



УДК 544.726; 547.466.1

## Сорбция треонилтреонина и треонина ионообменными сорбентами

Куваева З.И., Каранкевич Е.Г., Рудаковская Е.Б., Булыга Д.М.

*Институт физико-органической химии Национальной академии наук Беларуси, Минск*

Поступила в редакцию 23.05.2016 г.

Изучена сорбция дипептида треонилтреонина и треонина катионитом КУ-2-8 и анионитом АВ-17. Установлено, что сорбция дипептида на АВ-17 выше по сравнению с аминокислотой при равновесной концентрации  $<200$  ммоль/дм<sup>3</sup>. В случае использования КУ-2-8 с ростом равновесной концентрации для треонина наблюдается сверхэквивалентная сорбция. На АВ-17 изучена сорбция треонилтреонина и треонина при их совместном присутствии из растворов с разным мольным соотношением компонентов. Рассчитанные коэффициенты разделения указывают на возможность использования АВ-17 для очистки дипептида от примесей аминокислоты.

**Ключевые слова:** треонилтреонин, треонин, сорбция, ионообменные сорбенты, коэффициент разделения.

## Sorbition of threonilthreonine and threonine by ion exchange sorbents

Kuvaeva Z.I., Karankevich E.G., Rudakovskaya E.B., Bulyga D.M.

*The Institute of Physical Organic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk*

Sorbition of threonilthreonine dipeptide (Thr-Thr) and its monomeric amino acid threonine (Thr) on ion exchange sorbents from individual and two-component solutions was studied in order to obtain data that can be used for the development of their separation method.

It was found that the sorbition of Thr-Thr on AV-17 and KU-2-8 is higher than that of Thr. In case of KU-2-8 with the increasing equilibrium concentration ( $>20$  mmol/l) the content of dipeptide in the sorbent phase remains constant, in case of threonine - extra-equivalent sorbition is observed. IR-spectroscopic studies of KU-2-8, comprising of Thr, showed the presence of intense absorption bands typical for dissociated ( $1600$  cm<sup>-1</sup>) and undissociated carboxyl group ( $1738$  cm<sup>-1</sup>), which may indicate the sorbat-sorbent interaction. It was shown that in case of Thr-Thr sorption at KU-2-8 there are no absorption bands of carboxylate-ion.

Sorbition of Thr-Thr and Thr by anion exchanger AV-17 from the two-component solutions with different molar ratio of the components was studied. There was revealed an increase of dipeptide sorbition in the presence of Thr and inhibition of amino acids sorbition compared to the sorbition from individual solutions. Separation coefficients were calculated. The data obtained indicate the possibility of Thr-Thr and Thr separation from their mixtures. It can be useful for the purification of the dipeptide from the amino acid impurities.

**Keywords:** threonilthreonine, threonine, sorbition, ion exchange sorbents, separation coefficient.

### Введение

Биологическая активность пептидов определяет их востребованность в качестве активных компонентов для создания лекарственных препаратов. Доказано, что низкомолекулярные пептиды оказывают выраженное нейротропное, иммуномодули-

рующее, противоастеническое и др. действия на организм, при этом лекарства, создаваемые на основе пептидов не токсичны и случаи передозировки неизвестны [1].

В настоящее время пептиды для фармацевтической промышленности в основном получают с использованием направленного пептидного синтеза, в ходе которого достигаются высокие выходы, в сравнении с выделением пептидов из растительного сырья и гидролизатов. Однако следует учитывать, что кроме пептида в среде органического синтеза присутствуют некоторые количества как исходных, так и промежуточных соединений, поэтому для получения пептидов фармакопейной чистоты необходимыми стадиями являются их выделение из реакционной среды и последующая очистка. Присутствие в образцах препаратов близких по структуре и свойствам индивидуальных веществ в значительной степени осложняет процесс очистки [2].

Имеющиеся литературные данные по выделению и очистке пептидов из растворов органического синтеза малочисленны. В работе [3] для разделения пептидов и аминокислот авторы предлагают использовать ионообменную хроматографию на анионитах IRA-900 и Sephadex, в качестве элюента предложено применять под высоким давлением водный раствор диоксида углерода. Авторы статьи [4] сообщают о применении для очистки гистидинсодержащих пептидов химически модифицированных декстранов в комбинации с ультрафильтрационной очисткой. Имеются сведения об использовании импрегнированных жидких мембран для разделения ди- и трипептидов. Авторами работы [5] описано использование для очистки пептидов электромембранной экстракции (сила тока  $<50 \mu\text{A}$ ) на импрегнированных жидких мембранах с ди-(2-этигексил)фосфатом, растворенным в органических растворителях. В статье [6] приведены данные о выделении дипептида Leu-Phe на импрегнированных жидких мембранах, содержащих 20% раствор Aliquat 336 в диэтилгексилловом эфире, с выходом, не превышающим 69%.

