалентной [19] модификации стенок кварцевого капилляра для предотвращения сорбции основных аналитов, а при концентрациях в фоновом электролите, превышающих критическую концентрацию мицеллообразования (**ККМ**), ионные жидкости вы-

полняют роль псевдостационарной фазы, способствуя разделению нейтральных соединений [20, 21].

Возможность легкого варьирования природы составляющих ИЖ ионов расширяет сферу их применения, в том числе и при разделении энантиомеров. Среди хиральных имидазолиевых ионных жидкостей наибольшее распространение получили аминокислотные, благодаря незначительному поглощению в УФ-области, стабильности, высокой биосовместимости и легкости синтеза [22, 23].

Аминокислотные ионные жидкости с анионами L-Pro и L-Orn ранее испытаны в качестве хиральных селекторов при разделении энантиомеров аминокислот в условиях лигандообменного капиллярного электрофореза (**ЛОКЭ**) [22, 23]. В [22] ИЖ ряда $[C_nMIm][L-Pro]$ ($n = 2, 4, 6, 8$) применяли в качестве хиральных лигандов, координированных с ионами Cu(II) при разделении энантиомеров аминокислот. Большая селективность разделения достигнута при значении pH фонового электролита 4.0. Разделение энантиомеров аминокислот при pH = 4.0, на наш взгляд, – весьма интересный результат, поскольку изoeлектрическая точка L-пролина равна 6.3, и при pH ниже этого значения молекула аминокислоты заряжена положительно, что, казалось бы, должно было затруднить образование устойчивого комплекса с ионами меди(II). Нами высказано предположение, что высокая селективность разделения энантиомеров аминокислот может быть достигнута и при pH фонового электролита более 6.3.

Экспериментальная часть

Реагенты

Соляная кислота («ос.ч.»), гидроксид натрия («ч.д.а.»), дигидрофосфат натрия двухводный («х.ч.»), борная кислота («реахим», «ос.ч.»), хлорид меди (II) двухводный («х.ч.»), «Невареактив», сульфат цинка семиводный («х.ч.»), «Невареактив», 1-бутил-3-метилимидазолий хлорид C_4MImCl («Sigma-Aldrich»), DL-тирозин (Tyr), L-тирозин (L-Tyr), DL-триптофан (Trp), L-триптофан, L-пролин (L-Pro), L-глутаминовая кислота (L-Glu) (\pm)-пропранолол гидрохлорид («Sigma»), (S)-(-)-пропранолол гидрохлорид («Sigma»), (\pm)-карведилол («Sigma»), (S)-(-)-карведилол («Sigma»),

Таблица 1

Условия электрофоретического разделения энантимеров аминокислот и β -блокаторов

Table 1

Electrophoretic conditions for the separation of amino acids and β -blockers enantiomers

Условия	Аминокислоты	β -адреноблокаторы
Фоновый электролит	10 – 100 мМ боратный раствор (рН = 7.0-13), 5-30 мМ [C ₄ MIm][L-Pro], 2.5-15 мМ CuCl ₂ или 10 мМ ZnSO ₄	20 мМ фосфатный (рН = 2.0) буферный раствор с добавкой 5 мМ 2-HP- β -CD и 0 - 5 мМ [C ₄ MIm][L-Pro]
Напряжение	+10-30 кВ	+30 кВ
Температура термоста-тирования капилляра	+30 °С	
Ввод пробы	гидродинамический, 5 с 50 мбар	
Длина волны	210 нм	230 нм

(2-гидроксипропил)- β -циклодекстрин (HP- β -CD) («Sigma-Aldrich»), ионообменная смола Amberlite IRA-400Cl («Sigma»), ацетонитрил («Вектон»), N,N-диметилформамид (ДМФ) («J.T. Baker»).

Анализируемые объекты

«Анаприлин» – медицинский препарат, действующее вещество – пропранолол; «Карведилол зентива» – медицинский препарат, действующее вещество – карведилол.

Оборудование

Электрофоретические эксперименты выполняли на системе капиллярного электрофореза «Caryllary Electrophoresis 7100» («Agilent Technologies», США) с диодно-матричным детектированием. Сбор и обработка данных проводили с использованием программного обеспечения «OpenLab». Разделение осуществляли в кварцевых капиллярах с внешним полиимидным покрытием и эффективной длиной 56 см (полная длина 64.5 см), внутренний диаметр 50 мкм.

Условия электрофоретического разделения

Условия электрофоретических экспериментов представлены в табл. 1. Новый кварцевый капилляр промывали дистиллированной водой, заполняли 2 М раствором NaOH, герметизировали и нагревали в термостате при 90 °С в течение 2 ч. После охлаждения до комнатной температуры капилляр промывали 0.1 М раствором HCl (30 минут) и деионизированной водой (15 минут). В качестве маркера электроосмотического потока (ЭОП) использовали 5 %-ный водный раствор N,N-диметилформамида. Перед началом работы и между экспериментами капилляр промывали дистиллированной водой (5 минут) и фоновым электролитом (5 минут). По окончании работы капилляр 10 минут промывали дистиллированной водой.

Приготовление тестовых и рабочих растворов

Тестовые растворы карведилола и пропранолола с концентрацией 1 мг/мл готовили растворе-

нием точных навесок по 1 мг каждого из анализов в 1 мл смеси ацетонитрил : вода (1 : 3, объемное соотношение) в пробирках типа Эппендорф. Тестовые растворы аминокислот (триптофан, тирозин) с концентрацией 1 мг/мл готовили растворением точных навесок анализов в 0.1 М растворе HCl. Рабочие и градуировочные растворы готовили разбавлением тестовых в необходимое количество раз дистиллированной водой с помощью микрошприца и автоматического дозатора. Тестовые растворы хранили в морозильной камере при –20 °С в течение месяца, а рабочие и градуировочные – в холодильнике при +4-6 °С в течение недели.

Синтез хиральных аминокислотных ионных жидкостей

Синтез 1-бутил-3-метилимидазолий L-пролина [C₄MIm][L-Pro]

Синтез ИЖ выполняли согласно [24]. Первоначально с помощью анионообменной смолы Amberlite IR-400Cl из хлорида 1-бутил-3-метилимидазолия (C₄MImCl) получали гидроксид 1-бутил-3-метилимидазолия [C₄MIm]OH. Водный раствор [C₄MIm]OH при перемешивании добавляли по каплям к водному раствору, содержащему 10-кратный избыток (мольн.) L-пролина, при 0 °С. Затем смесь нагревали до 40 °С и выдерживали 6 ч, осушали методом непрерывной газовой экстракции [25]. Избыток L-пролина осаждали ацетонитрилом. В результате была получена аминокислотная ионная жидкость [C₄MIm][L-Pro] с содержанием воды 3-4 %, которую полностью осушали под вакуумом. Выход составил 98 % моль.

