

დარეჯან ლულუნიშვილი

სუსტი მჟავა ბუნების ქირალური ნივთიერებების
ენანტიომერების დაყოფა პოლისაქარიდული ქირალური
სტაციონარული ფაზების გამოყენებით მაღალეფექტურ სითხურ
ქრომატოგრაფიაში

წარდგენილია დოქტორის აკადემიური ხარისხის
მოსაპოვებლად

სადოქტორო პროგრამა-ქიმია
შიფრი-0503

საქართველოს ტექნიკური უნივერსიტეტი
თბილისი, 0175, საქართველო

საქართველოს ტექნიკური უნივერსიტეტი

ქიმიური ტექნოლოგიისა და მეტალურგიის ფაკულტეტი
ქიმიური და ბიოლოგიური ტექნოლოგიების დეპარტამენტი

ჩვენ, ქვემოთ ხელისმომწერნი ვადასტურებთ, რომ გავცანით დარეჯან ღულუნიშვილის მიერ შესრულებულ სადისერტაციო ნაშრომს დასახელებით: „სუსტი მჟავა ბუნების ქირალური ნივთიერებების ენანტიომერების დაყოფა პოლისაქარიდული ქირალური სტაციონალური ფაზების გამოყენებით მადალეფექტურ სითხურ ქრომატოგრაფიაში“ და ვაძლევთ რეკომენდაციას საქართველოს ტექნიკური უნივერსიტეტის ქიმიური ტექნოლოგიისა და მეტალურგიის ფაკულტეტის სადისერტაციო საბჭოში მის განხილვას დოქტორის აკადემიური ხარისხის მოსაპოვებლად.

ხელმძღვანელები: პროფესორი მაია ცინცაძე

რეცენზენტი: _____

რეცენზენტი: _____

ავტორი: დარეჯან ლულუნიშვილი
დასახელება: სუსტი მჟავა ბუნების ქირალური ნივთიერებების
ენანტიომერების დაყოფა პოლისაქარიდული
ქირალური სტაციონარული ფაზების გამოყენებით
მაღალეფექტურ სითხურ ქრომატოგრაფიაში
ფაკულტეტი : ქიმიური ტექნოლოგიისა და მეტალურგიის
ხარისხი: ქიმიის აკად. დოქტორი
სხდომა ჩატარდა:

ინდივიდუალური პიროვნებების ან ინსტიტუტების მიერ ზემომოყვანილი დასახელების დისერტაციის გაცნობის მიზნით მოთხოვნის შემთხვევაში მისი არაკომერციული მიზნებით კოპირებისა და გავრცელების უფლება მინიჭებული აქვს საქართველოს ტექნიკურ უნივერსიტეტს.

ავტორის ხელმოწერა

ავტორი ინარჩუნებს დანარჩენ საგამომცემლო უფლებებს და არც მთლიანი ნაშრომის და არც მისი ცალკეული კომპონენტების გადაბეჭდვა ან სხვა რაიმე მეთოდით რეპროდუქცია დაუშვებელია ავტორის წერილობითი ნებართვის გარეშე.

ავტორი ირწმუნება, რომ ნაშრომში გამოყენებული საავტორო უფლებებით დაცული მასალებზე მიღებულია შესაბამისი ნებართვა (გარდა ის მცირე ზომის ციტატებისა, რომლებიც მოითხოვენ მხოლოდ სპეციფიურ მიმართებას ლიტერატურის ციტირებაში, როგორც ეს მიღებულია სამეცნიერო ნაშრომების შესრულებისას) და ყველა მათგანზე იღებს პასუხისმგებლობას.

რეზიუმე

არილპროპიონის მჟავას ნაწარმები ტკივილგამაყუჩებელი სამკურნალწამლო საშუალებების მნიშვნელოვან ჯგუფს წარმოადგენს. სანიმუშოდ არის დადგენილი ამ რიგის ქირალურ სამკურნალწამლო საშუალებათა განსხვავებული ფარმაკოლოგიური ეფექტი და ფარმაკოკინეტიკა. ადრინდელ გამოკვლევებში ძირითადად შესწავლილია ამ სამკურნალწამლო საშუალებათა ენანტიომერების დაყოფა სითხურ ქრომატოგრაფიაში ნორმალური და შებრუნებულ ფაზიანი ელუენტების გამოყენებით მაგრამ ლიტერატურაში არ არის აღწერილი ამ მიზნით პოლარული ორგანული ელუენტების სისტემური გამოყენება.

წინამდებარე სადისერტაციო ნაშრომი მიზნად ისახავს არილპროპიონის მჟავას ქირალური ნაწარმების ფართო სპექტრის ანალიზს განსხვავებული შედგენილობის მქონე 7 პოლისაქარიდული ქირალური სტაციონალური ფაზისა და 3 სხვადასხვა პოლარულ ორგანული მოძრავი ფაზის გამოყენებით. ამ კვლევებში განსაკუთრებული ყურადღება მიექცევა ენანტიომერების ელუირების რიგს. გამოკვლევაში აღწერილია პოლისაქარიდზე დაფუძნებული ქირალური სვეტების გამოყენებით ენანტიომერების (მჟავა ბუნების მქონე 26 ქირალური ნივთიერების) დაყოფა მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფიის მეთოდის გამოყენებით, 7 პოლისაქარიდულ ქირალურ სვეტზე, წყლიან-ორგანულ მოძრავ ფაზასთან კომბინაციაში „შებრუნებული ფაზის“ მეთოდით. ასევე აღწერილია სტაციონალურ პოლისაქარიდულ სვეტებზე მოძრავი ფაზების ზეგავლენა, რომელსაც ახდენენ ენანტიომერების ელუირების რიგის შებრუნებისას.

როდესაც პოლისაქარიდზე დაფუძნებული ქირალური სვეტები გამოყენებულია ენანტიომერების დასაყოფად მაღალეფექტურ სითხურ ქრომატოგრაფიაში წყლიან-ორგანულ მოძრავ ფაზასთან კომბინაციაში, ასეთი დაყოფის მეთოდს უწოდებენ დაყოფას „შებრუნებული ფაზით“. ჩვენი და სხვა ჯგუფების მიერ ადრე ჩატარებულმა გამოკვლევებმა ნეიტრალური და ფუძე ბუნების მქონე ქირალური ნივთიერებების ენანტიომერების დაყოფის შესახებ აჩვენა, რომ მრავალი ტიპის ძალების გამო, რომლებიც ჩართულია სელექტორ-სელექტანტის ურთიერთქმედებაში და პოლისაქარიდების ნაწარმების ენანტიოსელექტიურ გამოცნობაში, ზემოთ აღნიშნული დაყოფის სისტემა შესაძლოა ყოველთვის ისე არ იქცეოდეს, როგორც შებრუნებულ ფაზიანი სისტემა.

წინამდებარე გამოკვლევაში პირველად არის აღწერილი ზემოთ ხსენებული ფენომენი მჟავა ბუნების მქონე ნივთიერებებისთვის და ასევე ენანტიომერების ელუირების რიგის შებრუნების შემთხვევა მოძრავ ფაზაში წყლის შემცველობის ცვლილების მიხედვით.

ქირალური დაყოფები პოლისაქარიდული ქირალური სვეტების და წყლიანი ორგანული მოძრავი ფაზების გამოყენებით მიჩნეულია, რომ

მიყვება კლასიკურ შებრუნებული ფაზის დაყოფის პრინციპს. მაგრამ ჩვენმა ადრეულმა კვლევებმა გვიჩვენეს რომ ეს ყოველთვის არ არის სწორი. დაყოფის მექანიზმი დამოკიდებულია შესწავლილი ქირალური ნივთიერებების სტრუქტურაზე, ქირალური სელექტორის ქიმიურ თვისებებზე და მოძრავი ფაზის ბუნებაზე. ამ პროექტის მიზანი იყო დაყოფის მექანიზმების შესწავლა აღებული სუსტი ქირალური ორგანული მჟავების ენანტიომერებისა პოლისაქარიდულ ქირალურ სვეტებზე წყლიანი მოძრავი ფაზის გამოყენებით.

ქირალური ნივთიერებების ენანტიომერებს ხშირად გააჩნიათ რადიკალურად განსხვავებული ფიზიოლოგიური მოქმედება. ამიტომ ძალიან მნიშვნელოვანია ქირალური ნივთიერებების ენანტიომერების ანალიზი სამკურნალოწამლო საშუალებებში, საკვებ დანამატებში, სასოფლო-სამეურნეო შხამ-ქიმიკატებში და ა.შ.

Abstract

Arylpropionic acid derivatives belong to the group of widely used anti-inflammatory, analgesic and antipyretic drugs. Most of the chemical structures in this group are chiral and their chirality impacts their pharmacological behavior. Thus, it is well-known that the pharmacological activity of the S-enantiomers of many arylpropionic acid derivatives is higher than that of their R-enantiomers. Due to the above-mentioned differences, several members of this family, such as S-naproxen, S-ibuprofen and S-ketoprofen and s.a. have been introduced as single enantiomer drugs. The separation of enantiomers of chiral carboxylic acid derivative drugs using HPLC has been extensively reported in the literature. While various HPLC chiral stationary phases (CSP) were proven suitable for this purpose, polysaccharide-based CSPs are most commonly used.

In the present study, the separation of enantiomers of 26 chiral weak acid (carboxylic acid, arylpropionic acid) derivatives was attempted on seven different polysaccharide-based chiral HPLC columns with two polar aqueous-organic mobile phases-eluent. Along with the successful separation of analyte enantiomers, the emphasis of this study was on differences in enantiomer elution order (EEO) between various columns and mobile phases. In addition, the effect of column temperature on the retention and separation of enantiomers was studied.

The separation of enantiomers of 14 chiral carboxylic acid derivatives was studied on six different polysaccharide-based chiral columns in high-performance liquid chromatography with methanol, ethanol and acetonitrile as mobile phases with emphasis on the elution order of enantiomers. Some interesting examples of enantiomer elution order reversal were observed as a function of the nature and composition of chiral selector and mobile phase. For instance, the enantiomer elution order for carprofen, ketorolac, naproxen, proglumide and surprofen reversed with changing the chemical structure of the chiral selector. Also, the enantiomer elution order for carprofen, ketorolac and naproxen changed by varying the composition of the mobile phase. In addition, the interesting effect of column temperature on the retention and separation of some analytes was observed. For instance, the enantiomers of surprofen were only partially resolved at lower temperatures but baseline resolved at higher temperature.

When polysaccharide-based chiral columns are used in combination with aqueous-organic mobile phases for the separation of enantiomers in high-performance liquid chromatography the separation mode is commonly called "reversed-phase" in analogy to achiral separations. In several earlier and recent studies on neutral and basic chiral analytes it was shown by our and other groups that due to multiple type of interactions involved in selector-selectand binding and enantioselective recognition with polysaccharide derivatives, the above mentioned separation system may not always behave like a reversed-phase system. In the present study additional examples of non-reversed-phase behavior are described for the first time for weak acidic chiral analytes. In addition, the reversal of enantiomer elution order was observed again for the first time for several analytes based on water-content in the mobile phase.