Широкое распространение получили сорбционные методы выделения и очистки веществ пептидной природы с использованием ионообменных сорбентов [7]. Эти методы просты в использовании, экономичны и пригодны для получения высокоочищенных субстанций. Пептиды, подобно аминокислотам, проявляют амфотерные свойства и в растворах, в зависимости от pH среды, находятся в катионной, анионной и цвиттерионной формах. Для их извлечения могут быть использованы как анионообменные сорбенты, так и катионообменные. Использование сорбционных методов позволяет проводить тонкую очистку веществ, имеющих подобные функциональные группы [8, 9].

В настоящем исследовании изучена сорбция дипептида треонилтреонина (Thr-Thr) и сопутствующей при синтезе дипептида аминокислоты треонина (Thr) на ионитах. Цель представленной работы – определение возможности разделения Thr-Thr и Thr с использованием ионообменных сорбентов.

## Эксперимент

В качестве ионообменных смол были использованы катионит КУ-2-8 в  $\text{H}^+$ -форме и анионит АВ-17 в  $\text{OH}^-$ -форме. Подготовку ионитов к работе и определение обменной емкости ионитов проводили по стандартным методикам [10]. Обменная емкость анионита АВ-17 по  $\text{Cl}^-$ -иону составила 3.4 мг-экв/г, катионита КУ-2-8 по иону  $\text{Na}^+$  – 4.5 мг-экв/г.

В работе была использована аминокислота Thr производства Sigma-Aldrich, степень чистоты 99.5%, дипептид Thr-Thr производства ИФОХ НАН Беларуси, сте-

пень чистоты 99.7%. Чистота образцов Thr и Thr-Thr была подтверждена методом ВЭЖХ.

Изучение сорбции проводили из модельных растворов заданной концентрации при температуре  $20 \pm 0.5^\circ\text{C}$ . В сосуд с притертой пробкой вносили точную навеску ионита (200 мг) и добавляли  $20 \text{ см}^3$  либо индивидуального раствора определенной концентрации Thr-Thr, Thr или двухкомпонентного раствора, содержащего дипептид и аминокислоту в следующих мольных соотношениях Thr/Thr-Thr – 1/1.2; 1/4.7; 1/10.6. Систему периодически перемешивали. По истечении 48 часов – времени, достаточного для достижения равновесия, отбирали пробу на анализ. Сорбционную емкость ионитов по треонину определяли в аналогичных условиях, концентрация аминокислоты в растворе составляла  $1.4 \text{ моль/дм}^3$ .

Определение количества дипептида Thr-Thr и аминокислоты Thr проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии на приборе «Agilent 1100 Series» (колонка – Zorbax Eclipse Plus C18,  $150 \times 4.6$  с размером частиц 3.5). Предколоночная дериватизация образцов проводилась с помощью автосамплера с использованием орто-фталевого диальдегида. Регистрацию производных осуществляли на диодно-матричном детекторе при длине волны 338 нм в режиме градиентного элюирования. Производные треонилтреонина детектируются двумя пиками. Вид хроматограммы смеси Thr и Thr-Thr приведен на рис. 1.

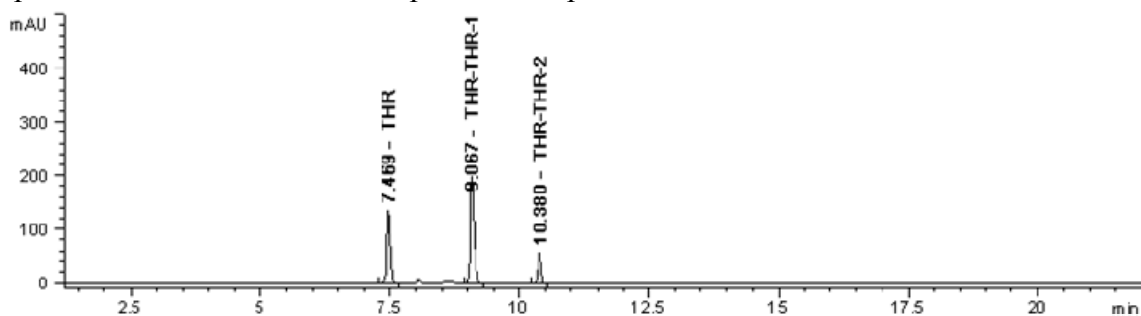


Рис. 1. Хроматограмма двухкомпонентного раствора Thr и Thr-Thr.

