

ISSN 1561-8331 (Print)
ISSN 2524-2342 (Online)
УДК 544.726; 547.466.1
<https://doi.org/10.29235/1561-8331-2021-57-3-278-285>

Поступила в редакцию 29.04.2021
Received 29.04.2021

З. И. Куваева, Е. Г. Каранкевич

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

СОРБЦИЯ ДИПЕПТИДОВ И АМИНОКИСЛОТ ИОНИТАМИ

Аннотация. Изучена сорбция дипептидов лейцилизололейцина, треонилтреонина и их мономерных аминокислот лейцина и треонина анионитом АВ-17 и катионитом КУ-2-8 в широком диапазоне равновесных концентраций. Показано, что наличие гидрофильных ОН-групп в молекуле треонина способствует сверхэквивалентной сорбции треонина на катионите. Наличие ОН-групп в боковой цепи дипептида практически не влияет на сорбцию на КУ-2-8. Сорбция дипептидов на АВ-17-8 выше по сравнению с их мономерными аминокислотами.

Ключевые слова: сорбция, дипептид, аминокислота, анионит, катионит

Для цитирования. Куваева, З. И. Сорбция дипептидов и аминокислот ионитами / З. И. Куваева, Е. Г. Каранкевич // Вес. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. хім. навук. – 2021. – Т. 57, № 3. – С. 278–285. <https://doi.org/10.29235/1561-8331-2021-57-3-278-285>

Z. I. Kuvaeva, E. G. Karankevich

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

SORPTION OF PEPTIDES AND AMINO ACIDS BY ION EXCHANGERS

Abstract. Sorption of dipeptides leucylisoleucine, threonylthreonine and their monomeric amino acids leucine and threonine by anionite AV-17 and cationite KU-2-8 in a wide range of equilibrium concentrations has been studied. It was shown that the presence of hydrophilic OH-groups in the threonine molecule promotes superequivalent sorption of threonine on the cation exchanger. The presence of an OH-groups in the side chain of the dipeptide practically does not affect the sorption on KU-2-8. Sorption of dipeptides on AV-17-8 is higher in comparison with their monomeric amino acids.

Keywords: sorption, dipeptide, amino acid, anion exchanger, cation exchanger

For citation. Kuvaeva Z. I., Karankevich E. G. Sorption of peptides and amino acids by ion exchangers. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya khimichnyh navuk = Proceedings of the National Academy of Science of Belarus. Chemical series*, 2021, vol. 57, no. 3, pp. 278–285 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8331-2021-57-3-278-285>

Введение. Ионообменные сорбенты находят широкое применение в процессах выделения и очистки биологически активных соединений [1, 2], в том числе аминокислот и продуктов пептидного синтеза из микробиологических сред, а также из сред органического синтеза [3–5]. В литературе имеется достаточно большое количество публикаций, касающихся выделения аминокислот из различных сред с использованием как катионо-, так и анионообменных сорбентов [6, 7]. Данные относительно пептидов практически отсутствуют. Вместе с тем интерес к пептидным препаратам в силу их выраженного фармакологического действия различной направленности постоянно возрастает. Применение пептидов в качестве субстанций для лекарственных препаратов предусматривает высокую степень их чистоты и соответствие качества фармакопейным требованиям [8, 9]. В этом плане использование твердых ионообменных сорбентов с целью очистки как от неорганических примесей, так и от примесей веществ родственной природы, таких как аминокислоты, является целесообразным. В работе [10] нами была изучена сорбция дипептида треонилтреонина в сравнении с аминокислотой треонин на КУ-2-8 и АВ-17.

Цель настоящей работы – сравнительное изучение сорбции дипептидов и аминокислот, различающихся наличием гидрофильных групп в углеводородном радикале, сильноосновным анионитом АВ-17-8 и сильнокислотным катионитом КУ-2-8.

