УДК 543.544

Антонюк Н. Г., Давідовіч І. С.

ВИКОРИСТАННЯ КАПІЛЯРНО-ЕЛЕКТРОФОРЕТИЧНИХ МЕТОДІВ ДЛЯ ХІРАЛЬНОГО РОЗДІЛЕННЯ (ОГЛЯДОВА)

Проаналізовано сучасні методи розділення оптичних ізомерів за допомогою хірального капілярного електрофорезу та визначальні фактори вибору хірального селектора.

Ключові слова: капілярний електрофорез, хіральне розділення, енантіомери.

Вступ

Енантіомери існують у природі у вигляді двох форм, які є несумісними дзеркальними відображеннями. Оптичні ізомери дуже важко розділити, тому що вони мають однакові фізико-хімічні властивості в ахіральному середовищі. Їхні константи дисоціацій, коефіцієнти дифузії та електрофоретичні рухливості ідентичні – це означає, що вони не можуть розрізнятися ані капілярним електрофорезом, ані іншими ахіральними методами розділення. Однак вони по-різному поводяться у хіральному середовищі. Один з імовірних способів розділення енантіомерів – використати їхню різну взаємодію з хіральними селекторами, оптично чистими сполуками, які мають хоч один хіральний елемент (зазвичай, хіральним центром є асиметричний атом карбону) і функціональні групи з такою конфігурацією, яка дозволяє просторово взаємодіяти з хіральним аналітом. Під час взаємодії між енантіомером і хіральним селектором у процесі динамічної рівноваги утворюються діастереомеричні комплекси з різними фізико-хімічними властивостями. Діастереомеричні молекули, які утворюються під час реакції, можуть бути розділені в ахіральному середовищі.

У капілярно-електрофоретичних методах найширше використовується розділення, яке ґрунтується на динамічній рівновазі між енантіомером і хіральним селектором, розчиненими в електролітному розчині. В інших варіаціях хіральний селектор може бути інкорпорований в гель [1], зв'язаний зі стінками капіляра [2] чи молекулярно імпринтований у полімер [3].

Моделі хірального розділення

Для встановлення факторів, які впливають на селективність хірального розділення, використовують кілька підходів. Рен і Рауе розробили [4], а пізніше удосконалили [5] модель, де розглядається вплив концентрації нейтрального хірального селектора на розділення заряджених аналітів. Вчені передбачали, що очевидна різниця рухливостей аналітів проходить через максимум при збільшенні концентрації хірального селектора. Згідно з моделлю, оптимальна концентрація хірального селектора (C_{opt}) визначається константою асоціації діастереометричних комплексів (K_R і K_S). Чим сильніша взаємодія, тим нижче C_{opt}. Явна різниця рухливостей тим вища, чим більша різниця між K_R і K_S.

Але дуже часто на практиці передбачуваний максимум у хіральній селективності як функції концентрації хірального селектора не спостерігається. Раужі [6, 7] розробив модель, що включає вплив як pH, так і концентрації нейтрального хірального селектора.

Протонування слабколужних і слабко кислотних, що змінюватиметься як функція від pH. Заряджені і незаряджені аналіти взаємодіють з хіральним селектором по-різному. Запропонована модель не вказує прямо на рівняння хіральної селективності розділення слабких кислот та основ. Далі наведено рівняння розділення слабких кислот [6]:

$$\alpha_{RS} = \frac{1+\frac{\mu_{RC^-}}{\mu^-}K_{RC^-}[C]\,1+K_{SC^-}[C]+\frac{[H_3O^+]}{K_a}(1+K_{HSC}[C])}{1+\frac{\mu_{SC^-}}{\mu^-}K_{SC^-}[C]\,1+K_{RC^-}[C]+\frac{[H_3O^+]}{K_a}(1+K_{HRC}[C])}, \quad (1)$$

де $\alpha_{R/S}$ – селективність; μ_{RC^-} і μ_{SC^-} – рухливості діастереомеричних комплексів заряджених аналітів; μ^- – рухливість дисоційованої кислоти (однакова для енантіомерів *R* і *S*); K_{RC^-} і K_{SC^-} – константи асоціації заряджених аналітів із хіральним селектором; [*C*] – концентрація хірального селектора; K_a – константа кислотної дисоціації (однакова для енантіомерів *R* і *S*); K_{HRC} і K_{HSC} – константи асоціації недисоційованих комплексів енантіомер-хіральний селектор. Подібне рівняння може бути сформульоване для слабких основ [7]. Більша кількість комплексних рівнянь наведена авторами для фактора розділення як функції концентрації хірального селектора чи pH [8].

© *Антонюк Н. Г., Давідовіч І. С.*, 2010

На основі цих рівнянь можна виділити три принципово різні типи розділення: дезйонселективне, коли присутня тільки нейтральна форма (рис. 1); йонселективне, коли взаємодіють тільки заряджені форми; і дуоселективне, коли обидві заряджена і незаряджена форми двох енантіомерів селективно взаємодіють із хіральним селектором (рис. 2).

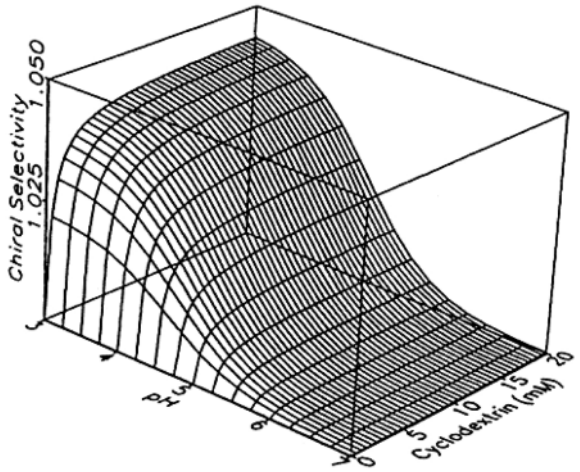

Рис. 1. Теоретична селективна поверхня ібупрофену, дезйонселективне розділення як функція від pH та концентрації циклодекстрину [6]

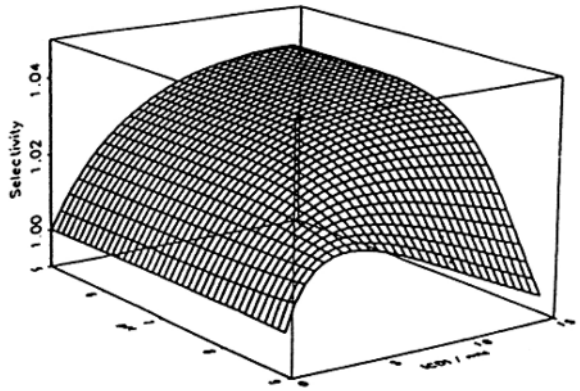

Рис. 2. Теоретична селективна поверхня хоматропіну. Дуоселективне розділення як функція від pH та концентрації циклодекстрину [7]

Дезйонселективне розділення може бути досягнуте у досить вузькому діапазоні pH, близькому до pK_a аналіту. Концентрація хірального селектора має невеликий вплив на розділення, коли вона досягає мінімального значення.

