

УДК 543.51.543.54

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ АЗОТСОДЕРЖАЩИХ СОЕДИНЕНИЙ НА СИЛИКАГЕЛЕ, ДВУКРАТНО МОДИФИЦИРОВАННОМ 6,10-ИОНЕНОМ И СУЛЬФАТОМ ДЕКСТРАНА, МЕТОДОМ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ–ТАНДЕМНОЙ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ

© 2020 г. А. Н. Иоутси<sup>a, b</sup>, В. А. Иоутси<sup>b, c, \*</sup>, Е. Н. Шаповалова<sup>b</sup>, О. А. Шпигун<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Научный центр экспертизы средств медицинского применения  
Министерства здравоохранения Российской Федерации  
Петровский бульвар, 8, стр. 2, Москва, 127051 Россия

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

<sup>c</sup> Национальный медицинский центр эндокринологии Министерства здравоохранения Российской Федерации  
ул. Дмитрия Ульянова, 11, Москва, 117036 Россия

\*e-mail: freund-for-me@mail.ru

Поступила в редакцию 10.06.2019 г.

После доработки 17.07.2019 г.

Принята к публикации 29.01.2020 г.

Получен сорбент для ВЭЖХ – силикагель, послойно двукратно модифицированный 6,10-ионеном и сульфатом декстрана. Сорбент обладает как гидрофобными, так и гидрофильными и ионообменными свойствами (за счет наличия гидрофобных анионов и катионов на поверхности). Показана возможность применения полученного сорбента в методе ВЭЖХ с тандемным масс-спектрометрическим детектированием. Выбраны условия разделения кофеина, парацетамола, доксиламина и хлорфенирамина в изократическом режиме при элюировании смесями ацетонитрила и ацетатного буферного раствора. Наиболее успешных результатов удалось добиться при элюировании разделяемых веществ подвижной фазой: ацетонитрил–15 мМ ацетатный буферный раствор (ледяная уксусная кислота/ацетат аммония с рН 5.55 в соотношении 10 : 90, по объему). Выбраны условия градиентного элюирования, разработана методика определения следов фармпрепаратов в сыворотке крови человека в режиме мониторинга множественных реакций (multiple reaction monitoring, MRM) методом внутреннего стандарта. Параметры источника и MRM-переходов подбирали для каждого соединения индивидуально. Линейный диапазон градуировочного графика для парацетамола и кофеина составил 0.5–200 нг/мл, для доксиламина и хлорфенирамина – 0.05–50 нг/мл. Содержание фармакологически активных соединений кофеина, парацетамола, доксиламина и хлорфенирамина в сыворотке крови пациентов, принимавших соответствующие лекарственные препараты, составило 165.2, 17.3, 10.2, 35.3 нг/мл соответственно.

**Ключевые слова:** ВЭЖХ с детектированием тандемной масс-спектрометрией, модифицированные силикагели, бета-блокаторы, фенолкарбоновые кислоты, сульфат декстрана, ионен.

**DOI:** 10.31857/S0044450220070099

В связи с интенсивным развитием фармакологии возрастает потребность в определении фармакологически активных соединений. Их контроль важен не только в самих препаратах и субстанциях, но и непосредственно при производстве [1, 2]. В медицине все чаще становится необходимым определять следовые количества фармпрепаратов, перечень которых непрерывно растет, в биологических жидкостях. Наиболее успешно эта задача решается методом ВЭЖХ на полярных сорбентах смешанного типа, где реализуются как

гидрофобные, так и гидрофильные взаимодействия. В качестве таких сорбентов используют и силикагели, модифицирование различными полимерами [3–7], в том числе полисахаридами [8, 9]. Одним из достаточно простых способов модифицирования поверхности является послойное нанесение на нее полиэлектролитов, в том числе полисахаридов. Анионные полимеры хорошо зарекомендовали себя в электромиграционных методах для решения задач, связанных с разделением полярных соединений [10–12]. Нанесение раз-

личными способами полисахаридов, несущих отрицательный заряд, на внутреннюю поверхность капилляра приводило к повышению селективности разделения полярных органических соединений методом капиллярного электрофореза, улучшению воспроизводимости результатов [13].