შინაარსი

შესავალი.....	Error!
Bookmark not defined.	
1. ლიტერატურის მიმოხილვა.....	21
1.1. ქირალობა.....	21
1.2. ქირალური ნაერთების ნომენკლატურა. ენანტიომერები და მათი კლასიფიკაცია.....	22
1.3. ქირალური სამკურნალწამლო საშუალებების გამოყენება ფარმაციაში.....	27
1.4. რაცემული მედიკამენტების ენანტიომერების ფარმაკოლოგია.....	28
1.4.1. რაცემული მედიკამენტების ბიოლოგიური აქტივობის მექანიზმი.....	28
1.4.2. ქირალური მედიკამენტების ფარმაკოკინეტიკა და მეტაბოლიზმი.....	36
1.4.3. ქირალური მედიკამენტების ენანტიოსელექტური ანტისხეულები.....	39
1.4.4. ქირალური რაცემული მედიკამენტების ტოქსიკოლოგია.....	40
1.4.5. ქირალური მედიკამენტების ენანტიოსელექტური იმუნოანალიზი.....	41
2. კვლევის მეთოდები და მასალები.....	44
2.1. ქირალური ნაერთების (ენანტიომერების) დაყოფის ინსტრუმენტული მეთოდები.....	44
2.2. კაპილარული ელექტროფორეზი.....	44
2.3. ქრომატოგრაფია.....	46
2.3.1. აირქრომატოგრაფია.....	48
2.3.2. ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფია.....	50
2.3.3. მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფია (მექს).....	52
2.4. პოლისაქარიდული ქირალური სტაციონარული ფაზების მიმოხილვა.....	58
2.4.1. სარჩულის გავლენა პოლისაქარიდულ ქირალურ ფაზებზე.....	62
2.4.2. სტაციონარული უძრავი ფაზების ოპტიმიზაცია.....	63
2.4.3. მოძრავი ფაზების ოპტიმიზაცია.....	65
2.5. ქირალური დაყოფა ფარმაცევტულ წარმოებაში ანალიტიკური მეთოდები.....	66
2.6. ენანტიომერების დაყოფა მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფიის მეთოდით.....	70
3. ექსპერიმენტული ნაწილი.....	74
3.1. გამოყენებული აპარატურა.....	74
3.2. გამოყენებული მასალები.....	78
3.3. ექსპერიმენტის გეგმა.....	86
4. შედეგები და მათი განსჯა.....	88
4.1. სუსტი მჟავა ბუნების მქონე ქირალური ენანტიომერების დაყოფა მაღალეფექტურ სითხურ ქრომატოგრაფიაში.....	88
4.2. არილპროპიონის მჟავას ნაწარმების დაყოფა ნორმალურ-ფაზიან ქრომატოგრაფიაში. მობილური ფაზა მეთანოლი, ეთანოლი და	

აცეტონიტრილი.....	88
4.3. მეთანოლიდან წყლიან - მეთანოლ მობილურ ფაზაზე გადასვლა.....	101
4.4. აცეტონიტრილიდან წყლიან - აცეტონიტრილი მობილურ ფაზაზე გადასვლა.....	109
4.5. ენანტიომერების ელუირების რიგის, ელუციური წყობის შებრუნება.....	121
4.6. ტემპერატურის გავლენა ენანტიომერების დაყოფაზე.....	126
დასკვნები.....	130
გამოყენებული ლიტერატურა.....	133

ცხრილების ნუსხა

ცხრილი 1.	ზევრიტიკული ელუენტების ძირითადი მახასიათებლები.....	51
ცხრილი 2.	ქირალური სელექტორების და მოძრავი ფაზების სკრინინგი სკრინინგის შედეგები მოცემულია ცხრილში (მეთანოლი მოძრავი ფაზა).....	98
ცხრილი 3.	ქირალური სელექტორების და მოძრავი ფაზების სკრინინგი სკრინინგის შედეგები მოცემულია ცხრილში (ეთანოლი მოძრავი ფაზა).....	99
ცხრილი 4.	ქირალური სელექტორების და მოძრავი ფაზების სკრინინგი სკრინინგის შედეგები მოცემულია ცხრილში (ACN მოძრავი ფაზა).....	100
ცხრილი 5.	28 ქირალური ნივთიერების სკრინინგის შედეგები ექვს ქირალურ პოლისაქარიდულ სვეტზე, მოძრავ ფაზად გამოყენებულ იქნა (MeOH+H ₂ O+0.1%FA)	107
ცხრილი 6.	არილპროპიონის მჟავას 28 ქირალური ნაწარმის სკრინინგის შედეგები შვიდ ქირალურ პოლისაქარიდულ სვეტზე, მოძრავ ფაზაში (ACN/H ₂ O+0.1%FA) აცეტონიტრილის შემცველობის შემცირებისას.....	119
ცხრილი 7.	ენანტიომერული ელუირების თანმიმდევრობის შეზღუდვა.....	121

სურათების ნუსხა

სურათი 1.	ქირალური მოლეკულა.....	21
სურათი 2.	(R, S) 2-ჰიდროქსიბუტანი იზომერები.....	23
სურათი 3.	H ფურცლის სიბრტყის მიღმა.....	24
სურათი 4.	იასონ-სტედმანის რაცემული მედიკამენტების ორი ენანტიომერის ჰიპოთეზური ურთიერთქმედება რეცეპტროთან მედიკამენტის შეერთების ზონაში.....	29
სურათი 5.	დიმეთინდენი. ა) აქირალური გარემო - ბუფერი; ბ) ქირალური გარემო - ბუფერში გახსნილი β - ციკლოდექსტრინი.....	44
სურათი 6.	α, β და γ ციკლოდექსტრინები.....	45
სურათი 7.	კაპილარული სვეტი.....	46
სურათი 8.	აირადი ქრომატოგრაფის სქემა.....	49
სურათი 9.	ქრომატოგრაფიული პიკის მახასიათებელი (ანალიზის დრო)....	54
სურათი 10.	თეორიული თეფშების მოდელი.....	55
სურათი 11.	ქრომატოგრაფიული პიკის მახასიათებლები.....	55
სურათი 12.	ცელულოზას და ამილოზას სტრუქტურული ფორმულები.....	60
სურათი 13.	Agilent 1200 სერიის ქრომატოგრაფი.....	74
სურათი 14.	Agilent 1220 სერიის სითხური ქრომატოგრაფი.....	75
სურათი 15.	Agilent 1290 სერიის ზე-მაღალი ეფექტურობის სითხური ქრომატოგრაფი (U-HPLC).....	76
სურათი 16.	Knauer-ის სითხური ქრომატოგრაფი.....	77
სურათი 17.	ნაშრომში გამოყენებული არილპროპიონის მჟავა ნაწარმების ქირალური სტრუქტურები.....	82
სურათი 18.	ნაშრომში გამოყენებული ქირალური სელექტორების სტრუქტურები.....	84
სურათი 19.	ნაშრომში გამოყენებული მოძრავი ფაზების სტრუქტურები....	85
სურათი 20.	იზუპროფენის დაყოფა ცელულოზა - 3 სვეტზე მოძრავ ფაზად მეთანოლის გამოყენებით. ყველა შემთხვევაში მობილური ფაზა შეიცავდა 0.1% ჭიანჭველმჟავას.....	89
სურათი 21.	კეტოროლაკის დაყოფა ცელულოზა - 1 სვეტზე მოძრავ ფაზად მეთანოლის გამოყენებით. ყველა შემთხვევაში მობილური ფაზა შეიცავდა 0.1% ჭიანჭველმჟავას.....	90
სურათი 22.	ნაპროქსენის დაყოფა ცელულოზა - 3 სვეტზე მოძრავ ფაზად მეთანოლის გამოყენებით. ყველა შემთხვევაში მობილური ფაზა შეიცავდა 0.1% ჭიანჭველმჟავას.....	91
სურათი 23.	ფლურბიპროფენის დაყოფა ცელულოზა - 3 სვეტზე მოძრავ ფაზად მეთანოლის გამოყენებით. ყველა შემთხვევაში მობილური ფაზა შეიცავდა 0.1% ჭიანჭველმჟავას.....	92
სურათი 24.	კეტოროლაკის დაყოფა Lux- ამილოზა - 1 და Lux ცელულოზა -	

	2 სვეტზე, Lux ამილოზა - 2 სვეტზე, მოძრავ ფაზად ეთანოლის გამოყენებით. ყველა შემთხვევაში მობილური ფაზა შეიცავდა 0.1% ჭიანჭველმჟავას.....	93
სურათი 25.	კარპროფენის, ფლურბიპროფენის, და პირპროფენის დაყოფა Lux ცელულოზა - 3 სვეტზე, სვეტზე, მოძრავ ფაზად ეთანოლის გამოყენებით. ყველა შემთხვევაში მობილური ფაზა შეიცავდა 0.1% ჭიანჭველმჟავას.....	94
სურათი 26.	კეტოპროფენის დაყოფა Lux ამილოზა - 1 სვეტზე, Lux ცელულოზა - 3 სვეტზე, მოძრავ ფაზად ეთანოლის გამოყენებით. ყველა შემთხვევაში მობილური ფაზა შეიცავდა 0.1% ჭიანჭველმჟავას.....	94
სურათი 27.	კარპროფენის დაყოფა Lux ცელულოზა - 1 სვეტზე, პირპროფენის დაყოფა Lux ცელულოზა - 4 სვეტზე, ფლურბიპროფენის დაყოფა Lux ამილოზა - 2 სვეტზე მოძრავ ფაზად აცეტონიტრილის გამოყენებით. ყველა შემთხვევაში მობილური ფაზა შეიცავდა 0.1% ჭიანჭველმჟავას.....	95
სურათი 28.	კუმულაციური ეფექტურობის მაჩვენებლის მიღება სხვადასხვა ქირალურ სვეტით სამ პოლარულ-ორგანულ მოძრავ ფაზაში. ყველა შემთხვევაში მობილური ფაზა შეიცავდა 0.1% ჭიანჭველმჟავას.....	96
სურათი 29.	სხვადასხვა მობილური ფაზის ეფექტურობის მაჩვენებლები სხვადასხვა ქირალურ სვეტებზე. ყველა შემთხვევაში მობილური ფაზა შეიცავდა 0.1% ჭიანჭველმჟავას.....	97
სურათი 30.	კოუმპლქლორის ენანტიომერების მეთანოლში წყლის შემცველობაზე დამყარებული შეკავების დროის დამოკიდებულება Lux ცელულოზა - 3 სვეტზე.....	101
სურათი 31.	კოუმპატეტრალის ენანტიომერების დაყოფა Lux ცელულოზა - 1 - ის სვეტზე: (a) მეთანოლი, (b) წყალ-მეთანოლი (90-10, v/v), (c) წყალ-მეთანოლი (80-20, v/v) და (d) წყალ-მეთანოლი (70-30, v/v) როგორც მობილური ფაზები. ყველა შემთხვევაში მობილური ფაზა მოიცავდა 0.1% ჭიანჭველის მჟავას.....	102
სურათი 32.	ჰექსობარბიტალის ენანტიომერების დაყოფა ამილოზა-2-ის სვეტზე. (a) მეთანოლი, (b) წყალ-მეთანოლი (70-30, v/v), (c) წყალ-მეთანოლი (60-40, v/v) და (d) წყალ-მეთანოლი (50-50, v/v) როგორც მობილური ფაზები. ყველა შემთხვევაში მობილური ფაზა მოიცავდა 0.1% ჭიანჭველის მჟავას.....	104
სურათი 33.	პირანოკუმარინის ენანტიომერების დაყოფა Lux ამილოზა-2-ის სვეტზე. (a) მეთანოლი, (b) წყალ-მეთანოლი (95-5, v/v), (c) წყალ-მეთანოლი (90-10, v/v), (d) წყალ-მეთანოლი (80-20, v/v), (e) წყალ-მეთანოლი (70-30, v/v), (f) წყალ-მეთანოლი (60-40, v/v) როგორც მობილური ფაზები. ყველა შემთხვევაში მობილური	