Материалы и методы исследования. В качестве объектов исследования были выбраны дипептиды, проявляющие фармакологическую активность – лейцилизололейцин (Leu-Ile), треонилтреонин (Thr-Thr) и соответствующие им аминокислоты лейцин (Leu) и треонин (Thr). В работе использованы дипептиды производства Института физико-органической химии НАН Беларуси с содержанием основного вещества 99,7 %. Аминокислоты производства Sigma-Aldrich (степени

чистоты 99,5 %). Чистоту образцов аминокислот и дипептидов определяли методом потенциометрического неводного титрования и высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Использовали сорбенты катионо- и анионообменного типов КУ-2-8 в H^+ -форме и АВ-17-8 в OH^- -форме. Иониты к работе готовили по стандартным методикам [11]. Обменная емкость анионита АВ-17-8 по Cl^- -иону равна 3,4 мг-экв/г, катионита КУ-2-8 по иону Na^+ – 4,5 мг-экв/г. Удельное набухание КУ-2-8(H^+) составляет 1,35 г H_2O /г сухого ионита; для АВ-17-8(OH^-) – 1,0 г H_2O /г сухого ионита.

Изучение сорбции проводили методом переменных концентраций с фиксированным объемом раствора и массой ионита в соотношении 100/1 (мл раствора / г сухого ионита) при температуре $20 \pm 0,5$ °С и периодическом перемешивании. Используемые растворы аминокислоты и дипептида имели нейтральное значение pH 6–7, отклонения pH равновесных растворов не превышали $\pm 0,1$ единицы pH. По истечении 48 ч, т. е. времени, достаточного для достижения равновесия, отбирали пробу на анализ.

Определение количества дипептида и аминокислоты проводили нингидринным методом с использованием спектрофотометра SP-830 Plus Metertech при длине волны 490 нм.

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

$$\bar{C} = (C_{исх} - C_p)V/m, \quad (1)$$

где $C_{исх}$, C_p – соответственно концентрация в исходном и равновесном растворах дипептида или треонина, ммоль/л; V – объем раствора, л; m – масса сухого ионита, г.

Сорбционную емкость ионитов по аминокислоте или пептиду определяли при указанных выше температуре и объемно-массовых соотношениях водной фазы и ионита после достижения равновесия в системе при максимальном значении $C_{исх}$, которое определялось растворимостью аминокислоты или пептида.

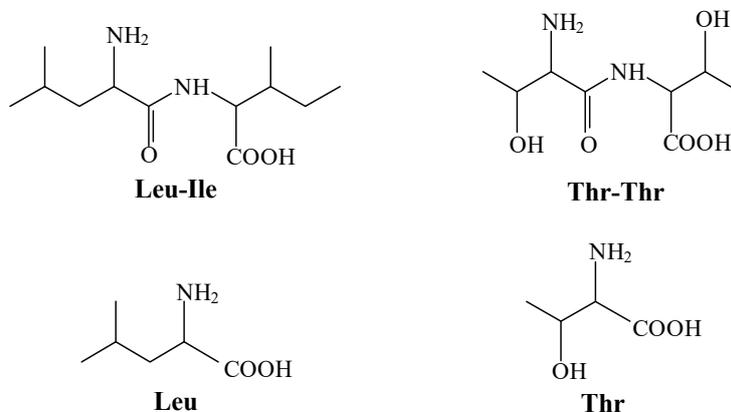
Концентрационные коэффициенты распределения D дипептида и аминокислоты рассчитывали по формуле:

$$D = (C_o - C_p)V/C_p m, \quad (2)$$

где C_o , C_p – соответственно начальная и равновесная концентрация в водной фазе ммоль/л; V – объем водной фазы, мл; m – масса сухой навески ионита, г.

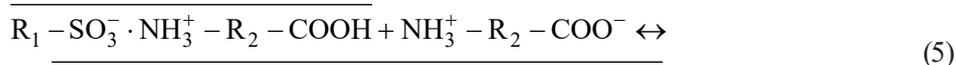
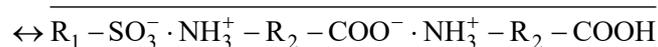
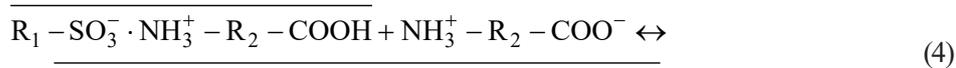
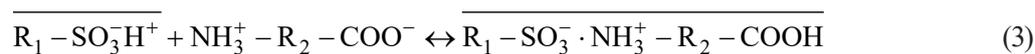
ИК-спектры записывали на ИК-Фурье спектрофотометре «Protege 460» фирмы «Nicolet» (США). Образцы ионита с дипептидом (или аминокислотой) после фильтрации высушивали до постоянной массы при температуре 60 °С и давлении 0,1 МПа, растирали и прессовали с КВг.

