

УДК 543.544

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЭНАНТИОМЕРНОЙ ЧИСТОТЫ АЛЬБУТЕРОЛА НА СОРБЕНТАХ, МОДИФИЦИРОВАННЫХ МАКРОЦИКЛИЧЕСКИМИ АНТИБИОТИКАМИ

Е.Н. Шаповалова, И.А. Федорова, А.А. Припорова, И.А. Ананьева*,
О.А. Шпигун

(кафедра аналитической химии, *e-mail: irishan@mail.ru)

Исследовано энантиоразделение альбутерола на сорбентах с иммобилизованными на поверхности силикагеля макроциклическими гликопептидными антибиотиками. Для разделения энантиомеров использовали коммерческие колонки Nautilus-E (ЗАО «Био-Хим-Мак», Россия) с хиральным селектором эремоницином и ChirobioticTAG («Astec», США) с хиральным селектором агликоном тейкопланина. Левалбутерол является R-изомером альбутерола, их удалось разделить на обеих колонках в полярно-органическом режиме, но селективность на колонке ChirobioticTAG выше ($R_s = 1,7$). Максимальное разрешение пиков энантиомеров (1,7) наблюдается для подвижной фазы MeOH:ACN:TEA:CH₃COOH (90:10:0,5:0,5). Предел обнаружения соединения, рассчитанный по отношению сигнал:фон = 3:1, составил 0,00002 мг/мл, что соответствует 0,1% S-формы по отношению к общему количеству. Полученные результаты позволили определить энантиомерную чистоту субстанций левалбутерола.

Ключевые слова: макроциклические гликопептидные антибиотики, хиральные селекторы, энантиомеры, оптическая чистота лекарственных форм.

В настоящее время среди задач фармацевтической химии особое место занимает анализ оптической чистоты лекарственных средств. Наиболее сложная проблема заключается в разделении синтетических рацемических смесей на оптически чистые компоненты, так как часто оптические изомеры проявляют разную биологическую и фармакологическую активность [1, 2].

Высокоэффективная жидкостная хроматография позволяет решить сложнейшие проблемы анализа энантиомерного состава оптически активных соединений, а также препаративного получения оптически чистых изомеров разных классов соединений. Хроматографическое разделение энантиомеров принципиально возможно только в системах, содержащих хиральный селектор, способный различать пространственную конфигурацию оптических антиподов.

Хиральные селекторы на основе макроциклических антибиотиков, к которым относятся ванкомицин, тейкопланин, ристоцетин А, авопарцин и др., дают широкие возможности для разделения разных классов оптически активных соединений благодаря наличию в их структуре различных построению фрагментов, способных к многоточечным взаимодействиям с разделяемыми соединениями как в полярных, так и неполярных растворителях, а также благодаря сложному механизму взаимодействия энантиомеров с поверхностью.

Хиральные неподвижные фазы, содержащие один из вышеперечисленных антибиотиков, имеют уникальную селективность и, как известно из литературных данных, все вместе они предоставляют возможность исследователям осуществлять так называемые «комплементарные» энантиоразделения [3–5]. Термин «комплементарный» описывает условия, при которых улучшение селективности энантиоразделения получено при использовании той же самой подвижной фазы, но на неподвижной фазе с другим макроциклическим антибиотиком. Причина этого явления кроется в тонких различиях между неподвижными фазами [3].

Цель настоящей работы – изучение разделения энантиомеров лекарственного препарата альбутерола на сорбентах, модифицированных антибиотиками (эремоницином, агликоном тейкопланина) и выбор условий определения энантиомерной чистоты лекарственных субстанций.

Экспериментальная часть

Реагенты и аппаратура. Для приготовления подвижных фаз использовали следующие реагенты: ацетонитрил (ACN), метанол (MeOH), изопропанол (*i*-Pr) («для хроматографии», «Panreac», Испания); муравьиная кислота (НСООН) (85%, «ос.ч.», «Реахим», Россия), уксусная кислота (СН₃СООН) (98%, «ос.ч.», «Реахим», Россия), трифторуксусная кислота (CF₃СООН) (99%,

«ос.ч.», «Реахим», Россия); диэтиламин (DEA), триэтиламин (TEA), трибутиламин (ТВА) (99%, «ос.ч.», «Acros Organics», США).