	ფაზა მოიცავდა 0.1% ჭიანჭველის მჟავას.....	105
სურათი 34.	დიფენაკუმის სტერეოიზომერის დაყოფა Lux ცელულოზა-1-ის სვეტზე წყლიან მეთანოლთან-ჭიანჭველმჟავას (100/0.1, v/v) მობილური ფაზაში.....	106
სურათი 35.	აცეტონიტრილში წყლის შემცველობაზე დამყარებული შეკავება Lux ამილოზა - 2 სვეტზე.....	108
სურათი 36.	კოუმატეტრალის ენანტიომერების დაყოფის დამოკიდებულება აცეტონიტრილში წყლის შემცველობაზე Lux ამილოზა - 1 სვეტზე: (a) აცეტონიტრილი, (b) წყალი - აცეტონიტრილი (95-5, v/v) და (c) წყალი -აცეტონიტრილი (90-10,v/v), როგორც მობილური ფაზები. ყველა შემთხვევაში მობილური ფაზა მოიცავდა 0.1% ჭიანჭველის მჟავას.....	110
სურათი 37.	კოუმატეტრალის ენანტიომერების დაყოფის დამოკიდებულება აცეტონიტრილში წყლის შემცველობაზე Lux ცელულოზა - 1 სვეტზე: (a) აცეტონიტრილი, (b) წყალი - აცეტონიტრილი (95-5, v/v) და (c) წყალი -აცეტონიტრილი (80-20,v/v) როგორც მობილური ფაზები. ყველა შემთხვევაში მობილური ფაზა მოიცავდა 0.1% ჭიანჭველის მჟავას.....	111
სურათი 38.	ენანტიომერების დაყოფის დამოკიდებულება აცეტონიტრილში წყლის შემცველობაზე Lux ამილოზა - 3 სვეტზე: იზუპროფენის (a) აცეტონიტრილი/წყალი (50–50, v/v), აცეტონიტრილი/წყალი (20–80, v/v), როგორც მობილური ფაზა; ვარფარინი(b) აცეტონიტრილი/წყალი (40-60, v/v), როგორც მობილური ფაზა(ტენპერატურა5°C);.....	113
სურათი 39.	ენანტიომერების დაყოფის დამოკიდებულება აცეტონიტრილში წყლის შემცველობაზე Lux ამილოზა - 3 სვეტზე:(ტენპერატურა5°C) აცეტონიტრილისა და აცეტონიტრილი/წყალი (40-60, v/v) როგორც მობილური ფაზა...	113
სურათი 40.	ენანტიომერების დაყოფის დამოკიდებულება აცეტონიტრილში წყლის შემცველობაზე; კეტოპროფენონის ენანტიომერის დაყოფა Lux ამილოზა-2 სვეტზე აცეტონიტრილისა და აცეტონიტრილი/წყალი (60-40, v/v) როგორც მობილური ფაზა; ყველა შემთხვევაში მობილური ფაზა მოიცავდა 0.1% ჭიანჭველის მჟავას.....	114
სურათი 41.	დიფენაკუმის სტერეოიზომერების დაყოფა Lux ცელულოზა-4 სვეტზე , მოძრავ ფაზად გამოყენებულია- წყალი/მეთანოლთან ჭიანჭველ მჟავა დანამატით.....	114
სურათი 42.	დიფენაკუმის ენანტიომერების დაყოფა Lux ცელულოზა-1 აცეტონიტრილში. (a), აცეტონიტრილ-წყალი (90/10, v/v) (b), აცეტონიტრილ-წყალი (70/30, v/v) (c), და აცეტონიტრილ-წყალი (50/50, v/v) (d), მობილური ფაზები. ყველა შემთხვევაში	

	მობილური ფაზა შეიცავდა 0.1% ჭიანჭველმჟავას.....	115
სურათი 43.	კოუმატეტრალის ენანტიომერების ელუირების რიგის ცვლილება, სტაციონალური მოძრავი ფაზის შემცველობის ცვლილებით, 1)ამილოზა-1 სვეტზე, T- 5°C -ზე, 2) ცელულოზა-1 სვეტზე, T- 5°C -ზე.....	116
სურათი 44.	კარპროფენის ენანტიომერების დაყოფა Lux ცელულოზა-1 (a) და ADMPC (b) სვეტში მობილური ფაზა აცეტონიტრილით. ფაზები. ყველა შემთხვევაში მობილური ფაზა შეიცავდა 0.1% ჭიანჭველმჟავას.....	122
სურათი 45.	კარპროფენის, ნაპროქსენისა და კეტოროლაკის ენანტიომერების სეპარაცია ADMPC სვეტში მოძრავი ფაზით.....	124
სურათი 46.	ზალტოპროფენის ენანტიომერების დაშლა ცელულოზა 1-ის სვეტში სხვადასხვა ტემპერატურაზე აცეტონიტრილთან ერთად ACN + 0.1 % FA (v/v) როგორც მოძრავი ფაზა.....	126
სურათი 47.	სუპროფენის ენანტიომერები დაშლა ADMPC-ის სვეტში სხვადასხვა ტემპერატურაზე აცეტონიტრილთან ერთად ACN + 0.1 % FA (v/v) როგორც მოძრავი ფაზა.....	127
სურათი 48.	სურათი 48. პირპროფენის ენანტიომერები დაშლა ADMPC-ის სვეტში მეთანოლთან ერთად MeOH + 0.1 % FA (v/v), როგორც მოძრავი ფაზა. ელუირების რიგი ბრუნდება.....	129

დისერტაციაში გამოყენებული აბრევიატურები

(GC)-	აირ ქრომატოგრაფია ზეკრიტიკული სითხეების
CE-	კაპილარული ელექტროფორეზი
SFC ზსქ-ს-	ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფია
HPLC მესქ-ს-	მაღალეფექტური სითხეების ქრომატოგრაფია
(CSPs),	ქირალის უძრავი ფაზა
(CMPA)	ქირალის მოძრავი ფაზის დანამატები
CSP	ქირალის სტაციონალური ფაზა
SMB	ქრომოგრაფია ფსევდომოდრავი შრით
(ქს)	ქირალური სელექტორი
FDA	წამლისა და საკვები პროდუქტების სააგენტო
AV	ატრიოვენტრიკულური გამტარებლობა.
ACE	ანგიოტენზინმაკონტროლირებელი ენზიმის ინჰიბიტორები.
NSAID	არასტეროიდული ანთების საწინააღმდეგო მედიკამენტები
EDDP	2 - ეთილიდინი - 1,5 -დიმეთილით, 3,3 - დიფენილპიროლიდინი
ELISA	ენზიმოიმუნოანალიზი
EMIT® , FPIA ან TDx®	იმუნოსინჯები
ADMPC	ამილოზა ტრის (3,5- დიმეთილფენილ კარბამატი)-ის სვეტი

მადლიერება

სადისერტაციო ნაშრომი შესრულებულია საქართველოს ტექნიკური უნივერსიტეტის ქიმიური ტექნოლოგიისა და მეტალურგიის ფაკულტეტის ქიმიური და ბიოლოგიური დეპარტამენტის ზოგადი, არაორგანული და ანალიზური ქიმიის მიმართულებაზე.

ექსპერიმენტული ნაწილი ჩატარებული იქნა, ივ. ჯავახიშვილის სახელობის სახელმწიფო უნივერსიტეტის, ზუსტი და საბუნებისმეტყველო მეცნიერებათა ფაკულტეტის, ქიმიის დეპარტამენტის ფიზიკური და ანალიზური ქიმიის კათედრაზე, ბ-ნ ბეჟან ჭანკვეტაძის დიდი დახმარებით და ხელშეწყობით. მადლობას ვუხდით ბ-ნ გიორგი ჯიბუტს ნაშრომის შესრულების დროს გაწეული კონსულტაციებისთვის, ქ-ნ იზა მათარაშვილს ცდების ნორმალური ჩატარებისათვის.

მადლობას ვუხდით სადისერტაციო ნაშრომის ხელმძღვანელს ქ-ნ მაია ცინცაძეს ასეთი საინტერესო თემის შერჩევისა და ყოველდღიური ყურადღებისთვის, ნაშრომის შესრულების დროს გაწეული კონსულტაციებისთვის, აგრეთვე ზოგადი, არაორგანული და ანალიზური ქიმიის მიმართულების თანამშრომლებს და ბოლოს ფარმაციის დეპარტამენტის უფროს და თანამშრომლებს, მთელი ამ ხნის განმავლობაში გვერდში დგომისა და მხარდაჭერისათვის.

შესავალი

თემის აქტუალობა. ქირალობა დამახასიათებელია მრავალი სინთეზური და ბუნებრივი ნივთიერებისათვის, როგორც არის სამკურნალწამლო საშუალებები, საკვების დანამატები, სასოფლო-სამეურნეო მხამქიმკატები და სხვა ბიოლოგიურად აქტიური ნაერთები, რომელთა ნახევარზე მეტი შეიცავს ერთ ქირალურ ცენტრს მაინც. ერთი ქირალური ცენტრის შემცველი ქირალური ნივთიერებები არსებობს ორი ენანტიომერის ნარევის სახით. ნაერთის მხოლოდ ერთი ენანტიომერია პასუხისმგებელი გარკვეულ ქმედებაზე, ხოლო მეორე ენანტიომერს არ გააჩნია შესამჩნევი ფიზიოლოგიური აქტივობა. თუმცა, ხშირად ორივე ენანტიომერის, განსაზღვრული თანაფარდობის, არსებობაა საჭირო ოპტიმალური შედეგის მისაღებად. მედიკამენტებისა და საკვები პროდუქტების ხარისხის კონტროლის სააგენტო (FDA) მოითხოვს მათი ენანტიომერული შედგენილობის მონიტორინგს, რამაც განაპირობა ენანტიომერული ნარევების ანალიზური და პრეპარატული დაყოფის მეთოდების დამუშავების აქტუალობა.

ქირალური სამკურნალო საშუალებების ენანტიომერული ნარევების ანალიზური დაყოფის, მათი რაოდენობრივი განსაზღვრის ყველაზე ფართოდ გამოყენებულ და აღიარებულ, როგორც ძირითად ფარმაკოპეულ მეთოდს წარმოადგენს მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფია. ამას განაპირობებს მეთოდის უნივერსალურობა, სიმარტივე, ქირალური სტაციონარული ფაზების (ქსფ) ფართო არჩევანი და მათი ხელმისაწვდომობა. ამასთან თითქმის ყველა დაყოფა შეიძლება ჩატარდეს ოთახის ტემპერატურასთან ახლოს, ჰაერთან კონტაქტის გარეშე, რაც ძალზე მნიშვნელოვანია ბიოლოგიურად აქტიური ნივთიერებების კვლევისას.

დღეისათვის ქირალური უმრავი ფაზების დიდი არჩევანი არსებობს. ლიტერატურაში 200-მდე ასეთი კომერციულად ხელმისაწვდომი ფაზაა აღწერილი, ამის მიუხედავად, მაინც პრობლემატურია ქსფ-ებისა და

მოდრავი ფაზების კომბინაციების შერჩევა ქირალური ნივთიერებების ფართო ჯგუფისათვის.

არსებობს მრავალი სხვადასხვა ტიპის ქირალური სელექტორი (ქს) ენანტიომერების თხევად-ფაზური დაყოფისათვის. ქირალური სტაციონალური ფაზებიდან გამორჩეული თვისებებით ხასიათდება პოლისაქარიდული ქირალური სორბენტები, კერძოდ, ქირალური ბუნებრივი პოლიმერების, ცელულოზას და ამილოზას ნაწარმები.

კვლევის ობიექტები და მეთოდები. საანალიზოდ გამოყენებული იყო გამოსაკვლევი 26 ქირალური სუსტი მჟავა ბუნების მქონე (არილპროპიონის მჟავა და კარბოქსილის მჟავა) ქირალური ნაწარმი: აცენოკუმარინი, კარპროფენი, კოჰმატეტრალი, 2 - (3 -ქლოროფენოქსი) - პროპიონის მჟავა, კოჰმაქლორი, დიფენაკუმი, ფენოპროფენი, ფლურბიპროფენი, ჰექსობარბიტალი, იბუპროფენი, ინდოპროფენი, კეტოპროფენი, კეტოროლაკი, ნუშის მჟავის ეთილეთერი, ნუშის მჟავა, პირპროფენი, პროგლამიდი, სურპროფენი, სულინდაკი, 2 - ფენოქსიპროპიონის მჟავა, ვარფარინი, ნაპროქსანი, ზალტოპროფენი, ჰალონალი, ნემბუტალი და ბენზოზამილი.

მოდრავი ფაზების ოპტიმიზაცია განხორციელდა შვიდ ქირალურ სვეტზე პოლისაქარიდული ქირალური სელექტორებით Lux Cellulose - 1, Lux Cellulose - 2, Lux Cellulose -3, Lux Cellulose - 4, Lux Amylose - 1, Lux Amylose - 2 და Lux ცელულოზა 3,5-დიქლოფერნილკარბამიდის სილიკაგელზე კოვალენტური იმობილიზაციით მომზადებული ექსპერიმენტული სვეტი ADMPC.

ელუირების რიგის დასადგენად კვლევები ჩატარდა შვიდ სხვადასხვა პოლისაქარიდულ ქირალურ სვეტზე, როგორც პოლარულ (აცეტონიტრილი და მეთანოლი), ასევე ნორმალურ ფაზაში. ანალიზისთვის გამოყენებული იყო მეთანოლი - წყალი და აცეტონიტრილი - წყალი ექვს-ექვსი სხვადასხვა კომბინაცია.

სითხურ-ქრომატოგრაფიული კვლევებში გამოყენებული იქნა Agilent Technologies წარმოების მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფი.

ხელსაწყო კონტროლისთვის, მონაცემთა მისაღებად და მონაცემთა დასამუშავებლად გამოყენებული იყო კომპანია ეჯილენტის პროგრამული უზრუნველყოფა.

მეცნიერული სიახლე.

