

# 50 ЛЕТ ВЭЖХ: ОСНОВНЫЕ ЭТАПЫ РАЗВИТИЯ И НОВЫЕ ТЕНДЕНЦИИ

УДК 543.544.5.068.7  
БАК 02.00.02

**Яшин А.Я.**, к.х.н., **Веденин А.Н.**, **Яшин Я.И.**, д.х.н., ООО "Интерлаб", yashin@interlab.ru

В течение 1967–2017 годов метод ВЭЖХ активно развивался, превратившись, на основании рейтинга международной конференции и выставки PITTCON последних лет, в самый мощный метод разделения и анализа не только среди других хроматографических методов, но и среди всех современных аналитических методов. Совершенствование ВЭЖХ включает различные аспекты, такие как разработка новых и модификация старых методов, внедрение новых технологий получения сорбентов, усовершенствование детектирующих систем и жидкостных хроматографов в целом, а также постоянное расширение областей применения. В настоящее время ежегодный выпуск жидкостных хроматографов превышает сумму 4 млрд долларов, а колонок для ВЭЖХ – 1,5 млрд долларов. Жидкостные хроматографы являются наиболее часто используемым оборудованием в аналитических лабораториях мира, уступая лишь микровесам и рН-метрам. Области применения ВЭЖХ включают медицину, биологию, фармацевтику, контроль пищевых продуктов, экологию, судебную экспертизу, контроль производственных процессов, в том числе биотехнологических, а также передовые области биологии и медицины: геномику, протеомику, метаболомику, липидомику и др. Развитие ВЭЖХ продолжается.

## ВВЕДЕНИЕ

Метод хроматографии был предложен М.С.Цветом для разделения пигментов на колонке с твердым носителем с использованием жидкой подвижной фазы [1]. В 1938 году появился метод тонкослойной хроматографии, в 1941 – метод жидкостно-жидкостной хроматографии и в 1944 – метод бумажной хроматографии. Позднее все эти методы стали применяться для анализа.

Применение метода колоночной жидкостной хроматографии до 1967 года было очень ограниченным из-за слишком медленного разделения, которое занимало несколько часов. Это было связано с использованием адсорбентов с размером зерен 100 мкм и элюированием подвижной фазы через колонку самотеком под действием силы тяжести. Начиная с 1960 годов усилия специалистов в разных странах были направлены на создание экспрессной жидкостной хроматографии. Очевидно, что для увеличения скорости разделения нужно было уменьшить пути внешней и внутренней диффузии, т.к. коэффициенты диффузии в жидкой фазе на 4 порядка меньше, чем в газовой. В первую очередь этого можно было достигнуть за счет уменьшения размера зерен адсорбента, однако применение мелких зерен (5–10 мкм) привело к большому входному давлению перед колонкой и потребовало применения насосов высокого давления. Так появилась жидкостная хроматография высокого давления. Долгое время использовался этот термин, однако впоследствии прижился тер-

мин "высокоэффективная жидкостная хроматография" (ВЭЖХ), поскольку, благодаря заполнению колонок мелкими зернами, существенно возросла эффективность метода. Таким образом, ВЭЖХ возникла тогда, когда были разработаны прочные адсорбенты мелкого зёрнения (сначала 10, а потом 5 мкм), насосы высокого давления до 400 атм и проточные детекторы. При таких условиях ВЭЖХ по скорости разделения приближалась к газовой хроматографии, а по областям применения значительно ее превосходила. ВЭЖХ стала интенсивно развиваться, в 70–80 годах XX века ежегодный прирост выпуска жидкостных хроматографов составлял более 14%, каждый год создавались новые фирмы по производству жидкостных хроматографов, демонстрировались новые успешные применения ВЭЖХ для разделения высокомолекулярных соединений в разных областях. Этот период стали называть вторым рождением жидкостной хроматографии, периодом ее ренессанса. Первой публикацией по ВЭЖХ считается работа [2]. Продвижению ВЭЖХ способствовали международные симпозиумы по ВЭЖХ и выпуск специального журнала по жидкостной хроматографии. Первый симпозиум состоялся в 1973 году в г. Интерлакене (Швейцария), на нем собрались 450 участников и было сделано 55 докладов по теории, сорбентам, детекторам и применениям ВЭЖХ. На симпозиуме в 1986 году число участников достигло 1555. 45-й симпозиум состоялся в 2018 году в Вашингтоне.

Таблица 1. Связь размера частиц с эффективностью колонок (колонка 150x4,6 мм) [3]

Год применения	Размер частиц в мкм	Число теоретических тарелок
1950	100	200
1967	50	1000
1972	10	6000
1985	5	12 000
1992	3–3,5	22 000
2000	2,5	25 000
2003	1,8	32 000
2007/2008	2,7 (ппс)	32 000

Примечание: ппс – поверхностно-пористые сорбенты.

### СОРБЕНТЫ ДЛЯ ВЭЖХ

В начале развития ВЭЖХ большое внимание уделялось созданию прочных адсорбентов мелкого зернения узкой фракции и способам заполнения ими колонок, поскольку эффективность колонок сильно зависит от размера частиц (табл.1). Появление частиц адсорбентов сферической формы повысило эффективность колонок и улучшило их заполнение.

Размер зерен сорбента также значительно влияет на перепад давления через колонку, как это видно из таблицы 2 [3].

В первые годы в качестве адсорбента в основном применялся силикагель (двуокись кремния). Большим прорывом стало создание силикагелей, модифицированных алкильными группами, которое привело к возникновению обращенно-фазовой хроматографии. В 1969 году И.Халаш и И.Себастиан [4] предложили сорбенты с химически привитыми алкильными цепями ("щеточные" сорбенты) со связями кремний-кислород-углерод, однако эта связь была неустойчивой. Поэтому в 1970 году Д.Киркланд [5] синтезировал привитые сорбенты с более устойчивыми связями кремний-кислород-кремний. Нужно отметить, что такая модификация была предложена задолго до Киркланда (1959) К.Д.Щербаковой и А.В.Киселевым (МГУ) [6]. При прививке алкильных цепей между ними остаются свободные гидроксильные группы, из-за которых при удерживании полярных соединений пики получают несимметричными. Для блокировки этих групп сорбенты дополнительно обрабатывают низкомолекулярным реагентом, чаще всего триметилсилилхлоридом, эта процедура называется "энд-кеппингом". Поскольку кремнеземная основа нестабильна при pH больше 9, в качестве основы были предложены

Таблица 2. Связь размера частиц с перепадом давления через колонку (колонка 100x4,6 мм)

Размер частиц в мкм	Давление в барах	Число теоретических тарелок
1,8	406	27 500
2,5	213	20 000
3	146	16 500
5	53	10 000
10	13	5000
15	6	3750
20	3	2500

диоксиды циркония и титана, полимерные и углеродные сорбенты, устойчивые во всем диапазоне pH от 1 до 14.