Фосфатный буферный раствор готовили растворением точных навесок дигидрофосфата аммония («ч.д.а.», «Реахим», Россия). Цитратный буферный раствор получали растворением точных навесок цитрата натрия («ч.д.а.», «Реахим», Россия).

В качестве аналитов использовали стандартные образцы и субстанции фармацевтического препарата левалбутерола гидрохлорида (субстанция 1 и субстанция 2), предоставленные ЗАО «Ф-Синтез». Исходные растворы (0,1–1,0 мг/мл) левалбутерола гидрохлорида (далее левалбутерол) готовили растворением точных навесок в ацетонитриле, метаноле, изопропанолу или воде.

В работе использовали жидкостной хроматограф «LC-20 Prominence» («Shimadzu», Япония) с диодно-матричным детектором «SPD-M20A» («Shimadzu», Япония). Сбор данных и обработку хроматограмм проводили с помощью программного обеспечения LC Solution фирмы «Shimadzu». Скорость подачи элюента составляла 1 мл/мин, объем петли дозатора 20 мкл, ввод пробы осуществляли шприцем объемом 100 мкл; $\lambda_{\text{макс}} = 270$ нм. Использовали коммерческие колонки: 1) Nautilus-E (250×4 мм) (ЗАО «Био-Хим-Мак», Россия), диаметр зерна сорбента 5 мкм; 2) Chirobiotic TAG (250×4,6 мм) («Supelco-Sigma-Aldrich», США), диаметр зерна сорбента 5 мкм. Значение pH водных растворов измеряли на рН-метре «pH-410» («Аквилон», Россия). Подвижную фазу перед использованием дегазировали на ультразвуковой ванне «Сапфир 6580» (рабочая ча-

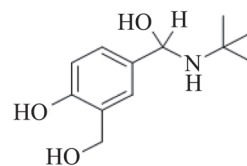


Рис. 1. Структура альбутерола

стота 35 кГц, мощность 60 Вт, НПФ «Сапфир», Россия) в течение 10 мин для снижения колебаний фонового сигнала и обеспечения нормальной работы насоса.

Результаты и их обсуждение

В работе изучали препарат левалбутерол, который является R-изомером альбутерола (рис. 1) и используется как бронхолитическое средство. Этот препарат применяют для профилактики и купирования бронхоспазма при бронхиальной астме, для симптоматического лечения бронхообструктивного синдрома (хронический бронхит, хроническая обструктивная болезнь легких и др.) и ночной астмы, а также для предупреждения преждевременных родов.

Разделение энантиомеров проводили на сорбентах, модифицированных антибиотиками – эремомицином, агликоном тейкопланина. Эремомицин содержит 18 хиральных центров, которые окружают три полости, образованные пятью ароматическими кольцами, кроме того, он содержит шестичленный кислородсодержащий цикл с гидрокси-, amino-, метилзаместителями («гидрофобный карман»), его молекулярная масса составляет 1540 г/моль (рис. 2) [6]. Агликон тейкопланина (производное тейкопланина) имеет молекулярную массу 1197 г/моль и содержит 8