- პირველად დაფიქსირდა არილპროპიონის მჟავას ნაწარმი ენანტიომერების ელუირების რიგის ცვლილება როგორც ნორმალურ, ისე შებრუნებულ და პოლარულ-ორგანულ მოძრავ ფაზებზე. ასევე არილპროპიონის მჟავას 26 ქირალური ნივთიერების სკრინინგი შვიდ კომერციულ პოლისაქარიდულ ქირალურ სვეტზე პოლარულ-ორგანული გამხსნელების (მეთანოლი და აცეტონიტრილი) გამოყენებით.
- მოძრავი ფაზების ოპტიმიზაციის მიზნით განხორციელდა არსებულ კომერციულ ქირალურ სვეტებზე ნორმალური, შებრუნებული და პოლარულ-ორგანული მოძრავი ფაზების გამოყენება, ასევე მცირე რაოდენობა ჭიანჭველმჟავას დანამატებით, ხოლო სტაციონალური ფაზების ოპტიმიზაციის მიზნით გამოყენებულ იქნა კომერციულად ხელმისაწვდომი ექსპერიმენტული სტაციონალური ფაზები ერთი და იმავე ქირალური სელექტორის დაყოფის უნარის შედარებისათვის სხვადასხვა ტიპის სარჩულზე, კერძოდ პოლისაქარიდული ქირალური სელექტორის დაფენა ფოროვანი ზედაპირის მქონე და გლუვი სილიკაგელის სარჩულზე.

ნაშრომის მიზანი. წინამდებარე სადისერტაციო ნაშრომის მიზანს წარმოადგენს ზოგიერთი არილპროპიონის მჟავას ნაწარმი ქირალური

სამკურნალწამლო საშუალებების ენანტიომერების დაყოფის მეთოდების დამუშავება ახალი ტიპის პოლისაქარიდულ ქირალურ სტაციონარული ფაზების და პირდაპირი, ე.წ. შებრუნებული (წყალი + ორგანული დანამატი) და პოლარულ-ორგანული სხვადასხვა მოძრავი ფაზების გამოყენებით. გარდა ამისა ნორმალურ ფაზაში ამავე ჯგუფის წარმომადგენელი ზოგიერთი ნივთიერების ენანტიომერების დაყოფის მახასიათებლების, ასევე სტაციონარული ფაზის ნაწილაკების თვისებების და მოძრავი ფაზის დანამატების გავლენის შესწავლა ქირალურ დაყოფებზე.

ასევე მნიშვნელოვანია შესწავლილი იქნას ენანტიომერების ელუირების რიგის და მისი ცვლილების პირობების დადგენა, რათა მოხდეს ანალიზური თუ პრეპარატიული დაყოფის მეთოდების ოპტიმიზაციის მიზნით. სხვადასხვა პარამეტრების გამოყენებით ცალკეულ ენანტიომერსა და ქირალურ სელექტორს შორის ქირალური ურთიერთქმედების ფიზიკურ-ქიმიური ურთიერთქმედების მექანიზმების ახსნა.

თეორიული და პრაქტიკული ღირებულება. სუსტი მჟავა ბუნების მქონე ქირალური ნაწარმების ენანტიომერების ელუირების თანმიმდევრობის ცვლილების შესწავლა დამატებით საშუალებებს გვადლევს ვიმსჯელოთ ქირალური დაყოფების ნატიფ მექანიზმებზე. პოლარულ-ორგანულ ფაზებში სკრინინგის მონაცემები მეტ საშუალებას აძლევს მკვლევარებს სურვილისამებრ აარჩიონ სტაციონარული და მოძრავი ფაზები ამ ჯგუფის ნივთიერების დასაყოფად. ფორიანი ზედაპირის მქონე და გლუვი სილიკაგელის სარჩულზე მომზადებულმა სვეტებმა აჩვენა მნიშვნელოვანი უპირატესობები ტრადიციული ფორიანი სილიკაგელის სარჩულზე მომზადებულ სვეტებთან შედარებით, ხოლო ახალი ტიპის სვეტების გამოყენება საშუალებას გვადლევს ეფექტურობის დაუკარგავად ჩავატაროთ ანალიზები გაცლებით სწრაფად, რაც თავის მხრივ დროის და გამხსნელის ეკონომიაა.

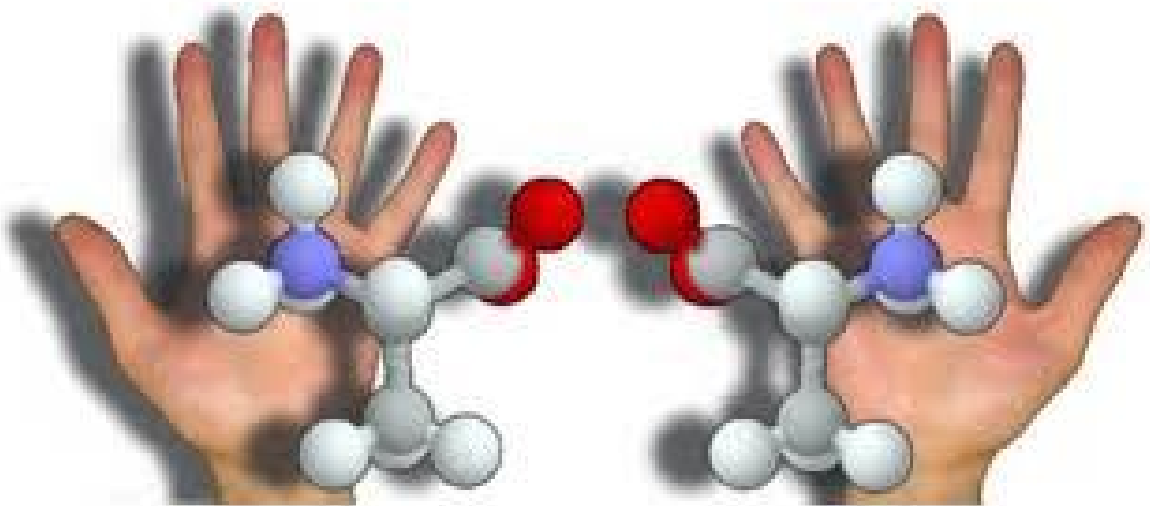
სამუშაოს ძირითადი შედეგების გამოყენება შესაძლებელია საცნობარო და საინფორმაციო ლიტერატურაში, ენანტიომერების

ელუირების რიგის მართვა ქირალურ ნივთიერებათა ენანტიოსელექტიურ დაყოფებში საინტერესოა როგორც პრაქტიკული, ასევე თეორიული თვალსაზრისით. ამ საკითხის პრაქტიკულ ღირებულებას განაპირობებს ის ფაქტი, რომ არარაცემული ენანტიომერების ნარევის ანალიზში (განსაკუთრებით ერთ-ერთი ენანტიომერის ძალიან დაბალი შემცველობის დროს) აუცილებელია დაბალი შემცველობის მქონე ენანტიომერი ელუირდებოდეს ძირითადი ენანტიომერის პიკის წინ. ამის ანალოგიურად, ენანტიომერების პრეპარატიული დაყოფების დროს აუცილებელია სასურველი ენანტიომერი (ეუტომერი) ელუირდებოდეს არასასურველი ენანტიომერის (დისტომერი) წინ. გარდა ამისა, ენანტიომერების ელუირების რიგზე დაკვირვება და მისი მართვა სხვადასხვა ფაქტორების გავლენით იძლევა იმ არაკოვალენტური ძალების ბუნების გარკვევის შესაძლებლობას, რომლებიც მონაწილეობს საანალიზო ნივთიერებისა და ქირალური სელექტორის ურთიერმოქმედებასა და ქირალურ გამოცნობაში.

1. ლიტერატურის მიმოხილვა

1.1. ქირალობა

ქირალობა (ზოგჯერ სტერეოიზომერის ან ენანტიომერიზმის ან დისიმეტრიის სახელწოდებით) ეს არის ნივთიერების თვისება, რომელიც არათავსებადია საკუთარ სარკისებურ გამოსახულებასთან. ტერმინი ქირალობა ძველ ბერძნული წარმოშობისაა (*χειρ*) და ხელს ნიშნავს. როდესაც მოლეკულა არათავსებადია საკუთარ სარკულ გამოსახულებასთან უწოდებენ „ქირალურს“. ქირალობის თვალსაჩინო მაგალითია ადამიანის მარჯვენა და მარცხენა ხელი, ანუ ერთმანეთის სარკული გამოსახულებები, რომელთა სივრცეში შეთავსება ვერ ხერხდება. სურ.1



სურათი. 1. ქირალური მოლეკულები

ორი არათავსებადი მოლეკულის სარკისებრი გამოსახულება ქმნის ქირალურ მოლეკულას, რომელთაც ენანტიომერები ეწოდება. მოლეკულის ქირალობა მასში ქირალური ცენტრის, იმავე ასიმეტრული ცენტრის, არსებობითაა განპირობებული. ორგანული ნივთიერებების შემთხვევაში ხშირად ასეთ ცენტრს წარმოადგენს sp^3 ჰიბრიდულ მდგომარეობაში მყოფი ნახშირბადის ატომი, რომელიც ოთხ განსხვავებულ ჩამნაცვლებელს შეიცავს. ასეთ ატომს სტერეოგენულ ნახშირბადს უწოდებენ. ნახშირბადი არ არის ერთადერთი ატომი, რომელიც ასიმეტრული ცენტრის როლს

ასრულებს. ხშირ შემთხვევებში გოგირდს, ფოსფორსა და აზოტსაც შესწევთ ქირალური მოლეკულების წარმოქმნის უნარი, მაგალითად, ომეპრაზოლი, ციკლოფოსფამიდი, მეტაქვალონი და სხვ.

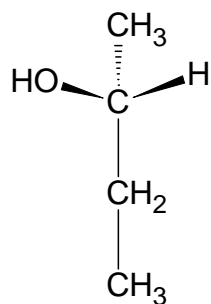
ბუნებაში ქირალური ნივთიერებები უმრავლეს შემთხვევაში, არსებობენ სუფთა ენანტიომერების სახით. ბევრი მათგანი შეიძლება გამოყენებულ იქნას სასურველი ენანტიომერული მოლეკულის მისაღებად, რაც მიიღწევა შესაბამისი ქიმიური გარდაქმნით. ასეთი გარდაქმნა, ხშირ შემთხვევაში, განსაზღვრულ პირობებში მიმდინარეობს. ისეთი ბუნებრივი ქირალური ნივთიერებები, როგორცაა ნახშირწყლები, ამინომჟავები, ალკალოიდები და ა.შ. ფართოდ გამოიყენება სუფთა ენანტიომერების მისაღებად ფარმაცევტულ მრეწველობასა და ნატიფ ქიმიურ სინთეზში [1].

1.2. ქირალური ნაერთების ნომენკლატურა. ენანტიომერები და მათი კლასიფიკაცია

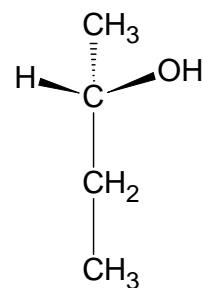
პირველად ქირალობა აღმოაჩინა ფრანგმა ქიმიკოს - ბიოლოგმა ლუის პასტერმა 1848 წელს ნატრიუმ-ამონიუმტარტატის კრისტალთა ორი იზომერის ხელით დაყოფის დროს [2,3]. მხოლოდ, ერთი საუკუნის შემდეგ გახდა ცნობილი რაოდენ დიდი მნიშვნელობისაა ქირალობა მცენარეებისა და ცხოველების სიცოცხლისათვის, ისევე როგორც ფარმაცევტული, სასოფლო-სამეურნეო და სხვა ქიმიური მრეწველობისთვის. ყველა პროტეინი, ენზიმი, ამინომჟავა, ნახშირწყალი და მთელი რიგი ალკალოიდები და ჰორმონები ქირალური შედგენილობისაა.