Различные фирмы выпускают сорбенты с привитыми группами C1, C6, C8, C18, C22, C30 (цифры обозначают число алкильных групп в цепи), для увеличения гидрофобности прививают перфторированные алкильные цепи, для изменения полярности и селективности в цепь вставляют полярные группы. Для характеристики адсорбентов используют следующие параметры: удельная поверхность, средний диаметр пор и объем пор. Адсорбенты с порами 100–150 Å применяются для разделения низкомолекулярных соединений, адсорбенты с порами более 300 Å – для разделения макромолекул. Кроме неполярных алкильных и фенильных групп, к поверхности прививают нитрильные, аминные и другие полярные группы. Полимерные сорбенты создаются на основе полистирола, акрилатов, метакрилатов и др., углеродный адсорбент Nuregsorb изготовлен на основе графитированной термической сажи. Разработаны новые технологии приготовления сорбентов: зольгель, молекулярный импринтинг, монолитные колонки, сорбенты для перфузионной хроматографии. Десятки фирм производят колонки с размером частиц 1,5–1,8 мкм, а колонки с поверхностно-пористыми частицами размером 2,7–3,0 мкм по эффективности стали альтернативой колонкам ультра ВЭЖХ.

К настоящему времени разработано более 1000 разных колонок для ВЭЖХ, и каждый год появляются около 50 новых. Для быстрого выбора нужной колонки создана база данных ACD (Labs column selection database, ACD/column selector), в которой приведены их характеристики по системе Танака: гидрофобность, селективность к группе CH<sub>2</sub>, структурная селективность (альфа-трифенилен/

альфа-терфенилен), влияние водородной связи, величина ионообменной емкости при разных pH.

В ВЭЖХ применяются колонки следующих размеров: обычные аналитические с внутренним диаметром 2,1–4,6 мм, микронабивные с внутренним диаметром 0,5–2,1 мм, капиллярные с диаметром 100–150 мкм и нанокolonки с диаметром 20–100 мкм. Предпочтительная длина аналитических колонок составляет 250, 150, 100, 75, 50 и 30 мм.

### ОСНОВНЫЕ МЕТОДЫ ВЭЖХ

Разнообразные методы и варианты современной ВЭЖХ позволяют разделять смеси соединений с молекулярными массами от 50 до нескольких миллионов, включая смеси молекул, ионов и даже устойчивых радикалов. Стало возможным разделять смеси изомерных молекул, в том числе оптических изомеров, макромолекулярные смеси, включая синтетические полимеры, биополимеры, вирусы и другие частицы. В таблице 3 приведены методы, наиболее часто упоминаемые в литературе за последние 5 лет.

Ярко выраженная тенденция современной ВЭЖХ – повышение эффективности и скорости разделения в гидрофильной, хиральной, противоточной и даже в эксклюзионной хроматографии за счет применения тонкодисперсных частиц и поверхностно-пористых сорбентов [26–30].

В последние годы получили широкое распространение двумерные варианты хроматографии, которые используют для разделения и анализа сложных смесей, таких как пептиды [19, 42], олигомеры [43], биома-

кромолекулы [44], триглицериды [45], процианидины [46], антоцианины [47], полифенолы в пищевых продуктах [48], полифенолы-антиоксиданты [49], лекарства традиционной китайской медицины [50], моноклональные антитела [51]. Двумерная хроматография применяется в фармацевтике [52] и биоанализах [53]. Применяют комбинации разных методов, например: ЖХ-ГХ [54], анионообменная – обращенно-фазовая [55], ионообменная-ион-парная [56], нормально-фазовая-обращенно-фазовая [57, 58], высокотемпературная-обращенно-фазовая [59], высокого давления-высокотемпературная [60], обращенно-фазовая-гидрофильная [61], гидрофобная-обращенно-фазовая [62], это позволяет повысить общую разделятельную способность и разделять сложные смеси.

Большим достижением стала разработка компаниями Waters, Agilent и Shimadzu метода и аппаратуры для ультра-ВЭЖХ [7, 9, 63] в 2004 году. В этом методе в несколько раз увеличена скорость разделения и эффективность колонки, которая не снижается при повышении скорости элюента, а за счет меньшего размывания пиков повысилась чувствительность. Однако метод требует применения более дорогой аппаратуры [64]: насосов высокого давления (свыше 1000 атм), специальных инжекторов для ввода проб, специальных автосемплеров. Колонки с размером частиц менее 2 мкм для этого метода также дорогие, причем в процессе работы они самопроизвольно неконтролируемо нагреваются от движения потока под сильным давлением. В настоящее время доля применения ультра-ВЭЖХ составляет около 10–15%.

Для разделения и анализа полярных соединений, которые слабо удерживаются и не разделяются в обращенно-фазовой хроматографии, в 1990 году была предложена гидрофильная хроматография (ГФХ), использующая полярные сорбенты и полярные элюенты [42]. ГФХ занимает промежуточное положение между ОФХ и нормально-фазовой хроматографией (НФХ). В качестве элюента в ГФХ применяется смесь воды (70–95%), ацетонитрила и метанола. ГФХ посвящено много обзоров, книг и статей [10–13], проводятся исследования по закономерностям удерживания в ГФХ [11, 12].

Высокотемпературная хроматография позволила сократить время анализа и повысить эффективность колонки. Повышение температуры колонки от 20°C до 80°C градусов приводит к трехкратному повышению эффективности и четырехкратному уменьшению времени анализа; эти преимущества еще больше увеличиваются, если поднять температуру колонки до 150–200°C. Наблюдаемое при этом уменьшение селективности компенсируется другими факторами, и степень разделения практически не изменяется. Еще в 1982 году была показана возможность работы в ЖХ при температуре 140°C [65], а в настоящее время раз-

Таблица 3. Основные методы ВЭЖХ

Название методов	Ссылки
Ультра ВЭЖХ	7–9
Гидрофильная	10–13
Многомерная	14–15
Двумерная	16–19
Хиральная	20–22
Со смешанными фазами	23, 24
Высокотемпературная	25
Эксклюзионная	26–30
Ион-парная	31
Мицеллярная	32
Аффинная	33, 34
Гидрофобная	35, 36
Обращенная	37
Противоточная	38–41

работаны жидкостные хроматографы с термостатами до 200°C. Важно, что при высоких температурах можно использовать чистую воду в качестве элюента [66–68], т.е. реализовать принцип "зеленой" хроматографии.