Для количественной оценки сорбции в статических условиях рассчитывали концентрацию вещества в ионите ( $\bar{C}$ ) в ммоль/г сухого ионита, согласно формуле:

$$\bar{C} = \frac{(C_{исх} - C_p) \cdot V}{m},$$

где  $C_{исх}$ ,  $C_{равн}$  – соответственно концентрация в исходном и равновесном растворе дипептида или треонина ( $\text{ммоль/дм}^3$ );  $V$  – объем раствора ( $\text{дм}^3$ );  $m$  – масса сухого ионита (г).

ИК-спектры записывали на ИК Фурье спектрофотометре «Protege 460» фирмы «Nicolet» (США). Образцы ионита с дипептидом (или аминокислотой) после фильтрации высушивали до постоянной массы при температуре  $60^\circ\text{C}$  и давлении 0.1 МПа, растирали и прессовали с KBr.

## Обсуждение результатов

Сорбция из индивидуальных растворов. Сорбцию дипептида треонилтреонина и его мономера – аминокислоты треонин проводили из нейтральных растворов pH~6, в которых аминокислота и дипептид находятся практически полностью в цвиттерионной форме [11]. Изменения значений pH исходных и равновесных рас-

творов в ходе экспериментов составили  $\pm 0.1$  единицы. Изотермы сорбции приведены на рисунке 2.

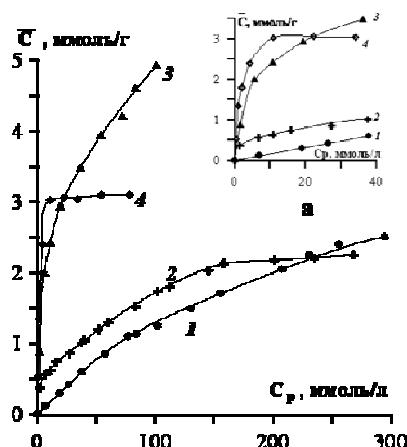
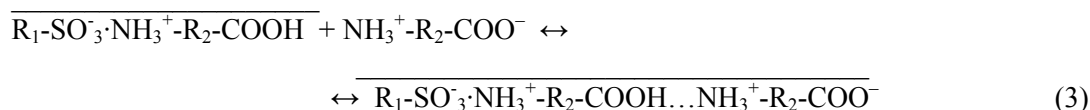
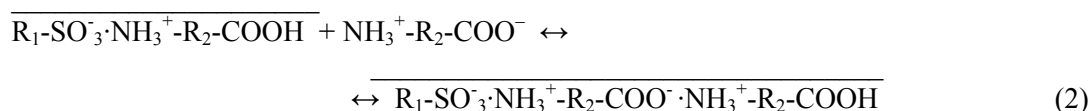
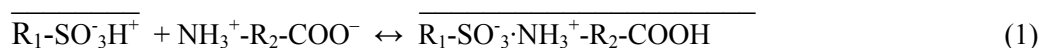


Рис. 2. Зависимости  $\bar{C} = f(C_p)$  сорбции Thr (1) и Thr-Thr (2) анионитом АВ-17; Thr (3) и Thr-Thr (4) катионитом КУ-2-8, а – начальный участок кривых 3,4.

Приведенные на рисунке зависимости свидетельствуют, что для анионита АВ-17 характерна более высокая сорбция Thr-Thr по сравнению с треонином в широком диапазоне  $C_p$  (рис. 2, кривые 1, 2). В случае использования КУ-2-8 более высокая сорбция дипептида наблюдается только при низких значениях  $C_p$  (рис. 2, кривые 3,4). При  $C_p > 20$  ммоль/дм<sup>3</sup> зависимость для Thr-Thr выходит на плато, в то время как для Thr содержания аминокислоты в фазе сорбента увеличивается с увеличением  $C_p$ , превышая его обменную емкость (4.5 ммоль/г). Учитывая, что сорбционная емкость катионита по Thr составляет 9.07 ммоль/г, можно говорить о наличии сверхэквивалентной сорбции [12].