У йонселективному і дуоселективному розділенні селективність досягається у ширшому діапазоні pH. Хоча селективність і проходить через максимум як функція концентрації хірального селектора, цей максимум не спостерігається на практиці внаслідок обмеженої розчинності агентів. На відміну від дезйонселективного способу, при йонселективному так само, як і при дуоселективному розділенні, теоретично можна змінювати порядок виходу енантіомерів, змінюючи pH і концентрації.

Сурапанені [8] запропонував модель розділення нейтральних енантіомерів із використанням заряджених і незаряджених циклодекстринів за відсутності ЕОП. Селективність описується таким чином:

$$\alpha_{RS} = \frac{\mu_{RC^-} K_{RC^-}}{\mu_{SC^-} K_{SC^-}} \frac{1 + K_{SC^-}\left[C^-\right] + K_{SC}\left[C\right]}{1 + K_{RC^-}\left[C^-\right] + K_{RC}\left[C\right]}, \quad (2)$$

де $\alpha_{R/S}$ – селективність; μ_{RC^-} і μ_{SC^-} – рухливості комплексів, утворених з енантіомерів і заряджених хіральних селекторів; K_{RC^-}, K_{SC^-} і K_{RC}, K_{SC} – константи асоціації енантіомерів із зарядженими і нейтральними хіральними селекторами відповідно; $[C^-]$ і $[C]$ – концентрація зарядженого і нейтрального хірального селектора відповідно.

Типи хіральних селекторів

1. Циклодекстрини

Циклодекстрини – найбільш використовувані хіральні селектори. Циклодекстрини – це циклічні олігосахариди, які побудовані з *D*-(+)-глюкопіранозних ланок, пов'язаних α-(1,4)-зв'язками. Природні α-, β- і γ-циклодекстрини складаються з 6, 7 і 8 глюкозних ланок відповідно. Їхня структура подібна до усіченого конусу з вторинними 2- і 3-гідроксигрупами ззовні конусу і первинними гідроксилами біля 6-го атома карбону (рис. 3).

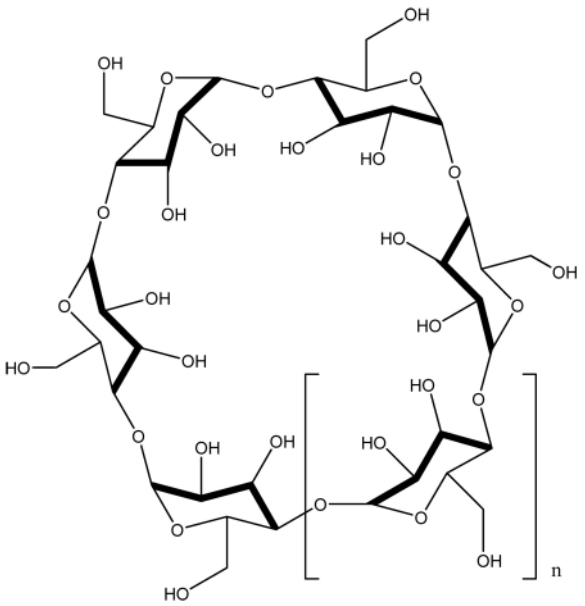

Рис. 3. Природні циклодекстрини: n = 1 α-ЦД, n = 2 β-ЦД, n = 3 γ-ЦД

Фізико-хімічні властивості природних циклодекстринів наведені у табл. 1.

Таблиця 1. **Фізико-хімічні властивості і структура α-, β- і γ-циклодекстринів [10]**

Властивості	α-Циклодекстрин	β-Циклодекстрин	γ-Циклодекстрин
Кількість глюкозидних зв'язків	6	7	8
Молекулярна маса	972	1135	1297
Внутрішній діаметр порожнини (A°)	5.7	7.8	9.5
Зовнішній діаметр порожнини (A°)	13.7	15.3	16.9
Об'єм порожнини (A^3)	174	262	427
Розчинність у воді при 25°C (%, *w*/*v*)	14.5	1.8	23.2

Оскільки вторинні гідроксигрупи поєднані з асиметричним атомом карбону і не можуть обертатися, вони є зручними ланками для стеричних селективних взаємодій. Взаємодія: розчинена речовина – циклодекстрин – обумовлена проникненням аналіту до відносно гідрофобної порожнини циклодекстрину. Різний розмір порожнин спричинює різну селективність циклодекстринів. Вважається, що розділення відбувається за рахунок утворення включених комплексів, але може досягатися і без глибокого проникнення аналіту у порожнину. Так, розділення енантіомерів триптофану можливе на α-циклодекстринах, хоча дослідження ЯМР показали розташування ароматичних кілець триптофану біля входу у порожнину [10]. Замішення гідроксильних груп у циклодекстринах надає можливість для створення нових хіральних селекторів, які мають кращу розчинність у воді й різну селективність відносно багатьох аналітів. Деякі з них, як 2,6-ди-*O*-метил-β-циклодекстрин і 2,3,6-три-*O*-метил-β-циклодекстрин, визначену структуру, інші (гідроксипропіл-в-циклодекстрин), є сумішшю гомологів із різним ступенем заміщення. При цьому постає питання про відтворюваність результатів експерименту, але водночас різний ступінь замішення може бути використаний для оптимізації селективності [11]. Введення заряджених груп до структури циклодекстринів дає можливість для розділення нейтральних сполук (табл. 2).