В последние годы стали доступны монолитные колонки с хорошими характеристиками, которые впервые были разработаны фирмой Merck в 1990 году [69]. В 2012 году этой же фирмой были выпущены монолитные колонки второго поколения. По эффективности и другим параметрам эти монолитные колонки соответствуют наполненным колонкам с размерами частиц 2 мкм [70], сопротивление колонок составляет всего 65 атм, а эффективность – 14 000 т.т. на 10 см длины. Последовательное соединение 14 колонок первого поколения [71] позволило достигнуть общей эффективности 108 000 т.т. при входном давлении всего 117 атм.

Обращенная хроматография применяется для исследования поверхностей твердых тел [37].

## РАЗВИТИЕ ТЕОРИИ

Основными темами исследований в области ВЭЖХ всегда оставались изучение размывания и влияния на эффективность разных параметров колонки. Результаты проведенных работ позволили разработать колонки с эффективностью, близкой к теоретически достижимой. Из фундаментальных работ следует упомянуть исследования соотношения динамики и термодинамики в теории разделения [72].

Всегда интересовали исследования селективности разделения, которая определяется в ВЭЖХ многими взаимодействиями, а также природой элюента [73].

Активно исследуются такие теоретические аспекты ВЭЖХ, как связь удерживания со структурой молекул на примере многих классов соединений [74], компьютерная оптимизация разделения, влияние температуры на разделение. В ВЭЖХ, как и в ГХ, широко используются геометрические факторы в разделении, т.е. применение циклодекстринов, краун-эфиров, жидких кристаллов для селективного разделения изомеров. Перспективным направлением является оптимизация разделения с помощью экспертных систем. Хорошо зарекомендовали себя программы компьютерной оптимизации: Drylab, ChromSword, программа Долгоносова.

Новые результаты получены в нелинейной хроматографии (классические работы А.И.Калиничева и Ж.Гиошона), что важно для препаративного разделения. Много исследований было посвящено механизму разделения оптических изомеров на разных сорбентах. Первооткрывателем хиральной хроматографии В.А.Даванковым [75] было впервые показано, что возможно разделение оптических изомеров при контактах на двух точках, третьей точкой контакта может служить

поверхность сорбента. Большим достижением является теория эксклюзионной хроматографии в критических условиях [27–30], интерес к этому направлению сохраняется до сих пор. Продолжаются фундаментальные исследования по установлению связи параметров удерживания с биологической и химической активностью молекул. Это перспективно в поиске новых лекарств в фармацевтике. Делаются попытки создания банков индексов удерживания в ВЭЖХ, в качестве стандартных веществ используются нитроалканы и алкилбензолы. Изучается влияние электрических и магнитных полей на удерживание на колонках с углеродными адсорбентами. Исследованы механизмы взаимодействия на сорбентах с разными функциональными группами [8]. Много публикаций посвящено исследованию размывания полос в разных вариантах хроматографии [9, 10]. В большом обзоре Ж.Гиошона обсуждаются разные модификации уравнения Ван-Деемтера, предложенные за 60 лет с момента его публикации [78].

Основными теоретическими вопросами, привлекающими внимание ученых, являются исследование механизма разделения в гидрофильной хроматографии [11, 12] и сравнение его с ОФХ, исследование механизма разделения в ион-парной хроматографии [31], изучение природы селективности в ОФХ [76, 77].

## АППАРАТУРА ДЛЯ ВЭЖХ И УЛЬТРА-ВЭЖХ

Первыми коммерческими жидкостными хроматографами были приборы Waters ALC1000HPLC и DuPont, модель 820. Первые отечественные жидкостные хроматографы, Цвет 1-69, Цвет 304, ХГ-1301, появились в 1969–1972 годах [79].

Появлению жидкостных хроматографов предшествовала разработка детекторов для ЖХ: кондуктометрического – в 1951, рефрактометрического – в 1962, УФ-детектора – в 1966, первого варианта детектора на диодной матрице – в 1966 году. В начале 1990-х появились хроматографы с масс-спектрометрическим детектором, ВЭЖХ-МС. МС-детекторы в настоящее время используются наиболее часто. Для этих детекторов были разработаны два метода ионизации веществ: электроспрей и матрично активированная лазерная десорбция/ионизация (МАЛДИ). За разработку этих методов Д.Фенн и К.Танака были удостоены Нобелевской премии в 2002 году. Нужно отметить, что метод электроспрея был значительно раньше разработан Л.Н.Галль, и ее приоритет сейчас признается специалистами.

Современные жидкостные хроматографы выпускаются в трех исполнениях: блочно-модульном (башенного типа), моноблочном и модульном в едином блоке. Они могут быть: высокого давления, градиентными, изократическими, эксклюзионными, ионными, многомерными,

**Таблица 4. Зарубежные жидкостные хроматографы**

Фирма, страна	Модели	Детекторы
Waters, США	Alliance, Breeze, Acquity	УФ-Вид, ДМД, по светорассеиванию, ЭХД, Флу, КД
Agilent, США	Серия ЖХ 1210 (1220, 1260, 1290)	УФ, СПФ, ДМД, Флу, Рф, ЭХД, МС
Perkin Elmer, США	Flexar HPLC, UHPLC	СПФ, ДМД, Флу, Рф, МС
Shimadzu, Япония	Prominence LC-20, 2010, LC-MS – 2020, 2030, 2040, 800 Nexera HPLC/UHPLC	СПФ, УФ, ДМД, Рф, Флу, КД, МС
Knauer, Германия	Asura, Smartline, Platinblue	УФ-Вид, ДМД, УФ, Рф, КД, ЭХД, Флу, Ад, по светорассеиванию
Thermo Scientific, США	Prelude MD, Vanquish, Dionex Ultimate 3000, Easy-R nLC-1000	УФ-Вид, ДМД, УФ, Рф, КД, ЭХД, Флу, Ад, по светорассеиванию
Bruker, Германия	UHPLC/MS	ДМД, МС, СПФ, Флу
Konic, Испания	LC 550B, Konic K-2 (ЖХ+ГХ)	ДМД, УФ, СПФ, Флу, Рф
Hitachi, Япония	LaChrom-Elite	ДМД, УФ, СПФ, Флу, Рф
Jasco, Япония	LC-4000	ДМД, Флу, Рф
Gilson, США	PLC-2020	ДМД, СПФ, Флу
Sciex, США	Micro LC 200 Plus	ДМД, СПФ, Флу
Zhejiang FULI Analytical Instrument, Китай	FL 2200	СПФ, Флу, Рф
Young Lin Instrument, Южная Корея	YL 9100 HPLC	ДМД, СПФ, Флу, Рф
Jeol, Япония	Acen TOF LC-plus	ДМД, Флу, Мс