Результаты и их обсуждение. Структурные формулы изучаемых дипептидов и аминокислот приведены ниже.



Изотермы сорбции дипептидов Leu-Ile и Thr-Thr* совместно с аминокислотами Leu и Thr на КУ-2-8 приведены на рис. 1. Сорбция может протекать по нескольким механизмам (3)–(5):

* Данные по изучению сорбции Thr и Thr-Thr нами исследованы ранее и приведены в работе [9].



где чертой обозначена фаза сорбента; R_1 – углеводородный радикал сорбента; R_2 – оставшаяся часть молекулы дипептида или аминокислоты.

Как видно из показанных на рис. 1 зависимостей, изотермы сорбции дипептидов Leu-Ile и Thr-Thr выходят на плато приблизительно при $C_p = 10$ ммоль/л. Максимальная степень заполнения дипептидами фазы сорбента составила $\sim 3,1$ ммоль/г. Независимость содержания сорбата в фазе ионита от наличия OH-группы в углеводородном радикале дипептидов может свидетельствовать о преобладающем влиянии стерических факторов на взаимодействие сульфогруппы ионита с протонированной аминогруппой дипептидов.

Иная картина наблюдается при сорбции индивидуальных аминокислот Leu и Thr. Как видно из рис. 1, в отличие от дипептидов, наличие OH-группы в углеводородном радикале оказывает сильное влияние на сорбируемость аминокислот сульфокатионитом. Сорбция лейцина, имеющего гидрофобный радикал, не превышает обменную емкость КУ-2-8 и выходит на плато при $C_p \sim 40$ ммоль/л. В данном случае определяющим является взаимодействие SO_3^- -группы ионита с протонированной аминогруппой Leu в соответствии с (1). Для аминокислоты Thr изотерма сорбции возрастает с увеличением C_p . Максимальное содержание треонина в фазе ионита составляет 9,07 ммоль/г. Наряду с протеканием сорбции треонина, согласно (3), переход Thr в фазу

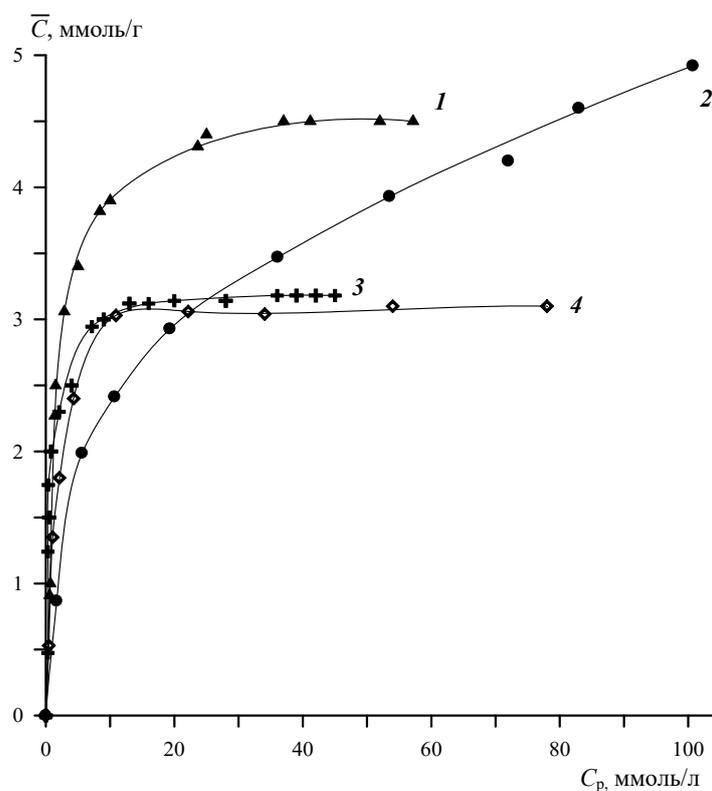


Рис. 1. Сорбция на КУ-2-8: 1 – Leu, 2 – Thr, 3 – Leu-Ile, 4 – Thr-Thr
Fig. 1. Sorption on KU-2-8: 1 – Leu, 2 – Thr, 3 – Leu-Ile, 4 – Thr-Thr

сорбента может осуществляться за счет взаимодействий карбоксильной группы сорбированной аминокислоты с аминогруппой Thr, находящегося в растворе (4). Кроме того, возможно образование водородных связей (5), в том числе и с участием гидрофильных ОН-групп бокового радикала.