Синтез 1-бутил-3-метилимидазолий L-глутамата [C₄MIm][L-Glu]

Синтез аминокислотной ионной жидкости [C₄MIm][L-Glu] выполняли согласно [26]. Первоначально получали гидроксид 1-бутил-3-метилимидазолия [C₄MIm]OH способом, описанным выше, а затем при 0 °С и при перемешивании добавляли по каплям его водный раствор к водному раствору L-глутаминовой кислоты. Смесь перемешивали

в течение 10 мин при охлаждении и нагревали до 96 °С. Остаточную воду выпаривали при пониженном давлении. Для удаления избытка L-глутаминовой кислоты добавляли ацетонитрил : метанол (4 : 1, объемное соотношение). Образовавшийся осадок отфильтровали. Фильтрат выпаривали, продукт выдерживали в вакуумном эксикаторе в течение двух дней.

Пробоподготовка лекарственных средств

Пробоподготовка лекарственных препаратов заключалась в гомогенизации таблетки с последующим растворением в 5 мл водно-ацетонитрильной смеси (3 : 1, объемное соотношение) и центрифугированием в течение 10 минут при скорости 3000 об/мин; далее отбирали и анализировали надосадочный слой, разбавленный в 1000 раз.

Основные параметры разделения (эффективность, селективность разделения и фактор разрешения) были рассчитаны по следующим формулам:

$$N = 5.54 \cdot \left(\frac{t_R}{w_{0.5}} \right)^2, \quad (1)$$

где N – эффективность (число теоретических тарелок, т.т.), t_R – время миграции аналита (мин), $w_{0.5}$ – ширина пика на полувысоте (мин);

$$\alpha = \frac{t_{R_2} - t_{R_0}}{t_{R_1} - t_{R_0}}, \quad (2)$$

где α – селективность разделения, t_{R_0} – время миграции электроосмотического потока (мин); t_{R_i} – время миграции i -го аналита (мин).

$$R_s = \frac{2 \cdot (t_{R_2} - t_{R_1})}{w_1 + w_2}, \quad (3)$$

где R_s – селективность разделения, t_{R_i} – время миграции i -го аналита (мин), w_i – ширина пика i -го аналита у основания (мин);

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Стратегия электрофоретических экспериментов была следующей:

- выявление возможности разделения энантиомеров аминокислот (тирозина и триптофана) в режи-

- ме ЛОКЭ с применением синтезированной аминокислотной ИЖ в качестве хирального селектора;
- установление факторов (рН фонового электролита, мольного соотношения металл : лиганд, концентрации хелатного комплекса, природы металла-комплексообразователя), влияющих на эффективность и селективность разделения энантиомеров аминокислот методом ЛОКЭ;
- использование смешанных хиральных селекторов для определения энантиомерного состава пропранолола и карведилола в фармацевтических препаратах.

Разделение энантиомеров аминокислот

Разделение аминокислот методом КЭ из-за сорбции аналитов на стенках кварцевого капилляра характеризуется низкой эффективностью. Синтезированная ионная жидкость $[C_4MIm][L-Pro]$, введенная в фоновый электролит (50 мМ боратный буферный раствор, рН = 12.2), за счет положительно заряженной имидазольной группы динамически модифицирует отрицательно заряженные стенки кварцевого капилляра, предотвращая сорбцию аналитов, что приводит к увеличению эффективности в два раза. Другое следствие динамической модификации – снижение скорости ЭОП и, соответственно, увеличение времен миграции аминокислот. Введение солей меди (II) приводило к образованию хелатного комплекса между ИЖ, металлом и энантиомерами аминокислот (рис. 1), обеспечивая разделение последних.

Селективность разделения энантиомеров, в первую очередь, определяется различием устойчивости комплексов «L-аминокислота – Cu (II) – $[C_4MIm][L-Pro]$ » и «D-аминокислота – Cu (II) – $[C_4MIm][L-Pro]$ ». Устойчивость комплекса с L-аминокислотой выше: отсутствуют стерические отталкивания между радикалами L-энантиомера аминокислоты и L-пролината в составе ионной жидкости (рис. 2).

Методом лигандообменного КЭ выявлена зависимость факторов разрешения энантиомеров аминокислот от рН фонового электролита в диапазоне 7.0-13.0 (рис. 3, а). С ростом рН факторы разрешения энантиомеров аминокислот увеличиваются, но при достижении значения рН выше 12.2 для энантиомеров тирозина и 12.7 – для триптофана вновь уменьшаются. При увеличении рН фонового электролита растет эффективный заряд аминокис-

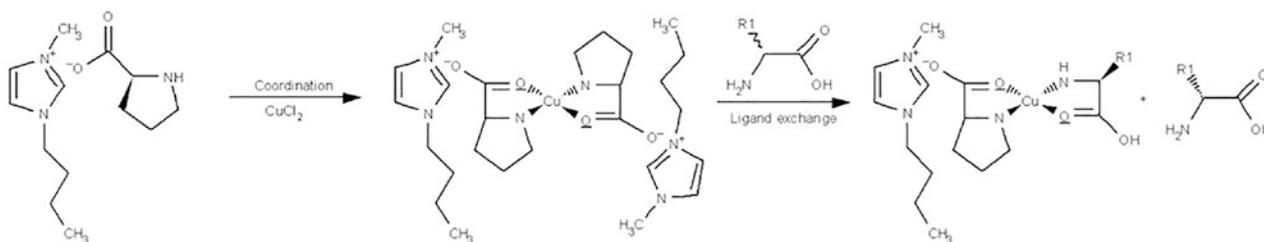


Рис. 1. Механизм разделения энантиомеров аминокислот с участием $[C_4MIm][L-Pro]$ в условиях ЛОКЭ

Fig. 1. Mechanism of amino acids enantiomers separation with $[C_4MIm][L-Pro]$ under ligand exchange capillary electrophoresis

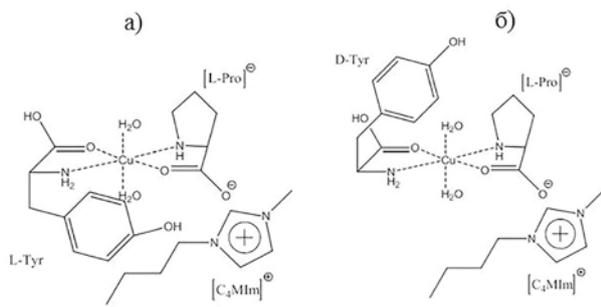


Рис. 2. Предполагаемые структуры комплексов L-Tyr – Cu (II) – [C₄MIm][L-Pro] (а) и D-Tyr – Cu (II) – [C₄MIm][L-Pro] (б)

Fig. 2. Anticipated structures of L-Tyr – Cu (II) – [C₄MIm][L-Pro] (a) and D-Tyr – Cu (II) – [C₄MIm][L-Pro] complexes

лот, что благоприятствует образованию хелатного комплекса. Однако при высоких значениях pH преобладают процессы гидролиза солей меди (II), что снижает селективность разделения энантиомеров в целом. Поэтому фоновый электролит (50 мМ бо-

ратный буферный раствор) с pH = 12.2 выбран для дальнейших экспериментов.