Примечание: Ад – амперометрический, ДМД – диодно-матричный; ЭХД – электрохимический; Флу – флуоресцентный; КД – кондуктометрический; СПФ – спектрофотометрический; МС – масс-спектрометрический

высокотемпературными, промышленными (поточными), противоточными, аминокислотными анализаторами, микроколоночными, капиллярными, на чипах и нано-ВЭЖХ [80–82]. Лабораторные жидкостные хроматографы комплектуются следующими видами детекторов: масс-спектрометрическими, спектрофотометрическими (УФ-Вид), диодно-матричными, УФ-детекторами, электрохимическими (кондуктометрическими, амперометрическими, кулонометрическими), рефрактометрическими и детекторами по светорассеиванию. 3D-детекторы: МС, диодно-матричный и кулонометрический позволяют проводить как количественный, так и качественный анализ. За последние годы появились новые детектирующие системы для ВЭЖХ: тройной квадрупольный МС с пределом детектирования (ПД) в несколько фемто- и аттограммов; амперометрический и кулонометрический детекторы с аналогичной чувствительностью; детектор по светорассеиванию (лазерный, в режиме конденсации ядер); УФ- и СПФ-

детекторы по технологии "лайт-пайп" с длиной оптического пути 40–60 мм; фотометрический светодиодный детектор в диапазоне 230–2500 нм при одновременной регистрации на 7 длинах волн с ячейкой по технологии "лайт-пайп" [83].

Основные типы современных зарубежных жидкостных хроматографов приведены в таблице 4.

Восемь предприятий в РФ выпускают жидкостные хроматографы. Среди них следует выделить "Маэстро-ВЭЖХ" (ООО "Интерлаб"), который по техническим характеристикам и по оснащению детекторами не уступает лучшим зарубежным образцам. Кроме того, необходимо отметить "Стайер-М" (ЗАО "Аквилон"), ЖХ "Люмохром" (ООО "Люмекс"), "Милюхром б" ("Научприбор"), "Альфахром" (ЗАО "Эконова").

#### ПРИМЕНЕНИЯ ВЭЖХ

За 50 лет по ВЭЖХ опубликованы сотни книг, тысячи обзоров и сотни тысяч статей.



В настоящее время трудно найти область производства или отрасль знаний, где бы ВЭЖХ не применялась. Кроме выполнения текущего аналитического контроля, ВЭЖХ используется в исследовательских работах и способствует научному прогрессу во многих областях, в том числе в самых передовых направлениях медицины и биологии (табл. 5). Применение ВЭЖХ в медицине, биологии, фармацевтике, контроле качества и безопасности пищевых продуктов, контроле загрязнителей окружающей среды, судебной медицине напрямую отражается на обеспечении жизни и здоровья каждого человека [84].

Некоторые интересные применения ВЭЖХ последних лет:

- диагностика окислительного стресса – предшественника опасных болезней [96–98];
- оценка состояния здоровья человека по определению окислительно-восстановительного баланса [96, 99];
- определение маркеров заболеваний [100–103];
- контроль лекарств в биологических жидкостях с терапевтическими целями [104, 105];
- определение лекарств в биологических жидкостях при их злоупотреблениях [106];
- определение энантиомерного отношения (D/L) аминокислот в биологических жидкостях человека как метод оценки возраста и диагностики заболеваний [107];
- определение D-аминокислот в биологических пробах [108];
- определение аминокислот в пробах метеоритов [109];
- применение в допинг-контроле [110, 111];
- исследование фармакокинетики лекарств [112];
- контроль качества и безопасности пищевых продуктов [113, 114];
- определение энантиомерной чистоты лекарств [115];
- применение для клинических анализов [116, 117];
- применение в фитомедицине [118];
- контроль ветеринарных лекарств в пищевых продуктах [119–121];
- прямое определение аминокислот гидрофильной хроматографией и аэрозольным детектором [122];
- применение ВЭЖХ в вулканологии [123].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

За пятидесятилетний период развития ВЭЖХ превратилась в мощный метод разделения и анализа веществ. В сотни раз возросла эффективность колонок, в сотни раз сократилось время анализа. В настоящее время экспрессные колонки могут разделять десятки соединений за минуту. Селективность колонок возросла настолько, что позволяет разделять оптические изомеры, различие свободных энергий сорбции которых не превышает 5 кал.

Таблица 5. Современные направления, в которых применяется ВЭЖХ

Новые направление	Ссылки
Геномика	85
Протеомика	86–89
Метаболомика	90–93
Липидомика	94
Стероидомика	95

Разделительная способность колонок ВЭЖХ в целом также значительно возросла. На некоторых колонках можно разделять до тысячи соединений за один ввод пробы. Это используется, в частности, в биохимии для разделения смеси пептидов и получения так называемых "пептидных карт".

Пределы определения в течение десятилетий последовательно снижались: от нано- ( $10^{-9}$ ), пико- ( $10^{-12}$ ), фемто- ( $10^{-15}$ ) до атто- ( $10^{-18}$ ). Столь низкие пределы определения позволяют детектировать в некоторых случаях одну молекулу и содержимое одной клетки. Приборы для ВЭЖХ постоянно модернизируются, совершенствуются, происходит миниатюризация приборов, в результате созданы даже приборы на чипах.

В жидкостных хроматографах для управления режимами работы блоков прибора, а также для обработки результатов разделения и анализа используются современная экспрессная микроэлектроника и совершенное программное обеспечение.