Подтверждение данного механизма действия нами показано в работе [10] на основании полученных ИК-спектров образцов КУ-2-8, содержащих Thr-Thr и Thr. На рис. 2 *a, b* приведены наиболее информативные участки спектров пропускания в области 1500–1800 см⁻¹. Согласно литературным данным [12], отнесение полос приведено в таблице.

Образец КУ-2-8, содержащий Thr (рис. 2, *a*) имеет полосы поглощения диссоциированной и недиссоциированной карбоксильной группы соответственно при 1600 и 1738 см⁻¹, а также проявления колебаний группы NH₃⁺ при 1512 см⁻¹. Наличие указанных полос поглощения свидетельствует о возможности протекания в ионите взаимодействий согласно уравнениям (3)–(5).

Отнесение полос области 1500–1800 см⁻¹ ИК-спектров образцов КУ-2-8/Thr-Thr; КУ-2-8/Thr
Assignment of bands in the 1500–1800 cm⁻¹ region of the IR spectra of the samples KU-2-8 / Thr-Thr; KU-2-8 / Thr

λ, cm^{-1}	Отнесение
1600	Асимметричные валентные колебания карбоксилат-иона
1740–1720	Валентные >C=O колебания в неионизированной карбоксильной группе
1510–1515	Проявление деформационных колебаний –NH ₃ ⁺
1680	(Полоса амид I) соответствует карбонильному поглощению в пептидной связи
1540	(Полоса амид II) характеризует деформационные колебания N-C пептидной связи

Образцы КУ-2-8, содержащие Thr-Thr (рис. 2, *b*), имеют сильное поглощение в области 1681 см⁻¹, характерное для полосы амид I [12]. Полоса поглощения амид II, характеризующая деформационные колебания N–C пептидной связи, проявляется в области 1543 см⁻¹. Слабое поглощение при 1600 см⁻¹ может быть отнесено к валентным колебаниям ароматического кольца (пульсационные колебания углеродного скелета низкой интенсивности КУ-2-8) [13].

Присутствие полосы поглощения недиссоциированной карбоксильной группы при 1732 см⁻¹ (рис. 2, *b*) свидетельствует о взаимодействии дипептида с сульфогруппой катионита КУ-2-8 по уравнению (3).

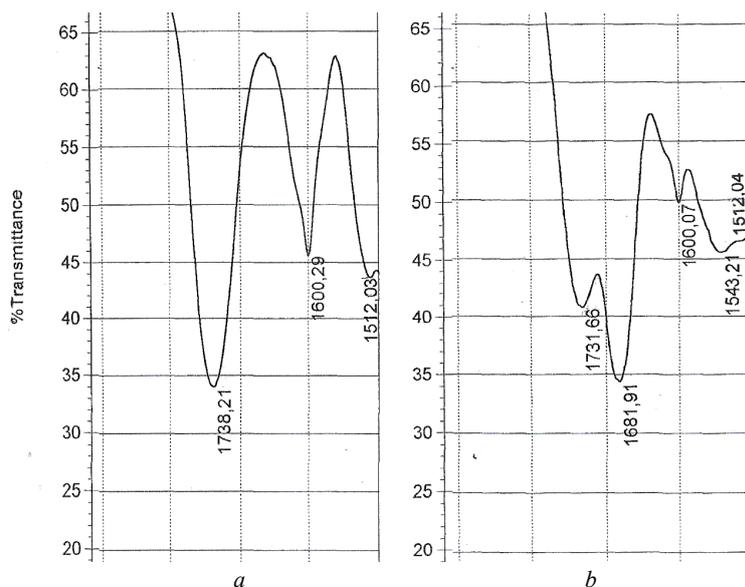
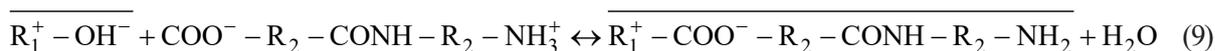
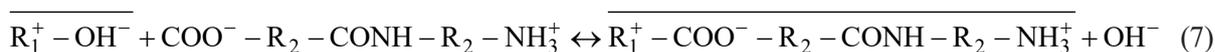