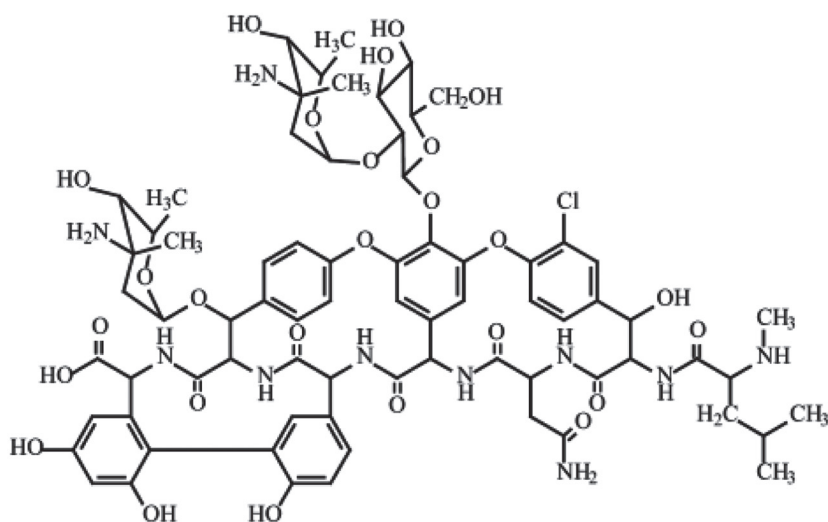


Рис. 2. Структура антибиотика эремомицина

хиральных центров. Агликон состоит из четырех слившихся макроциклических колец, образующих «полужесткую корзину» (рис. 3). Он имеет семь ароматических колец, два из которых содержат хлор в качестве заместителя, а четыре – ионизируемые фенольные фрагменты [3, 4].

Возможность разделения энантиомеров альбутерола исследовали в полярно-органическом (ПО) и обращенно-фазовом (ОФ) режимах на колонке Nautilus-E. В ОФ-режиме в качестве подвижной фазы использовали фосфатный (pH 5) и цитратный (pH 6) буферные растворы, а также органические растворители (метанол, ацетонитрил). Разделения энантиомеров альбутерола в ОФ-режиме достичь не удалось, вещество слабо удерживалось на колонке ($k' = 0,1 \div 0,4$), что не позволило разделить его энантиомеры.

Наличие сильных полярных групп в структуре макроциклических антибиотиков делает возможным использование подвижных фаз с содержанием метанола до 100%. В этом случае, чтобы повлиять на энантиоселективность разделения, используют добавку (кислота/основание) в подвижную фазу. Известно, что концентрация этой добавки влияет на удерживание полярных молекул и, кроме того, может увеличивать энантиоразделение слабо полярных молекул. Ключевым фактором для получения полного разделения является соотношение добавки кислота/основание. Каждая из антибиотиковых фаз имеет отличное от другой оптимальное соотношение состава добавки [3].

Энантиоразделения исследуемого препарата удалось добиться в ПО-режиме хроматографии. В качестве подвижной фазы использовали органические растворители (метанол, ацетонитрил) с добавками кислот (уксусная кислота, муравьиная кислота, трифторуксусная кислота)

и оснований (триэтиламин, трибутиламин, диэтиламин). В ПО-режиме исследовали влияние соотношения метанола и ацетонитрила в составе подвижной фазы на энантиоразделение (табл. 1). При варьировании природы органического растворителя выявили, что частичная замена метанола на ацетонитрил в составе подвижной фазы не влияет на разрешение пиков. В то же время такая замена влияет на удерживание веществ и селективность (они проходят через максимум), что позволяет оптимизировать условия анализа по времени, получая при этом хроматограммы с хорошим разрешением пиков. Максимальное разрешение пиков энантиомеров наблюдается при соотношении MeOH:ACN = 80:20.

Исследовано влияние концентрации амина и кислоты (в интервале 0,025–0,300%) на разрешение пиков энантиомеров (табл. 2). Разрешение пиков энантиомеров увеличивается при уменьшении концентрации кислоты и амина в составе подвижной фазы, поэтому в дальнейшем были использованы низкие концентрации добавок.

При варьировании природы кислоты и амина использовали следующие кислоты и амины: уксусная кислота, муравьиная кислота, трифторуксусная кислота, триэтиламин, трибутиламин, диэтиламин (табл. 3). Исследование показало, что наилучшее разделение пиков энантиомеров достигается при использовании триэтиламина и уксусной кислоты в качестве добавки в подвижную фазу.

На основании проведенных исследований лучшее разрешение пиков энантиомеров альбутерола на сорбенте, содержащем эремомицин получили для подвижной фазы MeOH:ACN:TEA:CH₃COOH (80:20:0,075:0,025). Для увеличения значения R_s снизили скорость подачи подвижной фазы с 1,0 до 0,5 мл/мин и достигли разрешения 1,0. Хромато-