Приборы ВЭЖХ ежедневно выполняют миллионы анализов в тысячах разных государственных, производственных и научных лабораторий, относящихся к разным ведомствам. Десятки и сотни методик по ГОСТу внедрены для постоянного контроля качества и безопасности пищевых продуктов, лекарственных препаратов и объектов окружающей среды. В последних Фармакопеях развитых стран методики ВЭЖХ преобладают, а качество лекарств на фармпредприятиях во всем мире в основном оценивается методом ВЭЖХ. ВЭЖХ все больше внедряется в медицину для ранней диагностики заболеваний, исследования сложных биохимических процессов, изучения механизма болезней.

Определенно можно утверждать, что ВЭЖХ способствует прогрессу и новым открытиям в науке, технике и промышленности на благо человечества. Уместно вспомнить слова Льва Ландау: "Метод важнее открытия, ибо правильный метод исследования приведет к новым, еще более ценным открытиям".

## ЛИТЕРАТУРА

1. **Цвет М.С.** Труды Варшавского об-ва естествоиспытателей. Отд. биологии. 1903. Т. 14. С. 1.
2. **Horvath C.C., Press B.A., Lipsky S.R.** // *Anal. Chem.* 1967. Vol. 39. P. 1422.
3. **Majors R.E.** HPLC column. Technology smaller and faster // *LC-GC North America.* 2014. Vol. 32. P.29.
4. **Halasz I., Sebastian I.** // *Angew. Chem. Inter.* 1969. Vol. 8. P. 433.
5. **Kirkland J.J., Destefano J.J.** // *J. Chromat. Sci.* 1970. Vol. 8. P. 309.
6. **Киселев А.В., Щербакова К.Д. и др.** // *Докл. АН СССР.* 1959. Т. 129. С. 131.
7. **De Vos J., Broeckhoven K., Eeltink S.** Advances in ultra-highpressure liquid chromatography technology and system design // *Anal. Chem.* 2016. Vol. 88. P. 262–278.
8. **González-Ruiz V., Olives A.I., Martín M.A.** Core-shell particles lead the way to renewing high-performance liquid chromatography // *TrAC Trends Anal. Chem.* 2015. Vol. 64. P. 17–28.
9. **Walter T.H., Andrews R.W.** Recent innovations in UHPLC columns and instrumentation // *TrAC Trends Anal. Chem.* 2014. Vol. 63. P. 14–20.
10. **Tyteca E., Périat A., Rudaz S., Desmet G., Guillarme D.** Retention modeling and method development in hydrophilic interaction chromatography // *J. Chromatogr. A* 2014. Vol. 1337. P. 116–127.
11. **Jandera P., Janás P.** Recent advances in stationary phases and understanding of retention in hydrophilic interaction chromatography. A review // *Anal. Chim. Acta.* 2017. Vol. 967. P. 12–32.
12. **Guo Y.** Recent progress in the fundamental understanding of hydrophilic interaction chromatography (HILIC) // *Analyst.* Vol. 2015. №140. P. 6452–6466.
13. **Hemström P., Irgum K.** Hydrophilic interaction chromatography // *J. Sep. Sci.* 2006. Vol. 29. P. 1784–821.
14. **Marriott P.J., Wu Z., Schoenmakers P.** Nomenclature and conventions in comprehensive multidimensional chromatography – An update // *LCGC Eur.* 2012. Vol. 25. P. 266–275.
15. **Dugo P., Cacciola F., Kumm T., Dugo G., Mondello L.** Comprehensive multidimensional liquid chromatography: Theory and applications // *J. Chromatogr. A* 2008. Vol. 1184. P. 353–368.
16. **Stoll D.R., Carr P.W.** Two-Dimensional Liquid Chromatography: a State of the Art Tutorial // *Anal. Chem.* 2017. Vol. 89. P. 519–531.
17. **Stoll D.R., Wang X., Carr P.W.** Comparison of the practical resolving power of one- and two-dimensional high-performance liquid chromatography analysis of metabolomic samples // *Anal. Chem.* 2008. Vol. 80. P. 268–278.
18. **Jandera P.** Programmed elution in comprehensive two dimensional liquid chromatography // *J. Chromatogr. A* 2012. Vol. 1255. P. 112–129
19. **Sarrut M., D'Attoma A., Heinisch S.** Optimization of conditions in on-line comprehensive two-dimensional reversed phase liquid chromatography: Experimental comparison with one-dimensional reversed phase liquid chromatography for the separation of peptides // *J. Chromatogr. A.* 2015. Vol. 1421. P. 48–59.