Рис. 2. Фрагменты ИК-спектров обезвоженных образцов: *a* – КУ-2-8/Thr (\bar{C} (Thr) = 5,0 ммоль/г);
b – КУ-2-8/Thr-Thr (\bar{C} (Thr-Thr) = 3,1 ммоль/г)

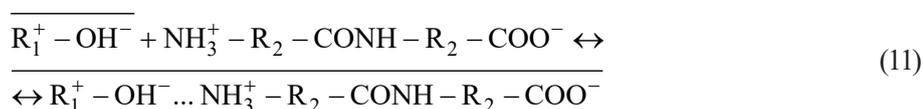
Fig. 2. Fragments of IR-spectra of dehydrated samples: *a* – KU-2-8 / Thr (\bar{C} (Thr) = 5.0 mmol/g);
b – KU-2-8 / Thr-Thr (\bar{C} (Thr-Thr) = 3.1 mmol/g)

Отсутствие полос поглощения, свидетельствующих о наличии диссоциированной карбоксильной группы и NH_3^+ -группы в фазе образца КУ-2-8/Thr-Thr, могут указывать на невозможность протекания сорбат-сорбатного взаимодействия подобного, как описано для аминокислоты Thr (4) и (5).

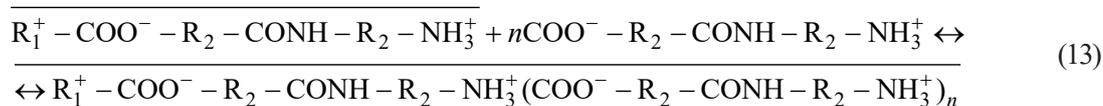
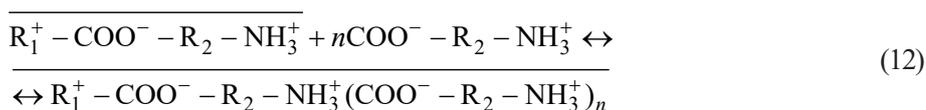
Сорбция указанных аминокислот и дипептидов на сильноосновном анионите АВ-17-8 может протекать по нескольким механизмам (6)–(13):



образование водородных связей:



сорбат-сорбатное взаимодействие:



где чертой обозначена фаза сорбента; R_1 – углеводородный радикал сорбента; R_2 – углеводородный радикал аминокислоты.

Зависимость содержания аминокислоты и пептида в фазе сорбента от их концентраций в равновесных растворах приведена на рис. 3. Анализ полученных результатов показывает, что сорби-

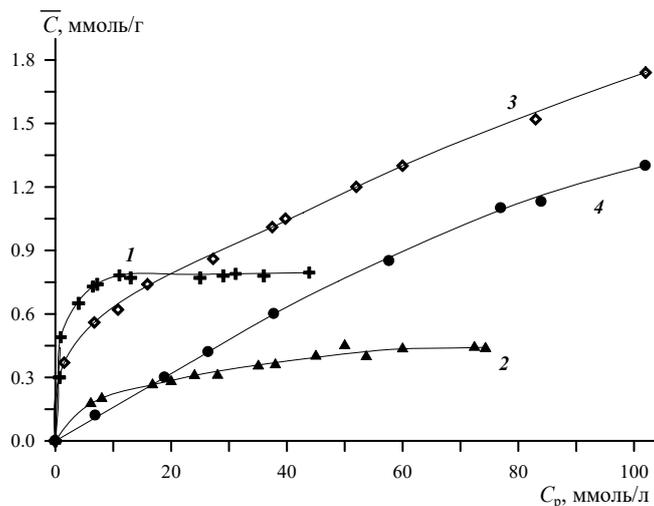


Рис. 3. Сорбция ионитом АВ-17-8: 1 – Leu-Ile, 2 – Leu, 3 – Thr-Thr, 4 – Thr
Fig. 3. Sorption by ion exchanger AV-17-8: 1 – Leu-Ile, 2 – Leu, 3 – Thr-Thr, 4 – Thr

руемость Thr и Thr-Thr превышает сорбируемость Leu и Leu-Ile соответственно на участке кривой при $C_p > 20$ ммоль/л. Это может быть обусловлено тем, что сорбция аминокислот и дипептидов на анионите АВ-17-8 сопровождается выделением свободной воды, что способствует образованию внутреннего раствора в фазе ионита (8), (9). В данном случае наличие ОН-групп в углеводородном радикале Thr и Thr-Thr облегчает их переход во внутренний раствор анионита.