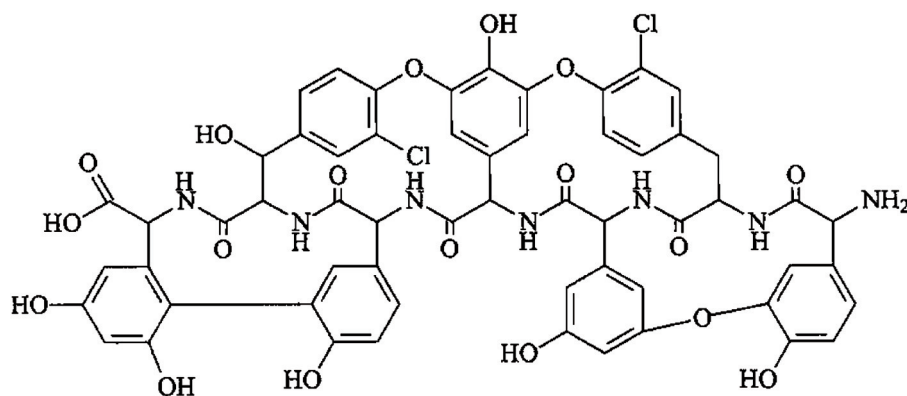


Рис. 3. Структура антибиотика агликона тейкопланина

Т а б л и ц а 1

Влияние соотношения MeOH:ACN в подвижной фазе на хроматографические параметры для левальбутерола (1) и S-альбутерола (2). Подвижная фаза – MeOH:ACN (0,05:0,05 TEA:CH₃COOH)

Соотношение ацетонитрил:метанол в подвижной фазе, об.%	<i>t'</i> , мин		<i>R_s</i>	α	<i>k'</i>	<i>N</i> , тт/м	
	1	2				1	2
0:100	2,6	3,1	1,1	1,2	1,23	10570	9080
5:95	2,9	3,4	1,1	1,2	1,38	7450	7020
10:90	5,5	6,0	1,1	1,1	2,62	11900	8630
20:80	3,0	4,3	1,2	1,4	1,43	9040	9090
30:70	2,6	5,1	1,1	2,0	1,24	11430	5850

О б о з н а ч е н и я: *t'* – исправленное время удерживания, *R_s* – разрешение (фактор разрешения), α – коэффициент селективности, *k'* – фактор емкости для первого энантиомера, *N* – число теоретических тарелок на метр.

Т а б л и ц а 2

Влияние соотношения TEA и CH₃COOH в подвижной фазе на хроматографические параметры левальбутерола (1) и S-альбутерола (2). Подвижная фаза – MeOH:ACN (80:20)

Добавка в подвижную фазу (TEA:CH ₃ COOH), об.%	<i>t'</i> , мин		<i>R_s</i>	α	<i>k'</i>	<i>N</i> , тт/м	
	1	2				1	2
0,05:0,05	3,4	4,3	1,2	1,3	1,62	9040	9090
0,1:0,1	6,2	6,8	1,1	1,1	2,95	7450	6820
0,1:0,2	6,2	6,8	0,9	1,1	2,95	6900	5830
0,1:0,3	6,3	6,8	0,6	1,1	3,00	5940	4090

Т а б л и ц а 3

Влияние природы кислоты и амина в составе подвижной фазы MeOH:ACN (80:20) на разделение энантиомеров альбутерола

Добавка в подвижную фазу, об.%	<i>t'</i> , мин		<i>R_s</i>
	1	2	
(0,025:0,025) TEA:CF ₃ COOH	1,17	1,29	0,3
(0,075:0,025) TEA:CF ₃ COOH	6,63	7,30	0,5
(0,025:0,025) TEA:HCOOH	1,37	1,51	0,3
(0,075:0,025) TEA:HCOOH	1,41	1,52	0,3
(0,025:0,025) TEA:CH ₃ COOH	4,31	5,82	0,8
(0,075:0,025) TEA:CH ₃ COOH	6,11	6,91	0,9
(0,025:0,025) TBA:CH ₃ COOH	4,26	–	0
(0,075:0,025) TBA:CH ₃ COOH	5,02	5,22	0,3
(0,025:0,025) DEA:CH ₃ COOH	2,96	–	0
(0,075:0,025) DEA:CH ₃ COOH	3,43	3,53	0,2

грамма смеси рацемической смеси представлена на рис. 4.

Сорбент, модифицированный эремомицином, не позволил добиться необходимого, согласно требованиям фармакопеи, разрешения пиков альбутерола ($R_s \geq 1,5$), поэтому исследование продолжили на сорбенте с агликоном тейкопланина.