Изучена зависимость факторов разрешения энантиомеров аминокислот от мольного соотношения [C₄MIm][L-Pro] : Cu (II) в фоновом электролите (рис. 3, б). Наибольшие значения достигаются в том случае, когда мольное соотношение металл : лиганд составляет 1 : 2, что согласуется с результатами, полученными в [22]. В водных растворах ионы меди (II) образуют аквакомплексы состава [Cu(H₂O)₆]²⁺ (координационное число 6). Аминокислоты в составе ИЖ могут выступать в качестве бидентантных лигандов, образуя плоские квадратные комплексы с ионами Cu²⁺ в мольном соотношении металл : лиганд = 1 : 2 состава [Cu([C₄MIm][L-Pro])₂(H₂O)₂]²⁺. Вытеснение еще двух молекул воды из внутренней сферы образованного комплекса затруднено отталкиванием радикалов в лигандах. Концентрация комплекса в фоновом электролите тоже существенным образом влияет на селективность разделения энантиомеров аминокислот (рис. 3, в). При увеличении концентрации ИЖ до 20 мМ факторы разре-

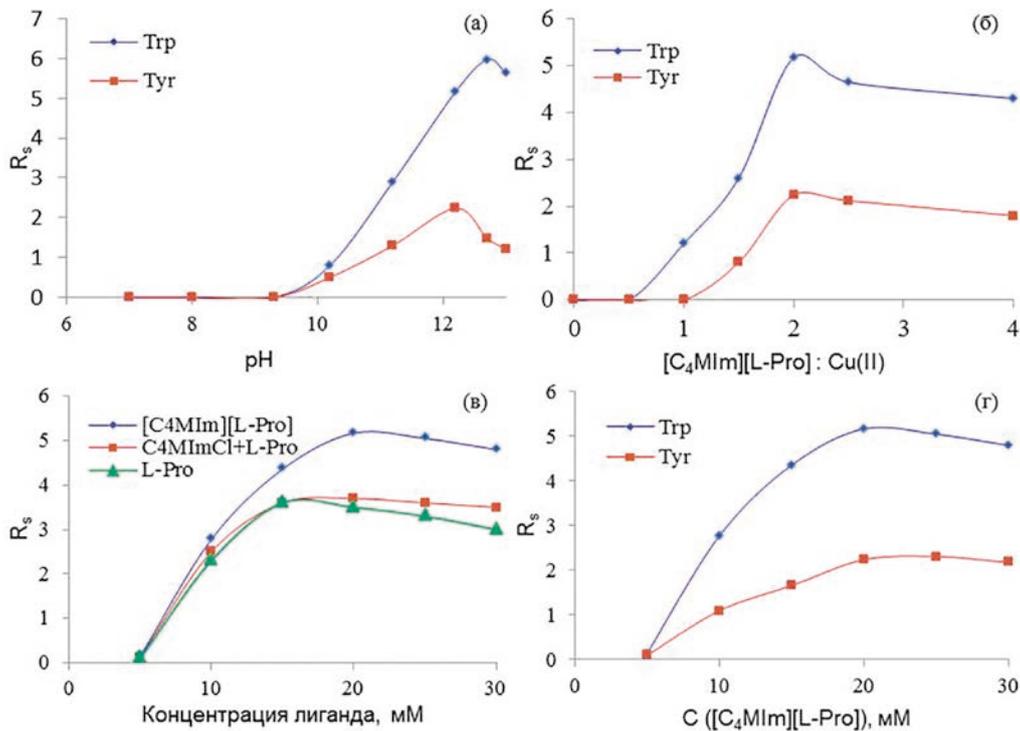


Рис. 3. Зависимость факторов разрешения энантиомеров аминокислот от (а) pH фонового электролита, (б) мольного соотношения металл : лиганд, (в) концентрации хелатного комплекса, (г) природы хирального селектора в условиях ЛОКЭ. Условия: система капиллярного электрофореза «CE-7100», фоновый электролит: (а) 20 мМ [C₄MIm][L-Pro], 10 мМ CuCl₂, 50 мМ H₃BO₃ (доведенный до требуемого значения pH = 0.5 М раствором NaOH); (б) 5-40 мМ CuCl₂, 20 мМ [C₄MIm][L-Pro], 50 мМ боратный буферный раствор, pH = 12.2; (в) 5-30 мМ [C₄MIm][L-Pro], мольное соотношение металл-лиганд = 1 : 2, 50 мМ боратный буферный раствор, pH = 12.2; (г) 20 мМ [C₄MIm][L-Pro] или 20 мМ C₄MImCl и L-Pro, или 20 мМ L-Pro, 10 мМ CuCl₂, 50 мМ боратный буферный раствор, pH = 12.2

Fig. 3. The dependency of amino acids enantiomers resolution on (a) pH of background electrolyte, (б) molar ratio metal: ligand, (в) concentration of chelate complex, (г) nature of chiral selector under LECE. Conditions: Capillary electrophoresis system «CE-7100», background electrolyte: (a) 20 mM [C₄MIm][L-Pro], 10 mM CuCl₂, 50 mM H₃BO₃ (adjusted to desired pH by 0.5 M NaOH); (б) 5-40 mM CuCl₂, 20 mM [C₄MIm][L-Pro], 50 mM borate buffer, pH = 12.2; (в) 5-30 mM [C₄MIm][L-Pro], molar ratio of Cu (II) – ligand is 1 to 2, 50 mM borate buffer, pH = 12.2; (г) 20 mM [C₄MIm][L-Pro] or 20 mM C₄MImCl and L-Pro, or 20 mM L-Pro, 10 mM CuCl₂, 50 mM borate buffer, pH = 12.2

Таблица 2

Значения основных параметров разделения энантиомеров аминокислот в зависимости от природы металла-комплексообразователя ($n = 3, p = 0.95$)

Table 2

Values of the separation parameters of amino acids enantiomers depending on the nature of the metal complexing agent ($n = 3, p = 0.95$)

	t_{R^*} , мин		N , т.т. · 10 ³		α		R_s	
	ZnSO ₄	CuCl ₂	ZnSO ₄	CuCl ₂	ZnSO ₄	CuCl ₂	ZnSO ₄	CuCl ₂
L-Trp	10.2 ± 0.2	10.0 ± 0.2	32.5 ± 0.6	114 ± 1	1.08 ± 0.06	1.25 ± 0.07	1.6 ± 0.2	5.2 ± 0.3
D-Trp	10.6 ± 0.2	10.7 ± 0.2	42.1 ± 0.7	111 ± 1				
L-Tyr	16.8 ± 0.3	17.2 ± 0.3	19.4 ± 0.4	58.1 ± 0.8	1.07 ± 0.06	1.17 ± 0.07	1.3 ± 0.1	2.2 ± 0.2
D-Tyr	17.5 ± 0.4	18.0 ± 0.4	14.7 ± 0.3	32.2 ± 0.6				

шения энантиомеров возрастают и далее практически не меняются.