Причиной сверхэквивалентной сорбции Thr на КУ-2-8 может быть протекание взаимодействий в ионите по нескольким механизмам. Практически постоянные значения pH исходной и равновесной водной фазы свидетельствуют о протекании процессов, описанных уравнением (1). Сверхэквивалентная сорбция треонина может осуществляться за счет сорбат-сорбатного взаимодействия как при взаимодействии карбоксильных групп сорбированной аминокислоты с аминогруппой цвиттериона по уравнению (2), так и с образованием водородных связей (уравнение 3).



где чертой обозначена фаза сорбента;  $R_1$  – углеводородный радикал сорбента;  $R_2 - =CH-CH(OH)-CH_3$ .

Получены ИК-спектры образцов КУ-2-8, содержащие Thr-Thr и Thr. На рисунке 3 (а, б) приведены наиболее информативные участки спектров пропускания в области 1500-1800 см<sup>-1</sup>.

Отнесение полос, согласно литературным данным [13], можно сделать следующим образом:  $1600\text{ см}^{-1}$  соответствует асимметричным валентным колебаниям карбоксилат-иона;  $1740\text{-}1720\text{ см}^{-1}$  характеризует валентные  $>\text{C}=\text{O}$  колебания в неионизированной карбоксильной группе;  $1510\text{-}1515\text{ см}^{-1}$  – проявление деформационных колебаний  $-\text{NH}_3^+$ ;  $1680\text{ см}^{-1}$  (полоса амид I) соответствует карбонильному поглощению в пептидной связи;  $1540\text{ см}^{-1}$  (полоса амид II) характеризуют деформационные колебания N-C пептидной связи.

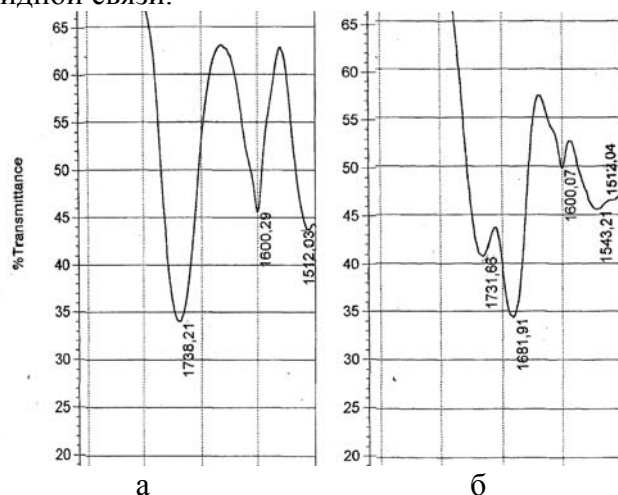
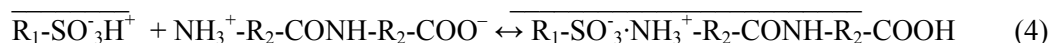


Рис. 3. Фрагменты ИК-спектров обезвоженных образцов а – КУ-2-8/Thr ( $C(\text{Thr})=5.0$  ммоль/г); б – КУ-2-8/Thr-Thr ( $C(\text{Thr-Thr})=3.1$  ммоль/г).

Как видно из рисунка 3 (а) в ИК-спектре образца КУ-2-8, содержащем Thr, присутствуют интенсивные полосы поглощения как диссоциированной карбоксильной группы ( $1600\text{ см}^{-1}$ ), так и недиссоциированной ( $1738\text{ см}^{-1}$ ). Полоса поглощения деформационных колебаний группы  $\text{NH}_3^+$  наблюдается при  $1512\text{ см}^{-1}$ . Наличие указанных полос поглощения свидетельствует о возможности протекания в ионите взаимодействий согласно уравнениям (1-3).

При сорбции дипептида в образцах КУ-2-8, содержащих Thr-Thr (рис. 3(б)) присутствует сильное поглощение в области  $1681\text{ см}^{-1}$ , характерное для полосы амид I [13]. Полоса поглощения амид II, характеризующая деформационные колебания N-C пептидной связи, проявляется в области  $1543\text{ см}^{-1}$ . Слабое поглощение при  $1600\text{ см}^{-1}$  может быть отнесено к валентным колебаниям ароматического кольца (пульсационные колебания углеродного скелета низкой интенсивности КУ-2-8) [14].