Карбоксиметил-β-циклодекстрин як слабка кислота може бути використаний для розділення заряджених і нейтральних форм, що впливає на порядок виходу енантіомерів [21]. Широкої популярності набув сульфобутил-β-циклодекстрин, оскільки він селективно взаємодіє з великою

Таблиця 2. **Заряджені циклодекстрини, які використовуються як хіральні селектори у КЕ [12, 13]**

Заряджені циклодекстрини	Аналіти	pH	Посилання
Катіонні циклодекстрини			
Моно-(6-β-аміноетиламіно-6-деокси)-β-ЦД	DNS-AAs	3,0	[14]
6^A-метиламіно-β-ЦД	Мигдалева кислота	5,0	[15]
6^A,6^D-диметиламіно-β-ЦД	*м*-гідроксимигдалева кислота *п*-гідроксимигдалева кислота 3,4-дигідроксимигдалева кислота 2-феніллактонова кислота 3-феніллактонова кислота		
Аніонні циклодекстрини			
2-*O*-карбоксиметил-β-ЦД	Ароматичні ізомери		[16]
Карбоксиметилований β-ЦД (3,6 на кільце ЦД)	Доксиламін	2,5	[17]
Карбоксиетильований β-ЦД (6 на кільце ЦД)	Ефедрин	5,8 (заряджений)	[17]
Карбоксисукциноваиий β-ЦД (3,5 на кільце ЦД)	Диментиден 2,2-Дигідрокси-1,1′-динафтил Гексобарбітал Оксазолін Пропранолол		[17]
Карбоксиметилований β-ЦД (3,5 на кільце ЦД)	Ефедрин Диментиден Доксиламін	2,5 6,0 (заряджений)	[18]
Тетракіс[6-*O*-сульфобутил)]-β-ЦД (Na сіль)	Ефедрин Норефедрин Псевдоефедрин Метилефедрин Метилпсевдоефедрин	10,0	[19]
6-*O*-триметиленсульфокислоти β-ЦД (Na сіль) (*mixture of mono*-, *bis*- and *tri*-)	1,1′-Бінафтил-2,2′-диїл-гідрогенфосфат		[20]

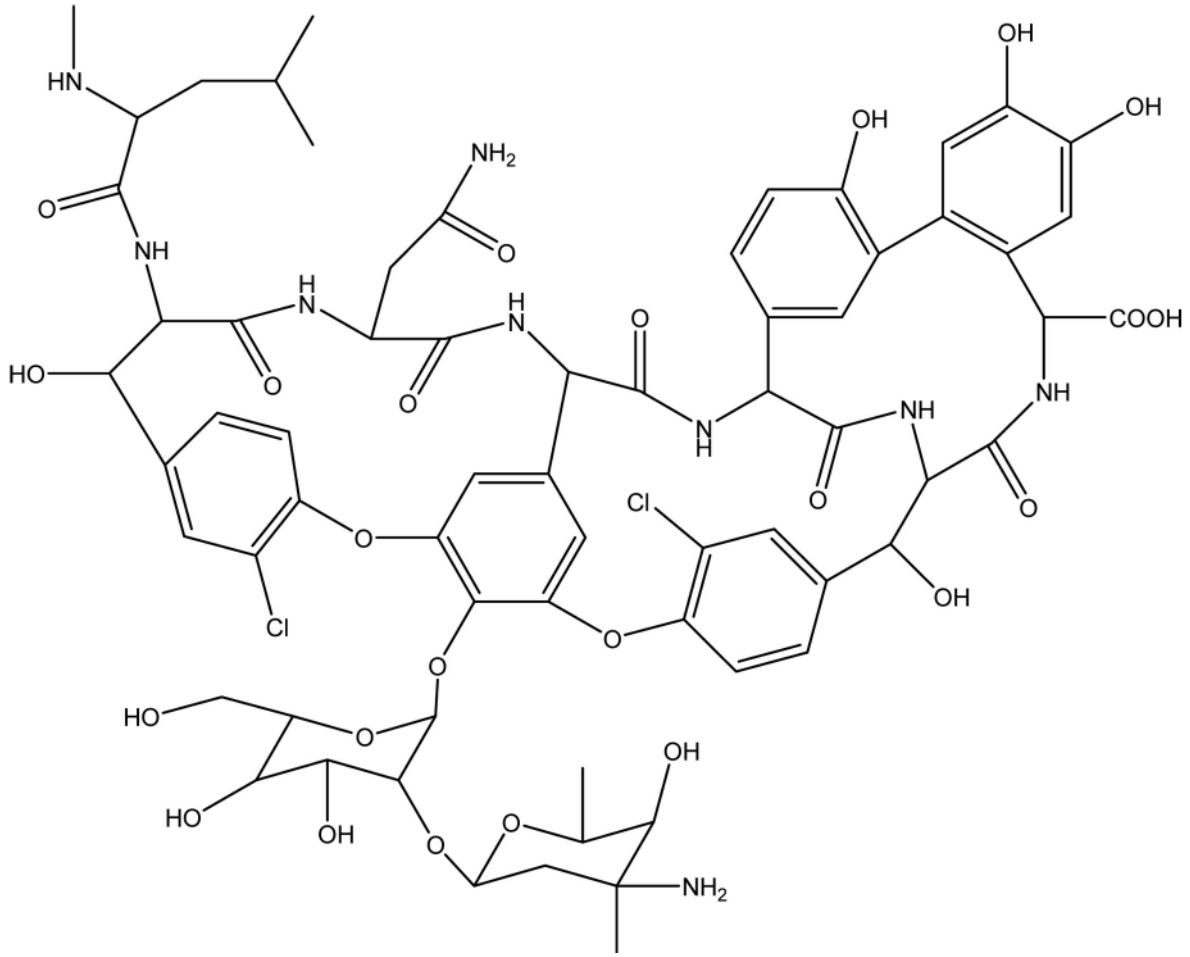

Рис. 4. Структура ванкоміцину

кількістю хіральних аналітів. Без оптимізації методики фактор розподілу *Rs* становить 26 для хірального розділення 5-циклобутил-5-фенілгідантоїну.

2. Макроциклічні антибіотики

Макроциклічні антибіотики, такі, як ванкоміцин, ріфаміцин В і рістоцетин А утворюють комплекси типу хазяїн – гість з великою кількістю аналітів. Наявність декількох асиметричних атомів карбону та різних функціональних груп у цих великих молекулах дає можливість селективної взаємодії з переважною більшістю аналітів. Ванкоміцин – макроциклічний антибіотик, у структурі якого міститься 18 асиметричних центрів з кількома функціональними групами (гідрокси-, аміно-, карбоксильні, ароматичні групи тощо), які відповідають за стереоселективні взаємодії, такі, як водневі зв'язки та гідрофобно-гідрофобні й електростатичні взаємодії (рис. 4). Цей антибіотик є ефективним хіральним селектором для енантіорозділння аніонних сполук, особливо тих, що містять карбоксильні групи у своїй структурі [22].