ენანტიომერების ფიზიკური და ქიმიური თვისებები იდენტურია, გარდა ოპტიკური აქტივობისა, ე.ი. უნარი, აბრუნოს პოლარიზებული სხივების პოლარიზაციის სიბრტყეები, განსხვავებული აქვთ. ამ ოპტიკურ აქტივობის გამო, ენანტიომერებს, ზოგჯერ, ოპტიკურ იზომერებსაც უწოდებენ. ამ თვისებაზე დაფუძნებული კლასიფიკაციის მიხედვით, ანუ ბრუნვის კუთხის მობრუნების მიმართულების მიხედვით, ენანტიომერი შესაძლებელია განხილულ იქნას, როგორც მარცხენა l(levorotary) და

მარჯვენა d(dextrorotary) - იზომერები. ეს დამოკიდებულია იმაზე, თუ რამდენად პოლარიზებულია ერთ სიბრტყეზე - მარცხნივ ან მარჯვნივ. ამიტომ მათ ოპტიკურ ანტიპოდებსაც უწოდებენ. მარჯვნივ ბრუნვას აღნიშნავენ (+) ნიშნით, ხოლო მარცხნივ ბრუნვას (-) ნიშნით. ქირალური შემცველობის ორი ენანტიომერის თანაბარ (50/50) ექვიმოლურ ნარევს, რომელიც ოპტიკურ აქტივობას არ ამჟღავნებს რაცემულ ნაერთს უწოდებენ და გააჩნია (±) ან (d, l) აღნიშვნა. ენანტიომერების ფიზიკურ-ქიმიური თვისებები იდენტურია აქირალურ გარემოში. მათი გარჩევა შეიძლება მხოლოდ კვლევის ქირალური მეთოდის გამოყენებით.



(R)-2-ჰიდროქსიბუტანი



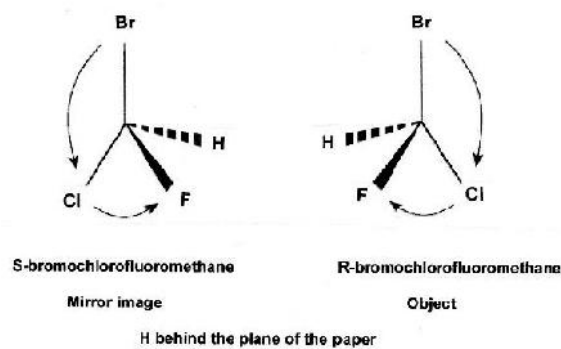
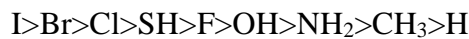
(S)-2-ჰიდროქსიბუტანი

სურათი 2. (R, S) 2-ჰიდროქსიბუტანი იზომერები

თანამედროვე (კან-ინგოლდ-პრელოგის) ნომენკლატურის მიხედვით, ენანტიომერების კლასიფიკაცია ხდება მოლეკულაში ქირალური ცენტრის გარშემო ჩამნაცვლებელი ჯგუფების სამგანზომილებიანი სივრცული განლაგების მიხედვით. ეს კლასიფიკაცია დაფუძნებულია კან-ინგოლდ-პრელოგის პრიორიტეტების წესზე, რომელიც ორგანულ ნაერთებში ჩამნაცვლებელი ჯგუფების პრიორიტეტების განსაზღვრისათვის გამოიყენება [4]. ასიმეტრულ ნახშირბადთან ჩამნაცვლებული ჯგუფების პრიორიტეტების განსაზღვრა ხდება რამდენიმე წესით. მათ შორის უმარტივესია შემდეგი: ატომთა მეტი რიცხვის მქონე ჩამნაცვლებელი ჯგუფი წინ უძღვის ატომთა ნაკლები რიცხვის მქონე ჩამნაცვლებელ ჯგუფს, სხვაგვარად „მაღალი ატომური რიცხვის მქონე ჩამნაცვლებელი ჯგუფი აღემატება მასზე დაბალი ატომური რიცხვის მქონე ჩამნაცვლებელს.“ თუკი

ყველაზე მაღალი პრიორიტეტის ჯგუფიდან ყველაზე დაბალი პრიორიტეტის ჯგუფისკენ, ათვლა მიმდინარეობს საათის ისრის მიმართულებით, მაშინ ენანტიომერის კონფიგურაციაა R (ლათინურიდან Rectus - მარჯვნივ), ხოლო თუ ათვლა მიმდინარეობს საათის ისრის საწინააღმდეგო მიმართულებით, მაშინ ენანტიომერის კონფიგურაციაა S (ლათინურიდან Sinistra - მარცხენა) და რაცემული ნარევი აღინიშნება, როგორც R,S. პირდაპირი კავშირი ამ ნომეკლატურასა და ბრტყლად პოლარიზებული სინათლის ბრუნვის ნიშანს შორის არ არსებობს. კონკრეტული მოლეკულის თვისებებიდან გამომდინარე, შეიძლება გვქონდეს: R(+) ან R(-) და S(+) ან S(-). მოლეკულის ოპტიკური აქტიობა განისაზღვრება პოლარიმეტრის ან წრიული დიქროიზმის მეშვეობით, ხოლო ჩამნაცვლებელი ჯგუფების სივრცული განლაგება ბირთვულ-მაგნიტური რეზონანსის, ანდა რენტგენოსტრუქტურული ანალიზით. R/S სამგანზომილებიანი კონფიგურაცია საშუალებას გვაძლევს ავხსნათ ენანტიომერების ურთიერთქმედება მათ ბიოლოგიურ რეცეპტორებთან.

ორი ჩამნაცვლებლიდან ის არის უპირატესი რომელიც შეიცავს ქირალურ ცენტრთან უშუალოდ დაკავშირებულ ელემენტის ატომს უფრო მაღალი ატომური რიცხვით. მაგალითად:



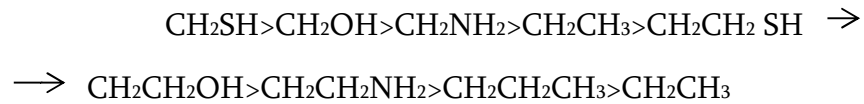
სურათი 3. H ფურცლის სიბრტყის მიღმა.

თვალსაჩინოებისთვის ნახაზის მიხედვით ყველაზე დაბალი პრიორიტეტის მქონე ატომი - H განთავსებულია ნახაზის ქვედა სიბრტყეზე, ამის შემდგომ იწყება გაანგარიშება ყველაზე მაღალი პრიორიტეტიდან

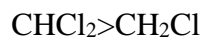
(ყველაზე მაღალი ატომური რიცხვიდან) ყველაზე ნაკლებ პრიორიტეტის-
კენ, მაგ.



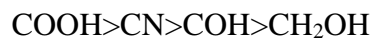
ქირალურ ცენტრთან ბმული ორი ან მეტი ატომი როდესაც ერთნაირია, მაშინ ჩამნაცვლებლის უპირატესობა განისაზღვრება მასთან დაკავშირებულ ატომთა ატომურ ნომერზე. მაგალითად:



როდესაც მეორე ან შემდგომი რიგის ატომები ერთნაირია, მაშინ განსხვავებული იქნება ასეთ ატომთა რიცხვი და ის ჯგუფი იქნება უპირატესი, რომელიც შეიცავს მეტ ჩამნაცვლებელს, უფრო მაღალი ატომური ნომრით. მაგალითად:



როდესაც ქირალურ ცენტრთან მდგარი ატომები ჯერადი ბმებით უკავშირდება სხვა ატომებს, მაშინ ორმაგი ბმების შემთხვევაში ამ უკანასკნელთა რიცხვი ორკეცდება, ხოლო სამმაგი ბმების შემთხვევაში სამმაგდება. აქედან გამომდინარე:



სტერეოიზომერები წარმოადგენენ ნებისმიერ მოლეკულას, რომელთაც ერთი ან მეტი ქირალური ცენტრი გააჩნიათ. ორი ქირალური ცენტრის შემთხვევაში ქირალური ნივთიერებები წარმოადგენენ დიასტერეომერების ნარევს, ხოლო თითოეული დიასტერეომერი, თავის მხრივ, ორი ენანტიომერის ნარევს. დიასტერეომერს, ორი ქირალური ნახშირბადით, გააჩნია ოთხი იზომერი. ენანტიომერებისაგან განსხვავებით, დიასტერეომერებს აქვთ ერთნაირი ქიმიური ფორმულა და შედგენილობა, მაგრამ განსხვავდებიან ჩამნაცვლებლის სივრცული ორიენტაციით. აქედან გამომდინარე, განსხვავებულია მათი ფიზიკურ-ქიმიური თვისებები და შესაბამისად, ბიოლოგიური აქტივობა. აღნიშნული კი გულისხმობს ენანტიომერების დერივაციას, რომელიც ქირალური დაშლისას დიასტერეომერების ფორმულირების საფუძველსა და ორგანიზმში

ქირალური რეცეპტორებით მიმდინარე ენანტიომერული აქტივობების განმარტებას წარმოადგენს. დიასტერეომერები, ენანტიომერები და გეომეტრიული იზომერები აყალიბებენ ე.წ. სტერეოიზომერებს, რომელთა მოლეკულებს მსგავსი ქიმიური ფორმულა და სხვადასხვა სივრცული განლაგება გააჩნია.

უთომერს უწოდებენ ბიოაქტიურ, ანდა მაღალი ფარმაკოლოგიური აქტივობის მქონე ენანტიომერს. მის საპირისპირო ენანტიომერს დისტომერი ეწოდება.

ეპიმერები წარმოადგენენ ორ დიასტერეომერს, რომელთაც ერთ ქირალურ ცენტრში სხვადასხვაგვარი კონფიგურაცია გააჩნიათ.

ენანტიოსელექტურობა არის პროცესის თავისებურება, სადაც ერთი ენანტიომერი განსაკუთრებულადაა გამოხატული, ანდა მეორეზეა დომინირებული, ან სხვანაირ ფარმაკოლოგიური მნიშვნელობით, რაც ბიოლოგიურ აგებულებასაც გულისხმობს (ენზიმი, ანტისხეული ან რეცეპტორი) და ერთი ენანტიომერის მეორესგან განსხვავებასაც აღნიშნავს. ენანტიოსელექტური ანალიზი კი, არის ენანტიომერების ხარისხებად დაყოფის ან განცალკევების ანალიტიკური მეთოდი.

სტერეოსელექტურ სინთეზში, იზომერების ერთი რიგი განსაკუთრებულად ჩამოყალიბებული ან პრედომინანტია მაშინ, როდესაც სტერეოსპეციფიკურ სინთეზში ერთი იზომერი წინ უძღვის ერთ პროდუქტს, ხოლო მეორე წინ უძღვის მის საპირისპირო პროდუქტს.

ჰომოქირალობა არის ბიოლოგიური ქირალობა, სადაც ყველა ბიოლოგიურ ნაერთს მსგავსი ქირალობა გააჩნია. მაგალითად, ამინომჟავები არიან მარცხნივ ბრუნვადი იზომერები.

ქირალური გადართვა არის პროცესი, რომლის დროსაც მიმდინარეობს ძველი რაცემული მედიკამენტის გარდაქმნა ერთ აქტიურ ენანტიომერად. აღნიშნული არის ახალი ენანტიომერული მედიკამენტი, რომელიც დამზადებულია ფარმაცევტულ საწარმოში და, რომელსაც მინიჭებული აქვს დამატებითი პატენტი და ამ კლასისთვის

დამახასიათებელი სახელწოდება.

1.3. ქირალური სამკურნალწამლო საშუალებების გამოყენება ფარმაციაში

დღეისათვის ფარმაცევტულ საწარმოებში დამზადებული მედიკამენტების 56% ქირალური შედგენილობისაა, ასევე ბაზარზე გატანილი რაცემატების 88% შედგება ორი ენანტიომერის ექვიმოლური ნაერთისაგან [5-6]. ხელოვნურად შექმნილი ქირალური პროდუქტებისაგან განსხვავებით, ყველა ბუნებრივი კომპონენტი წარმოდგენილია ცალკეული ენანტიომერის სახით, მაგალითად, ყველა ბუნებრივი ამინომჟავა არის L-იზომერი (მარცხნივ მბრუნავი), ისევე როგორც ყველა ბუნებრივი შაქარი (კარბოჰიდრატები) არის D-იზომერი (მარჯვნივ მბრუნავი). მიუხედავად მსგავსი ქიმიური სტრუქტურისა და ქიმიური და ფიზიკური თვისებების იდენტურობისა, რაცემული მედიკამენტების ენანტიომერების დიდ ნაწილს განსხვავებული ბიოლოგიური აქტივობა გააჩნიათ. მაგალითად, როგორცაა ფარმაკოლოგია, ტოქსიკოლოგია და სხვ. [7]. ახლა უკვე არსებობს ბიოლოგიურ გარემოში არსებული ქირალური მედიკამენტების მექანიზმთა განმარტება. ფარმაცევტულ მრეწველობაში უმნიშვნელოვანესია ქირალური დაშლისა და რაცემული მედიკამენტების წინა პლანზე წამოწევა, რათა თავიდან იქნას აცილებულ არასასურველი იზომერის დამზადება, პაციენტისთვის ოპტიმალური მკურნალობის ჩატარება და სწორი თერაპიული კონტროლი.