В предыдущих работах [14, 15] нами установлено, что поверхность силикагеля, двукратно модифицированного 6,10-иононом и сульфатом декстрана (СД), обладает как гидрофобными, так и гидрофильными и ионообменными свойствами (за счет наличия гидрофобных анионов и катионов на поверхности). Такие полиэлектролитные сорбенты позволяют успешно разделять полярные органические вещества как кислотной, так и основной природы. Для определения низких содержаний веществ без предварительного концентрирования (по возможности в короткие сроки) необходимо очень чувствительное детектирование. В связи с этим представляет интерес применение предложенных нами сорбентов в варианте ВЭЖХ с тандемным масс-спектрометрическим детектированием (ВЭЖХ–МС/МС).

Биологические образцы представляют собой сложные смеси веществ с разными свойствами, которые могут разрушительно влиять на хроматографические колонки и источники ионизации. Их анализ целесообразно проводить в градиентном режиме элюирования, который предусматривает стадию очистки колонки после каждого анализа. Необходимо было проверить совместимость нового полиэлектролитного сорбента с чувствительным масс-спектрометрическим детектированием. Кроме того, следовало убедиться, что сорбент можно использовать в работе со сложными биологическими объектами.

Цель данной работы – показать возможность использования силикагеля, двукратно модифицированного 6,10-иононом и СД, в ВЭЖХ–МС/МС на примере определения кофеина, парацетамола, хлорфенирамина и доксиламина в сыворотке крови человека. Кофеин, парацетамол и хлорфенирамин входят в состав препарата “Гриппостад С”, доксиламин – в состав препарата “Донормил”.

### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В качестве матрицы сорбента использовали силикагель Kromasil 100–5-Sil (сферические частицы размером 5 мкм, площадь поверхности 300 м<sup>2</sup>/г, размер пор 100 Å, Ekachemicals, Швеция). Для синтеза сорбента использовали сульфат декстрана (молекулярная масса 15.0 кДа, Sigma-Aldrich, США); 6,10-ионен и 0.001 М раствор NaOH. 6,10-Ионен, синтезированный по реакции Меншуткина [14], имел элементный состав С – 46.26%, Н – 8.54%, N – 6.67% и молекулярную

массу 10.0 кДа. Для синтеза 6,10-ионена использовали N,N,N',N'-тетраметил-1,6-гександиамин и 1,10-дибромдекан (Sigma-Aldrich, США).

Для приготовления подвижных фаз (ПФ) использовали ацетонитрил (Panreac, Испания), деионизованную воду (Milli-Q, I class), ацетат аммония (Sigma-Aldrich, США), фосфатный буферный раствор (ФБ). Для приготовления ФБ точные навески твердых дигидрофосфата калия и тригидрата гидрофосфата калия (Реахим, Россия) растворяли в воде. Водную составляющую ПФ для исследования методом ВЭЖХ–МС/МС готовили путем растворения 385 мг ацетата аммония в воде с последующим доведением до значения рН 5.55 по рН-метру путем добавления ледяной уксусной кислоты (Sigma-Aldrich, США). Сыворотка крови человека была предоставлена НМИЦ Эндокринологии Минздрава РФ.

Исходные растворы парацетамола, хлорфенирамина, доксиламина, кофеина (Sigma-Aldrich, США) с концентрацией 1 мг/мл готовили растворением точной навески в воде с последующим разбавлением до необходимой концентрации. Градуировочные образцы сыворотки крови готовили путем добавления 10 мкл концентрированных водных растворов определяемых соединений в 990 мкл сыворотки крови людей, не принимавших препараты, содержащие кофеина, парацетамола, хлорфенирамина и доксиламина.

**Оборудование.** Использовали жидкостной хроматограф LC-20 (Shimadzu, Япония) со спектрофотометрическим детектором SPD-10AV (детектирование проводили при 235 нм) и насосом LC-10AT. Информацию обрабатывали с помощью программы LC Solution. Объем петли-дозатора 20 мкл.

Для исследований методом ВЭЖХ–МС/МС использовали жидкостной хроматограф Agilent 1200 (Agilent, США), оснащенный дегазатором, четырехканальным насосом с градиентным смесителем низкого давления, автоматическим дозатором с петлей объемом 100 мкл и термостатом колонок. Расход элюента 1.0 мл/мин, объем пробы 5 мкл, температура колонки 25 ± 0.5°C. Детектировали с помощью масс-спектрометра AB Sciex QTrap 5500 (AB Sciex, Канада), оснащенного источником ионизации Turbo V (в режиме ионизации электрораспылением) с Т-образным переходником и встроенным шприцевым насосом. Параметры источника в режиме MRM (multiple reaction monitoring) и MRM-переходов подбирали для каждого соединения индивидуально. Сбор данных и обработку хроматограмм проводили с помощью программного обеспечения Analyst 1.6.2.

Использовали центрифугу 5415R (Eppendorf, Германия), для вакуумного концентрирования – вакуумную центрифугу Christ RVC 2-25 CDplus (Martin Christ, Германия).

**Синтез сорбента.** Силикагель Kromasil 100-5-Sil массой 2.80 г активировали 0.001 М раствором NaOH, затем 2 раза промывали водой. Активированную поверхность силикагеля обрабатывали 40 мл раствора 6,10-ионена (0.07 г/мл) в течение 20 мин при 60°C в ультразвуковой (УЗ) ванне. Раствор оставляли на сутки, затем 2 раза промывали водой. Полученный сорбент обрабатывали раствором СД (12.5 мг/мл), перемешивая в механическом смесителе 40 мин. Полученную смесь оставляли на ночь, после чего повторяли процедуру нанесения 6,10-ионена и СД по данной методике.

Синтезированным сорбентом заполняли стальную колонку размером 100 × 4.6 мм при помощи насоса Клауег К-1900 под давлением 300–350 бар суспензионным методом. Для этого навеску сорбента вносили в 20 мл растворителя и гомогенизировали полученную суспензию в УЗ-ванне в течение 2 мин, затем заполняли колонку.

**Пробоподготовка.** К аликвоте сыворотки крови (300 мкл) добавляли 50 мкл внутреннего стандарта (фенацетин, водно-метанольный раствор 90 : 10, по объему, 100 нг/мл). После этого добавляли 650 мкл ацетонитрила. Полученную смесь центрифугировали при 4°C со скоростью 13200 об./мин в течение 10 мин. 900 мкл надосадочного раствора помещали в вакуумную центрифугу и высушивали при 1400 об./мин при 45°C в течение 1.5 ч. Полученный остаток растворяли в 900 мкл ПФ в УЗ-ванне, затем центрифугировали от нерастворимого осадка в течение 5 мин при 13200 об./мин. Полученный раствор использовали непосредственно для хроматографического определения.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В работе [15] изучено влияния состава ПФ (природы и содержания органического модификатора, концентрации и рН буферного раствора) на хроматографическое поведение ряда азотсодержащих фармакологически активных веществ, в том числе кофеина хлорфенирамина и доксил-амина, и показано, что лучшая селективность и эффективность разделения в изократическом режиме достигается при элюировании смесью 15 мМ фосфатного или цитратного буферного раствора (рН 6.5) и ацетонитрила (95 : 5, по объему). Мы скорректировали эти условия с поправкой на масс-спектрометрическое детектирование. Для обеспечения нормального функционирования источника ионизации электрораспылением использование солевых буферных растворов на основе нелетучих солей нежелательно. Для предотвращения его быстрого загрязнения в качестве буферного раствора использовали 5 мМ раствор ацетата аммония, подкисленного уксусной кислотой до рН 5.55. Наиболее успешных результа-

тов удалось добиться при элюировании разделяемых веществ ПФ ацетонитрил–15 мМ ацетатный буферный раствор (ледяная уксусная кислота/ацетат аммония) с рН 5.55 (10 : 90, по объему).

**Выбор условий масс-спектрометрического детектирования** проводили путем прямого ввода шприцевом раствора каждого из определяемых компонентов через Т-образный переходник в поток элюента (1 мл/мин), подаваемый непосредственно в источник ионизации. Для каждого компонента записывали масс-спектр и определяли параметры источника ионизации для достижения наибольшей интенсивности основного иона. Основными параметрами в данном случае были потоки газа-распылителя (gas 1, **GS1**) (очищенный воздух), турбо-газа (gas 2, **GS2**) (очищенный воздух) и газа-завесы (curtain gas, **CUR**) (сверхчистый азот), а также температура турбо-газа (temperature, **TEM**) и потенциал на капилляре источника. В результате варьирования указанных выше параметров установили, что наиболее удачными являются следующие значения: давление газа-распылителя 50 psi (3.45 бар), турбо-газа 70 psi (4.83 бар), температура турбо-газа 600°C, потенциал на капилляре 5.5 кВ.

Выбранные условия ионизации использовали для подбора MRM-переходов и параметров ионной оптики. MRM-переходы подбирали путем анализа масс-спектров фрагментных ионов протонированных молекул аналитов ( $[M + H]^+$ ) посредством изменения энергии соударений (collision energy, **CE**) в диапазоне 5–100 В с шагом 1 В в ходе записи масс-спектра. Из полученных массивов данных выбирали энергии соударений, при которых наиболее характерные ионы имели наибольшую интенсивность. Аналогичным образом подбирали потенциалы декластеризации (declustering potential, **DP**, диапазон сканирования 20–200 В), потенциалы входа в первый квадруполь Q1 (entrance potential, **EP**, диапазон сканирования 2–15 В) и выхода из ячейки соударений (collision cell exit potential, **CXP**, диапазон сканирования 1–55 В). Оптимизированные значения приведены в табл. 1.

**Определение азотсодержащих соединений** проводили методом внутреннего стандарта (рис. 1, табл. 2) с построением градуировочного графика. Для этого строили градуировочную зависимость в координатах отношение площадей пиков фармпрепарата и внутреннего стандарта–концентрация фармпрепарата. Данную процедуру повторяли на 5 образцах сыворотки крови. Концентрации градуировочных растворов лежали в диапазоне 0.05–250 нг/мл для всех определяемых соединений. Линейный диапазон градуировочного графика для определяемых соединений составил 0.5–200 нг/мл. Уравнения градуировочных зависимостей имеют вид:  $y = (141 \pm 6) \times 10^{-4} x + 80 \times 10^{-4}$  ( $R^2 = 0.999$ ) для кофеина,  $y = (299 \pm 9) \times 10^{-4} x +$

**Таблица 1.** Параметры переходов в режиме мониторинга множественных реакций (MRM-переходов)

Соединение	Q1	Q3	CE, В	DP, В	EP, В	СХР, В
Кофеин 1	195.1	138.1	27	106	11	16
Кофеин 2	195.1	110.0	33	106	11	13
Парацетамол 1	152.1	110.0	23	75	11	13
Парацетамол 2	152.1	93.0	31	75	11	11
Доксиламин 1	271.2	167.1	52	64	10	20
Доксиламин 2	271.2	182.1	25	64	10	21
Хлорфенирамин 1	275.2	230.2	25	70	10	27
Хлорфенирамин 2	275.2	167.2	55	70	10	20
Фенацетин (внутренний стандарт)	180.1	110.1	27	81	10	14

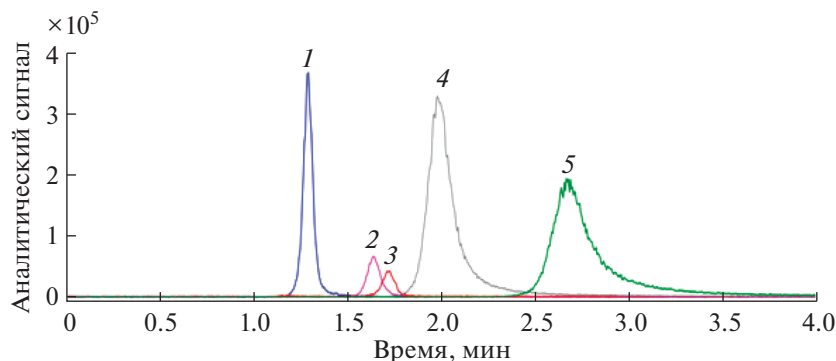
$+ 22 \times 10^{-4}$  ( $R^2 = 0.999$ ) для парацетамола,  $y = (908 \pm 13) \times 10^{-3} x$  ( $R^2 = 0.998$ ) для доксиламина,  $y = (215 \pm 11) \times 10^{-3} x$  ( $R^2 = 0.999$ ) для хлорфенирамина. Содержание фармпрепаратов в сыворотке крови составило 164.5, 18.5, 10.4, 36.4 нг/мл для кофеина, парацетамола, доксиламина и хлорфенирамина соответственно.

Биологические образцы представляют собой сложные смеси веществ с разными свойствами и, следовательно, различными параметрами удерживания как на полярных, так и на неполярных сорбентах. Они могут разрушительно влиять на хроматографические колонки и источники ионизации. В связи с этим целевые компоненты целесообразно разделять в градиентном режиме элюирования, который предусматривает стадию очистки колонки после каждого анализа.

В качестве основы для выбора градиентного режима элюирования использовали данные по разделению в изократическом режиме. В предыдущих работах мы достаточно подробно обсуждали механизм удерживания азотсодержащих фармакологически активных соединений на силикагеле,

двукратно модифицированном 6,10-иононом и СД [15, 16]. Это сорбент смешанного типа, где в механизме удерживания преобладают гидрофобные и гидрофильные взаимодействия сорбат–сорбент, присутствуют также адсорбционные и неспецифические взаимодействия.

Что касается кофеина, то ввиду высокого значения  $pK_a$  14 он находится преимущественно в нейтральной форме. В его структурной формуле отсутствует бензольное кольцо и есть пуриновое. Таким образом, адсорбционные и неспецифические взаимодействия с поверхностью сорбента практически или полностью отсутствуют. Кофеин элюируется первым практически с мертвым временем колонки. В структурных формулах остальных определяемых компонентов имеются основной атом азота и фенольные кольца. Парацетамол (9.38), хлорфенирамин (9.30) и доксиламин (8.68) в растворе присутствуют при pH 5.5 преимущественно в протонированной форме (в скобках указаны значения  $pK_a$  наиболее основных атомов азота), потому элюируются довольно быстро и разделение их пиков в таких условиях представляется непростой задачей. Па-



**Рис. 1.** Хроматограмма разделения азотсодержащих фармпрепаратов в сыворотке крови человека на силикагеле, двукратно модифицированном 6,10-иононом и сульфатом декстрана. 1 — кофеин, 2 — фенацетин (внутренний стандарт), 3 — парацетамол, 4 — доксиламин, 5 — хлорфенирамин. ПФ — ацетонитрил–15 мМ ацетатный буферный раствор с pH 5.55 (10 : 90, по объему), расход ПФ 1 мл/мин.

рацетамол из всех исследуемых соединений обладает самой простой структурой с пространственной точки зрения и довольно низким параметром гидрофобности Ханша — 0.34. В условиях pH 5–6 он существует в нейтральной форме, атом азота в его амидной группе не способен к протонированию. Поэтому, возможно, он элюируется с колонки значительно быстрее хлорфенирамина и доксиламина. Установлено, что в механизм удерживания таких гидрофобных и аналогичных по структурной формуле веществ наибольший вклад вносят гидрофобные взаимодействия сорбат–сорбент. В связи с этим происходит существенное уширение пиков доксиламина и хлорфенирамина при уменьшении содержания ацетонитрила в ПФ. Однако при более высоком параметре гидрофобности Ханша доксиламин (4.01) удерживается слабее хлорфенирамина (3.39), т.е. в удерживании на сорбенте данных компонентов участвуют и гидрофильные взаимодействия сорбат–сорбент.

Предварительное разделение проводили при низком содержании органического растворителя в ПФ. Для увеличения разрешения пиков таких компонентов на хроматограмме предложено повысить содержание органического растворителя в ПФ к моменту разделения кофеина и парацетамола. Путем варьирования содержания ацетонитрила в ПФ установлено, что лучшие результаты получаются при повышении содержания ацетонитрила с 10 до 55% во временном интервале от 0.5 до 1.5 мин с последующим его возвращением к исходному составу с 4 по 5 мин и уравниванием колонки с 5 по 7 мин (рис. 2).

Линейный диапазон градуировочного графика для парацетамола и кофеина составил 0.5–200 нг/мл, для доксиламина и хлорфенирамина — 0.05–50 нг/мл. Уравнения градуировочных зависимостей имеют вид:  $y = (26.1 \pm 0.8) \times 10^{-4}x +$

**Таблица 2.** Результаты определения кофеина, парацетамола, доксиламина и хлорфенирамина в сыворотке крови человека методом ВЭЖХ–МС/МС в изократическом режиме ( $n = 5$ ,  $P = 0.95$ )

Фармпрепарат	$c$ , нг/мл	$s_r$	$c_H$ , нг/мл	$c_{min}$ , нг/мл
Кофеин	$164 \pm 3$	0.006	1.5	0.5
Парацетамол	$18.5 \pm 0.8$	0.028	1.5	0.5
Доксиламин	$10.4 \pm 0.4$	0.027	0.9	0.3
Хлорфенирамин	$36.4 \pm 0.4$	0.007	0.3	0.1