Согласно теории жестких и мягких кислот и оснований Пирсона, наиболее подходящими металлами-комплексообразователями для лиганда [C₄MIm][L-Pro] являются кислоты средней жесткости (Cu²⁺, Zn²⁺ и Fe²⁺). Сопоставлены результаты, полученные при использовании в качестве металла-комплексообразователя ионов Cu²⁺ и Zn²⁺. Показано, что в случае ионов Cu (II) достигаются более высокие значения селективности разделения по сравнению с ионами Zn (II) (табл. 2). Найденные условия разделения энантиомеров триптофана и тирозина следующие: 50 мМ боратный буфер (pH = 12.2), 20 мМ [C₄MIm][L-Pro], 10 мМ CuSO₄ (рис. 4).

Проведена серия специальных экспериментов, в которых в фоновый электролит в качестве хирального селектора вводили:

- L-пролин (20 мМ);
- смешанную систему: хиральный селектор L-Pro (20 мМ) и ахиральную ионную жидкость 1-бутил-3-метилимидазолий хлорид (C₄MImCl) (20 мМ) (рис. 3, г).

Факторы разрешения энантиомеров аминокислот при наличии бинарной добавки в фоновом электролите оказались выше, чем в присутствии

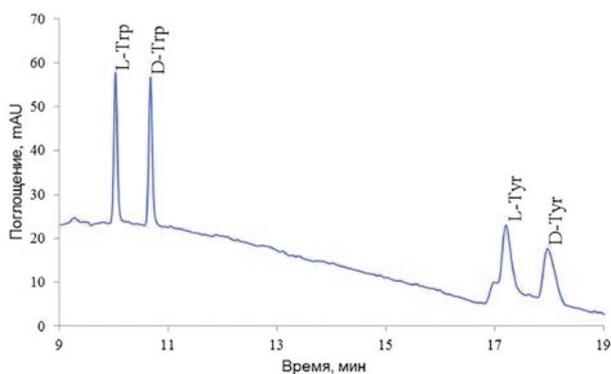


Рис. 4. Электрофореграмма рацемических смесей триптофана и тирозина. Условия: фоновый электролит: 50 мМ боратный буфер (pH = 12.2), 20 мМ [C₄MIm][L-Pro], 10 мМ CuCl₂

Fig. 4. Electropherogram of tryptophan and tyrosine racemic mixtures. Conditions: background electrolyte: 50 mM borate buffer (pH = 12.2), 20 mM [C₄MIm][L-Pro], 10 mM CuCl₂

только L-Pro, однако ниже, чем были достигнуты с применением ИЖ [C₄MIm][L-Pro] (рис. 3, г). Можно предположить, что аминокислотная ионная жидкость выступает не только в качестве хирального селектора, но и динамического модификатора стенок кварцевого капилляра, а дополнительное образование ассоциатов энантиомеров аминокислот с ИЖ способствует повышению селективности разделения энантиомеров. Стабильность комплекса [C₄MIm][L-Pro] – Cu (II) также имеет важное значение при разделении энантиомеров. Замена одной молекулы [C₄MIm][L-Pro] в образующемся комплексе протекает легче, чем замена L-Pro, поэтому и факторы разрешения для [C₄MIm][L-Pro] выше (рис. 3, г). Результаты для ИЖ [C₄MIm][L-Pro] сопоставлены с соответствующими данными для синтезированной аминокислотной ИЖ, содержащей такой же катион, но другой анион - 3-бутил-1-метилимидазолий L-глутамат [C₄MIm][L-Glu]. При pH = 12.2 разделе-

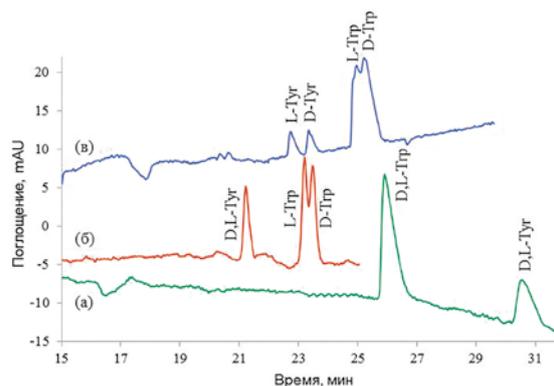


Рис. 5. Электрофореграммы рацемической смеси триптофана и тирозина в условиях ЛОКЭ с участием [C₄MIm][L-Glu]. Условия: фоновый электролит: 20 мМ [C₄MIm][L-Glu], 10 мМ CuCl₂, а) 50 мМ боратный буфер, pH = 12.2; б) 50 мМ фосфатный буфер, pH = 7.0; в) 50 мМ фосфатный буфер, pH = 5.5; λ = 210 нм

Fig. 5. Electropherograms of tryptophan and tyrosine racemic mixture under LECE with [C₄MIm][L-Glu]. Conditions: background electrolyte: 20 mM [C₄MIm][L-Glu], 10 mM CuCl₂, a) 50 mM borate buffer, pH = 12.2; б) 50 mM phosphate buffer, pH = 7.0; в) 50 mM phosphate buffer, pH = 5.5; λ = 210 nm

ние энантиомеров аминокислот при добавлении в фоновый электролит $[C_4MIm][L-Glu]$ не происходит. Интересно, что при pH фонового электролита 7.0 разделяются энантиомеры тирозина ($R_s = 1.61 \pm 0.04$), а при pH = 5.5 стереоизомеры триптофана ($R_s = 0.86 \pm 0.05$) (рис. 5). При pH фонового электролита 12.2 комплекс между медью и L-глутаминовой кислотой существует в виде дианиона $[Cu(L-Glu)_2]^{2-}$ [27], в результате между одноименно заряженными аналитом и комплексом имеет место электростатическое отталкивание. В диапазоне pH от 5 до 7 соответствующий комплекс нейтрален $[Cu(L-Glu)_2]^{0}$; в этих условиях и достигается частичное разделение энантиомеров аминокислот.