ქირალობას უდიდესი ადგილი უკავია ფარმაციის განვითარებაში. უახლესი ტექნოლოგიების წყალობით ქირალური დაშლის საფუძველზე ამერიკის შეერთებული შტატების მედიკამენტებისა და საკვები პროდუქტების ხარისხის კონტროლის სამსახურის (FDA) წამლისა და საკვები პროდუქტების სააგენტოს მიერ რეკომენდებულ იქნა შეფასებები ადამიანის ორგანიზმში რაცემული მედიკამენტის თითოეული ენანტიომერული აქტივობის, ფარმაკოლოგიური თვისებების კვლევისა და ახალი

სამკურნალო პრეპარატის, ქირალური მედიკამენტის ოპტიკური იზომერის ფორმის გამოყენების თაობაზე [7, 8].

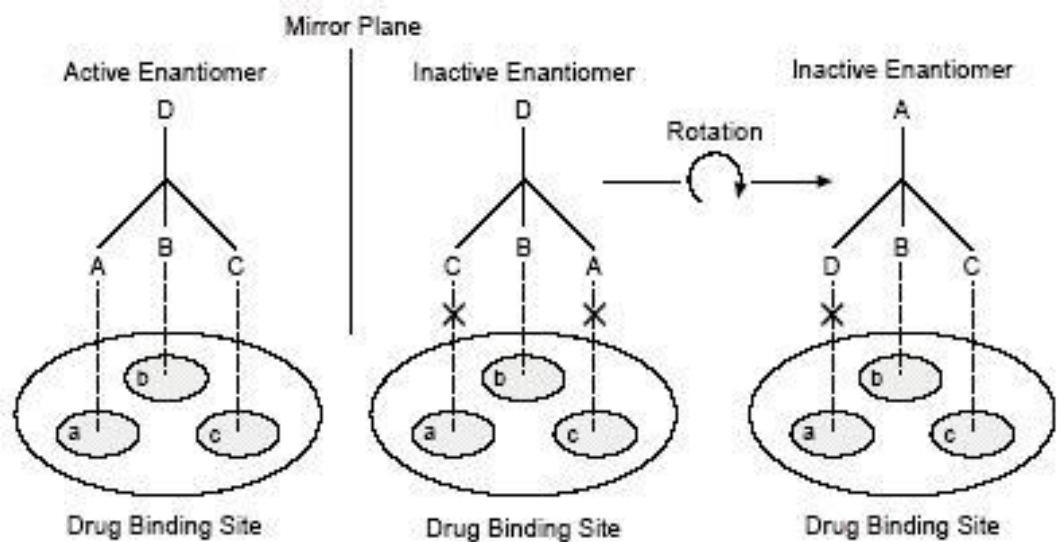
1.4. რაცემული მედიკამენტების ენანტიომერების ფარმაკოლოგია

ორგანიზმი თავისი სხვადასხვაგვარი ნაერთით გასაოცარ ქირალური სელექტორია, რომელსაც გააჩნია თითოეულ რაცემულ მედიკამენტთან განსხვავებული ურთიერთქმედების უნარი და თითოეულ ენანტიომერთან ცალკეული გზით მეტაბოლიზდება, რათა ხელი შეუწყოს სხვადასხვა ფარმაკოლოგიურ აქტივობას. ამგვარად, ერთ იზომერს ახასიათებს სასურველი თერაპიული აქტივობები მაშინ, როცა მეორე პასიურია, ანდა უარეს შემთხვევაში არასასურველია, ან კიდევ ტოქსიკური ეფექტის მატარებელია [9-14].

1.4.1. რაცემული მედიკამენტების ბიოლოგიური აქტივობის მექანიზმი

ბიოლოგიურ სისტემას ორი ენანტიომერის აღქმა შეუძლია როგორც ორი განსხვავებული სუბსტანციის და მათი ურთიერთქმედებები სხვადასხვა საპასუხო რეაქციებში გამოვლინდება. მედიკამენტური რეცეპტორების მიერ ქირალის ამოცნობა უჯრედოვანი რეცეპტორით მედიკამენტის სამმაგი ურთიერთქმედების შედეგია [15,16,17]. მედიკამენტის ორი ენანტიომერის სხვაობა, ქირალურ მედიკამენტებსა და მათ ქირალური შერწყმის ზონების ჰიპოთეტური ურთიერთქმედების გამოყენებით ასახულია სურათი 3 - ზე [16]. ამ შემთხვევაში ერთი ენანტიომერი ბიოლოგიურად აქტიურია, ხოლო მეორე კი პასიური. აქტიური ენანტიომერული მედიკამენტის ჩამნაცვლებელი A, B, და C საჭიროა ურთიერთქმედებდეს რეცეპტორის a, b, და c შესაბამის შერწყმის ზონაში, იმისათვის რომ გამომჟღავნდეს ენანტიომერის ბიოლოგიური აქტიურობა, უნდა მივიღოთ შემდეგი თანმიმდევრობის წყობა Aa, Bb, Cc. ამის საპირისპიროდ, პასიური ენანტიომერი სივრცეში ბრუნვის დროს ვერ

ახდენს საკუთარ რეცეპტორთან შეერთებას და შესაბამისად, აქტიური საპასუხო რეაქციაც ვერ მიიღება. [15,16]. აღნიშნული ჰიპოთეზის შეჯამებისთვის ცალკეული ენანტიომერის მორგება უნდა მოხდეს რეცეპტორის ზონაზე, რომელსაც აქვს კომპლემენტარული ფორმა. მეორე ენანტიომერს შეუძლია სხეულის ნებისმიერ მონაკვეთში არსებული რეცეპტორების ზონაზე მორგება და არასასურველი ან ტოქსიკური ეფექტის გამოწვევა. მეორეს მხრივ, ენანტიომერებმა ქირალურ გარემოში დიასტეროიდული წყობის სხვადასხვა ქირალური დისკრიმინაციის გამო შესაძლებელია გამოამჟღავნონ სხვადასხვა ქიმიური თვისება [9, 10, 15, 16, 17].



სურათი 4. იასონ-სტედმანის რაცემული მედიკამენტების ორი ენანტიომერის ჰიპოთეზური ურთიერთქმედება რეცეპტორთან მედიკამენტის შეერთების ზონაში.

ფარმაკოლოგიური შესწავლისას რაცემული მედიკამენტები, მათი აქტივობების მიხედვით. შესაძლებელია სამ ჯგუფად დაიყოს. რაცემული მედიკამენტების უმრავლესობას გააჩნიათ ერთი საერთო ბიოაქტიური ენანტიომერი (ეუთომერი), მეორეს კი ან საერთოდ არ აქვს, ან შედარებით პასიურია (დისტომერი), ანდა ტოქსიკურია და შეუძლია სასურველ, ან პირიქით არასასურველ ფარმაკოლოგიურ თვისებაზე ზეგავლენის მოხდენა.

მეორე კატეგორიას მიაკუთვნებენ ისეთ მედიკამენტებს, სადაც ორი ენანტიომერი თანაბრად აქტიურია და ერთი და იმავე ფარმაკოდინამიკის მატარებელია. მათ გააჩნიათ მხოლოდ ერთი ეუთომერი, თუმცა დისტომერს ორგანიზმში ქირალური ინვერსიის გზით ბიოაქტიურ ანტიპოდად გარდაქმნის უნარი აქვს [10-12].

ჯგუფი 1. ერთი საერთო ბიოაქტიური ენანტიომერის მქონე რაცემული მედიკამენტები - წარმოდგენილია მთელი რიგი კარდიოვასკულარული მედიკამენტებით, ნივთიერებები რომლებიც ფართოდ გამოიყენება ჰიპერტენზიის, გულის უკმარისობის, არითმიის და სხვა დაავადებების სამკურნალოდ. მაგ., β - ადრენობლოკატორები, კალციუმის არხის ანტაგონისტები და ანგიოტენზინმაკონტროლირებელი ენზიმის (ACE) ინჰიბიტორები.

β -ბლოკატორები წარმოადგენს სამკურნალწამლო საშუალებების საკმაოდ დიდ ჯგუფს, გამოიყენება გულის იშემიური დაავადებების სამკურნალოდ, რომელთა უმრავლესობა ქირალურ ნივთიერებებს წარმოადგენს. β - ბლოკატორების ფარმაკოლოგიური ეფექტების უმრავლესობა β - ადრენორეცეპტორის დათრგუნვით არის განპირობებული. ისინი სამკურნალო საშუალებებია, რომლებიც ურთიერთქმედებენ ადრენალინისა და ნორადრენალინისადმი მგრძობიარ β - რეცეპტორებთან.

როგორც წესი, ქირალური ბეტა-ბლოკატორების ენანტიომერები განსხვავებული ფარმაკოლოგიური მოქმედებით ხასიათდება. ცნობილია, ყველა β - ბლოკატორის S - ენანტიომერი უფრო ძლიერად ახდენს β - ადრენორეცეპტორების ბლოკირებას R - ენანტიომერთან შედარებით. მაგალითად, S(-) - პროპანოლოლი 100-ჯერ უფრო აქტიურია R - ენანტიომერთან შედარებით [18-19], შესაბამისად, ცალკეული d - პროპანოლოლი შესაძლებელია გამოყენებული იყოს როგორც კონკრეტული მედიკამენტი β - ბლოკატორული ეფექტის გარეშე, რომელიც ამცირებს T3-ის კონცენტრაციას პლაზმაში, განსაკუთრებით იმ ჰიპერთირეოიდულ პაციენტებში, როდესაც რაცემული პროპანოლოლის

მიწოდება β -ბლოკატორებთან ერთად არ შეიძლება [18]. აქედან გამომდინარე, აუცილებელია როგორც ამ ჯგუფის სამკურნალწამლო საშუალებათა ენანტიომერულად სუფთა ფორმით წარმოება, ასევე მათი ენანტიომერული სისუფთავის კონტროლი [20]. ბაზარზე β - ბლოკატორები წარმოდგენილია რაცემული მედიკამენტების ფორმით. მაგალითად, აცებუტოლოლი, ატენოლოლი, ბეტაქსოლოლი, კარვედილოლი, მეტოპროლოლი, ლაბეტალოლი, პინდოლოლი, სოტალოლი და სხვა, ხოლო თიმოლოლი და პენბუტოლოლი წარმოდგენილია ცალკეული l - იზომერების სახით, თუმცა d, l და d - პროპანოლოლს, მათი l - ფორმისაგან განსხვავებით შეუძლიათ თიროქსინის (T4) ტრიოდთირონინად (T3) გარდაქმნის ინჰიბირება [21-22].

β - ბლოკატორების სელექტიობა ძალზე მნიშვნელოვანია კლინიკური თვალსაზრისით. კლინიკურად გამოყენებულ β - ბლოკატორებს შორის არცერთი მათგანი არ არის β_1 - რეცეპტორების აბსოლუტურად სპეციფიკური ანტაგონისტი, ამიტომ სელექტიობა პირობით მოვლენად განიხილება და პრეპარატის დოზაზეა დამოკიდებული.

აღსანიშნავია ისიც, რომ თითოეულ ენანტიომერს რაცემულ მედიკამენტებში გააჩნია საკუთარი უმნიშვნელო, მსგავსი, განსხვავებული ან საპირისპირო ფარმაკოლოგიური აქტივობა [23].

მრავალი კალციუმის არხის ანტაგონისტი გამოიყენება რაცემული ფორმით, როგორცაა ვერაპამილი, ნიკარდიპინი, ნიზორდიპინი, ფელოდიპინი, მანდიპინი და სხვა, გარდა დიალთიაზემისა, რომელიც ორი წყვილი ენანტიომერის დიასტერეოიზომერია. მაგალითად, S(-) - ვერაპამილის ფარმაკოლოგიური აქტივობა 10 - 20 - ჯერ მეტია, ვიდრე მისი R(+) - ანტიპოდის, რაც გამოიხატება AV (ატრიოვენტრიკულურ) გამტარებლობაზე ნეგატიური ქრონოტროპული ეფექტით და ვაზოდilatაციით ადამიანებსა (უპირატესად მამაკაცებში) და ცხოველებში [24,25].