Присутствие полосы поглощения недиссоциированной карбоксильной группы при  $1732\text{ см}^{-1}$  (рис. 3(б)) свидетельствует о взаимодействии дипептида с сульфогруппой катионита КУ-2-8 по уравнению (4):



где чертой обозначена фаза сорбента;  $\text{R}_1$  – углеводородный радикал сорбента;  $\text{R}_2 = \text{=CH-CH(OH)-CH}_3$ .

На основании полученных экспериментальных данных рассчитаны концентрационные коэффициенты распределения  $D$  дипептида и аминокислоты:

$$D = \frac{(C_0 - C_p) \cdot V}{C_p \cdot m}, \quad (5)$$

где  $C_0$ ,  $C_p$  – соответственно начальная и равновесная концентрация в водной фазе (ммоль/дм<sup>3</sup>),  $V$  – объем водной фазы (см<sup>3</sup>),  $m$  – масса сухой навески ионита (г).

Зависимости  $\lg D = f(\lg C_p)$  приведены на рисунках 4 (а, б). Общим для обоих ионитов является прямолинейный вид зависимостей. Для КУ-2-8 характерно уменьшение  $\lg D$  с увеличением равновесной концентрации как при сорбции Thr, так и при сорбции Thr-Thr.

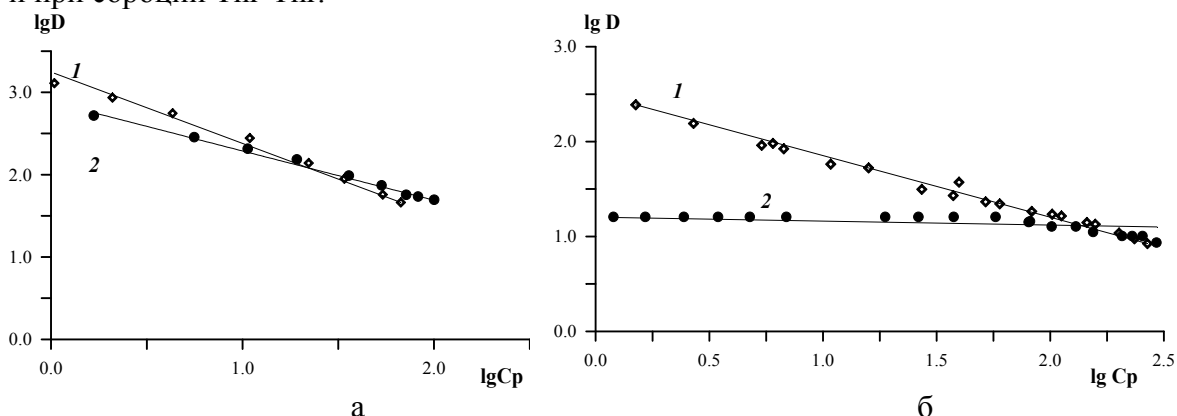


Рис. 4. Зависимость  $\lg D = f(C_p)$  для дипептида (1) и треонина (2) на КУ-2-8 (а) и на АВ-17 (б).

Для АВ-17 уменьшение  $\lg D$  с ростом  $C_p$  наблюдается только для Thr-Thr (рис.4(б), кривая 1), коэффициент распределения Thr (рис.4(б), кривая 2) не зависит от равновесной концентрации водной фазы и является практически постоянным.

Сорбция из двухкомпонентных растворов. Сорбция дипептида выше сорбции аминокислоты на АВ-17 в широком диапазоне  $C_p$  (до 200 ммоль/дм<sup>3</sup>), поэтому для исследования сорбции из двухкомпонентных растворов в которых основным компонентом являлся Thr-Thr был выбран ионит АВ-17. Сорбцию изучали из растворов с разным мольным соотношением аминокислоты и дипептида при нейтральном значении pH. Полученные результаты приведены на рисунке 5, для сравнения на рисунке даны начальные участки изотерм сорбции аминокислоты и дипептида из индивидуальных растворов.