Більшість макроциклічних антибіотиків складаються з іоногенних груп, завдяки чому їх заряд і конформація змінюються залежно від pH-середовища. Комплексна структура антибіотиків включає в себе різноманітні хіральні центри, порожнини, фенольні кільця, піранозні, фуранозні, хінолонні, триазольні кільця, містки, кілька донорів гідрогену, залишки цукрів та інші групи, які відповідають за хіральну селективність у різних модифікаціях. Завдяки наявності різноманітних груп хіральна селективність досягається за рахунок таких взаємодій [23]:

– π-π комплексоутворення;
– водневі зв'язки;
– включене комплексоутворення;
– дипольні взаємодії;
– стеричні взаємодії;
– взаємодія заряджених груп.

Фактор розділення при використанні цього класу хіральних селекторів досягає 20 [24]. Макроциклічні антибіотики сильно поглинають в УФ-ділянці. Але оскільки для хірального розділення потрібні низькі концентрації, близько 1–5 мМ, для ванкоміцину і рістоцетину А мож-

ливе пряме УФ-детектування при 254 нм [25]. Для ріфаміцину В використовується непряме УФ-детектування. Враховуючи властивості макроциклічних антибіотиків, ця група хіральних селекторів є перспективною для розділення великого класу сполук.

3. Хіральні краун-ефіри

Розмір кільця 18-Краун-6-ефір сприятливий для формування включених комплексів із калієм, амонієм і протонованими первинними амінами. Використання ж хіральних краун-ефірів, таких як (+)-18-краун-6-тетракарбоксикислота (рис. 5), дає можливість розділити первинні аміни, включаючи амінокислоти [26].

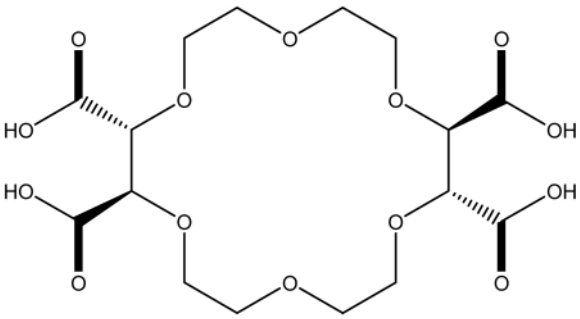

Рис. 5. Структура (+)-(18-краун-6)-2,2,11,12-тетракарбоксикислоти

4. Хіральні каліксарени

Каліксарени — нова група макроциклів із гарною здатністю до утворення включених комплексів. Уперше розділення хіральних сполук із використанням цього класу хіральних селекторів було досягнуто для енантіомерів 1,1'-бінафтил-2,2'-діетилгідрогенфосфату з використанням *N*-*n*-бутилкалікс[4]арену (рис. 6).

5. Лігандообмінні комплекси

Уперше хіральне розділення у капілярно-електрофоретичних методах було проведено Гассманном у 1985 р. [27] з використанням лігандообмінних комплексів. У лігандообмінному механізмі хіральним селектором є комплекс катіона металу й оптично чистого хірального ліганду. Енантіомери можуть заміщувати один ліганд у комплексі (рис. 7). При цьому розділення двох розчинних енантіомерів можливе тільки у випадку, коли константи стійкості утворених комплексів суттєво відрізняються. Розділення дансиламінокислот можливе за рахунок діастеричної взаємодії між DL-амінокислотами і комплексом Купруму (II) з L-гістидином, який додають в електролітний розчин [28].

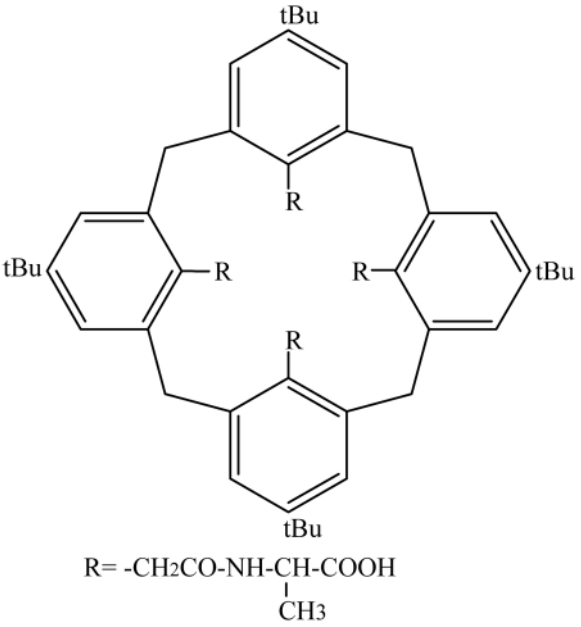

Рис. 6. N-п-тетрабутилкалікс[4]арен: R – тетракарбоксиноїл-L-аланін

6. Білки

Білки широко використовуються як хіральні нерухомі фази у ВЕРХ [30]. Велика кількість білків (сироватка бичачого і людського альбуміну) і глікобілків (овомукоїд, α_1-кислотні глікобілки, авідин) використовуються для передкапілярної

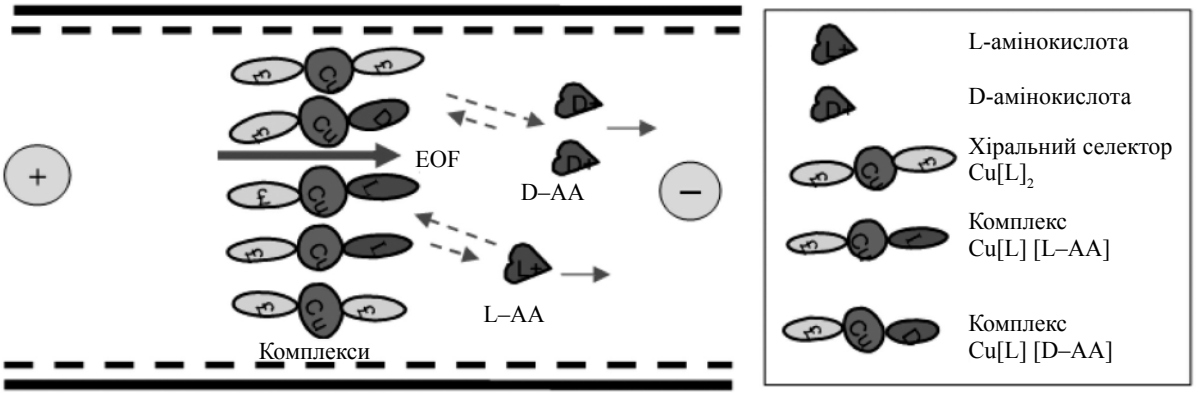

Рис. 7. Схема лігандообмінного механізму хірального розділення [29]

дериватизації у капілярному електрофорезі для розділення аналітів [31–32]. Але існують деякі практичні проблеми з використанням білків у КЕ:

– гарна сорбція на стінках капіляра;
– сильне поглинання УФ-світла;
– низька ефективність розділення;
– асиметрія піків.

Є кілька шляхів для усунення цих недоліків. Адсорбцію на стінках капіляра можна мінімізувати, використовуючи вкриті капіляри. При використанні механізму часткового заповнення капіляра, білки не досягають вікна детектора [33]. Форму піка можна покращити додаванням органічних розчинників.

7. Оліго- і полісахариди

Крім циклодекстринів, які є циклічними олігосахаридами, для хірального розділення використовуються й інші цукри. Нейтральні полісахариди такі, як целюлоза, є нерозчинними у воді. Нейтральні олігосахариди (мальтоолігосахариди) і полійонні полісахариди (гепарин, сульфодекстран (рис.8)) є водорозчинними і можуть бути використані як хіральні селектори [34, 35]. Іонний характер заряджених полісахаридів є важливим фактором для хірального розділення, але також не менш важливим є ступінь полімеризації і молекулярна маса полімеру [36]. Низька УФ-адсорбція полі- та олігосахаридів і висока ефективність розділення роблять їх перспективними у хіральному розділенні.

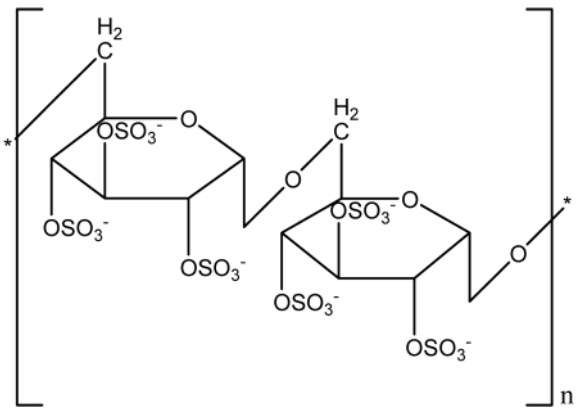

Рис. 8. Структура сульфодекстрану

8. Рослинні алкалоїди

Рослинні алкалоїди, зокрема 1-алілтергурід, (рис. 9) можуть бути використані для розділення органічних кислот [37]. Асиметричні атоми карбону, наявність основного нітрогену і п-акцепторні індольні кільця роблять алкалоїди гарними хіральними селекторами. Проблема їх низької розчинності у воді вирішується додаванням метанолу в електролітний розчин.

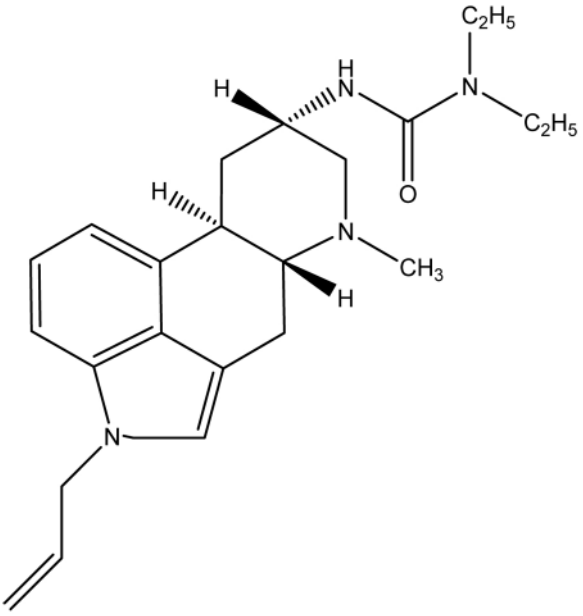

Рис. 9. Структура 1-алілтергуріду

9. Хіральні міцели

Розділення енантіомерів у МЕКХ можливе, коли константи розподілу енантіомерів між буферним розчином і міцелою відрізняються і міцели чи аналіти є зарядженими. ПАР відрізняються від інших хіральних селекторів тим, що взаємодіють з аналітом у вигляді молекулярних агрегатів, тобто енантіорозділення можливе тільки при концентрації ПАР вище ККМ.

Існує безліч хіральних ПАР, які можуть бути використані у КЕ. Але найширше використовуються солі жовчі (натрій деоксихолат (рис. 10)) і амінокислоти з довгими алкільними ланцюгами (натрій N-додеканоїл-L-валінат (рис. 11)).

Хіральні ПАР можуть використовуватися у поєднанні з нехіральними ПАР. Так, з дігітоніну, нейтральної хіральної ПАР і СДС формують змішані міцели [38]. СДС не бере участі у хіральному розділенні, однак, вносячи заряд у міцелу, він впливає на рухливість і розділення (рис. 12). У МЕКХ для повного розділення енантіомерів часто додають циклодекстрини, при цьому розподілення аналіту відбувається між міцелярною, водною фазами і циклодекстрином [39].

Одним із недоліків МЕКХ є розширення піків через повільний масообмін між буферним розчином і міцелярною фазою. Для вирішення цієї проблеми використовують полімеризовані міцели, наприклад, полімеризований γ-випромінюванням ундецил-*L*-валін [40]. Полімеризовані міцели є компактними структурами порівняно