ვერაპამილი ასევე გამოიყენება სიმსივნური დაავადებების

ქიმიოთერაპიაში, როგორც მოდიფიკატორი მედიკამენტური რეზისტენტობის დროს. R(+) - ვერაპამილი, S(-) - ვერაპამილთან შედარებით, გაცილებით ნაკლებ კარდიოტოქსიკურია, ამიტომ მისაღებია R - ენანტიომერის გამოყენება, ხოლო S - ენანტიომერის გამოყენება უფრო მისაღებია კარდიოვასკულარულ თერაპიაში, როგორც კალციუმის არხის ბლოკატორი.

ყველა ACE ინჰიბიტორი - კაპტოპრილი, ბენაზეპრილი, ენალაპრილი, იდაპრილი დიასტერეოიზომერული სახით ქირალური შედგენილობისაა და მრავალი მათგანი გაყიდვამია ცალკეული იზომერის სახით. ანგიოტენზინ II რეცეპტორის ანტაგონისტი ვალზარტანი გამოიყენება მხოლოდ S - ენანტიომერი, რადგან R - ენანტიომერი მკვეთრად დაბალი აქტივობისაა [13].

წამლისა და საკვები პროდუქტების ხარისხის კონტროლის სააგენტოს (FDA) მიერ ბოლო პერიოდში დამტკიცებულ იქნა ქირალური ჩამნაცვლებელი მედიკამენტები, ლევოსალბუტამოლი (ალბუტეროლის სუფთა 1 - იზომერი), როგორც კონსერვატებისგან თავისუფალი ნებულაიზერი. თუმცა ზოგიერთმა კლინიკურმა კვლევამ აჩვენა, რომ ერთნაირი დოზების შემთხვევაში რაცემულ ალბუტეროლთან შედარებით იგი უსაფრთხო და ეფექტურია. პირიქით, ლევოსალბუტამოლი ნაკლებ ხარჯთეფექტურია, 5 - ჯერ ძვირი ღირს, ვიდრე მისი რაცემატი [26-27].

ჯგუფი 2. რაცემული მედიკამენტები თანაბარ ბიოაქტიურ ენანტიომერებით - რაცემული მედიკამენტებს მიეკუთვნება: ციკლოფოსფამიდი (ანტინეიპლასტიკი), ფლეკანიდი (ანტიარითმული), ფლუქსეტინი (ანტიდეპრესანტი) [12].

ნევროლოგიასა და ფსიქიატრიაში მრავალი ქირალური მედიკამენტი გამოიყენება, რომელთა უმეტესი ნაწილი გაყიდვამია რაცემატების სახით. ისეთი საძილე საშუალებები, როგორებიცაა ჰექსობარბიტალი, სეკობარბიტალი, მეფობარბიტალი, ფენობარბიტალი, თიოპენტალი და თიოპექსიკალი რაცემული შედგენილობის მედიკამენტებია და ყველა

I - იზომერი საძილე ან სედაციური ხასიათისაა, დანარჩენი ან პასიურია ან აღმგზნები. მაგალითად, S(-) - სეკობარბიტალი უფრო ძლიერმოქმედი პრეპარატია R(+)- სეკობარბიტალთან შედარებით, ანუ მას გააჩნია უფრო სწრაფად მოქმედი საანესთეზიო ეფექტი [11,28]. კეტამინი ინტრავენური საანესთეზიო საშუალებაა. R(+)- იზომერი უფრო ძლიერმოქმედი და ნაკლებ ტოქსიკურია, ვიდრე მისი S(-) - ანტიპოდი, თუმცა, სამწუხაროდ კეტამინი, კვალავაც გამოიყენება როგორც რაცემული მედიკამენტი [6,29]. ქირურგიაში ფართოდ გამოიყენება იზოფლურანის ორი ოპტიკური იზომერის რაცემული ნარევი, როგორც ინჰალაციური საანესთეზიო საშუალება. იზოფლურანის R(+)- იზომერი უფრო ეფექტურია, ვიდრე S(-) - იზომერი. დეპრესიის მკურნალობისას S(+)- ციტალოპრამი როგორც სეროტონინის უკუმებოჭვის სელექტიური ინჰიბიტორი 100 - ჯერ უფრო ძლიერმოქმედი ვიდრე R(-)-ენანტიომერი [5].

მეტადონი მიეკუთვნება ტკივილგამაყუჩებელთა ფარმაკოლოგიურ ჯგუფს და არის ქირალური სინთეზური ნაერთი, თერაპიაში მისი გამოყენება ხდება რაცემური ნარევის სახით. ადამიანებში მეტადონის R(+)- იზომერის ანალგეზიური თვისებები დაახლოებით 25 – 50 - ჯერ უფრო მეტია, ვიდრე S(-) - ანტიპოდის [5, 30, 31]. მეტადონი, ცენტრალური მოქმედების ანალგეტიკია μ - ოპოიდურ რეცეპტორებთან მაღალი ტროპულობის გამო. გამოიყენება სიმსივნური ტკივილებისას და ოპიატებზე დამოკიდებული პაციენტების სამკურნალოდ.

ეუთომერული რაცემული მედიკამენტების ჩამონათვალი საკმაოდ ვრცელია - ანტიკონვულსანტები (მეფენიტონი, ეთოსუქსიმდი), ანტიარითმული საშუალებები და ადგილობრივი ანესთეტიკები (პროპაფენონი, დიზოპირამიდი, პრილოკაიონი, ტოკაინიდი), ანტიბიოტიკები (ოფლოქსაცინი, მოქსალაქტამი), ანტიკოაგულანტები (ვარფარინი, აცენოკუმარინი), ფსიქოსტიმულატორები (ამფეტამინი, მეტაფეტამინი), პროტონული ტუმბოს ინჰიბიტორები (ომეპრაზოლი, პანტოპრაზოლი, ლანსოპრაზოლი და სხვა) [12,32,14]. აღნიშნული

რაცემატების გარკვეულმა ნაწილმა, ცოტა ხნის წინ ცალკეულ ენანტიომერში განიცადეს ქირალური გარდაქმნა, მაგ., ლევოფლოქსაცინი (ოფლოქსაცინიდან), ლევოსალბუტამოლი (ალბუტეროლიდან), ესციტაზოლამი (ციტალოპრამიდან), ეზომეპრაზოლი (ომეპრაზოლიდან), დექსეტოპროპენი (კეტოპროპენიდან), დექსმეთილპენუდატი (მეთილპენიდატიდან) და ა.შ.

ჯგუფი 3. ქირალური ინვერსიის რაცემული მედიკამენტი. არსებობს ქირალური ინვერსიის ორი სახის მედიკამენტი: ერთმიმართულებიანი და ორმიმართულებიანი [11]. ერთმიმართულებიანი ენზიმით გამოწვეული ინვერსიის მაგალითია არასტეროიდული ანთების საწინააღმდეგო მედიკამენტები (NSAID), კერძოდ, იბუპროფენი, კეტოპროფენი, ფენპროფენი, ბენოქსაპროფენი და ა.შ. აღნიშნულ ჯგუფში მხოლოდ S - ენანტიომერია აქტიური, ვინაიდან გააჩნია ანთების საწინააღმდეგო და ანალგეზიური ეფექტები. მაგალითიად, S - იბუპროფენი, როგორც ციკლოგენაზა I - ის ინჰიბიტორი 100 - ჯერ მეტად ძლიერმოქმედია R - იბუპროფენთან შედარებით. ორგანიზმში, არააქტიურ R - ენანტიომერს ქირალური ინვერსიით შეუძლია ჰეპატოენზიმის საშუალებით აქტიურ S - ენანტიომერად გარდაქმნა და არა პირიქით [9,32].

ორმხრივი ქირალური ინვერსიის ანუ რაცემიზაციის მაგალითია 3-ჰიდროქსიბენზოდიაზეპინი (ოქსაზეპამი, ლორაზეპამი, ტემაზეპამი) და თალიდომიდი, სადაც R და S - ენანტიომერებს შეუძლიათ მოახდინონ რაცემიზება წყალხსნარში in-vitro. ცოცხალ ორგანიზმში აღნიშნულის გამოვლენა ხდება თალიდომიდით და არა 3-ჰიდროქსიბენზოდიაზეპინით, მათი ქირალური ნახშირბადების ირგვლივ არსებულ ჩამნაცვლებლების სხვადასხვაობიდან გამომდინარე.

თავდაპირველად ზოგიერთი ავტორის მიერ [33] R და S - ოქსაზეპამის კონცენტრაციებში სხვაობა აღმოჩენილი იქნა ნამკურნალები ბოცვერის შრატში. მათი განმარტებით, ორგანიზმში შეუძლებელია ოქსაზეპამის ტაუტომერიზაციით ქირალური ინვერსია, ვინაიდან

თითოეული ენანტიომერის გადატანა ხდება პროტეინების (ალბუმინი) სხვადასხვა ტროპულობით. ენანტიომერების ალბუმინთან შერწყმის უნარით შესაძლებელია ინჰიბირებულ იქნას ჰიდროქსილ იონების ზემოქმედება და ამგვარად, ორგანიზმში მოხდეს ოპიომერიზების და რაცემიზების შეყოვნება. შესაბამისად, R და S - ოქსაზეპამის კონცენტრაციები სხვადასხვაგვარად ვლინდება აღნიშნული ბოცვერების შრატში. მეორეს მხრივ, [34] ორგანიზმში აღნიშნული ბენზოდიაზეპინის ენანტიომერების ქირალური ინვერსია in-vitro დამოკიდებულია ტემპერატურაზე და მისი ინჰიბირება ხდება წყალხსნარის ტემპერატურის დაახლოებით 10°C - მდე დაწევით [33-34]. S(+) - ოქსაზეპამის ენანტიომერს 100 – 200 - ჯერ ძლიერმოქმედი ტრანქვილიზური და სედაციური მოქმედება აქვს R(-) - ოქსაზეპამთან შედარებით [35]. თალიდომიდი წარსულში არსებული რაცემული სედატიური მედიკამენტი, რომელიც ტერატოგენული რაცემული სედატიური მედიკამენტი, გაყიდვიდან ამოღებულ იქნა 1960 წელს, მისი ტერატოგენული მოქმედების გამო (ფოკომელია, ამელია). თუმცა, თალიდომიდის შეზღუდული რაოდენობით გამოყენების ინტერესმა საკმაოდ იმატა, მისი იმუნომოდულატორული [36], ანტიანგიოგენური და ანთების საწინააღმდეგო ეფექტების გამო [12]. გარდა ამისა, ახდენს სიმსივნური დანეკროზების ფაქტორის α (TNF- α) ძლიერ ინჰიბირებას. თალიდომიდმა შეუდარებელი შედეგები აჩვენა კვანძოვანი ლეპროზული ერითემიისას, ბეხჩეტის სინდრომის მკურნალობისას, ორგანოების ტრანსპლანტაციისას, ზოგიერთი აუტოიმუნური დაავადებების, როგორცაა ქრონიკული წითელი მგლურა, რევმატოიდული ართრიტები, სიმსივნის გარკვეულ სტადიები და ა.შ. [37,38].

1.4.2. ქირალური მედიკამენტების ფარმაკოკინეტიკა და მეტაბოლიზმი

მედიკამენტური აქტივობის კრიტიკული ფაქტორებია მეტაბოლიზმის, ელიმინაციის, განაწილებისა და შეწოვის პროცესები, რაც განსაზღვრავს მედიკამენტების ბიოლოგიურ ეფექტს რეცეპტორების დონეზე. ნებისმიერ საფეხურზე მნიშვნელოვანია ენანტიომერების გაყოფის პოტენციალი, რისთვისაც საჭიროა სტერეოფარმაკოკინეტიკური და სტერეოსპეციფიკური მედიკამენტების კვლევები [15]. ფარმაკოკინეტიკური და მეტაბოლიზმის თვალსაზრისით ქირალური მედიკამენტების სტერეოიზომერებზე ჩატარებულმა კვლევებმა აჩვენა, როგორც რაოდენობრივი, ისე ხარისხობრივი განსხვავება [16-41].