Анализируя полученные данные видно, что в отличие от сорбции на КУ-2-8, пептиды проявляют более высокую сорбируемость анионитом по сравнению с аминокислотами. Это обстоятельство может быть обусловлено значительным вкладом в величину сорбции протекания реакции в соответствии с уравнением (11), за счет большей способности N-концевой группы дипептида образовывать водородные связи [14] с ОН-группой АВ-17-8.

Показано, что изотерма сорбции Thr-Thr выходит на плато при $C_p > 150$ ммоль/л и достигает $\bar{C}_{\text{Thr-Thr}} = 2,25$ ммоль/г. Сорбционная емкость по треонину для АВ-17-8 составила 4,84 ммоль/г.

Рассчитанные коэффициенты распределения для изученных зависимостей приведены в виде диаграмм на рис. 4 и 5 в зависимости от равновесных концентраций сорбируемых веществ в растворах.

Полученные результаты свидетельствуют, что коэффициенты распределения индивидуальных аминокислот и дипептидов значительно выше в случае сорбции катионитом КУ-2-8 (рис. 4). Коэффициенты распределения гидрофобной аминокислоты Leu выше по сравнению с дипептидом

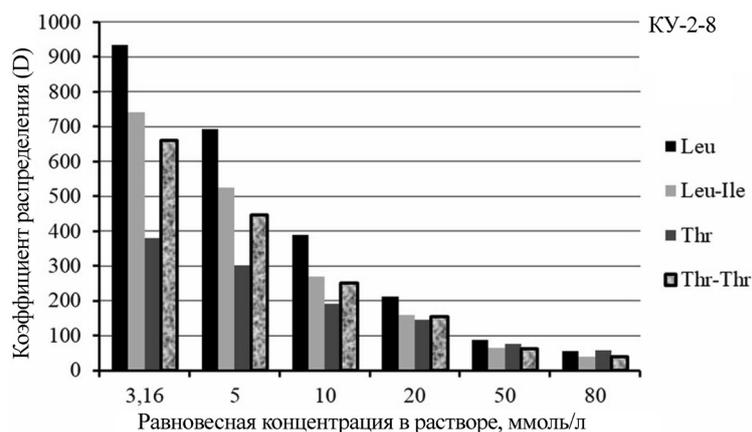


Рис. 4. Диаграмма зависимости коэффициента распределения (D) от равновесной концентрации сорбции Leu, Leu-Ile, Thr, Thr-Thr на катионите КУ-2-8

Fig. 4. Diagram of the dependence of the distribution coefficient (D) on the sorption equilibrium concentration of Leu, Leu-Ile, Thr, Thr-Thr by cation exchanger KU-2-8

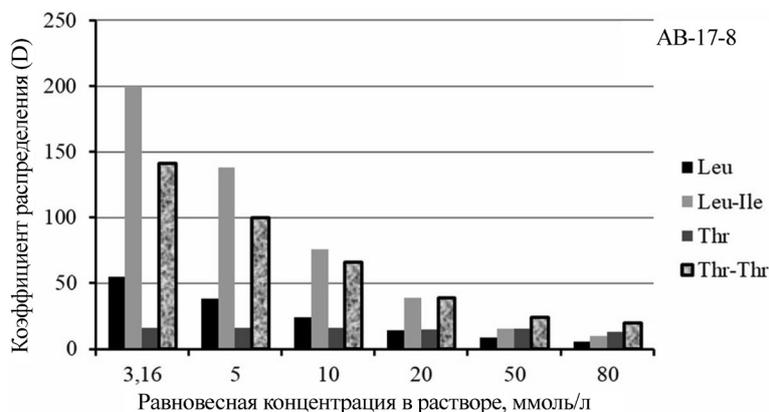


Рис. 5. Диаграмма зависимости коэффициента распределения (D) от равновесной концентрации сорбции Leu, Leu-Ile, Thr, Thr-Thr на анионите АВ-17-8

Fig. 5. Diagram of the dependence of the distribution coefficient (D) on the sorption equilibrium concentration of Leu, Leu-Ile, Thr, Thr-Thr by anion exchanger АВ-17-8

Leu-Ile. Наличие гидрофильных ОН-групп в молекулах Thr и Thr-Thr существенно уменьшает значения их коэффициентов распределения.

Для анионита наблюдается иная картина (рис. 5). Независимо от наличия ОН-групп в углеводородном радикале аминокислоты, сорбция индивидуальных аминокислот Leu и Thr сопровождается более низкими коэффициентами распределения по сравнению с дипептидами Leu-Ile и Thr-Thr.

Выводы. Сорбция аминокислот Leu и Thr, а также дипептидов Leu-Ile и Thr-Thr значительно выше на сульфокатионите КУ-2-8. Наличие ОН-группы в углеводородном радикале Thr увеличивает его сорбируемость по сравнению с Leu на АВ-17-8 и обуславливает сверхэквивалентную сорбцию на КУ-2-8. На катионите сорбция дипептидов практически одинакова. Сорбируемость дипептидов на АВ-17-8 выше сорбируемости их мономерных аминокислот, вероятно, за счет большей способности N-концевой группы дипептида образовывать водородные связи с ОН-группой анионита.

Список использованных источников

1. Демин, А. А. Ионообменная сорбция биологически активных веществ / А. А. Демин, И. А. Чернова, Л. К. Шатаева. – СПб.: Изд-во С.-Петерб. ун-та, 2008. – 154 с.
2. Hentze, H.-P. Porous polymers and resins for biotechnological and biomedical applications / H.-P. Hentze, M. Antonietti // *Reviews in Molecular Biotechnology*. – 2002. – Vol. 90, N 1. – P. 27–53. [https://doi.org/10.1016/S1389-0352\(01\)00046-0](https://doi.org/10.1016/S1389-0352(01)00046-0)
3. Берсенёва В. С. Сорбционные методы выделения продуктов биосинтеза / В. С. Берсенёва, В. А. Бакулев. – Екатеринбург: Изд-во Урал. ун-та, 2018. – 80 с.
4. Macroporous resin purification of peptides with umami taste from soy sauce / M. Zhuang [et al.] // <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814615008493> - af005 *J. Food Chemistry*. – 2016. – Vol. 190. – P. 338–344. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.05.105>
5. Large scale solid phase synthesis of peptide drugs: use of commercial anion exchange resin as quenching agent for removal of iodine during disulphide bond formation / K. M. B. Reddy [et al.] // *International Journal of Peptides*. – 2012. – Vol. 2012. – P. 1–8. <https://doi.org/10.1155/2012/323907>
6. Мамонтова, Ю. Е. Термодинамические характеристики ионного обмена аминокислот на катионитах // Ю. Е. Мамонтова, Т. К. Стекольников, Ю. А. Стекольников // *Вестник ТГТУ*. – 2013. – Т. 19, № 4. – С. 826–831.
7. Хохлова, О. Н. Сорбция гистидина ионообменниками различной природы / О. Н. Хохлова, К. Э. Фролова // *Сорбционные и хроматографические процессы*. – 2020. – Т. 20, № 6. – С. 726–733. <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2020.20/3140>
8. Государственная фармакопея Республики Беларусь, ГФ РБ II / под общ. ред. А. А. Шерякова. – Молодечно: Победа, 2012. – Т. 1. – 1220 с.
9. Фармакопея Евразийского экономического союза. – М.: Евразийская эконом. комиссия. – 2020. – Т. 1, ч. 1. – 584 с.
10. Сорбция треонилтреонина и треонина ионообменными сорбентами / З. И. Куваева [и др.] // *Сорбционные и хроматографические процессы*. – 2016. – Т. 16, № 6. – С. 838–846.
11. Полянский, Н. Г. Методы исследования ионитов / Н. Г. Полянский, Г. В. Горбунов, Н. А. Полянская. – М.: Химия, 1976. – 208 с.
12. Беллами, Л. Инфракрасные спектры сложных молекул / Л. Беллами. – М.: Изд-во иностр. лит-ры, 1963. – 590 с.
13. Тарасевич, Б. Н. ИК-спектры основных классов органических соединений / Б. Н. Тарасевич: Справ. материалы. – М.: Изд-во МГУ, 2012. – 55 с.
14. Попов, Е. М. Проблема белка. – Т. 3. Структурная организация белка / Е. М. Попов. – М.: Наука, 1997. – 604 с.