20. **Lämmerhofer M.** Chiral recognition by enantioselective liquid chromatography: mechanisms and modern chiral stationary phases // *J. Chromatogr. A* 2010. Vol. 1217. P. 814–856.
21. **Cavazzini A., Marchetti N., Guzzinati R., Pierini M., Cioagli A., Kotoni D., D'Acquarica I., Villani C., Gasparrini F.** Enantioseparation by ultra-high-performance liquid chromatography // *TrAC Trends Anal. Chem.* 2014. Vol. 63. P. 95–103.
22. **Barhate C.L., Regalado E.L., Contrella N.D., Lee J., Jo J., Makarov A.A., Armstrong D.W., Welch C.J.** Ultrafast chiral chromatography as the second dimension in two-dimensional liquid chromatography experiments // *Anal. Chem.* 2017. Vol. 89. P. 3545–3553.
23. **Wang L., Wey W., Xia Z. et al** Recent advances in materials for stationary phase of mixed-mode HPLC // *Trends Anal Chem.* 2016. Vol. 80. P. 495–506.
24. **Zhang L., Doi Q., Qiao X. et al** Mixed-mode chromatographic stationary phases-recent advancements and its applications for HPLC // *Trends Anal Chem.* 2016. Vol. 82. P. 143–163.
25. **McNeff C.V., Yan B., Stoll D.R., Henry R.A.** Practice and theory of high temperature liquid chromatography // *J. Sep. Sci.* 2007. Vol. 30. P. 1672–1685.
26. **Striegel A.M., Yau W.W., Kirkland J.J., Bly D.D.** *Modern Size-Exclusion Liquid Chromatography* // John Wiley & Sons, Inc. Hoboken, NJ 2009.
27. **Uliyanchenko E.** Size-exclusion chromatography—from high performance to ultra-performance // *Anal. Bioanal. Chem.* 2014. Vol. 406. P. 6087–94.
28. **Uliyanchenko E., Schoenmakers P.J., van der Wal S.** Fast and efficient size-based separations of polymers using ultra-highpressure liquid chromatography // *J. Chromatogr. A.* 2011. Vol. 1218. P. 1509–1518.
29. **Pirok B.W.J., Breuer P., Hoppe S.J.M., Chitty M., Welch E., Farkas T., van der Wal S., Peters R., Schoenmakers P.J.** Size-exclusion chromatography using core-shell particles // *J. Chromatogr. A* 2017. Vol. 1486. P. 96–102.
30. **Schure M.R., Moran R.E.** Size exclusion chromatography with superficially porous particles // *J. Chromatogr. A* 2017. Vol. 1480. P. 11–19.
31. **Cecchi T.** Theoretical models of ion-pair chromatography—a close up of recent literature production // *J. Liq. Chrom.* 2015. Vol. 38. P. 404–414.
32. **Stepnik K.E.** A concise review of application of micellar liquid chromatography to study biologically active compounds // *Biomed. Chromat.* 2017. Vol. 31. P. 3741.
33. **Zheng X., Li Z., Beeram S., Podariu M., Matsuda R., Pfaumiller E.L., White C.J., Carter N.T., Hage D.S.** Analysis of biomolecular interactions using affinity microcolumns: A review // *J. Chromatogr. B Anal. Technol. Biomed. Life Sci.* 2014. Vol. 968. P. 49–63.
34. **Mallik R., Yoo M.J., Briscoe C.J., Hage D.S.** Analysis of drug-protein binding by ultrafast affinity chromatography using immobilized human serum albumin // *J. Chromatogr. A* 2010. Vol. 1217. P. 2796–2803.
35. **Queiroz J.A., Tomaz C.T., Cabral J.M.S.** Hydrophobic interaction chromatography of proteins // *J. Biotechnol.* 2001. Vol. 87. P. 143–159.
36. **Baca M., De Vos J., Bruylants G., Bartik K., Liu X., Cook K., Eeltink S.** A comprehensive study to protein retention in hydrophobic interaction chromatography // *J. Chromatogr. B* 2016. Vol. 1032. P. 182–188.
37. **Kadlec K., Adamska K., Okulus Z., Voelnel A.** Inverse liquid chromatography as a total for characterization of the surface of ceramic biomaterials // *J. Chrom. A* 2016. Vol. 1468. P. 116–125.
38. **Ho T.Y., Xue H.** Dispersed mobile-phase countercurrent chromatography // *Separations.* 2016. Vol. 3. P. 32.
39. **Castro-Benitez M.** Isolation and characterization of chlorophylls and xanthophylls in grass by high-speed countercurrent chromatography // *J. Liquid Chrom.* 2017. Vol. 40. P. 921–929.
40. **Li N., Wu T.** Rapid separation of polysaccharides using a novel spiral coil column by high-speed countercurrent chromatography // *J. Sep. Sci.* 2006. Vol. 39. P. 1404–1410.