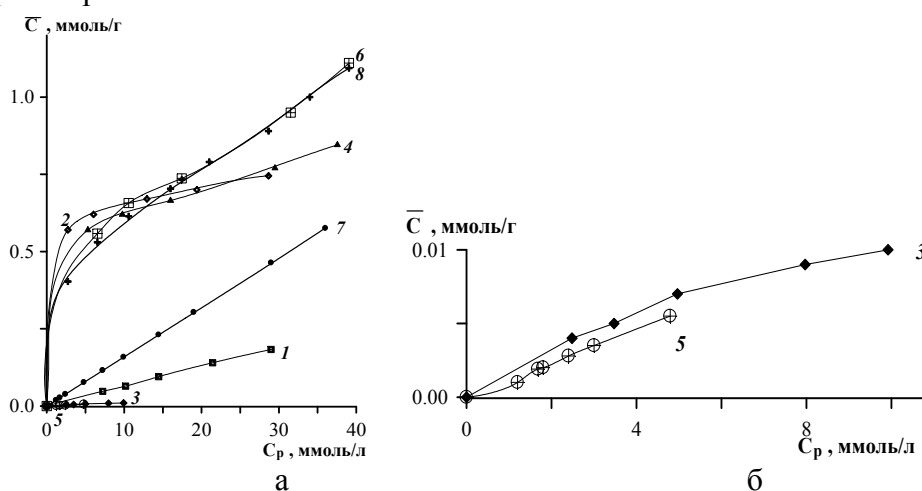


Рис. 5. Изотермы сорбции на АВ-17 из двухкомпонентных растворов (а) с мольным соотношением Thr/Thr-Thr: 1/1.2 – Thr (1) и Thr-Thr (2); 1/4.7 – Thr (3) и Thr-Thr (4); 1/10.6 – Thr (5) и Thr-Thr (6); из индивидуальных растворов – Thr (7) и Thr-Thr (8). (б) – изотермы (3),(5) в увеличенном масштабе.

Видно, что при низких значениях  $C_p$  ( $<12$  ммоль/дм<sup>3</sup>) наблюдается увеличение сорбции Thr-Thr в присутствии аминокислоты, в то время как для Thr характерно подавление его поглощения анионитом во всем изученном интервале  $C_p$  из смешанных растворов (рисунок 5). Существующие различия в сорбируемости Thr-Thr и Thr дают хорошие предпосылки для их разделения.

Для характеристики процесса разделения аминокислоты и дипептида наиболее информативной величиной является коэффициент разделения ( $\beta$ ), значения которого указывают во сколько раз отношение равновесных концентраций разделяемых компонентов в сорбенте больше по сравнению с водным раствором. В таблице 1 приведены значения коэффициентов распределения и разделения Thr и Thr-Thr из их смесей ( $\beta_3$ ) и индивидуальных растворов ( $\beta_T$ ), рассчитанные по уравнениям (6, 7). С целью сравнения  $\beta_3$  и  $\beta_T$ , расчет  $\beta_T$  проводили при соответствующих значениях равновесной концентрации в водной фазе Thr и Thr-Thr, указанных в таблице 1.

$$\beta_3 = \frac{D_{Thr-Thr}^*}{D_{Thr}^*}, \quad (6)$$

$$\beta_T = \frac{D_{Thr-Thr}}{D_{Thr}}, \quad (7)$$

где  $D_{Thr}^*$ ,  $D_{Thr-Thr}^*$  – коэффициенты распределения Thr и Thr-Thr из их двухкомпонентных растворов;  $D_{Thr}$ ,  $D_{Thr-Thr}$  – коэффициенты распределения Thr и Thr-Thr из индивидуальных растворов.

Зависимость  $\bar{C} = f(C_p)$  сорбции Thr из индивидуальных растворов прямолинейна и, как указывалось выше, коэффициент распределения является постоянной величиной, не зависящей от  $C_p$  и равен  $D_{Thr}=16.02\pm 0.08$ .

Из данных таблицы 1 следует, что в присутствии Thr-Thr коэффициент распределения аминокислоты уменьшается и остается постоянным при фиксированном мольном соотношении аминокислоты и дипептида в двухкомпонентном растворе ( $N(Thr/Thr-Thr)$ ). С уменьшением мольного содержания треонина в системе,  $D_{Thr}^*$  уменьшается.

Таблица 1. Коэффициенты распределения и разделения на АВ-17 Thr-Thr и Thr из их смесей и индивидуальных растворов.