Высокие значения факторов разрешения энантиомеров аминокислот в случае $[C_4MIm][L-Pro]$ по сравнению с $[C_4MIm][L-Glu]$ можно объяснить образованием жесткого пятичленного цикла (правило Чугаева) между ионами меди (II) и хиральной ИЖ $[C_4MIm][L-Pro]$, характеризующегося более высокой константой устойчивости (по аналогии с L-Pro и L-Glu).

Разделение энантиомеров β -адреноблокаторов

Известно, что энантиомеры β -адреноблокаторов могут быть разделены с использованием различных хиральных лигандов в условиях ЛОКЭ.

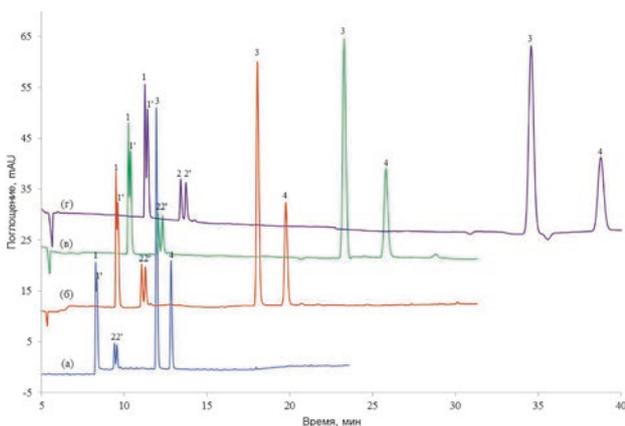


Рис. 6. Электрофореграммы рацемической смеси β -блокаторов и аминокислот при совместном введении в фоновый электролит HP- β -CD и $[C_4MIm][L-Pro]$. Условия: фоновый электролит: 20 мМ раствор NaH_2PO_4 , pH = 2.5, 5 мМ HP- β -CD, (а) 0 мМ $[C_4MIm][L-Pro]$, (б) 1 мМ $[C_4MIm][L-Pro]$, (в) 2.5 мМ $[C_4MIm][L-Pro]$, (г) 5 мМ $[C_4MIm][L-Pro]$. Аналиты: 1 – S(-)-пропранолол, 1' – R(+)-пропранолол, 2 – S(-)-карведилол, 2' – R(+)-карведилол, 3 – D,L-Trp, 4 – D,L-Tyr

Fig. 6. Electropherograms of racemic mixture of β -blockers and amino acids when HP- β -CD and $[C_4MIm][L-Pro]$ are added together to the background electrolyte content. Conditions: BGE: 20 mM NaH_2PO_4 , pH = 2.5, 5 mM HP- β -CD, (a) 0 mM $[C_4MIm][L-Pro]$, (б) 1 mM $[C_4MIm][L-Pro]$, (в) 2.5 mM $[C_4MIm][L-Pro]$, (г) 5 mM $[C_4MIm][L-Pro]$. Analytes: 1 – S(-)-propranolol, 1' – R(+)- propranolol, 2 – S(-)-carvedilol, 2' – R(+)- carvedilol, 3 – D,L-Trp, 4 – D,L-Tyr

Например, в [28] разделяли восемь аминокислот с использованием N-(2-гидроксиэтил)-L-4-гидроксипролина (HO-L-Hyp) в качестве хирального селектора. Установлено, что образование комплекса «HO-L-Hyp - Cu(II) – аналит» происходит при pH выше 12.2. Поэтому нами первоначально были испытаны условия лигандообменного капиллярного электрофореза с участием $[C_4MIm][L-Pro]$ в роли хирального селектора при pH = 12.2 для разделения энантиомеров карведилола и пропранолола. Разделение стереоизомеров в этих условиях не наблюдалось.

Другим подходом явилось применение смешанных хиральных селекторов: β -циклодекстрина и его гидроксипропилпроизводного [29]. Установлено, что добавление $[C_4MIm][L-Pro]$ в состав фонового электролита, содержащего (2-гидроксипропил)- β -циклодекстрин (HP- β -CD), приводит к заметному росту энантиоселективности при разделении энантиомеров пропранолола и карведилола (рис. 6).

Чтобы объяснить полученный результат, были проведены специальные эксперименты с аминокислотой L-Pro (5 мМ) и ахиральной ионной жидкостью C_4MImCl (5 мМ) в качестве второго модификатора (рис. 7). При добавлении L-Pro в фоновый электролит, содержащий (2-гидроксипропил)- β -циклодекстрин разделение энантиомеров β -блокаторов не наблюдалось. Таким образом, данная пара хиральных селекторов оказалась малоэффективной. При использовании ахиральной ИЖ C_4MImCl вместо L-Pro селективность разделения энантиомеров пропранолола и карведилола увеличилась. Такой эффект можно объяснить не только способностью данной ИЖ модифицировать стенки кварцевого капилляра и предотвращать сорбцию основных аналитов, но и п-п взаимодействиями между аналитами и имидазольной группой ИЖ. Дополнительный вклад в увеличение факторов разрешения (R_s) в случае $[C_4MIm][L-Pro]$ вносят водородные связи между энантиомером β -блокатора и анионом

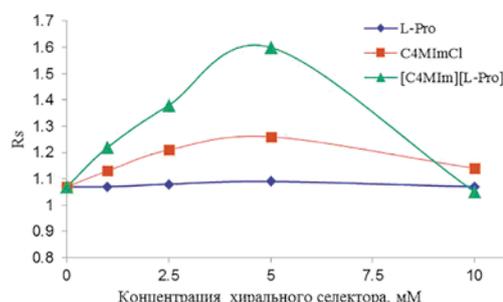


Рис. 7. Зависимость факторов разрешения энантиомеров пропранолола от природы и концентрации хирального селектора в фоновом электролите, содержащем 5 мМ HP- β -CD

Fig. 7. Dependency of propranolol enantiomers resolution on the nature and concentration of chiral selector in BGE containing 5 mM HP- β -CD

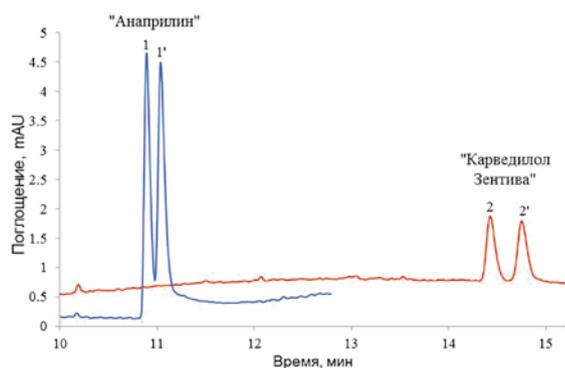


Рис. 8. Электрофореграммы лекарственных средств. Условия: см. рис. 6, 5 мМ [C₄MIm][L-Pro]

Fig. 8. Electropherograms of drugs. Conditions: see Fig. 6, 5 mM [C₄MIm][L-Pro]