41. **Huang X.Y., Ignatova S., Hewitson P., Di D.** An overview of recent progress in elution mode of countercurrent chromatography // *Trends Anal. Chem.* 2016. Vol. 77. P. 214–225.
42. **Alpert A.J.** Hydrophilic-interaction chromatography for the separation of peptides, nucleic acids and other polar compounds // *J. Chromatogr. A* 1990. Vol. 499. P. 177–196.
43. **Jandera P., Fischer J., Lahovská H., Novotná K., Česla P., Kolářová L.** Two-dimensional liquid chromatography normal phase and reversed-phase separation of (co) oligomers // *J. Chromatogr. A* 2006. Vol. 1119. P. 3–10.
44. **Kilz P., Radke W.** Application of two-dimensional chromatography to the characterization of macromolecules and biomacromolecules // *Anal. Bioanal. Chem.* 2015. Vol. 407. P. 193–215.
45. **Yang Q., Shi X., Gu Q., Zhao S., Shan Y., Xu G.** On-line two dimensional liquid chromatography/mass spectrometry for the analysis of triacylglycerides in peanut oil and mouse tissue // *J. Chromatogr. B* 2012. Vol. 895–896. P. 48–55.
46. **Kalili K.M., de Villiers A.** Systematic optimization and evaluation of on-line, off-line and stop-flow comprehensive hydrophilic interaction chromatography×reversed phase liquid chromatographic analysis of procyanidins. Part II: Application to cocoa procyanidins // *J. Chromatogr. A* 2013. Vol. 1289. P. 69–79.
47. **Willemse C.M., Stander M.A., Tredoux A.G.J., de Villiers A.** Comprehensive two-dimensional liquid chromatographic analysis of anthocyanins // *J. Chromatogr. A* 2014. Vol. 1359. P. 189–201.
48. **Cacciola F., Farnetti S., Dugo P., Marriott P.J., Mondello L.** Comprehensive two-dimensional liquid chromatography for polyphenol analysis in foodstuffs // *J. Sep. Sci.* 2017. Vol. 40. P. 7–24.
49. **Blahová E., Jandera P., Cacciola F., Mondello L.** Twodimensional and serial column reversed-phase separation of phenolic antioxidants on octadecyl-, polyethyleneglycol-, and pentafluorophenylpropyl-silica columns // *J. Sep. Sci.* 2006. Vol. 29. P. 555–566.
50. **Li Z., Chen K., Guo M., Tang D.** Two-dimensional liquid chromatography and its application in traditional Chinese medicine analysis and metabonomic investigation // *J. Sep. Sci.* 2016. Vol. 39. P. 21–37.
51. **Vanhoenacker G., Vandenheede I., David F., Sandra P., Sandra K.** Comprehensive two-dimensional liquid chromatography of therapeutic monoclonal antibody digests // *Anal. Bioanal. Chem.* 2015. Vol. 407. P. 355–366.
52. **Iguiniz M., Heinisch S.** Two-dimensional liquid chromatography in pharmaceutical analysis. Instrumental aspects, trends and applications // *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2017. Vol. 145. P. 482–503.
53. **Stoll D.R.** Recent advances in 2D-LC for bioanalysis // *Bioanalysis* 2015. Vol. 7. P. 3125–3142.
54. **Mouroo M.P.B., Denekamp I., Kuijper S.** et al. Hyphenated and comprehensive liquid chromatography x gas chromatography–mass spectrometry for identification of mycobacterium tuberculosis // *J. Chrom. A* 2016. Vol. 1439. P. 152–160.
55. **Dean T.H., Jezorek J.R.** Demonstration of simultaneous anion exchange and reversed-phase behavior on a strong anion-exchange column // *J. Chromatogr. A* 2004. Vol. 1028. P. 239–245.
56. **Pirok B.W.J., Knip J., van Bommel M.R., Schoenmakers P.J.** Characterization of synthetic dyes by comprehensive two-dimensional liquid chromatography combining ion-exchange chromatography and fast ion-pair reversed-phase chromatography // *J. Chromatogr. A* 2016. Vol. 1436. P. 141–146.
57. **Li J.F., Yan X., Wu Y.L., Fang M.J., Wu Z., Qiu Y.K.** Comprehensive two-dimensional normal-phase liquid chromatography × reversed-phase liquid chromatography for analysis of toad skin // *Anal. Chim. Acta* 2017. Vol. 962. P. 114–120.
58. **Dugo P., Favoino O., Luppino R., Dugo G., Mondello L.** Comprehensive two-dimensional normal-phase (adsorption)–reversed-phase liquid chromatography // *Anal. Chem.* 2004. Vol. 76. P. 2525–2530.
59. **Stoll D.R., Cohen J.D., Carr P.W.** Fast, comprehensive online two-dimensional high performance liquid chromatography through the use of high temperature ultra-fast gradient elution reversed-phase liquid chromatography // *J. Chromatogr. A* 2006. Vol. 1122. P. 123–137.
60. **Nguyen D.T., Guillaume D., Heinisch S., Barrioulet M., Rocca J., Rudaz S., Veuthey J.** High throughput liquid chromatography with sub-2 micron particles at high pressure and high temperature // *J. Chromatogr. A* 2007. Vol. 1167. P. 76–84.
61. **D'Attoma A., Heinisch S.** On-line comprehensive two dimensional separations of charged compounds using reversed-phase high performance liquid chromatography and hydrophilic interaction chromatography. Part II: Application to the separation of peptides // *J. Chromatogr. A* 2013. Vol. 1306. P. 27–36.
62. **Xiu L., Valeja S.G., Alpert A.J., Jin S., Ge Y.** Effective protein separation by coupling hydrophobic interaction and reverse phase chromatography for top-down proteomics // *Anal. Chem.* 2014. Vol. 86. P. 7899–7906.
63. **Fekete S., Schappler J., Veuthey J., Guillaume D.** Current and future trends in UHPLC // *Trends Anal. Chem.* 2014. Vol. 63. P. 2–13.
64. **Яшин Я., Веденин А., Яшин А.** ВЭЖХ и Ультра-ВЭЖХ: состояние и перспективы // *Аналитика.* 2015. №2. С. 70–84.
65. **Yashin Ya.I.** Selectivity of Liquid-Adsorption Chromatography on Hydroxylated Silica Gel with Non-Polar and Polar Eluents // *Chromatographia.* 1982. Vol. 16. P. 368–371.
66. **Агеев А.Н., Яшин Я.И.** Жидкостная хроматография на гидроксильированном силикагеле с использованием воды в качестве элюента // *ЖАХ.* 1986. Т. 41. С. 1901–1904.
67. **Агеев А.Н., Яшин Я.И.** Высокотемпературная жидкостная хроматография // *Ж. физ. химии.* 1994. Т. 68. С. 1749–1751.
68. **Агеев А.Н., Орлов В.И., Яшин Я.И.** Программирование температуры в жидкостной хроматографии // *Ж. физ. химии.* 1994. Т. 68. С. 1873–1876.
69. **Cabrera K.** A new generation of silica – based monolithic HPLC columns with improved performance // *LC–GC.* 2012. Т. 30. С. 1–7.
70. **Majors R.E.** Developments in HPLC / UHPLC column technology // *LC–GC.* 2012. April 1 special issues.
71. **Svec F., Lv Y.** Advances and recent trends in the field of monolithic columns in chromatography // *Anal. Chem.* 2015. Vol. 87. P. 250–273.
72. **Liang H., Lin B.C.** // *J. Chromat.* 1998. Vol. 828. P.3.
73. **Yashin Ya.I.** The selectivity of liquid-adsorption chromatography // *J. Chromat.* 1982. Vol. 251. P. 269–279.
74. **Tumpa A., Kolinic M., Jovanovic P., Eric S., Rakic T.** Theoretical models and QSRR in retention modeling of eight aminopyridines // *J. Chromat. Sci.* 2016. Vol. 54. P. 436–444.
75. **Davankov V.A.** // *Adv. Chromat.* 1980. Vol. 18. P. 139.
76. **Favretto D., Pascali J.P., Tagliaro F.** New challenges and innovation in forensic toxicology: Focus on the "New Psychoactive Substances" // *Journal of Chromatography A.* 2013. Т. 1287. С. 84–95.