References

1. Demin A. A., Chernova I. A., Shataeva L. *KIon exchange sorption of biologically active substances*. St. Petersburg, Publishing house of St. Petersburg University, 2008. 154 p. (in Russian).
2. Hentze H.-P., Antonietti M. Porous polymers and resins for biotechnological and biomedical applications. *Reviews in Molecular Biotechnology*, 2002, vol. 90, no 1, pp. 27–53. [https://doi.org/10.1016/S1389-0352\(01\)00046-0](https://doi.org/10.1016/S1389-0352(01)00046-0)
3. Bersenyova V. S., Bakulev V. A. *Sorption methods of isolation of biosynthesis products*. Ekaterinburg, Ural University Publ., 2018. 80 p.(in Russian).
4. Zhuang <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814615008493> - af005M., Zhao M, Lin L., Dong Y., Chen H., Feng M., Sun-Waterhouse D., Su G. Macroporous resin purification of peptides with umami taste from soy sauce. *Food Chemistry*, 2016, vol. 190, pp. 338–344. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.05.105>
5. Reddy K. M. B., Kumari Y. B., Mallikharjunasarma D., Bulliraju K., Sreelatha V., Ananda K. Large scale solid phase synthesis of peptide drugs: use of commercial anion exchange resin as quenching agent for removal of iodine during disulphide bond formation. *International Journal of Peptides*, 2012, vol. 2012, pp.1–8. <https://doi.org/10.1155/2012/323907>
6. Mamontova Yu. E., Stekolnikov T. K., Stekolnikov Yu. A. Thermodynamic characteristics of ion exchange of amino acids on the cation exchangers. *Vestnik TGTU = TSTU Transactions*, 2013, vol. 19, no. 4, pp. 826–831 (in Russian).

7. Khokhlova O. N., Frolova K. E. Sorption of histidine by different types of ion exchangers. *Sorbcionnye i hromatograficheskie processy = Sorption and Chromatography processes*, 2020, vol. 20, no. 6, pp. 726–733 (in Russian). <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2020.20/3140>
8. Sheryakov A. A. (ed.). *State Pharmacopoeia of the Republic of Belarus. GF RB II. Vol. 1*. Molodechno, Pobeda Publ., 2012. 1220 p. (in Russian).
9. *Pharmacopoeia of the Eurasian Economic Union. Vol. 1, part 1*. Moscow, Eurasian econom. Commission, 2020. 584 p. (in Russian).
10. Kuvaeva Z. I., Karankevich E. G., Rudakovskaya E. B., Bulyga D. M. Sorbtion of threonylthreonine and threonine by ion exchange sorbents. *Sorbcionnye i hromatograficheskie processy = Sorption and chromatography processes*, 2016, vol. 16, no. 6, pp. 838–846 (in Russian).
11. Polyanskiy N. G., Gorbunov G. V., Polyanskaya N. A. *Methods of ion exchangers research*. Moscow, Khimiya Publ., 1976. 208 p. (in Russian).
12. Bellamy L. *Infrared spectra of complex molecules*. Springer, Dordrecht, 1980. 300 p. <https://doi.org/10.1007/978-94-011-6520-4>
13. Tarasevich B. N. *IR spectra of the main classes of organic substances*. Moscow, Moscow State University Publishing House, 2012. 55 p. (in Russian).
14. Popov E. M. *The problem of protein. Vol. 3. Structural organization of protein*. Moscow, Nauka Publ., 1997. 604 p. (in Russian).

Информация об авторах

Кuvaева Зоя Ивановна – д-р хим. наук, профессор, зав. отделом. Институт физико-органической химии НАН Беларуси (ул. Сурганова, 13, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: lie@ifoch.bas-net.by

Каранкевич Елена Григорьевна – канд. хим. наук, зав. лаб. Институт физико-органической химии НАН Беларуси (ул. Сурганова, 13, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: extract@ifoch.bas-net.by

Information about the authors

Zoya I. Kuvaeva – D. Sc. (Chemistry), Professor. Head of the Department. Institute of Physical Organic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (13, Surganov Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: lie@ifoch.bas-net.by

Elena G. Karankevich – Ph. D. (Chemistry), Head of the Laboratory. Institute of Physical Organic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (13, Surganov Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: extract@ifoch.bas-net.by