ИЖ. Наибольшие значения R_s наблюдались при концентрации 5 мМ [C₄MIm][L-Pro]. О подобном синергетическом эффекте в системах, содержащих одновременно производные β -циклодекстрина и хиральную ИЖ, сообщается в [30, 31]

Определение соотношения энантиомеров действующих веществ в лекарственных препаратах

Достигнутые значения факторов разрешения для пропранолола ($R_s = 1.1$) и карведилола ($R_s = 1.6$) позволили перейти к определению соотношения энантиомеров действующих веществ лекарственных препаратов «Анаприлин» и «Карведилол Зентива». Прецизионность параметров миграции (время, эффективность) в течение дня не превышала 2.3 %, между днями – 3.3 %. Правильность определения – 92-103 %. Градуировочный график линейен в диапазоне 0.5-50 мкг/мл с коэффициентом детерминации $R^2 > 0.99$. Полученное соотношение энантиомеров соответствовало заявленному в инструкции (рис. 8, табл. 3).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Установлено, что на разделение энантиомеров аминокислот в условиях лигандообменного КЭ с участием синтезированной хиральной ИЖ [C₄MIm][L-Pro] влияют рН фонового электролита, концентрация хелатного комплекса, природа металла-ком-

плексообразователя и лиганда, а также их соотношение. Высокие значения факторов разрешения и энантиоселективности были достигнуты в системе, содержащей [C₄MIm][L-Pro] и ионы Cu(II). В случае β -блокаторов такой подход при разделении энантиомеров оказался неэффективным, поэтому использовали сочетание двух хиральных селекторов: производного β -циклодекстрина и аминокислотной ИЖ. При их совместном введении в состав фонового электролита наблюдался синергетический эффект, проявляющийся в увеличении разрешения в 1,5-2 раза. Установленные на модельных системах закономерности были апробированы при определении энантиомерного соотношения действующих веществ в лекарственных средствах.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 16-03-00791-а.

ACKNOWLEDGEMENTS

The current study was supported by RFFI grant № 16-03-00791-a.

ЛИТЕРАТУРА

- Gübitz G., Schmid M.G. Chiral separation by capillary electromigration techniques // J. Chromatogr. A. 2008. V. 1204. P. 140-156.
- Characterization and comparison of hydrophilic and hydrophobic room temperature ionic liquids incorporating the imidazolium cation / J.G. Huddleston [et al.] // Green Chem. 2001. V. 3 P. 156-164.
- Hagiwara R., Ito Y. Room temperature ionic liquids of alkylimidazolium cations and fluoroanions // J. Fluor. Chem. 2000. V. 105. P. 221-227.
- Seddon K.R., Stark A., Torres M.-J. Influence of chloride, water, and organic solvents on the physical properties of ionic liquids // Pure Appl. Chem. 2000. V. 72. P. 2275-2288.
- Expanding the Applicability of poly(ionic liquids) in solid phase microextraction: Pyrrolidinium coatings / D.J.S. Patinha [et al.] // Materials. 2017. V. 10. P. 1094-1106.
- Abdelhamid H.N. Ionic liquids for mass spectrometry: Matrices, separation and microextraction // Trends Anal. Chem. 2016. V. 77. P. 122-138.
- Ionic liquids in the microextraction context / M.J. Trujillo-Rodriguez [et al.] // Analytical microextraction techniques. Cordoba (Spain): Bentham eBooks 2017. P. 70-134.

Таблица 3

Характеристика и результаты анализа лекарственных препаратов

Table 3

Characteristic and results of drug analysis

Препарат	α , R_s	Содержание
«Анаприлин» («Медисорб», Россия) активное вещество – пропранолола гидрохлорид 40 мг	$\alpha = 1.02 \pm 0.01$ $R_s = 1.16 \pm 0.04$	R(+) – 19.2 ± 0.3 мг S (-) – 17.9 ± 0.3 мг
«Карведилол Зентива» («Zentiva», Чешская Республика) действующее вещество – карведилол 25 мг	$\alpha = 1.03 \pm 0.01$ $R_s = 1.86 \pm 0.05$	R(+) – 12.1 ± 0.2 мг S (-) – 11.9 ± 0.2 мг