Для разделения энантиомеров альбутерола использовали коммерческую колонку Chirobiotic TAG (250×4,6 мм, диаметр зерна сорбента 5 мкм). Разделение энантиомеров альбутерола проводили в ПО- и ОФ-режимах. Как и в предыдущем случае, разделения энантиомеров исследуемого препарата удалось добиться только в ПО-режиме хроматографии. В качестве подвижной фазы в ПО-режиме использовали органические растворители (метанол, ацетонитрил) с добавками уксусной кислоты и триэтиламина.

Для альбутерола разрабатывается фармакопейная статья (USP), в которой энантиоразделение проводят на силикагеле, модифицированном агликоном тейкопланина [8]. Предлагаемый для определения энантиомерной чистоты альбутерола состав подвижной фазы – MeOH:ACN:TEA:CH₃COOH. Условия, прописанные в USP, не позволили нам добиться необходимого разрешения пиков энантиомеров ($R_s = 1,1$), поэтому мы оптимизировали условия, уменьшив сначала содержание кислоты, а затем и амина в подвижной фазе до 0,05%, чтобы разрешение пиков было достаточным (табл. 4, рис. 5).

Разделения энантиомеров альбутерола удалось достичь на колонках как с эремомицином, так и с агликоном тейкопланина в полярно-органическом

режиме. Составы подвижных фаз для двух селекторов, при которых наблюдалось наилучшее разрешение, очень похожи. Это может объясняться тем, что и эремомицин и агликон тейкопланина содержат карбоксильные группы, первичные, вторичные амины и ароматические кольца, которые одинаково взаимодействуют с функциональными группами аналита. Более сильное удерживание и высокий фактор разрешения энантиомеров альбутерола на колонке Chirobiotic TAG связаны с большей доступностью ароматических колец в его структуре (по сравнению с эремомицином) и возможностью дополнительных специфических π-π-взаимодействий. Достаточно простая структура молекулы альбутерола позволяет беспрепятственно взаимодействовать хиральным центрам антибиотиков и анализируемого вещества, вероятно, поэтому небольшого количества хиральных центров на агликоне тейкопланина достаточно для энантиоразделения альбутерола, а ионизация препарата в ПО-режиме усиливает возможность энантиораспознавания.

На основании полученных результатов для определения энантиомерной чистоты фармацевтического препарата была выбрана колонка Chirobiotic TAG, содержащая в качестве хирального селектора агликон тейкопланина. Оптимальный состав подвижной фазы MeOH:ACN:TEA:CH₃COOH (90:10:0,5:0,5).

Для проверки пригодности хроматографической системы раствор альбутерола хроматографировали в выбранных условиях пять раз. Перед началом определения хроматографическую колонку промывали подвижной фазой до формирования

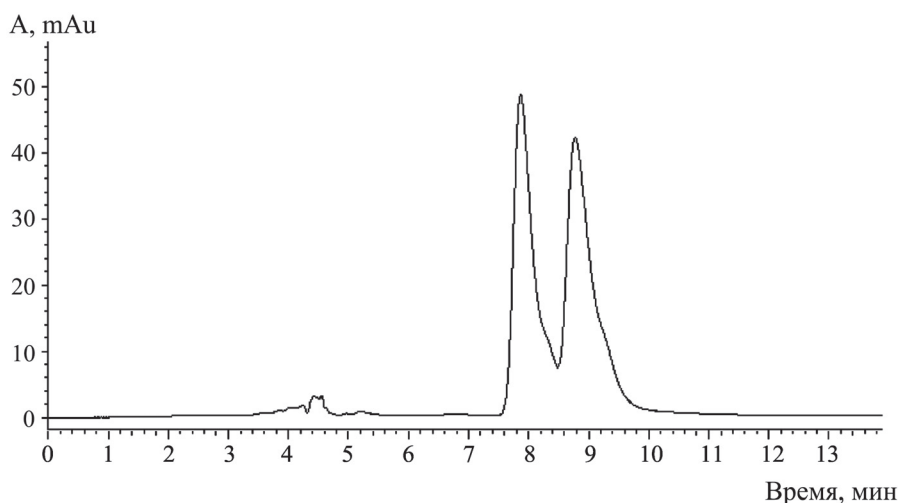


Рис. 4. Хроматограмма смеси энантиомеров альбутерола на колонке Nautilus E. Подвижная фаза – MeOH:ACN:TEA:CH₃COOH (80:20:0,075:0,025). Скорость потока 0,5 мл/мин; $\lambda_{\text{макс}} = 270$ нм, $R_s = 1,0$