N (Thr/Thr-Thr)	из двухкомпонентных растворов					из индивидуальных растворов	
	$C_p(Thr)$ , ммоль/дм <sup>3</sup>	$C_p(Thr-Thr)$ , ммоль/дм <sup>3</sup>	$D_{Thr}^*$	$D_{Thr-Thr}^*$	$\beta_3$	$D_{Thr-Thr}$	$\beta_T$
1/1.2	7.23	2.72	6.57	209.8	31.92	148	9.19
	10.17	6.04	6.32	104.5	15.88	86	5.38
	14.45	12.94	6.57	51.8	7.88	51	3.17
	21.43	19.4	6.38	34.11	5.35	39	2.44
	28.99	28.66	6.3	25.91	4.11	31	1.95
1/4.7	2.48	5.31	1.474	106.3	72.11	92	5.75
	3.47	9.76	1.474	63.5	43.08	61	3.81
	4.96	15.99	1.474	41.5	28.16	44	2.75
	7.97	29.5	1.471	26.1	17.74	30.5	1.91
	9.92	37.56	1.466	22.4	15.27	28.5	1.78
1/10.6	1.20	6.54	1.155	85.15	73.75	81	5.03
	1.68	10.58	1.154	61.95	53.68	58	3.65
	2.40	17.44	1.159	42.12	36.35	42	2.64
	4.04	31.52	1.159	30.14	26.0	30	1.87
	4.79	39.06	1.159	28.31	24.44	28	1.74

При низких значениях  $C_p$  коэффициент распределения дипептида из двухкомпонентных растворов увеличивается по сравнению с коэффициентом распределения из индивидуальных растворов, причем при увеличении мольного содержания дипептида в системе эти различия нивелируются.

Из приведенных в таблице 1 данных видно, что коэффициенты разделения дипептида и аминокислоты из смешанных растворов значительно выше теоретически рассчитанных из индивидуальных растворов.

### Заключение

Изучена сорбция аминокислоты треонина и дипептида треонилтреонина на сульфостирольном катионите КУ-2-8 ( $H^+$ ) и анионите АВ-17 ( $OH^-$ ). Установлено, что селективность ионитов выше к Thr-Thr: для АВ-17 в широком диапазоне  $C_p$ , для КУ-2-8 – при значениях  $C_p < 20$  ммоль/дм<sup>3</sup>.

ИК-спектроскопическое исследование фазы катионита, насыщенной Thr-Thr и Thr показало, что сорбированный дипептид находится в форме катиона, а аминокислота – как в катионной, так и в цвиттерионной форме, что может быть свидетельством сорбат-сорбатного взаимодействия по различным механизмам.

Изучена сорбция Thr-Thr и Thr на АВ-17( $OH^-$ ) из двухкомпонентных растворов с различным мольным соотношением. Показано, что сорбция Thr-Thr в присутствии аминокислоты увеличивается, в то время как сорбция Thr из смешанных растворов подавляется. Рассчитанные коэффициенты разделения Thr-Thr и Thr указывают на возможность их разделения, что может быть использовано при очистке дипептида.

### Список литературы

1. Шатаева Л.К., Хавинсон В.Х., Ряднова И.Ю. Пептидная саморегуляция живых систем (факты и гипотеза). С-Петербург. Наука. 2003. 222 с.
2. Шкутина И.В., Мироненко Н.В., Стоянова О.Ф., Селеменев В.Ф. // *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2015. Т. 15. Вып. 6. С. 850-858.
3. Harscoat C., Muhr L., Grevillot G. // *ICHEM E V.81. Part A*. 2003. pp. 1333-1342.
4. Kanemaru K., Oshima T., Baba Y. // *J. Reactive and Functional Polymers*. 2010. Vol. 70. No 2. pp.103-109.
5. Huang C., Gjelstad A., Pedersen-Bjergaard S. // *J. Analitica Chimica Acta*. 2015. Vol. 853. No 1. pp. 328-334.
6. Drapala A., Dzygiel P., Jonsson J.A., Wiczorek P. // *J. Acta Biochimica Polonica*. 2001. Vol. 48. No 4. pp. 1113-1116.
7. Демин А.А., Чернова И.А., Шатаева Л.К. Ионнообменная сорбция биологически активных веществ. С-Петербург. Изд. С.-Петерб. ун-та. 2008. 154 с.
8. Кожухова Е.Ю., Трунаева Е.С., Хохлова О.Н. // *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2015. Т. 15. Вып. 5. С. 657-663.
9. Селеменев В.Ф., Котова Д.Л., Хохлов В.Ю., Орос Г.Ю. // *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2013. Т. 13. Вып. 5. С. 623-632.
10. Полянский Н.Г., Горбунов Г.В., Полянская Н.А. Методы исследования ионитов. М. Изд-во Химия. 1976. 208 с.
11. Якубке Х.-Д., Ешкайт Х. Аминокислоты. Пептиды. Белки. М. Изд. «Мир». 456 с.
12. Петрюченко Т.С., Хохлова О.Н. // *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2012. Т. 12. Вып. 6. С. 929-935.
13. Беллами Л. Инфракрасные спектры сложных молекул. М. Изд. иностр. лит. 1963. 590 с.
14. Тарасевич Б.Н. ИК-спектры основных классов органических соединений. Справочные материалы. М. Изд-во МГУ. 2012. 55 с.