8. Poole C.F., Poole S.K. Ionic liquid Stationary phases for gas Chromatography // *J. Separ. Sci.* 2011. V. 34. P. 888-900.
9. Preparation and applications of surface-confined ionic-liquid stationary phases for liquid chromatography / M. Zhang [et al.] // *Trends Anal. Chem.* 2014. V. 53 P. 60-72.
10. Shashkov M.V., Sidelnikov V.N. Properties of column with several pyridinium and imidazolium ionic liquid stationary phase // *J. Chromatogr. A.* 2013. V. 1309. P. 56-63.
11. Шашков М.В., Сдельников В.Н. Однокатионные ионные жидкости в качестве высокополярных термостабильных неподвижных фаз для капиллярной хроматографии // *Журнал физической химии.* 2012. Т. 86, № 1. С. 138-141.
12. Ionic liquids as stationary phases for fatty acid analysis by gas chromatography / C. Fanali [et al.] // *Analyst.* 2017. V. 142. P. 4601-4612.
13. Calixarene ionic liquid modified silica gel: A novel stationary phase for mixed-mode chromatography/ K. Hu [et al.]. *Talanta.* 2016. V. 152 P. 392-400.
14. Preparation and evaluation of surface-bonded tricationic ionic liquid silica as stationary phases for high-performance liquid chromatography / L. Qiao [et al.] // *J. Chromatogr. A* 2015 V. 1396. P. 62-71.
15. Shi X., Qiao L., Xu G. Recent development of ionic liquid stationary phases for liquid chromatography // *J. Chromatogr. A.* 2015. V. 1420. P. 1-15.
16. Rapid fabrication of ionic liquid-functionalized monolithic column via in-situ urea-formaldehyde polycondensation for pressurized capillary electrochromatography / J. Wang [et al.] // *J. Chromatogr. A.* 2016. V. 1449. P. 100-108.
17. Колобова Е.А., Карцова Л.А., Бессонова Е.А. Применение ионных жидкостей на основе имидазола для электрофоретического определения аминокислот в моче. // *Журнал аналитической химии.* 2015. Т. 70, № 11. С.1179-1185.
18. Analysis of flavonoids by non-aqueous capillary electrophoresis with 1-ethyl-3-methylimidazolium ionic-liquids as background electrolytes / Y. Lu [et al.] // *J. Chromatogr. A.* 2013. V. 1319. P. 160-165.
19. Он-лайн концентрирование биогенных аминов методом капиллярного электрофореза с использованием синтезированных ковалентных покрытий на основе ионных жидкостей / Е.А. Колобова [и др.] // *Аналитика и контроль.* 2017. Т. 21, № 1. С. 57-64.
20. Бессонова Е.А., Карцова Л.А., Галлямова В.Ф. Влияние ионной жидкости хлорид 3-метил-1-цетилимидазолия на процессы электрофоретического концентрирования стероидных гормонов. // *Журнал аналитической химии.* 2016. Т. 71, № 7. С. 696-702.
21. Rageh A.H., Pyell U. Imidazolium-based ionic liquid-type surfactant as pseudostationary phase in micellar electrokinetic chromatography of highly hydrophilic urinary nucleosides // *J. Chromatogr. A.* 2013. V. 1316. P. 135-146.
22. Amino Acid Ionic Liquids as Chiral Ligands in Ligand-Exchange Chiral Separations / Q. Liu [et al.] // *Chem. Eur. J.* 2009. V. 15. P. 9889-9896.
23. A novel chiral ligand exchange capillary electrophoresis system with amino acid ionic liquid as ligand and its application in screening D-amino-acid oxidase inhibitors / X. Mu [et al.] // *Analyst.* 2012. V. 137. P. 4235-4240.
24. L-Proline based alkylmethylimidazolium ionic liquids [C₂mim][L-Pro]: synthesis and some physicochemical properties of their aqueous solutions // E.V. Alopina [et al.] // *Актуальные вопросы биологической физики и химии.* 2016. №1-2. С. 173-175.
25. Dobryakov Y., Tuma D., Maurer G. Activity Coefficients at Infinite Dilution of Alkanols in the Ionic Liquids 1-Butyl-3-methylimidazolium Hexafluorophosphate, 1-Butyl-3-methylimidazolium Methyl Sulfate, and 1-Hexyl-3-methylimidazolium Bis(trifluoromethylsulfonyl) Amide Using the Dilutor Technique. // *J. Chem. Eng. Data.* 2008. V. 53. P. 2154-2162.
26. Liquid-Liquid Equilibria in Aqueous Mixtures of Alkylmethylimidazolium Glutamate with Potassium Carbonate and Some Physicochemical Properties of Aqueous [C₂mim][Glu] (n = 4, 6, 8) Solutions / E.V. Alopina [et al.] // *J. Chem. Eng. Data.* 2016. V. 61. P. 2013-2019.
27. Structure and Bonding of Cu (II)-Glutamate Complexes at the Y-Al₂O₃-Water Interface / J.P. Fitts [et al.]// *Journal of Colloid and Interface Science.* 1999. V. 220. P. 133-147.
28. Application of ligand-exchange capillary electrophoresis to the chiral separation of α-hydroxy acids and β-blockers / M.G. Schmid [et al.] // *J. Chromatogr. A.* 2000. V. 875. P. 307-314.
29. Gazzy L., Gyéresi Á., Kilár F. A role of Chemical structure in stereoselective recognition of bet-blockers by cyclodextrines in capillary zone electrophoresis // *J. Biochem. Biophys. Methods.* 2008. V. 70. P. 1268-1275.
30. Investigation of synergistic effect with amino acid-derived chiral ionic liquids as additives for enantiomeric separation in capillary electrophoresis / J. Zhang [et al.] // *Journal of Chromatography A.* 2013. V. 1316 P.119-126.
31. Combined Use of Ionic Liquid and Hydroxypropyl-β-Cyclodextrin for the Enantioseparation of Ten Drugs by Capillary Electrophoresis / Y. Cui [et al.]// *Chirality.* 2013 V. 25 P. 409-414.

REFERENCES

1. Gübitz G., Schmid M.G. Chiral separation by capillary electromigration techniques. *J. Chromatogr. A*, 2008, vol. 1204, pp. 140-156. DOI:10.1016/j.chroma.2008.07.071.
2. Huddleston J.G., Visser A.E., Reichert W.M., Willauer H.D., Broker G.A., Rogers R.D. Characterization and comparison of hydrophilic and hydrophobic room temperature ionic liquids incorporating the imidazolium cation. *Green Chemistry*, 2001, vol. 3, pp. 156-164. DOI:10.1039/B103275P.
3. Hagiwara R., Ito Y. Room temperature ionic liquids of alkylimidazolium cations and fluoroanions. *J. Fluor. Chem.*, 2000, vol. 105, no. 2, pp. 221-227. DOI: 10.1016/S0022-1139(99)00267-5.
4. Seddon K.R., Stark A., Torres M.-J. Influence of chloride, water, and organic solvents on the physical properties of ionic liquids. *Pure Appl. Chem.*, 2000, vol. 72, no. 12, pp. 2275-2288, DOI:10.1351/pac200072122275.
5. Patinha D.J.S., Tomé L.C., Isik M., Mecerreyes D., Silvestre A.J.D., Marrucho I.M.. Expanding the Applicability of poly(ionic liquids) in solid phase microextraction: Pyrrolidinium coatings. *Materials*, 2017, vol. 10, no. 9, pp.1094-1106. DOI:10.3390/ma10091094.
6. Abdelhamid H. N. Ionic liquids for mass spectrometry: Matrices, separation and microextraction. *Trends Anal. Chem.* 2016, vol. 77, pp. 122-138. doi:10.1016/j.trac.2015.12.007.
7. Trujillo-Rodriguez M.J., Pino V., Ayala J.H., Afonso A.M. Ionic liquids in the microextraction context. *Analytical microextraction techniques*, Cordoba (Spain), Bentham eBooks, 2017, pp. 70-134. eISBN978-1-68108-379-7.
8. Poole C.F., Poole S.K. Ionic liquid Stationary phases for gas Chromatography. *Journal of Separation Science*, 2011, vol. 34, pp. 888-900. DOI:10.1002/jssc.201000724.
9. Zhang M., Liang X., Jiang S., Qiu H. Preparation and applications of surface-confined ionic-liquid stationary phases for liquid chromatography. *Trends Anal. Chem.* 2014, vol. 53, pp. 60-72. DOI:10.1016/j.trac.2013.09.011.
10. Shashkov M.V., Sidelnikov V.N. Properties of column with several pyridinium and imidazolium ionic liquid stationary