Таблица 4

Влияние содержания кислоты и амина в составе подвижной фазы MeOH:ACN (90:10) на разделение энантимеров альбутерола

Добавка в подвижную фазу (TEA:CH ₃ COOH), об.%	<i>t'</i> , мин		<i>R_s</i>
	1	2	
0,1:0,3	31,93	32,83	1,1
0,1:0,2	32,10	32,95	1,1
0,1:0,1	32,14	33,12	1,3
0,1:0,05	32,07	33,34	1,6
0,05:0,05	29,08	31,59	1,7

стабильной базовой линии. Разрешение пиков левалбутерола и S-альбутерола 1,7. Эффективность хроматографической колонки (*N*) для пиков левалбутерола и S-альбутерола составила 10500 и 7300 теоретических тарелок соответственно. Относительное стандартное отклонение (*S_r*) для площади пиков левалбутерола и S-альбутерола составило соответственно 0,07 и 0,08 (по нормативной документации не более 20%) Фактор асимметрии (*A_s*) пиков левалбутерола и S-альбутерола составил соответственно 0,95 и 0,97.

В выбранных условиях получены хроматограммы ряда градуировочных растворов альбутерола и построена градуировочная зависимость площади пика левалбутерола от концентрации в смеси энантимеров (табл. 5). Предел обнаружения соединения, рассчитанный по отношению сигнал:фон = 3:1 составил 0,00002 мг/мл, что соответствует содержанию 0,1% S-формы по отно-

шению к общему количеству. Полученные характеристики показывают, что возможно определение и разделение энантимеров альбутерола с хорошей воспроизводимостью и чувствительностью. По требованиям фармакопейной статьи, содержание S-альбутерола в препарате не должно превышать 0,2% [8]. Полученные результаты позволили определить энантиомерную чистоту двух субстанций препарата левалбутерол.

Анализ метанольных растворов двух субстанций левалбутерола показал, что первый образец (субстанция 1) содержит 5,0±0,1% примеси S-альбутерола, что недопустимо по данным ФСП. Хроматограмма образца представлена на рис. 6, а. Второй образец (субстанция 2) не содержит примеси S-альбутерола (рис. 6, б), что дает право использовать его в качестве лекарственного препарата. Для проверки правильности результатов повторили определение S-альбутерола

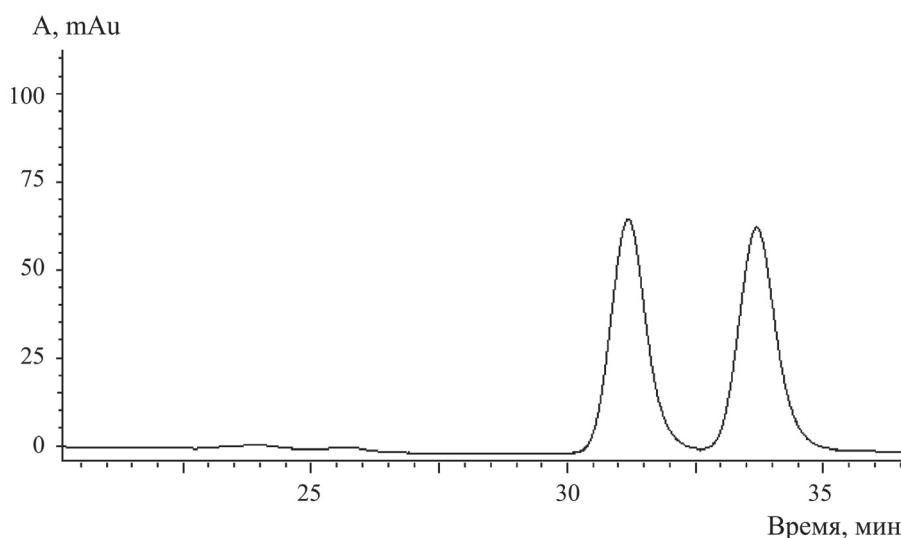


Рис. 5. Хроматограмма разделения энантимеров альбутерола на колонке Chirobiotic TAG. Подвижная фаза – MeOH:ACN:TEA:CH₃COOH (90:10:0,05:0,05), *R_s* = 1,72