## References

1. Shataeva L.K., Havinson V.H., Rjadnova I.Ju. Peptidnaja samoreguljacija zhivyh sistem (fakty i gipoteza). St.Petersburg, Nauka Publ., 2003, 222 p.
2. Shkutina I.V., Mironenko N.V., Stojanova O.F., Selemenev V.F., *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*, 2015, Vol. 15, No 6, pp. 850-858.
3. Harscoat C., Muhr L., Grevillot G., *ICHEME V.81. Part A.*, 2003, pp.1333-1342.
4. Kanemaru K., Oshima T., Baba Y., *J. Reactive and Functional Polymers*, 2010, Vol. 70, No 2, pp. 103-109.
5. Huang C., Gjelstad A., Pedersen-Bjergaard S., *J. Ananlitica Chimica Acta*, 2015, Vol. 853, No 1, pp. 328-334.
6. Drapala A., Dzygiel P., Jonsson J.A., Wiczorek P., *J. Acta Biochimica Polonica*, 2001, Vol. 48, No 4, pp. 1113-1116.
7. Demin A.A., Chernova I.A., Schataeva L.K. Ionoobmennaya sorbtsiya biologicheskii aktivnyh veshchestv. St.Petersburg, Izd-vo St.Peterun-ta, 2008, 154 p.
8. Kozhuhova E.Y., Trunaeva E.S., Khokhlova O.N., *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*, 2015, Vol. 15, No 5, pp. 657-663.
9. Selemenev V.F., Kotova D.L., Hohlov V.Y., Oros G.Y., *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*, 2013, Vol. 13, No 5. pp. 623-632.
10. Poljanskij N.G., Gorbunov G.V., Poljanskaja N.A. Metody issledovaniya ionitov, M., Izd. Chimija, 1976, 208 p.
11. Jakubke H.-D., Jeschkeit H. Aminokisloty. Peptidy. Belki, M., Mir, 1985, 456 p.
12. Petrjuchenko T.S., Khokhlova O.N., *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*, 2012, Vol. 12, No 6, pp. 929-935.
13. Bellami L., *Infrakrasnye spektry slozhnyh molekul*, M., Izd. inostr. lit., 1963, 590 p.
14. Tarasevich B.N., *IK-spektry osnovnyh klassov organicheskikh soedinenij. Spravochnye materialy*, M., Izd. MGU, 2012, 55 p.

**Куваева Зоя Ивановна** – заведующая отделом лекарственных веществ, д.х.н., профессор, Институт физико-органической химии НАН Беларуси

**Каранкевич Елена Григорьевна\*** – старший научный сотрудник отдела лекарственных веществ, к.х.н., Институт физико-органической химии НАН Беларуси

**Рудаковская Екатерина Борисовна** – младший научный сотрудник отдела лекарственных веществ, Институт физико-органической химии НАН Беларуси

**Бульга Дмитрий Михайлович** – научный сотрудник отдела лекарственных веществ, Институт физико-органической химии НАН Беларуси

**Kuvaeva Zoya I.** – Head of the Department of Medical substances, Dr.Sc., professor, The Institute of Physical Organic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus

**Karankevich Elena G.\*** – senior scientist of the Department of Medical substances, PhD, The Institute of Physical Organic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus, e-mail: [extract@ifoch.bas-net.by](mailto:extract@ifoch.bas-net.by)

**Rudakovskaya Ekaterina B.** – junior scientist of the Department of Medical substances, The Institute of Physical Organic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus

**Bulyga Dmitrij M.** – scientist of the Department of Medical substances, The Institute of Physical Organic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus