

ENANTIOMÉRNE SEPARÁCIE PROTEÍNOGÉNNÝCH AMINOKYSELÍN NA TEIKOPLANÍNŮVÝCH STACIONÁRNÝCH FÁZACH

ZUZANA DEÁKOVÁ^{a,b}, ZDEŇKA ĎURAČKOVÁ^b
a JOZEF LEHOTAY^a

^a Ústav analytickej chémie, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie STU, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, ^b Ústav lekárskej chémie, biochémie a klinickej biochémie, Lekárska fakulta UK, Sasinkova 2, 811 08 Bratislava
zuzana.deakova@stuba.sk

Došlo 8.4.13, prijaté 19.6.13.

Kľúčové slová: proteínogénne aminokyseliny, teikoplanín, HPLC

Obsah

1. Úvod
2. Makrocyclické glykopeptidy
3. Teikoplanínové stacionárne fázy
 - 3.1. Charakteristika
 - 3.2. Mechanizmus separácie
 - 3.3. Aplikácie teikoplanínových kolón
4. Záver

1. Úvod

Dlho sa verilo, že v tkanivách cicavcov sa nachádzajú len L-enantioméry aminokyselín. Po objave D-alanínu v sére prasiat a myší¹ začal narastať záujem o chirálne separácie aminokyselín v telových tekutinách a tkanivách cicavcov, vrátane ľudí².

I keď fyziologické funkcie niektorých D-aminokyselín doposiaľ neboli preskúmané, zistilo sa napr., že D-forma kyseliny asparágovej hrá dôležitú úlohu v neuroendokrinnom systéme, rovnako ako pri rozvoji centrálného nervového systému³. Avšak, zvýšená hladina D-serínu bola spojená s patogenézou rôznych ochorení, akými sú napr. schizofrénia a skleróza multiplex⁴. Pre lepšie porozumenie biologickej významnosti D-aminokyselín je teda dôležité sledovať ich metabolizmus a výskyt v živých systémoch³.

Na separáciu aminokyselín a iných chirálnych zlúčenín sa vo všeobecnosti využíva priama a nepriama metóda stanovenia. Podstatou priamej metódy je separácia enantiomérov bez derivatizácie v chirálnom prostredí, pri nepriamej metóde sa využíva tvorba diastereomérov, ktoré možno separovať na nechirálnych stacionárnych fázach (SF)⁵. Využitie chirálnej mobilnej fázy (MF) v oblasti HPLC analýz nie je tak časté. Problémom je najmä vysoká

spotreba chirálnej látky (napr. najčastejšie β -cyklodextrín)⁶.

Najčastejšie používané SF sú na báze cyklodextrínových fáz, polysacharidových fáz, proteínových fáz, crown-éterov, ligandovej a iónovej výmeny, syntetických polymérov, polymérov s odtlačkami molekúl (v prevažnej miere molekúl analytu) a makrocyclických antibiotík⁷. V súčasnosti je ale čoraz väčšia pozornosť venovaná práve makrocyclickým antibiotikám, predovšetkým pre ich širokú aplikovateľnosť⁸.

2. Makrocyclické glykopeptidy

Makrocyclické glykopeptidy boli uvedené na trh v roku 1994 Armstrongom⁹. Prvým komerčne dostupným makrocyclickým antibiotikom bol vankomycín (Chirobiotic V)¹⁰ a neskôr bol do tejto skupiny zaradený aj teikoplanín (Chirobiotic T), ristocetín (Chirobiotic R) a avoparcín (Chirobiotic A)¹¹. Okrem unikátnej selektivity sa tieto chirálne SF vyznačujú aj „doplňovými“ vlastnosťami, t.j. ak separácia enantiomérov nie dostatočná na jednom glykopeptide, môže byť lepšia na inom glykopeptide pri použití MF rovnakého alebo podobného zloženia. V snahe vylepšiť enantioselektivitu môže byť vankomycín nahradený ristocetínom alebo teikoplanínom. Príčinou tohto javu sú malé odlišnosti vo väzbových miestach chirálnych SF. Tieto SF možno použiť v revezno-fázovom, konvenčne-fázovom, polárno-iónovom, ako aj v polárno-organickom móde, a preto sú vhodné na separáciu veľkého počtu látok¹².

Zatiaľ, čo na vankomycíne možno separovať napr. sekundárne a terciárne amíny, neutrálne molekuly, amidy, kyseliny, či estery, ristocetín je vhodný na separáciu substituovaných alifatických kyselín, peptidov a derivatizovaných aminokyselín. Avšak, spomedzi všetkých makrocyclických glykopeptidov poskytuje práve teikoplanín najvyššiu enantioselektivitu pre separáciu aminokyselín, predovšetkým tých nederivatizovaných¹².

Predložená práca je preto zameraná na priamu separáciu proteínogénnych aminokyselín na teikoplanínových SF.

3. Teikoplanínové stacionárne fázy

3.1. Charakteristika

Prírodný teikoplanín (T) má 23 stereogénnych centier. Jeho štruktúra je tvorená aglykónom a obsahuje 7 benzénových kruhov, 6 amidových skupín, 3 etérové skupiny a 3 monosacharidy, t.j. dva D-glykózamíny a jednu D-manózu. Veľmi dôležitou skupinou je primárna aminoskupina a karboxylová skupina¹³, ktoré kontrolujú náboj na teikoplaníne. Pri bežných laboratórnych podmienkach (pH 3,5–6,8) má teikoplanín slabý aniónový charakter¹⁰.

Teikoplanín má, ako jediné makrocyclické antibiotikum, hydrofóbný acylový reťazec, tzv. hydrofóbný „chvost“, pripojený na 2-amino-2-deoxy- β -D-glukopyranozyl, a preto je povrchovo aktívny a môže tvoriť micely^{10,14}.

Prírodný teikoplanín je bežne tvorený 5 izomermi lišiacich sa len v type kyseliny, ktorá je naviazaná na aminoskupinu glukozamínu. Teikoplanín A₂₋₁ viaže kyselinu 4-dekánovú, A₂₋₂ kyselinu 8-metylnonánovú, A₂₋₃ kyselinu *n*-dekánovú, A₂₋₄ kyselinu 8-metyldekánovú a A₂₋₅ kyselinu 9-metyldekánovú¹⁰. Väčšina používaných teikoplanínových glykopeptidov je označovaná ako A₂₋₂ (cit.¹⁵).

Chemickou modifikáciou T možno vytvoriť Chirobiotic TAG (teikoplanín aglykón, TAG), ktorý má 8 stereogénnych centier a v jeho štruktúre sa nenachádzajú žiadne sacharidové jednotky (obr. 1). Často sa využíva pre jeho „doplnkové“ vlastnosti k T (cit.¹²).

3.2. Mechanizmus separácie

Dôležitú úlohu zohráva interakcia medzi karboxylovou skupinou stanovovanej látky a aminoskupinou teikoplanínu, resp. interakcia medzi karboxylovou skupinou teikoplanínu a aminoskupinou látky¹⁶. Zo sterických dôvodov nemôžu nastať tieto interakcie súčasne. V takomto prípade môžu byť elektrostatické interakcie nahradené vodíkovou väzbou alebo hydrofóbnymi interakciami¹⁷. Alternatívne môžu nastať aj dipól-dipól interakcie. Kombinácia vodíkových väzieb, dipól-dipól a van der Waalsových interakcií môže mať rôzny vplyv na stabilizáciu komplexu chirálna SF-enantiomér. Interakcia chirálnej látky so SF môže nastať v závislosti od použitého módu napríklad cez π - π interakcie, vodíkové väzby, elektrostatické interakcie, dipól-

dipól interakcie a inklúzie. Prítomnosť týchto interakcií závisí od módu, v ktorom prebieha analýza^{12,18}.

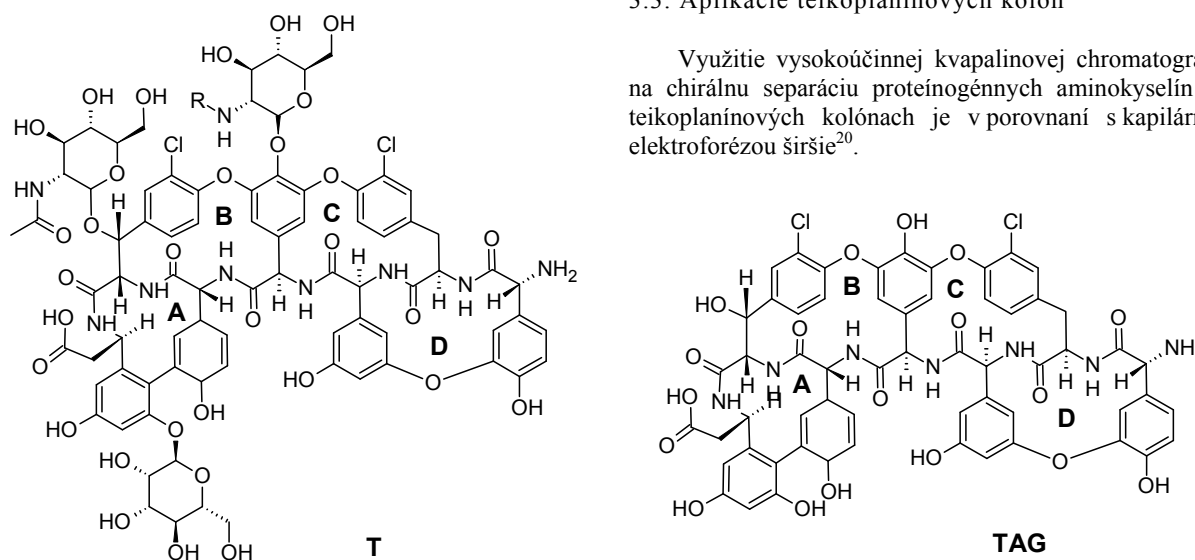
V prípade, ak sa na separácii chirálnych látok podieľajú aj rôzne sterické zábrany pre jednotlivé enantioméry, separácia sa môže uskutočniť na základe rôznej penetrácie jednotlivých enantiomérov do SF. Vo väčšine prípadov eluujú ako prvé L-enantioméry (výnimkou sú karboxylové kyseliny obsahujúce cyklohexán, ktoré eluujú opačne), pretože tieto nevstupujú do aglykónového „koša“. Naopak, D-enantioméry sú schopné lepšie difundovať do SF, kde môžu byť sorbované aj pomocou vodíkovej väzby¹⁸.

Vzhľadom na skutočnosť, že separácia na T je odlišná ako na TAG, možno predpokladať, že na chirálnom rozlíšení látok môžu mať podiel aj sacharidové jednotky v molekule teikoplanínu. Takéto sacharidy môžu okupovať priestor vo vnútri aglykónového „koša“, a tým stericky zabrániť prístupu iných molekúl k väzbovým miestam, prípadne môžu tieto miesta samy zablokovať alebo môžu ponúknuť konkurenčné interakčné miesta¹⁹. Rôzne druhy interakcií medzi jednotlivými formami enantiomérov vplyvajú aj na tvar chromatografického píku¹⁷.

Asymetria píku menej zadržanej L-formy nie je tak výrazná, ako je to v prípade jeho D-izoméru. Táto sa ne stráca ani pri nadávkovaní veľmi nízkej koncentrácie (t.j. 5 mmol l⁻¹) aminokyselín, takže tento jav nemožno pripísať kapacite kolóny. Jandera vo svojej práci¹⁷ uviedol, že na retenciu menej zadržaného izoméru vplyvávajú nešpecifické interakcie, zatiaľ čo na retenciu silnejšie zadržaného enantioméru majú vplyv rovnako nešpecifické, ako aj špecifické interakcie s chirálnymi adsorpčnými miestami. Pre zložitosť štruktúry teikoplanínu je ale ťažké presne určiť mechanizmus separácie, avšak vďaka komplexnosti jeho štruktúry poskytuje unikátne možnosti pri aplikáciách.

3.3. Aplikácie teikoplanínových kolón

Využitie vysokoúčinnnej kvapalinovej chromatografie na chirálnu separáciu proteínogénnych aminokyselín na teikoplanínových kolónach je v porovnaní s kapilárnou elektroforézou širšie²⁰.



Obr. 1. Štruktúra prírodného teikoplanínu (T) a teikoplanín aglykónu (TAG); kavity – A, B, C, D (cit.¹²)

Tabuľka I

Príklady využitia teikoplanínových SF na enantioseparáciu proteínogénnych aminokyselín v rokoch 2000–2012

Analyt	Derivati- začné čínidlo ^a	Separáčny systém ^b	Mobilná fáza ^c	Stac. fáza ^d	Vzorka	Medza detekcie ^e	Lit.
tryptofán	nederivati- zované	HPLC-UV	EtOH : voda	T	štandard	neuveďená	13
serín, valín, leucín, fenylalanín, alanín	danzyl	HPLC-UV	citrátový tlmivý roztok s LiClO ₄ : MeOH (85 : 15)	T	štandard	neuveďená	26
tryptofán	nederivati- zované	HPLC-UV	fosfátový tlmivý roztok s NaClO ₄ pH 7	T	štandard	neuveďená	8
valín, serín, tryptofán, fenylalanín, leucín	danzyl	HPLC-UV	0,01 mol.l ⁻¹ citrátový tlmivý roztok : MeOH (90 : 10)	T	štandard	neuveďená	27
treonín, metionín	nederivati- zované	HPLC-UV HPLC-RI	organický modifikátor : voda	T	štandard	neuveďená	16
fenylalanín, tryptofán, arginín, tyrozín	N-t-Bok	HPLC-UV HPCE-UV	0,06 mol.l ⁻¹ TEAA (pH 4,1) : MeOH (80 : 20); resp. 0,06 mol.l ⁻¹ fosfátový tlmivý roztok (pH 4,3) : ACN (90 : 10)	T	štandard	neuveďená	28
tryptofán	nederivati- zované; N-KBZ; N-Ac; N-t-Bok a iné	HPLC-UV CE-UV	EtOH : TEAA pH 4,1 (90 : 10); resp. EtOH : voda (50 : 50); resp. 0,1 mol.l ⁻¹ fosfátový tlmivý roztok (pH 6) : ACN	T	štandard	neuveďená	29
kyselina asparágová, serín, kyselina glutámová	NBD-F	HPLC-MS/ MS	MeOH : voda : TFA (60 : 40 : 0,012)	TAG	mozog potkanov	glu: 110 ng g ⁻¹ tkaniva, asp: 150 ng g ⁻¹ tkaniva, ser: 172 ng g ⁻¹ tkaniva	3
kyselina glutámová, serín, kyselina asparágová	NBD-F	HPLC-MS/ MS	MeOH : voda : TFA (60 : 40 : 0,012)	TAG	nervové tkaniva mozgu potkana, CNS bez- stavovca	glu: 96 ng ml ⁻¹ , ser: 101,2 ng ml ⁻¹	30
kyselina asparágová, kyselina glutámová, serín, arginín, izoleucín, leucín, metionín, lyzín, fenylala- nín, tyrozín, tryptofán, treonín	NBD-F; DNB-F	HPLC-MS/ MS	MeOH : 0,1 % HCOOH (pH 4) (60 : 40)	T	syntetický mozgo- miešny mok	asp: 2.10 ⁻⁷ μmol l ⁻¹ , 31 glu: 1.10 ⁻⁷ mol l ⁻¹	31
leucín, valín, kyselina asparágová, kyselina glutámová, serín, treonín, glycín, alanín, prolín, metionín, tyrozín, fenyla- lanín, tryptofán, lyzín, histidín, arginín, aspara- gín, glutamín	nederivati- zované	HPLC-MS/ MS	ACN : voda (75 : 25) pokolónovo pridaná 0,5 mol l ⁻¹ HCOOH	T	štandard	2,5–50 μg l ⁻¹	32

Tabuľka I
pokračovanie

Analyt	Derivatizačné činidlo ^a	Separáčny systém ^b	Mobilná fáza ^c	Stacionárna fáza ^d	Vzorka	Medza detekcie ^e	Lit.
leucín, valín, kyselina asparágová, kyselina glutámová, serín, treonín, glycín, alanín, prolín, metionín, tyrozín, fenylalanín, tryptofán, lyzín, histidín, arginín, asparagín, glutamín	nederivatizované	LC-MS/MS	0,25 % kyselina octová : MeOH	T	bunky, vzorky z fermentácie	50–450 ng ml ⁻¹	33
kyselina asparágová, histidín, leucín, fenylalanín, prolín, treonín, tryptofán	nederivatizované	LC-UV	MeOH : voda; resp. MeOH : TEAA (pH 3,8–4,1)	T TAG	štandard	neuveďená	34
tyrozín, fenylalanín, tryptofán	nederivatizované	LC-UV	20 mmol l ⁻¹ octan amónny (pH 6) : MeOH (94 : 6); resp. voda : MeOH (90 : 10)	T	ožiarené potraviny	0,16–3 mg l ⁻¹	35
tryptofán, tyrozín, fenylalanín	nederivatizované	HPLC-UV	0,005 mol l ⁻¹ fosfátový tlmivý roztok pH 7	mT	štandard	neuveďená	36
tryptofán, fenylalanín, leucín, alanín	nederivatizované; N-t-Bok; danzyl; N-DNB a iné	HPLC-UV	TEAA pH 4,1 : MeOH (60 : 40)	T TAG meTAG	štandard	neuveďená	37
alanín, valín, leucín, treonín, serín, tryptofán, tyrozín, prolín, kyselina asparágová, kyselina glutámová, cysteín, histidín, metionín, fenylalanín	CH ₃ -scn; 2,4F-fenko; 2,4F-fescn; 2,3Cl-fescn; 3,5Cl-fescn	HPLC-UV	MeOH : TEAA : etyléter; resp. ACN: MeOH : TEAA	T	štandard	neuveďená	38
glycín, alanín, valín, leucín, izoleucín, prolín, fenylalanín	nederivatizované; N-Ac; N-tert-Bok	HPLC-UV	octan amónny (pH 7) : MeOH; resp. octan amónny (pH 7) : ACN	T	štandard	neuveďená	18
metionín	nederivatizované	HPLC-UV	0,05 mol l ⁻¹ octan amónny (pH 6) : MeOH (90 : 10)	TAG	štandard	neuveďená	39
treonín, serín, asparagín, alanín, glutamín, leucín, metionín, tryptofán	nederivatizované	HPLC-UV	MeOH : voda (10 : 90)	TAG	štandard	met: 2 µg l ⁻¹	40
metionín, tryptofán, alanín, asparagín, leucín	nederivatizované	HPLC-UV	0,05 mol l ⁻¹ octan amónny (pH 5,8) : MeOH (90 : 10)	TAG	štandard	neuveďená	41
metionín, fenylalanín, serín, leucín, treonín, tryptofán, valín	danzyl	HPLC-UV	MeOH : ACN : TEAA	TAG	štandard	neuveďená	42
kyselina asparágová, kyselina glutámová	nederivatizované	CE-UV	0,01 mol l ⁻¹ kyselina sorbová a histidín (pH 5)	T	pivo, zubná sklovina	5.10 ⁻⁷ mol l ⁻¹	25
treonín, metionín	nederivatizované	HPLC-UV	organický modifikátor : voda	T	štandard	neuveďená	43

Tabuľka I
pokračovanie

Analyt	Derivatizačné činidlo ^a	Separáčny systém ^b	Mobilná fáza ^c	Stacionárna fáza ^d	Vzorka	Medza detekcie ^e	Lit.
tyrozín	nederivatizované; N-t-Bok	HPLC-UV	MeOH : 1% TEAA (pH 4,2) (20 : 80)	T TAG meTAG	štandard	neuveďená	44
alanín, serín, asparagín, glutamín, metionín, tryptofán, fenylalanín, treonín, tyrozín, histidín, lyzín, arginín, valín, leucín, prolín, leucín	nederivatizované; N-3,5DNPy; N-2,4DNP; N-KBZ	SFC-UV	TEA (TFA) : MeOH; resp. TEA, TFA, glycerol : MeOH	T TAG	štandard	neuveďená	45
alanín, fenylalanín	nederivatizované	HPLC-UV	2-propanol : voda (pH 4) (60 : 40)	T	štandard	neuveďená	46

^a danzyl – danzyl chlorid, N-t-Bok – *N-tert*-butyloxykarbonyl, N-KBZ – karboxybenzyl, N-Ac – *N*-acetyl chlorid, NBD-F – 7-fluoro-4-nitrobenzoxadiazol, DNB-F – 1-fluoro-2,4-dinitrobenzén, CH₃-scn – metylizotiokyanát, 2,4F-fenko – 2,4-difluorofenylizotiokyanát, 2,4F-fescn – 2,4-difluorofenylizokyanát, 2,3Cl-fescn – 2,3-dichlorofenylizotiokyanát, 3,5Cl-fescn – 3,5-dichlorofenylizotiokyanát, N-3,5DNPy – N-3,5-dinitropyridyl, N-2,4DNF – N-2,4-dinitrofenyl, ^b RI – refraktometrický detektor, HPCE – vysoko-účinná kapilárna elektroforéza, CE – kapilárna elektroforéza, SFC – superkritická fluidná chromatografia, ^c EtOH – etanol, MeOH – metanol, TEAA – trietylamin octanový tlmivý roztok, ACN – acetonitril, TFA – kyselina trifluorotová, TEA – trietylamin, ^d T – Chirobiotic T, TAG – Chirobiotic TAG, mT – modifikovaný T, meTAG – metylovaný TAG, ^e glu – kyselina glutámová, asp – kyselina asparagová, ser – serín, met – metionín

Výhodou chromatografických techník je najmä ich dostupnosť, opakovateľnosť a malá spotreba vzorky. Okrem toho, možno simultánne analyzovať jednotlivé enantioméry a rýchlo odhadnúť ich pomer. Najväčším obmedzením je použitie kyslej hydrolyzy, ktorá môže indukovať racemizáciu²⁰.

Princíp separácie u kapilárnej elektroforézy je iný ako u HPLC, preto je kapilárna elektroforéza excelentnou doplnkovou technikou k HPLC. Kapilárnou elektroforézou možno rozlíšiť aj také enantioméry, ktoré neboli separovateľné pomocou HPLC (cit.²¹). Chirálna látka sa môže pridať do nosného elektrolytu alebo gélovej matrice alebo sa môže viazať na vnútorný povrch kapiláry. Limitujúcimi faktormi tejto metódy je najmä vysoká UV absorpcia chirálneho selektora v nosnom elektrolyte a jeho adsorpcia na vnútornej stene kapiláry^{22–24}, čím sa môže znižovať separačná účinnosť a reprodukovateľnosť migračných časov²¹, ako aj selektivita metódy²⁵. Spomedzi všetkých glykopeptidov sa na vnútornom povrchu kapiláry najsilnejšie adsorbujú vankomycín a najsilnejšie teikoplanín, pravdepodobne kvôli hydrofóbnejšiemu charakteru molekuly²². Vysoká UV absorpcia makrocyclických glykopeptidov môže byť potlačená nepriamou UV detekciou látok, prípadne použitím techniky čiastočného plnenia kapiláry. Dynamická modifikácia povrchu kapiláry môže zabrániť adsorpcii glykopeptidov na stenu kapiláry²³. Príklady využitia teikoplanínových SF na enantioseparáciu proteínogénnych aminokyselín sú uvedené v tab. I.

4. Záver

Jedinečná štruktúra makrocyclických glykopeptidov umožňuje aplikovať tieto chirálne SF na separáciu širokého spektra látok. Keďže ide o pomerne novú skupinu SF, mnoho vedeckých prác sa zaoberá tým, ako vylepšiť podmienky separácie, štúdiom mechanizmu chirálneho rozlíšenia, či modifikáciou povrchu SF.

Spomedzi všetkých glykopeptidov vykazuje práve teikoplanín najvyššiu enantioselektivitu na separáciu aminokyselín, prevažne tých nederivatizovaných. Výhodou týchto SF je možnosť stanoviť enantioméry aminokyselín aj v biologických vzorkách.

Práca bola podporená grantom MŠ VEGA 1/0164/11 a grantom MŠ VEGA 1/1133/11. Autori zároveň ďakujú recenzentovi za konštruktívne pripomienky k rukopisu tejto práce.

LITERATÚRA

- Hoeprich P. D.: *J. Biol. Chem.* 240, 1654 (1965).
- Hamase K., Homma H., Takigawa Y., Fukushima T., Santa T., Imai K.: *Biochim. Biophys. Acta* 1334, 214 (1997).
- Song Y., Feng Y., Lu X., Zhao S., Liu CH. W., Liu Y.: *Neurosci. Lett.* 445, 53 (2008).
- Visser W. F., Verhoeven-duifa N. M., Ophoff R., Bakker S., Klopa S., Bergera R., De Koning T. J.: *J. Chromatogr.*

- matogr., A 40, 7130 (2011).
5. Ilisz I., Aranyi A., Pataj Z., Péter A.: *J. Pharm. Biomed. Anal.* 69, 28 (2012).
 6. Lämmerhofer M.: *J. Chromatogr., A* 1217, 814 (2010).
 7. Cavazzini A., Pasti L., Massi A., Marchetti N., Dondi F.: *Anal. Chim. Acta* 706, 205 (2011).
 8. Loukili B., Dufresne Ch., Jourdan E., Grosset C., Ravel A., Villet A., Pyerin E.: *J. Chromatogr., A* 986, 45 (2003).
 9. Armstrong D. W., Tang Y., Chen S., Zhou Y., Bagwill Ch., Chen J. R.: *Anal. Chem.* 66, 1473 (1994).
 10. Xiao T. L., Armstrong D. W., v knihe: *Chiral Separation: Methods and Protocols* (Gübitz G., Schmid M. G., ed.), kap. 4. Humana Press Inc., Totowa 2004.
 11. D'acquarella I., Gasparrini F., Misiti D., Pierini M., Vallani C.: *Adv. Chromatogr.* 46, 109 (2008).
 12. Astec a.s.: *Chirobiotic Handbook: A guide to using macrocyclic glycopeptide bonded phases for chiral separations*. 5. vyd. Advanced Separation Technologies Inc., Washington 2004.
 13. Jandera P., Škavrada M., Klemmová K., Bačková V., Guichon G.: *J. Chromatogr., A* 917, 123 (2001).
 14. Tesářová E., Tuzar Z., Nesměrák K., Bosáková Z., Gaš B.: *Talanta* 54, 643 (2001).
 15. Berthod A., Liu Y., Bagwill Ch., Armstrong D. W.: *J. Chromatogr., A* 731, 123 (1996).
 16. Poplewska I., Kramarz R., Piatkowski W., Seidel-Morgenstern A., Antos D.: *J. Chromatogr., A* 1173, 58 (2007).
 17. Jandera P., Bačková V., Felinger A.: *J. Chromatogr., A* 919, 67 (2001).
 18. Cavazzini A., Nadalini G., Dondi F., Gasparrini F., Ciogli A., Villani C.: *J. Chromatogr., A* 1031, 143 (2004).
 19. Péter A., Árko A., Tourwé D., Forró E., Fülöp F., Armstrong D. W.: *J. Chromatogr., A* 1031, 159 (2004).
 20. McCudden CH. R., Kraus V. B.: *Clin. Chem.* 39, 1112 (2006).
 21. Wan H., Blomberg L. G.: *J. Chromatogr., A* 875, 43 (2000).
 22. Desiderio C., Fanali S.: *J. Chromatogr., A* 807, 37 (1998).
 23. Petr J., Maier V., Horáková J., Tesářová E., Ševčík J.: *Chem. Listy* 99, 190 (2005).
 24. Ševčík J., Tesářová E., Stránský Z.: *Chem. Listy* 95, 139 (2001).
 25. Poplewska I., Kramarz R., Piatkowski W., Seidel-Morgenstern A., Antos D.: *J. Chromatogr., A* 1192, 130 (2008).
 26. Courderot C. M., Perrin F. X., Guillaume Y. C., Truong T. T., Millet J., Thomassin M., Chaumont J. P., Nicod L.: *Anal. Chim. Acta* 457, 149 (2002).
 27. Pyerin E., Ravelet C., Nicolle E., Villet A., Grosset C., Ravel A., Alary J.: *J. Chromatogr., A* 923, 37 (2001).
 28. Tesařová E., Bosáková Z., Zusková I.: *J. Chromatogr., A* 879, 147 (2000).
 29. Hui F., Ekborg K. H., Armstrong D. W.: *J. Chromatogr., A* 906, 91 (2001).
 30. Song Y., Feng Y., LeBlanc M. H., Zhao S., Liu Y. M.: *Anal. Chem.* 78, 8121 (2006).
 31. Song Y., Shenwu M., Zhao S., Hou D., Liu Y. M.: *J. Chromatogr., A* 1091, 102 (2005).
 32. Petritis K., Valleix A., Elfakir C., Dreux M.: *J. Chromatogr., A* 913, 331 (2001).
 33. Dalluge J. J., Smith S., Sanchez-Riera F., McGuire Ch., Hobson R.: *J. Chromatogr., A* 1043, 3 (2004).
 34. Berthod A., Chen X., Kullman J. P., Armstrong D. W.: *Anal. Chem.* 72, 1767 (2000).
 35. Guillén-Casla V., León-González M. E., Pérez-Arribas L. V., Polo-Díez L. M.: *Anal. Bioanal. Chem.* 397, 63 (2010).
 36. Haroun M., Ravelet C., Grosset C., Ravel A., Villet A., Pyerin E.: *Talanta* 68, 1032 (2006).
 37. Xiao T. L., Tesařová E., Anderson J. L., Egger M., Armstrong D. W.: *J. Sep. Sci.* 29, 429 (2006).
 38. Chen S.: *Biomed. Chromatogr.* 20, 718 (2006).
 39. Feureder M., Panke S., Berthod M.: *J. Chromatogr., A* 1236, 123 (2012).
 40. Bechtold M., Heinemann M., Panke S.: *J. Chromatogr., A* 1113, 167 (2006).
 41. Bechtold M., Felinger A., Held M., Panke S.: *J. Chromatogr., A* 1154, 227 (2007).
 42. Steffek R. J., Zelechok Y.: *J. Chromatogr., A* 983, 91 (2003).
 43. Bednář P., Aturki Z., Stránský Z., Fanali S.: *Electrophoresis* 22, 2129 (2001).
 44. Lokajová J., Tesařová E., Armstrong D. W.: *J. Chromatogr., A* 1088, 57 (2005).
 45. Liu Y., Berthod A., Mitchell C. R., Xiao T. L., Zhang B., Armstrong D. W.: *J. Chromatogr., A* 978, 185 (2002).
 46. Schlauch M., Frahm A. W.: *J. Chromatogr., A* 868, 197 (2000).
- Z. Deáková^{a,b}, Z. Ďuračková^b, and J. Lehotay^a**
^a*Institute of Analytical Chemistry, Faculty of Chemical and Food Technology, Slovak University of Technology, Bratislava,* ^b*Institute of Medicinal Chemistry, Biochemistry and Clinical Biochemistry, Faculty of Medicine, Comenius University, Bratislava, Slovak Republic):* **Separation of Enantiomers of Proteinogenic Amino Acids on Teicoplanin Stationary Phases**
- Macrocyclic glycopeptides are becoming popular in chiral analytical chemistry due to a wide spectrum of their applications. Teicoplanin columns provide a highest separation selectivity of amino acid enantiomers, especially of underivatized amino acids. Chiral stationary phases can be also used for determination of amino acid enantiomers in biological samples.