Т а б л и ц а 5

**Метрологические характеристики хроматографического определения S-альбутерола
($n = 3$; $P = 0,95$)**

Диапазон определяемых концентраций S-альбутерола, мг/мл	Диапазон определяемого содержания S-альбутерола, %	Уравнение градуировочной зависимости	r	s_r
0,0003–0,01	0,1–5	$Y = (71 \pm 1) \times 10^5 X + (12 \pm 5) \times 10^4$	0,998	0,08

Т а б л и ц а 6

Определение содержания S-альбутерола в субстанции 2 методом градуировочного графика и методом добавок ($n = 3$; $P = 0,95$)

Вещество	Введенная концентрация, мкг/мл	Метод градуировочного графика		Метод добавок	
		c , мкг/мл	s_r	c , мкг/мл	s_r
S-альбутерол	0	0	0	–	–
	10	10 ± 1	0,08	9 ± 2	0,09

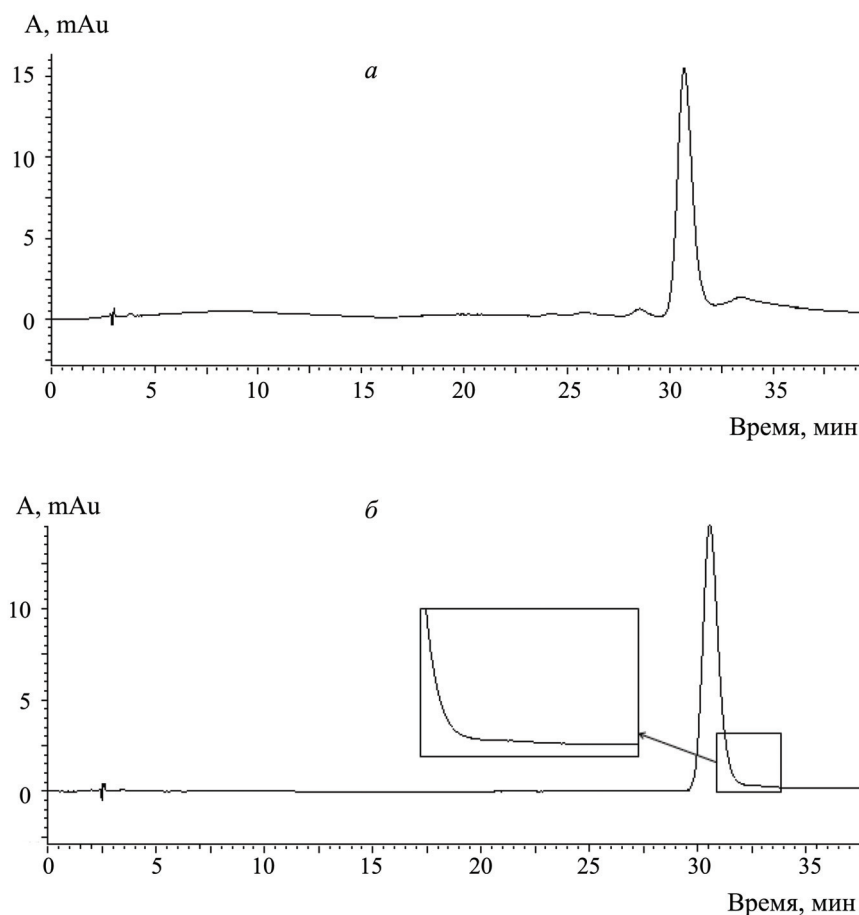


Рис. 6. Хроматограмма субстанции 1 (а) и субстанции 2 (б) левалбутерола на колонке Chirobiotic TAG. Подвижная фаза – MeOH:ACN:TEA:CH₃COOH (90:10:0,05:0,05)

методом добавок в тех же условиях. Были получены хроматограммы раствора препарата без добавок и с добавками S-альбутерола (5, 8, 10, 20, 30 мкг/мл). Результаты определения, полу-

ченные двумя методами (табл. 6), подтверждают правильность количественного определения.

Таким образом, исследовано влияние органического модификатора, природы и концентрации

амин и кислоты на разделение энантиомеров альбутерола на силикагеле, модифицированном эремимицином и агликоном тейкопланина. Показана возможность разделения энантиомеров альбутерола на сорбенте, модифицированном эримимицином, подвижная фаза – MeOH:ACN:TEA:CH₃COOH (80:20:0,075:0,025 об.%). Показано, что разделение энантиомеров альбутерола оптимально на сор-

бенте, модифицированном агликоном тейкопланина, подвижная фаза – MeOH:ACN:TEA:CH₃COOH (90:10:0,5:0,5 об.%). Установлены метрологические характеристики методики определения левалбутерола. Проведена оценка энантиомерной чистоты двух субстанций левалбутерола. В одной из субстанций левалбутерола обнаружено 5% S-энантиомера.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 15-03-05979а).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Пахомов В.П., Чеча О.А. // Ведомости научного центра экспертизы лекарственных средств медицинского применения. 2006. № 3. С. 38.
2. Василенко И.А., Лебедева М.В., Листров В.А. // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2015. Т. 10. № 1. С. 92.
3. Chirobiotic Handbook. Advanced Separation Technologies Inc. Whippany New Jersey, 1999.
4. Ward T.J., Farris A.B. // J. Chromatogr. A. 2001. Vol. 906. P. 73.
5. Armstrong D.W. // J. Chin. Chem. Soc. 1998. Vol. 45. P. 581.
6. Staroverov S.M., Kuznetsov M.A., Nesterenko P.N., Vasiarov G.G., Katrukha G.S., Fedorova G.B. // J. Chromatogr. A. 2006. Vol. 1108. P. 263.
7. Armstrong D.W., Tang Y.B., Chen S.S., Zhou Y.W., Bagwill C., Chen J.R. // Anal. Chem. 1994. Vol. 66. P. 1473.
8. The United States Pharmacopoeia. Official Monographs. The United States Pharmacopoeial Convention. 2014. Vol. 37. P. 3513.

Поступила в редакцию 12.09.16

DETERMINATION OF THE ENANTIOMERIC PURITY OF ALBUTEROL ON THE MACROCYCLIC GLYCOPEPTIDES BONDED PHASES

E.N. Shapovalova, I.A. Fedorova, A.A. Priporova, I.A. Ananieva*, O.A. Shpigun

(analytical chemistry division, *e-mail: irishan@mail.ru)

In this research, the separation of albuterol enantiomers on silica gel modified by macrocyclic glycopeptides (eremomycin – column Nautilus-E, BioChemMac, Russia and teicoplanin aglycone – column Chirobiotic TAG, Astec, USA) was investigated. Enantiomers of albuterol were separated on Nautilus-E and Chirobiotic TAG columns in polar-organic mode chromatography. The selectivity was higher on Chirobiotic TAG column ($R_s = 1.7$). The maximum resolution of enantiomers peaks (1.7) was obtained when mobile phase was methanol:acetonitrile:triethylamine:CH₃COOH (90:10:0.5:0.5). The detection limit of the compound, calculated by the signal / background ratio = 3:1 was 0.2 µg/ml, it correspond 0.10% S-enantiomer of total composition of drug. The content of S-albuterol is permitted at no greater than 0.2%. The determination of enantiomeric purity of the pharmaceutical substances was carried out.

Key words: macrocyclic glycopeptides, chiral selector, enantiomers, enantiomeric purity of the pharmaceutical substances.

Сведения об авторах: Шаповалова Елена Николаевна – доцент кафедры аналитической химии химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова, канд. хим. наук (shapovalova_e_n@mail.ru); Федорова Ирина Александровна – аспирант кафедры аналитической химии химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова (irinafedorova89@gmail.com); Припорова Александра Александровна – дипломник кафедры аналитической химии химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова (Aleksandra_priporova@rambler.ru); Ананьева Ирина Алексеевна – ст. науч. сотр. кафедры аналитической химии химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова (irishan@mail.ru); Шпигун Олег Алексеевич – зав. лабораторией хроматографии кафедры аналитической химии химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова, чл.-корр. РАН, докт. хим. наук, профессор (shpiguno@yandex.ru).