77. Callahan M.P., Martin M.G., Burton A.S., Glavin D.P., Dworkin J.P. Amino acid analysis in micrograms of meteorite sample by nanoliquid chromatography–high-resolution mass spectrometry // *Journal of Chromatography A*. 2014. Vol. 1332. P. 30–34.
78. Gritti F., Guiochon G. The van Deemter equation-assumption, limits and adjustment to modern HPLC // *J. Chromat. A*. 2013. Vol. 1302. P. 1–13.
79. Яшин Я.И. // *Ж. аналит. хим.* 1989. Т. 44. С. 1695.
80. Desmet G., Eeltix S. Fundamentals for LC miniaturization // *Anal. Chem.* 2013. Vol. 85. P. 543–550.
81. Sharma S., Plistil A., Simpson R.S. et al. Instrumentation for hand-portable liquid chromatography // *J. Chrom. A*. 2014. Vol. 1327. P. 80–89.
82. Grinias J.P., Kennedy R.T. Advances in and prospects of microchip liquid chromatography // *Trends Anal. Chem.* 2016. Vol. 81. P. 110–117.
83. Пепеляев С.Г., Яшин А.Я., Веденин А.Н., Яшин Я.И. Новый отечественный жидкостный хроматограф "МА-ЭСТРО ВЭЖХ" // *Приборы*. 2017. № 6. С. 1–11.
84. Zhu B., Chen Y.Y. Development and application of liquid chromatography in life sciences. Minireview // *J. Chrom. Sep. Techn.* 2017. Vol. 8. P. 358.
85. Li X.I., Yuan J., Dong Y.S. et al. optimization of an HPLC method for determining to genomic methylation levels of *Taxus* cells // *J. Chrom. Sci.* 2016. Vol. 54. P. 200–205.
86. Issag H.J., Fox S.D., Chan K.C., Veenstra T.D. Global proteomics and metabolomics in cancer biomarkers discovery // *J. Sep. Sci.* 2011. Vol. 34. P. 3484–3492.
87. Xie F., Smith R.D., Shen Y. Advanced proteomic liquid chromatography // *J. Chromat. A*. 2012. Vol. 1261. P. 78–90.
88. Mitulovic G. New HPLC techniques for proteomics analysis – a short overview of latest developments // *J. Liquid Chromat.* 2015. Vol. 38. P. 390–403.
89. Lesur A., Gallien S., Domon B. Hyphenation of fast liquid chromatography with high-resolution mass spectrometry for quantitative proteomics analysis // *Trends Anal Chem.* 2016. Vol. 84. P. 144–150.
90. Ammann A.A., Sutes M.J.F. Multimode gradient HPLC – MS method applicable to metabolomics and environmental monitoring // *J. Chromat. A*. 2016. Vol. 1456. P. 145–151.
91. Hounoum B.M., Blasco H., Emound P., Movel S. LC high resolution MS-based cell metabolomics-experimental design, recommendations and applications // *Trends Anal. Chem.* 2016. Vol. 75. P. 118–128.
92. Forcisi S., Moritz I., Kanawati B. et al. LC-MS in metabolomics research- mass analyzers in ultra HPLC // *J. Chromat.* 2013. Vol. 1292. P. 51–65.
93. Vinaixa M. et al. Mass spectral databases for LC/MS AND GC/MS based metabolomics. State of the field and future // *Trends Anal. Chem.* 2016. Vol. 78. P. 23–35.
94. Yang L., Shan Y., Shen S., et al. Recent advances in lipidomics for disease research // *J. Sep. Sci.* 2016. Vol. 39. P. 38–50.
95. Jeaneret F., Tonali D., Rossier M.F. et al. Evaluation of steroidomics by LC-MS a powerful analytical strategy for perturbations // *J. Chromat. A*. 2016. Vol. 1430. P. 97–112.
96. Яшин А.Я., Яшин Я.И. Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) маркеров окислительного стресса // *Аналитика* 2011. Т. 1. С. 34–43.
97. Яшин Я.И., Яшин А.Я., Черноусова Н.И., Федина П.А. Диагностика окислительного стресса – предшественника опасных болезней и преждевременного старения и антиоксидантная терапия в книге "Anti-age medicine: наука оставаться молодым". Коллектив авторов / под ред. А.И. Труханова. М.: Асвомед, 2012. С. 455–489.
98. Яшин А. Определение биомаркеров методом ВЭЖХ с амперометрическим детектированием // *Аналитика*. 2016. № 4. С. 106–112.
99. Яшин А., Немзер Б., Веденин А., Яшин Я. Определение тиолов в биологических жидкостях человека методом ВЭЖХ // *Аналитика*. 2016. № 6. С. 80–86.
100. Яшин А.Я., Веденин А.Н., Яшин Я.И. ВЭЖХ с амперометрическим детектированием. *Транслит. М.*, 2018. 196 с.
101. Яшин А., Веденин А., Яшин Я. Применение ВЭЖХ с амперометрическим детектированием // *Аналитика*. 2017. № 2. С. 66–78.
102. Denoroy L., Zimmer L., Renaud B., Parrot S. UHPLC as tool for the discovery and the analysis of biomarkers of disease- a review // *J. Chromat. B*. 2013. Vol. 927. P. 37–53.
103. Kaluzna-Czaplinska, Jozwic J. Current application of chromatographic methods for diagnosis and identification of potential biomarkers in cancer. *Trends Anal. Chem.* 2014. Vol. 56. P. 1–12.
104. Veringa A., Stukenboom M.G.G., Dekkers B.C.J. LC-MS/MS for therapeutic drug monitoring of anti-infective drugs // *Trends Anal Chem.* 2016. Vol. 84. P. 34–40.
105. Shipkova M., Valbuena H. Liquid chromatography tandem MS/MS for therapeutical drugs monitoring of immunosuppressive drugs-achievements lessons and open issues // *Trends Anal. Chem.* 2016. Vol. 84. P. 23–33.
106. Honeychurch K. Review. The application of LC-chemical detection for the determination of drugs of abuse // *Separations*. 2016. Vol. 3. P. 28.
107. Kalikova K., Slechtova T., Tesarova E. Enantiomeric ratio of amino acids as a tool for determination of aging and disease diagnostics by chromatographic measurement // *Separations*. 2016. Vol. 3. P. 30.
108. Muller C., Fonseca J.R., Rock N.M. et al. Enantioseparation and selective detection of D-amino acids by ultra-HPLC-MS in analysis of complex biological samples // *J. Chromat. A*. 2014. Vol. 1324. P. 109–114.
109. Callahan M.P., Martin M.G., Burton A.S. et al. Amino acids analysis in micrograms of meteorite sample by nanoliquid chromatography –high resolution MS // *J. Chromat. A*. 2014. Vol. 1332. P. 30–34.
110. Deventer K., Pizo O.J., Verstraete A.G., van Eenoo P. Dilute- and shoot-liquid chromatography-mass spectrometry in doping control and analytical toxicology // *Trends Anal. Chem.* 2014. Vol. 55. P. 1–13.
111. Nicoli R., Guillarme D., Leuenberger N. et al. Analytical strategies for doping control purposes-needs, challenges and perspectives // *Anal Chem.* 2016. Vol. 88. P. 508–523.
112. Czyski A., Sokol A., Szulek E. HPLC. method for determination of moxifloxacin in plasma and its application in pharmacokinetic analysis // *J. Liquid Chromat.* 2017. Vol. 40. P. 8–12.
113. Hird S.J., Lan B.P.Y., Shuhmacher R., Kirska R. LC-MS for the determination of chemical contaminants in foods // *Trends Anal. Chem.* 2014. Vol. 59. P. 59–72.
114. Distefano V., Avellone G., Bongiorno D. et al. Application of LC-MS for food analysis // *J. Chromat.* 2012. Vol. 1259. P. 74–85.
115. Bhushan R. Liquid chromatography for enantiomeric purity of chiral pharmaceuticals // *J. Chrom. Sep. Techn.* 2017. Vol. 8. 5 suppl.
116. Gosmani J. Different separation or experimental techniques for clinical chromatography-small review // *J. Chrom. Sep. Techn.* 2015. Vol. 6. P. 297.
117. Lu S. Standardization of LC-MS/MS in clinical laboratory // *J. Chrom. Sep. Techn.* 2015. Vol. 6. p.128.