- phase. *J. Chromatogr. A*, 2013, vol. 1309, pp. 56-63. DOI: 10.1016/j.chroma.2013.08.030.
11. Shashkov M.V., Sidelnikov V.N. Single cation ionic liquids as high thermostable liquids stationary phases for capillary chromatography. *Russian journal of physical chemistry A*, 2012, vol. 86, no 1, pp. 138-141. DOI: 10.1134/S0036024412010268.
 12. Fanali C., Micalizzi G., Dugo P., Mondello L. Ionic liquids as stationary phases for fatty acid analysis by gas chromatography. *Analyst*, 2017, vol. 142, pp. 4601-4612. DOI: 10.1039/C7AN01338H.
 13. Hu K., Zhang W., Yang H., Cui Y., Zhang J., Zhao W., Yu A., Zhang Sh. Calixarene ionic liquid modified silica gel: A novel stationary phase for mixed-mode chromatography. *Talanta*, 2016, vol. 152, pp. 392-400. DOI: 10.1016/j.talanta.2016.02.038.
 14. Qiao L., Shi X., Lu X., Xu G. Preparation and evaluation of surface-bonded tricationic ionic liquid silica as stationary phases for high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr. A*, 2015, vol. 1396, pp. 62-71. DOI: 10.1016/j.chroma.2015.03.081.
 15. Shi X., Qiao L., Xu G. Recent development of ionic liquid stationary phases for liquid chromatography. *J. Chromatogr. A*, 2015, vol. 1420, pp. 1-15. DOI: 10.1016/j.chroma.2015.09.090.
 16. Wang J., Wu F., Xia R., Zhao Q., Lin X., Xie Z. Rapid fabrication of ionic liquid-functionalized monolithic column via in-situ urea-formaldehyde polycondensation for pressurized capillary electrochromatography. *J. Chromatogr. A*, 2016, vol. 1449, pp. 100-108. DOI: 10.1016/j.chroma.2016.04.069.
 17. Kolobova E.A., Kartsova L.A., Bessonova E.A. Application of ionic liquids based on imidazole to the electrophoretic determination of amino acids in urine. *Journal of Analytical Chemistry*, 2015, vol.70, no. 11, pp. 1179-1185. DOI: 10.1134/S1061934815110076.
 18. Lu Y., Jia C., Yao Q., Zhong H., Breadmore M.C. Analysis of flavonoids by non-aqueous capillary electrophoresis with 1-ethyl-3-methylimidazolium ionic-liquids as background electrolytes. *J. Chromatogr. A*, 2013, vol. 1319, pp. 160-165. DOI: 10.1016/j.chroma.2013.10.014.
 19. Kolobova E.A., Kartsova L.A., Bessonova E.A., Kravchenko A.V. [On-line concentration of biogenic amines by capillary electrophoresis with usage of synthesized covalent coatings based on ionic liquids]. *'Analitika i kontrol'* [Analytica and Control], 2017, vol. 21, no. 1, pp. 57-64 (in Russian). DOI: 10.15826/analitika.2017.21.1.006.
 20. Bessonova E.A., Kartsova L.A., Gallyamova V.F. Effect of 3-methyl-1-cetylimidazolium chloride ionic liquid on the electrophoretic preconcentration of steroid hormones. *Journal of Analytical Chemistry*, 2016, vol. 71, no. 7, pp. 696-702. DOI:10.1134/S1061934816070042.
 21. Rageh A. H., Pyell U. Imidazolium-based ionic liquid-type surfactant as pseudostationary phase in micellar electrokinetic chromatography of highly hydrophilic urinary nucleosides. *J. Chromatogr. A*, 2013, vol. 1316, pp. 135-146. DOI: 10.1016/j.chroma.2013.09.079.
 22. Liu Q., Wu K., Tang F., Yao L., Yang F., Nie Z., Yao S. Amino Acid Ionic Liquids as Chiral Ligands in Ligand-Exchange Chiral Separations. *Chem. Eur. J.*, 2009, vol. 15, no. 38, pp. 9889-9896. DOI: 10.1002/chem.200900982.
 23. Mu X., Qi L., Shen Y., Zhang H., Qiao J., Ma H. A novel chiral ligand exchange capillary electrophoresis system with amino acid ionic liquid as ligand and its application in screening D-amino-acid oxidase inhibitors. *Analyst*, 2012, vol. 137, no. 18, pp. 4235-4240. DOI: 10.1039/C2AN35753D.
 24. Alopina E.V., Dobryakov Yu. G., Safonova E.A., Smirnova N.A. [L-Proline based alkylmethylimidazolium ionic liquids [C_nmim][L-Pro]: synthesis and some physicochemical properties of their aqueous solutions]. *Aktual'nye voprosy biologicheskoi fiziki i khimii* [Topical issues of biologic physics and chemistry], 2016, no. 1-2, pp. 173-175.
 25. Dobryakov Y., Tuma D., Maurer G. Activity Coefficients at Infinite Dilution of Alkanols in the Ionic Liquids 1-Butyl-3-methylimidazolium Hexafluorophosphate, 1-Butyl-3-methylimidazolium Methyl Sulfate, and 1-Hexyl-3-methylimidazolium Bis(trifluoromethylsulfonyl) Amide Using the Dilutor Technique. *J. Chem. Eng. Data*, 2008, vol. 5, no. 9, pp. 2154-2162. DOI: 10.1021/je800355e.
 26. Alopina E.V., Safonova E.A., Pukinsky I.B., Smirnova N.A. Liquid-Liquid Equilibria in Aqueous Mixtures of Alkylmethylimidazolium Glutamate with Potassium Carbonate and Some Physicochemical Properties of Aqueous [C_nmim][Glu] (n = 4, 6, 8) Solutions. *J. Chem. Eng. Data*, 2016, vol. 61, no. 6, pp. 2013-2019. DOI: 10.1021/acs.jced.5b00948.
 27. Fitts J.P., Persson P., Brown G.E. Jr., Parks G.A. Structure and Bonding of Cu (II)-Glutamate Complexes at the Y-Al₂O₃-Water Interface. *Journal of Colloid and Interface Science*, 1999, vol. 220, no. 1, pp. 133-147. DOI: 10.1006/jcis.1991.6521.
 28. Schmid M.G., Lecnic O., Sitte U., Gübitz G. Application of ligand-exchange capillary electrophoresis to the chiral separation of α -hydroxy acids and β -blockers]. *J. Chromatogr. A*, 2000, vol. 875, no. 1-2, pp. 307-314. DOI: 10.1016/S0021-9673(99)01333-3.
 29. Gaziy L., Gyéresi Á., Kílár F. A role of Chemical structure in stereoselective recognition of bet-blockers by cyclodextrines in capillary zone electrophoresis. *J. Biochem. Biophys. Methods*, 2008, vol. 70, pp. 1268-1275. DOI: 10.1016/j.jbbm.2007.10.004.
 30. Zhang J., Du Y., Zhang Q., Chen J., Xu G., Yu T., Hua X. Investigation of synergistic effect with amino acid-derived chiral ionic liquids as additives for enantiomeric separation in capillary electrophoresis. *J. Chromatogr. A*, 2013, vol. 1316, pp.119-126. DOI:10.1016/j.chroma.2013.09.064.
 31. Cui Y., Ma X., Zhao M., Jiang Z., Xu S., Guo X. Combined Use of Ionic Liquid and Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin for the Enantioseparation of Ten Drugs by Capillary Electrophoresis. *Chirality*, 2013, vol. 25, pp. 409-414. DOI: 10.1002/chir.22168.