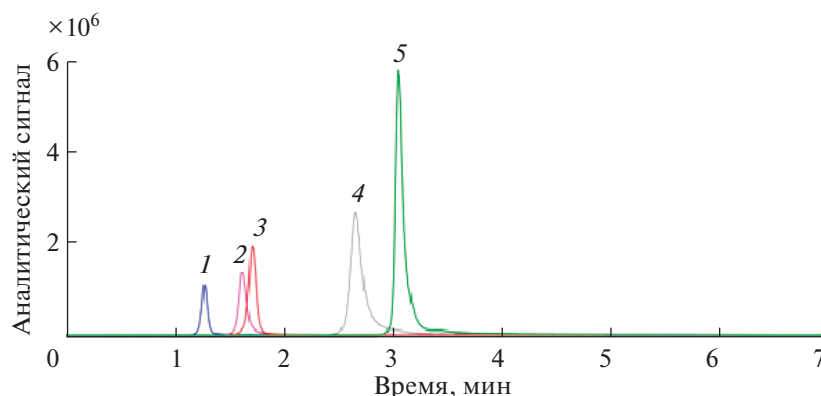
Примечание:  $c_H$  — предел количественного определения,  $c_{min}$  — предел обнаружения.

**Таблица 3.** Результаты определения кофеина, парацетамола, доксиламина и хлорфенирамина в сыворотке крови человека методом ВЭЖХ–МС/МС в градиентном режиме элюирования ( $n = 5$ ,  $P = 0.95$ )

Фармпрепарат	$c$ , нг/мл	$s_r$	$c_H$ , нг/мл	$c_{min}$ , нг/мл
Кофеин	$165 \pm 2$	0.009	1.5	0.5
Парацетамол	$17.3 \pm 0.3$	0.012	1.5	0.5
Доксиламин	$10.2 \pm 0.3$	0.021	0.05	0.017
Хлорфенирамин	$35.3 \pm 2.0$	0.003	0.05	0.017

Примечание:  $c_H$  — предел количественного определения,  $c_{min}$  — предел обнаружения.

$+ 1.8 \times 10^{-5}$  ( $R^2 = 0.999$ ) для кофеина,  $y = (62.1 \pm \pm 0.9) \times 10^{-4}x + 12.2 \times 10^{-4}$  ( $R^2 = 0.999$ ) для парацетамола,  $y = (577 \pm 6) \times 10^{-4}x$  ( $R^2 = 0.998$ ) для доксиламина,  $y = (941 \pm 5) \times 10^{-4}x$  ( $R^2 = 0.999$ ) для хлорфенирамина. Содержание фармакологически активных соединений в сыворотке крови пациентов, принимавших соответствующие лекарственные препараты, приведено в табл. 3. Подобранный режим градиентного элюирования на синтезированном сорбенте позволил значитель-



**Рис. 2.** Хроматограмма разделения азотсодержащих фармпрепаратов в сыворотке крови человека на силикагеле, двукратно модифицированном 6,10-иононом и сульфатом декстрана, в градиентном режиме элюирования. 1 — кофеин, 2 — фенацетин (внутренний стандарт), 3 — парацетамол, 4 — доксиламин, 5 — хлорфенирамин.

но снизить предел обнаружения некоторых исследуемых соединений (до 17 пг/мл для хлорфенирамина) и повысить воспроизводимость результатов.

\* \* \*

Таким образом, полученный силикагель, двукратно модифицированный 6,10-иононом и сульфатом декстрана, можно рекомендовать для решения сложных задач определения низких концентраций полярных азотсодержащих органических соединений в сложных биологических и природных объектах методом ВЭЖХ–МС/МС. Можно прогнозировать использование данного сорбента в других областях аналитической химии для определения иных классов полярных органических соединений, например фенолкарбоновых кислот, методом ВЭЖХ–МС/МС.

*Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ "НЦЭСМП" Минздрава России № 056-00154-19-00 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР АААА-А18-118021590049-0).*

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Milenović D.M., Todorović Z.B.* Development and validation of a high-performance liquid chromatographic method for analysis of nimesulide residues on manufacturing equipment surfaces // *Acta Chromatogr.* 2009. V. 21. № 4. P. 603.
2. *Sowjanya P., Vijaya Lakshmi M., Lakshmi Prasanna M., Buchi N. Nalluri* Development and Validation of RP-HPLC Method for the estimation of duloxetine hydrochloride in bulk and pharmaceutical dosage forms // *J. Chem. Pharm. Res.* 2017. V. 9. № 7. P. 105.
3. *Alpert A.J., Shukla M., Ashok K.S., Shukla A.K., Zieske L.R., Yuen S.W., Ferguson M.A., Mehlert A., Pauly M., Orlando R.* Hydrophilic-interaction chromatography of complex carbohydrates // *J. Chromatogr. A.* 1994. V. 676. P. 191.
4. *Jandera P.* Stationary and mobile phases in hydrophilic interaction chromatography: A review // *Anal. Chim. Acta.* 2011. V. 692. № 1. P. 1.
5. *Shen A., Guo Z., Liang X.* Development and application of hydrophilic interaction liquid chromatographic stationary phases // *Progr. Chem.* 2014. V. 26. P. 10.
6. *Liu M., Chen E. X., Ji R., David S.* Stability-indication hydrophilic interaction liquid chromatography method for highly polar and basic compounds // *J. Chromatogr. A.* 2008. V. 1188. P. 255.
7. *Shen J., Ikai T., Okamoto Y.* Synthesis and application of immobilized polysaccharide-based chiral stationary phases for enantioseparation by high-performance liquid chromatography // *J. Chromatogr. A.* 2014. V. 1363. P. 51.
8. *Padivitage N.L.T., Armstrong D.W.* Sulfonated cyclofructan 6 based stationary phase for hydrophilic interaction chromatography // *J. Sep. Sci.* 2011. V. 34. № 14. P. 1636.
9. *Ding, P., Chang, B., Qing, G., Sun T.* New approach for chiral separation: from polysaccharide-based materials to chirality-responsive polymers // *Sci. China Chem.* 2014. V. 57. P. 1492.
10. *Nehmé R., Perrin C., Cottet H., Blanchin M.-D., Fabre H.* Stability of capillaries coated with highly charged polyelectrolyte monolayers and multilayers under various analytical conditions – application to protein analysis // *J. Chromatogr. A.* 2011. V. 1218. P. 3537.
11. *Liu C., Kang J.* Improved capillary electrophoresis frontal analysis by dynamically coating the capillary with polyelectrolyte multilayers // *J. Chromatogr. A.* 2012. V. 1238. P. 146.
12. *Kihm Z.D., Veen E.M., Bergen-Hartigan J.D., Zhang Y., Li Y.* Modification of electroosmotic flow for a polydimethylsiloxane electrophoresis microchip via polyelectrolyte coating // *Anal. Sci.* 2012. V.28. P. 183.
13. *Ioutsy A., Shapovalova E., Prokhorova A., Shpigun O.* Layer-by-Layer assembly of polysaccharides and 6,10-ionene for separation of nitrogen-containing pharmaceuticals and their enantio-recognition by capillary electrophoresis // *J. Chem.* 2015. <https://dx.doi.org/10.1155/2015/836076> (11.03.2019)
14. *Abboud J.L.-M., Notario R., Bertran J., Sola M.* Progress in Physical Organic Chemistry. N.Y.: Wiley Online Library, 1993. 182 p.
15. *Иоутси А.Н., Шановалова Е.Н., Иоутси В.А., Мажуга А.Г., Шнигун О.А.* Разделение фармакологически активных азотсодержащих соединений на силикагелях, модифицированных 6,10-иононом, сульфатом декстрана и наночастицами золота // *Журн. физ. химии.* 2017. Т. 91. № 12. С. 2115. (*Ioutsy A.N., Shapovalova E.N., Ioutsy V.A., Mazhuga A.G., Shpigun O.A.* Separation of pharmacologically active nitrogen-containing compounds on silica gels modified with 6,10-ionene, dextran sulfate, and gold nanoparticles // *Russ. J. Phys. Chem. A.* 2017. V. 91. № 12. P. 2431.)
16. *Иоутси А.Н.* Разделение полярных соединений капиллярным электрофорезом и ВЭЖХ на материалах, послойно модифицированных поликатионами и полианионами. Дис. ... канд. хим. наук. М.: МГУ, 2015. 207 с.