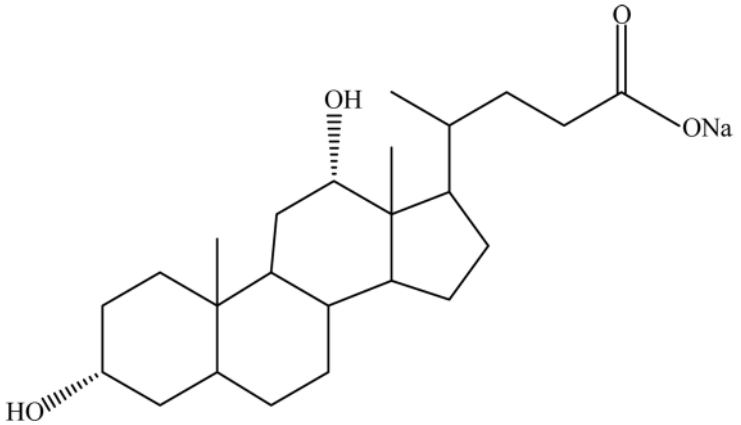

Рис. 10. Структура натрій деоксихолату

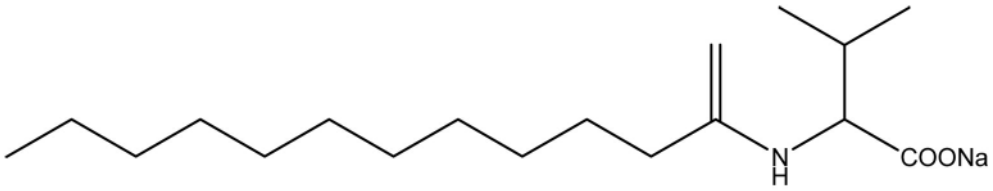

Рис. 11. Структура натрій N-додеканоїл-L-валінату

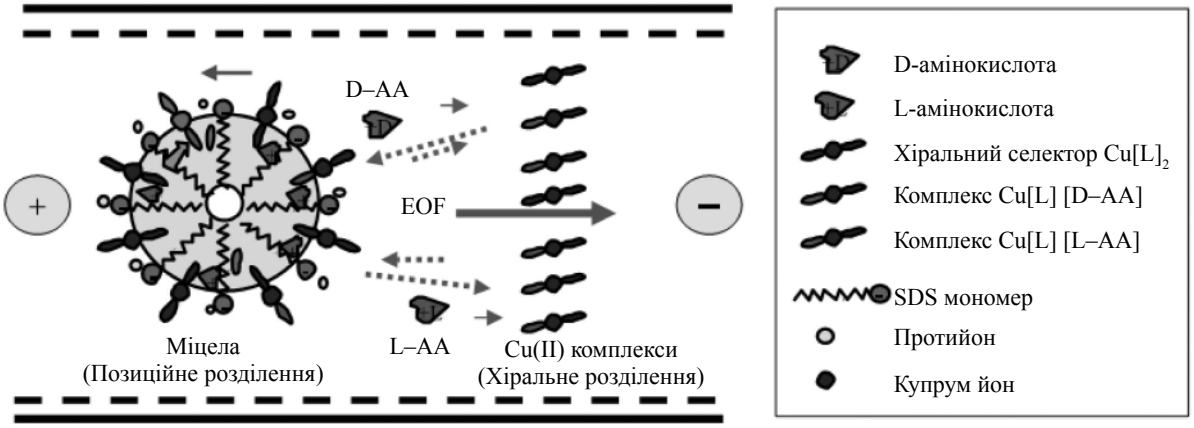

Рис. 12. Хіральна лігандообмінна МЕКХ [29]

зі звичайними міцелами, завдяки чому солюбілізація аналітів швидша, що покращує селективність розділення.

10. Мікроемульсії

Використання мікроемульсій для хірального розділення описане Айкеном і Хью [41]. За допомогою хірального селектора масла (2*R*, 3*R*)-ди-*n*-бутилтартрату можна розділити енантіомери ефідрину.

11. Хіральний неводний капілярний електрофорез

Неводні розчинники в капілярному електрофорезі вперше були використані у 1984 р. [42]. Але поширеного використання неводний капілярний електрофорез набув тільки у 1990-х рр. У водних розчинах зміна pH, концентрації селектора, типу буферу та іонної сили впливає на хіральне розділення. У неводних системах на енантіоселективність також впливає заміна одного розчинника на інший, зміна пропорцій. Для хірального розділення використовують різноманітні органічні розчинники і такі їх суміші, як метанол, ацетонітрил, формамід, N-метилформамід, N,N-диметилформамід, суміш етанол/метанол. При хіральному розділенні у неводному капілярному електрофорезі також зважають на відмінність у здатності енантіомерів взаємодіяти із селектором, що ґрунтується на включеному комплексо-

Таблиця 3. **Хіральні селектори для неводного капілярного електрофорезу**

Тип взаємодії	Тип селектора	Приклад селекторів
Включене комплексоутворення	Природні циклодекстрини	β-ЦД [44]
	Дериватизовані циклодекстрини	
Іонні взаємодії	Хіральні протиіони	Камфосульфокислота [45]
		3,5-динітробензоїл-лейцин [46]
		хінін [47]
		дериватизований хінін [48]
		хінідін [48]
		цинхонін [48]
		цинхонідин [49]
Включене комплексоутворення та іонні взаємодії	Заряджені циклодекстрини	амоній β-ЦД [49]
		сульфований γ-ЦД [50]
	Краун-ефіри з карбоксильними групами	(+)-18-краун-6-тетракарбоксикислота [51]
Лігандообмінний механізм		Комплекси Купруму (II) з L-проліном і L-ізолейцином [52]

утворенні, іонних взаємодіях, лігандообмінному механізмі. Різні типи селекторів, які використовуються у неводному КЕ, наведено у табл. 3 [43].

Висновок

Дуже часто енантіомери хіральних препаратів мають різну фармакологічну і токсикологічну дію, тому важливо знати енантіомерний склад цних препаратів. Розділення і визначення енантіомерів потрібно для вивчення хіральної чистоти продуктів, хіральної стабільності фармацевтичних препаратів і для їх фармокінетичних і клінічних досліджень. Перевагами капілярного електрофорезу для розділення енантіомерів є висока ефективність розділення та легкість вибору і зміни хірального селектора. Вибір хіральних селекторів у капілярному електрофорезі лімітується їх розчинністю у водних системах. У цьому випадку використовується неводний капілярний електрофорез. Ця проблема компенсується можливістю простої корекції властивостей електролітного розчину: зміна pH та концентрації буферного розчину, хірального селектора, органічних добавок.

[1] Lin J.-M. Enantiomeric resolution of dansyl amino acids by capillary electrochromatography based on molecular imprinting method / J.-M. Lin, K. Uchiyama, T. Hobo // Chromatographia. – 1998. – V. 47. – P. 625.

[2] Mayer S. Enantiomer separation by electrochromatography in open tubular columns coated with ChirasilDex / S. Mayer, V. Schurin // J. Liq. Chromatogr. – 1993. – V. 16. – P. 915.

[3] Lin J.-M. Molecularly imprinted polymer as chiral selector for enantioseparation of amino acids by capillary gel electrophoresis / J.-M. Lin, T. Nakagama, K. Uchiyama, T. Hobo // Chromatographia. – 1996. – V. 43. – P. 585–591.

[4] Wren S. A. C. Theoretical aspects of chiral separation in capillary electrophoresis. I. Initial evaluation of a mode / S. A. C. Wren, R. C. Rowe. // J. of Chromatogr. A. – 1992. – V. 603. – P. 235.

[5] Wren S. A. C. A theoretical approach to chiral capillary electrophoresis with some practical implications / S. A. C. Wren, R. C. Rowe, R. S. Payne // Electrophoresis. – 1994. – V. 15. – P. 774–778.

[6] Rawjee Y. Y. Capillary electrophoretic chiral separations with cyclodextrin additives : I. Acids : Chiral selectivity as a function of pH and the concentration of β-cyclodextrin for fenoprofen and ibuprofen / Y. Y. Rawjee, D. U. Staerk, Gy. Vigh // J. of Chromatogr. A. – 1993. – V. 633. – P. 291.

[7] Rawjee Y. Y. Capillary electrophoretic chiral separations using β-cyclodextrin as resolving agent : II. Bases : Chiral selectivity as a function of pH and the concentration of β-cyclodextrin / Y. Y. Rawjee, R. L. Williams, Gy. Vigh // J. of Chromatogr. A. – 1993. – V. 652. – P. 233.

[8] Surapaneni S. Chiral separation of neutral species by capillary electrophoresis evaluation of a theoretical model / S. Surapaneni, K. Ruterbories, T. Lindstrom // J. of Chromatogr. A. – 1997. – V. 761. – P.249.

[9] Chiari M. Enhancement of selectivity in capillary electrophoretic separations of metals and ligands through complex formation / M. Chiari // J. of Chromatogr. A. – 1998. – Vol. 805. – P. 1–15.

[10] Anconi C. P. A. Theoretical study of α-CD based [3] pseudorotaxanes: the role played by threadlike polymer on the stability of Cyclodextrin dimmers / C. P. A. Anconi, C. S. Nascimento // J. Braz. Chem. – 2008. – V. 19. – P. 73–77.

[11] Valko I. E. Effect of the degree of substitution of (2-hydroxy) propyl-β-cyclodextrin on the enantioseparation of organic acids by capillary electrophoresis / I. E. Valko, H. A. H. Billiet, J. Frank, K. Ch. A.M.Luyben // J. of Chromatogr. A. – 1994. – Vol. 678. – P. 139.

[12] Krstulvic A.M. Chiral Separation by HPLC / A. M. Krstulvic. – Chichester : Ellis Horwood, 1989. – 146 p.

[13] Nishi H. Optical resolution of drugs by capillary electrophoretic techniques / H. Nishi, S. Terabe // J. of Chromatogr. A. – 1995. – Vol. 694. – P. 245.

[14] Palmer C. P. Resolution of aspartyl dipeptide and tripeptide stereoisomers by capillary electrophoresis // C. P. Palmer, H. M. McNair // J. Microcol. Sep. – 1992. – Vol. 4. – P. 509.

[15] Nardi A. Use of charged and neutral cyclodextrins in capillary zone electrophoresis: enantiomeric resolution of some 2-hydroxy acids / A. Nardi, A. Eliseev, P. Bocek, S. Fanali // J. of Chromatogr. A. – 1993. – Vol. 838. – P. 247.

[16] Terabe S. Electrokinetic chromatography with 2-O-carboxymethyl-β-cyclodextrin as a moving “stationary” phase / S. Terabe, H. Ozaki, K. Otsuka, T. Ando // J. of Chromatogr. A. – 1985. – Vol. 332. – P. 211.

[17] Ozaki H. Micellar electrokinetic chromatography using high-molecular surfactants use of butyl acrylate-butyl methacrylate-methacrylic acid copolymers sodium salts as pseudo-stationary phases / H. Ozaki, S. Terabe, A. Ichibara // J. of Chromatogr. A. – 1994. – Vol. 680. – P. 117.

[18] He Y. Separation of structural homologues of alkylphenols and isomers of 4-nonylphenol by cyclodextrin-modified micellar

electrokinetic chromatography / Y. He, H. K. Lee // J. of Chromatogr. A. – 1996. – Vol. 749. – P. 227.
[19] Boonkerd S. Separation and simultaneous determination of the components in an analgesic tablet formulation by micellar electrokinetic chromatography / S. Boonkerd, M. Lauwers, M. R. Detaevernier, Y. Michotte // J. of Chromatogr. A. – 1995. – Vol. 695. – P. 97.
[20] Ozaki H. Micellar electrokinetic chromatography using high-molecular-mass surfactants : comparison between anionic and cationic surfactants and effects of modifiers / H. Ozaki, A. Ichihara, S.Terabe // J. of Chromatogr. A. – 1995. – Vol. 709. – P. 3.
[21] Schmitt T. Charged and uncharged cyclodextrins as chiral selectors in capillary electrophoresis / T. Schmitt, H. Engelhardt // Chromatographia. – 1993. – Vol. 37. – P. 475.
[22] Maruszak W. Application of supramolecular compounds for modification of separations in capillary electrophoresis / W. Maruszak, M. Trojanowicz // Acta Chromatographica. – 1997. – Vol. 7. – P. 7–35.
[23] AbouI-Enein H. Y. Macrocyclic Antibiotics as Effective Chiral Selectors for Enantiomeric Resolution by Liquid Chromatography and Capillary Electrophoresis / H. Y. AbouI-Enein, I. Ali // Chromatographia. – 2000. – V. 52. – P. 679–691.
[24] Armstrong D. W. Evaluation of the macrocyclic antibiotic vancomycin as a chiral selector for capillary electrophoresis / D. W. Armstrong, K. L. Rundlett, J.-R. Chen // Chirality. – 1994. – Vol. 6. – P. 496.
[25] Armstrong D. W. Effect of Micelles and Mixed Micelles on Efficiency and Selectivity of Antibiotic-Based Capillary Electrophoretic Enantioseparations / D. W. Armstrong, K. L. Rundlett, G. L. Reid // Anal.Chem. – 1994. – Vol. 66. – P. 1690.
[26] Kuhn R. Evaluation of an optically active crown ether for the chiral separation of di- and tripeptides / R. Kuhn, D. Riester, B. Fleckenstein, K.-H. Wiesmuller // J. of Chromatogr. A. – 1995. – Vol. 716. – P. 371.
[27] Gassmann E. Electrokinetic Separation of Chiral Compounds / E. Gassmann, J. E. Kuo, R. N. Zare // Science. – 1985. – Vol. 230. – P. 813.
[28] Threeprom J. Determination of Pb(II), Cu(II) and Fe(III) with capillary electrophoresis using ethylenediaminetetraacetic acid as a complexing agent and vancomycin as a complex selector / J. Threeprom, W. Som-aum, J. Lin // Analytical Sciences. – 2006. – Vol. 22. – P.1179–1184.
[29] Chen Z. Development of Chiral Separation Systems for Capillary Electrophoresis, Electrochromatography and Liquid Chromatography / Z. Chen // Chromatography. – 2004. – V. 25. – P. 9–23.
[30] Hermansson J. Direct liquid chromatographic resolution of racemic drugs using α_1-acid glycoprotein as the chiral stationary phase / J. Hermansson // J. of Chromatogr. A. – 1983. – Vol. 269. – P. 71.
[31] Bush S. Chiral separations by complexation with proteins in capillary zone electrophoresis / S. Bush, J. C. Kraak, H. Poppe // J. of Chromatogr. A. – 1993. – Vol. 635. – P. 119.
[32] Yang J. Chiral Separations in Capillary Electrophoresis Using Human Serum Albumin as a Buffer Additive / J. Yang, D. S. Hage // Anal.Chem. – 1994. – Vol. 66. – P. 2719.
[33] Tanaka Y. Partial separation zone technique for the separation of enantiomers by affinity electrokinetic chromatography with proteins as chiral pseudo-stationary phases / Y. Tanaka, S. Terabe // J. of Chromatogr. A. – 1995. – Vol. 694. – P. 277.
[34] Lloyd D. K. Protein chiral selectors in free-solution capillary electrophoresis and packed-capillary electrochromatography / D. K. Lloyd, S. Li, P. Ryan // J. of Chromatogr. A. – 1995. – Vol. 694. – P. 285.
[35] Stalcup A. M. Heparin : A Chiral Mobile-Phase Additive for Capillary Zone Electrophoresis / A. M. Stalcup, N. N. Agyei // Anal. Chem. – 1994. – Vol. 66. – P. 3054.
[36] Gotti R. Linear, Neutral Polysaccharides as Chiral Selectors in Enantioresolution of Basic Drug Racemates by Capillary Electrophoresis / R. Gotti, R. Pomponio, V. Cavrini // Chromatographia. – 2000. – V. 52. – P. 273–277.
[37] Inglese B. Ergot alkaloids as chiral selectors in capillary electrophoresis determination of the separation mechanism / B. Inglese, M. Flieger, H. A. Claessens, F. M. Everaerts // J. of Chromatogr. A. – 1996. – Vol. 755. – P. 251.
[38] Otsuka K. Enantiomeric resolution by micellar electrokinetic chromatography with chiral surfactants / K. Otsuka, S. Terabe // J. of Chromatogr. A. – 1990. – Vol. 515. – P. 221.
[39] Furuta R. Enantiomeric separation of diniconazole and uniconazole by cyclodextrin-modified micellar electrokinetic chromatography / R. Furuta, T. Doi // J. of Chromatogr. A. – 1994. – Vol. 676. – P. 431.
[40] Wang J. Use of a synthetic chiral polymerized surfactant for chiral separations / J. Wang, I. M. Warner // Anal. Chem. – 1994. – Vol. 66. – P. 3773.
[41] Aiken J. H. Use of a microemulsion system to incorporate a lipophilic chiral selector in electrokinetic capillary chromatography / J. H. Aiken, C. W. Huie // Chromatographia. – 1993. – Vol. 35. – P. 448.
[42] Walbroehl Y. On-column UV absorption detector for open tubular capillary electrophoresis / Y. Walbroehl, J. Jorgensen // J. of Chromatogr. A. – 1984. – Vol. 315. – P. 135–143.
[43] Vahedeland Y. L. Chiral Separation of Amines by Non-Aqueous Capillary Electrophoresis using Low Molecular Weight Selectors / Y. L. Vahedeland // Acta universitatis upsaliensis uppsala. – 2006. – P. 46.
[44] Valko I. E. Chiral separation of dansyl-amino acids in a non-aqueous medium by capillary electrophoresis / I. E. Valko, H. Siren, M.-L. Riekkola // J. of Chromatogr. A. – 1996. – Vol. 737. – P. 263–272.
[45] Shamsi S. A. Capillary electrophoresis-mass spectrometry : Recent advances to the analysis of small achiral and chiral solutes / S. A. Shamsi, B. E. Miller // Electrophoresis. – 2004. – Vol. 25. – P. 3927– 3961.
[46] Zarbl E. Development of stereoselective nonaqueous capillary electrophoresis system for the resolution of cationic and amphoteric analytes // E. Zarbl, M. Lammerhofer, P. Franco, M. Petracs, W. Lindner // Electrophoresis. – 2001. – Vol. 22. – P. 3297–3307.
[47] Stalcup A. M. Quinine as a Chiral additive in Nonaqueous Capillary Zone Electrophoresis / A. M. Stalcup, K. H. Gahm // J. Microcol. Sep. – 1996. – Vol. 8. – P. 145–150.
[48] Piette V. Enantiomeric separation of amino acid derivatives by non-aqueous capillary electrophoresis using quinine and related compounds as chiral additives / V. Piette, M. Fillet, W. Lindner, J. Crommen // Biomed. Chromatogr. – 2000. – Vol. 14. – P. 19–21.
[49] Wang F. Nonaqueous capillary electrophoresis chiral separations with quaternary ammonium γ –cyclodextrin / F. Wang, M. G. Khaledi // J. of Chromatogr. A. – 1998. – Vol. 817. – P. 121–128.
[50] Zhu W. Enantiomer separations by nonaqueous capillary electrophoresis using octakis(2,3-diacetyl-6-sulfato)-γ-cyclodextrin / W. Zhu, G. Vigh // J. of Chromatogr. A. – 2000. – Vol. 892. – P. 499–507.
[51] Mori Y. Enantiomeric separation of primary aminocompounds by non-aqueous capillary zone electrophoresis with a chiral crown ether / Y. Mori, K. Ueno, T. Umeda J. // J. of Chromatogr. A. – 1997. – Vol. 757. – P. 328–332.
[52] Karbaum A. Chiral separation of unmodified amino acids with non-aqueous capillary electrophoresis based on the ligand-exchange principle / A. Karbaum, T. Jira // J. of Chromatogr. A. – 2000. – Vol. 874. – P. 285–292.

N. Antoniuk, I. Davidovich

THE CAPILLARY ELECTROPHORESIS FOR CHIRAL SEPARATION

The modern methods of enantiomeric separations by capillary electrophoresis and the important factors of chiral selectors choice are analysed.

Keywords: capillary electrophoresis, chiral separation, enantiomers.