ართიმის საწინააღმდეგო მრავალი მედიკამენტი, როგორებიცაა: დისოპირამიდინი, ენკამიდინი, ფლეკანიდი, მექსილეტინი, პროპაფენონი, ტოკანიდი და სხვა ბაზარზე დამკვიდრებულია რაცემატების სახით [40]. ქირალური ანტიართიმული მედიკამენტების შეწოვა არასტერეოსელექტურია და მათი გავრცელების, მეტაბოლიზმის და რენალური ექსკრეციისას უპირატესობა ენიჭება ერთ-ერთ ენანტიომერს. პლაზმური პროტეინის შეკავშირება, ზემოთ ჩამოთვლილი უმეტესი მედიკამენტისთვის, სტერეოსელექციურია, რაც იწვევს ენანტიომერებს შორის ორჯერ მეტ სხვაობას, პლაზმაში მათი არაშეკავშირებული ფრაქციებისა და გავრცელების მოცულობის მიხედვით. ღვიძლის მეტაბოლიზმი უმნიშვნელოვანეს როლს თამაშობს აღნიშნული ანტიართიმული საშუალებების ელიმინაციაში. გარდა ამისა, უმეტეს შემთხვევაში, აღნიშნული მედიკამენტების სხვადასხვაგვარი მეტაბოლიზმის გამო მნიშვნელოვანი სტერეოსელექციურობა იკვეთება და მეტაბოლიზმში სახეზეა ინდივიდუალური ცვალებადობა. გამოხატული სტერეოსელექციურობა დაფიქსირებულ იქნა ქირალური ანტიართიმული აგენტების ფარმაკოკინეტიკასა და ფარმაკოდინამიკაში. აღნიშნული ინფორმაცია განსაკუთრებული კლინიკური მნიშვნელობისაა, რადგან ამ

მედიკამენტების ეფექტები დაკავშირებულია პლაზმაში მათ კონცენტრაციასთან [40].

უმეტესი β - ბლოკატორების d და l ენანტიომერებს შორის აშკარა სხვაობაა, განსაკუთრებით დატვირთვის ან აქტიური და შენელებული მეტაბოლიზმის შედარებისას [18]. აღნიშნულ d და l ენანტიომერებში პლაზმის კონცენტრაციები მნიშვნელოვნად განსხვავდება, განსაკუთრებით რაცემული ნარევის ინტრავენურად ან ტაბლეტების სახით შეყვანისას. პლაზმაში მათი კონცენტრაციის გათვალისწინებით პერორალურად ან ინტრავენური შეყვანისას, უმეტეს შემთხვევაში β - ბლოკატორების ენანტიომერები სტერეოსელექციურობის დაბალ ხარისხს უჩვენებენ. თუმცა, პლაზმაში ენანტიომერების შესაბამისი მნიშვნელობის კონცენტრაცია ყოველთვის მუდმივი არ არის და თითოეული მედიკამენტის შემთხვევაში განსხვავებულია. გარდა ამისა, მედიკამენტებთან (დოზირების ნორმა ან ენანტიომერის - ენანტიომერთან ურთიერთქმედება) და პაციენტებთან (რასობრივი მონაცემები, კარდიოვასკულარული ფუნქცია, ან პაციენტის მეტაბოლური ფენოტიპი) მიმართებაში უამრავი ფაქტორი არსებობს, რომელთაც შეუძლიათ დიდი ზეგავლენა მოახდინონ β - ბლოკატორების სტერეოსპეციფიკურ ფარმაკოკინეტიკასა და ფარმაკოდინამიკაზე [41].

მეცნიერული კვლევის მიხედვით პროპანოლოლ ენანტიომერებისა, ასევე მათი ენანტიომერ სულფატის და გლუკურონიდის მეტაბოლიტების ფარმაკოკინეტიკურმა შესწავლამ ადამიანის შრატსა და შარდში აჩვენა, რომ ამოსავალი, საწყისი მოლეკულის S/R კოეფიციენტი შეადგენდა დაახლოებით 1,4-ს, კონიუგირებული სულფატი დაახლოებით 2-ს და გლუკურონიდის ძირითადი მეტაბოლიტი დაახლოებით 3-ს. ასევე ინდივიდებს შორის დაფიქსირებულ იქნა აღნიშნული $S(-)$ - აქტიური, $R(+)$ - პასიური იზომერების თანაფარდობის მრავალფეროვნება. მეტადონი, ცენტრალური მოქმედების ანალგეზიური საშუალება, რომელიც გამოიყენება ნარკოტიკებზე დამოკიდებული

პაციენტების სამკურნალოდ, პრედომინანტურად აქტიური R(+) - იზომერის შემცველი რაცემული პრეპარატია. ადამიანებში R/S მეტადონის პროპორცია ცვალებადია ენანტიომერების ფარმაკოკინეტიკაში ინდივიდუალური სხვაობის გამო, შრატში 0.6 - დან 2.0 - მდე და შარდში 1.2 - 2.0 - მდე [5, 31, 42, 43]. მეტადონის ძირითადი მეტაბოლიზმი მიმდინარეობს ღვიძლის ციტოქრომ P - 450 3A4 მეშვეობით და მცირე რაოდენობით P - 450 2D6 - ის საშუალებით, მეტადონის ძირითადი მეტაბოლიტის EDDP (2 - ეთილიდინი - 1,5 - დიმეთილით, 3,3 - დიფენილპიროლიდინი) გამოყოფით. ადამიანის შარდში EDDP - ის დონე ყოველთვის მაღალია (დაახლოებით 1.5 – 5 - ჯერ მეტი), ვიდრე მათი დედა მოლეკულების, რაც გამოწვეულია მათი პოლარულობით, თუმცა მისი კონცენტრაციის დაფიქსირება ადამიანის ნერწყვში ვერ მოხერხდა და ყოველთვის დაბალია შრატში მეტადონის კონცენტრაციაზე [44].

in-vitro წყალხსნარში 3 ჰიდროქსი - ბენზოდიაზეპინის ქირალური ინვერსიისას მეცნიერების გარკვეულმა ნაწილმა პირველად წარმოადგინა ორი ექსაზეპამ ენანტიომერის კონცენტრაციების სხვაობა შრატში. ბოცვრები, რომლებიც ნამკურნალები იყვნენ აქტიური S(+) ფორმის სამკურნალო და ტოქსიკური დოზებით, მაშინ როდესაც პასიური R(-) ანტიპოდი უფრო მაღალი აღმოჩნდა ტოქსიკური ზემოქმედების ქვეშ მყოფ ბოცვრებში ფლუმაზენილის ანტიდოტით მკურნალობისას. ექსაზეპამის ენანტიომერის პროტეინთან (97%) დაკავშირების გამო წყლის ჰიდროქსილის იონებს არ შეუძლიათ ორგანიზმში თითოეულ ენანტიომერის რაცემიზება. მედიკამენტის სელექტურობის მიზეზი არის თითოეულ ოქსაზეპამ ენანტიომერის პროტეინთან შეკავშირების სხვადასხვა შესაძლებლობა და ხსნის R/S ენანტიომერის სხვადასხვა კონცენტრაციებს შრატში [33].

ყველა ქირალური მედიკამენტის ფარმაკოკინეტიკური სტერეოსპეციფიკის ცოდნა პრაქტიკოს ექიმებს დაეხმარება ახსნან და განჭვრიტონ რაცემულ პრეპარატებისადმი პაციენტების განსხვავებული

ფარმაკოლოგიური რეაქციები და მოახდინონ თითოეული პაციენტისთვის მედიკამენტების დოზის შერჩევა.

1.4.3. ქირალური მედიკამენტების ენანტიოსელექტური ანტისხეულები

დაავადებულ ორგანოებს შეუძლია ქირალური მედიკამენტების ორი ენანტიომერის გარჩევა, იმუნურ სისტემას შესწევს მათი ამოცნობის უნარი, შერჩევით წარმოებული და განსაზღვრული თითოეული შესატყვისი ენანტიომერის ანტისხეულის ანალოგიურად. მსგავს ენანტიოსელექტურ ანტისხეულს შეუძლია ქირალური მედიკამენტის კონფიგურაციაში ან შედგენილობაში არსებული სარკისებრი განსხვავებების ამოცნობაც. მედიკამენტების მსგავსად ისინი მცირე ზომის მოლეკულებია, ე.წ. ჰაპტენები. იმუნოგენად ჩამოყალიბებისათვის მათ ესაჭიროებათ შეწყვილება გადამტან მოლეკულასთან (პროტეინის), ისე რომ იმუნურმა სისტემამ (B უჯრედებმა) უზრუნველყოს შესატყვისი ანტისხეულების წარმოქმნა [45, 46].

იმუნოგენის მომზადებისთვის ჰაპტენის (არასრული ანტიგენი), როგორებიცაა ენანტიომერი და პროტეინი შეერთება საკმაოდ რთული ეტაპია. მედიკამენტის მიმართ ანტისხეულის სპეციფიკურობა და მგრძობელობა ძირითადად დამოკიდებულია ჰაპტენის მომზადებასა და კონიუგირების მეთოდებზე. ქირალური ნივთიერების ცალკეული ანტისხეულის მიღებისათვის, აუცილებელია ქირალურ ცენტრში გამოირიცხოს ჰაპტენისა და პროტეინის გადამტანის პირდაპირი შერწყმა.

ენანტიომერების დასაყოფად შესაძლებელია გამოყენებულ იქნას ზოგიერთი ენანტიოსელექტური ანტისხეულები, მაგალითად, პროპანოლოლის [47], მეტადონის [48], ამფეტამინის [46], ვარფარინის [46] და სხვა ენანტიომერების ანტისხეულები.

ბიოქიმიაში ენანტიოსელექტური ანტისხეულები ცალკეული რეაგენტების სახით გამოიყენება ქირალურ მედიკამენტებთან

იმუნოლოგიური ანალიზისთვის [158]. აღნიშნული იმუნოანალიზების გამოყენება შესაძლებელია ფარმაკოკინეტიკაში, მედიკამენტების თერაპიული მონიტორინგის და ტოქსიკოლოგიური დიაგნოზირების, მედიკამენტების ფარმაკოლოგიური შეფასების, დაავადებულ ორგანიზმში მედიკამენტის განსაზღვრის დროს და ა.შ.

1.4.4. ქირალური რაცემული მედიკამენტების ტოქსიკოლოგია

მედიკამენტების გარკვეული ნაწილი ბაზარზე წარმოდგენილია მხოლოდ ცალკეული ენანტიომერის სახით, რადგან განსხვავებულია მათი ტოქსიკურობა. როგორც ფარმაკოლოგიის თავში იყო აღნიშნული განხილული რაცემული მედიკამენტების ქირალურად გარდაქმნა მიმდინარეობს ცალკეული იზომერით, რადგან ერთ - ერთ იზომერს ახასიათებს გვერდითი ეფექტები და არანაირი ფარმაკოლოგიური აქტივობა. მიუხედავად ამისა, მრავალი ქირალური მედიკამენტი ბაზარზე წარმოდგენილია რაცემული ფორმით, რადგან მათი ენენტიომერებად დაყოფა რთულია, ან უბრალოდ ძვირადღირებულია წარმოებისთვის [9, 12,49, 50, 51]. მაგალითად, L - დოფა ან დიჰიდროქსი - 3,4 ფენილალანინი დოფამინის წინამორბედაა, რომელიც ეფექტურია პარკინსონის დაავადებისა და პარკინსონიზმის სამკურნალოდ. L - დოფა გამოყენებაში იყო რაცემული ფორმით: d, l - დოფა, მაგრამ d - იზომერი ტოქსიკური თვისების მატარებელია (აგრანულოციტოზი), თერაპიაში აქტიურად მხოლოდ ლევორატორული ფორმის L - დოფა გამოიყენებოდა. ტეტრამიზოლი არის ნემატოქსიდი, რომელიც თავდაპირველად რაცემული ფორმით წარმოდგებოდა და მრავალმხრივი გვერდითი ეფექტები (თავბრუსხვევა, თავისტკივილი, პირღებინება და მუცლის ტკივილი) ძირითადად d - იზომერებიდან მომდინარეობდა, შესაბამისად დღეისათვის მედიცინაში გამოიყენება მხოლოდ l - იზომერი, რომელიც ლევამისოლის სახელწოდებითაა ცნობილი.

სეკობარბიტალური ენანტიონომერები, როგორც ანტიკონ-
ვულსანტები თანაბარი სიძლიერისანი არიან, თუმცა S(-) - იზომერი უფრო
ძლიერმოქმედი ანესთეზურია და უფრო ტოქსიკურია, ვიდრე R(+) -
იზომერი. ციკლოფოსფამიდის შემთხვევაში მისი ორი იზომერი ერთნაირ
ტოქსიკურობას ავლენს [51,52,].

თეორიულად ერთადერთი პასიური S(-) - იზომერი -
თალიდომიდი ტერატოგენურია, თუმცა სინამდვილეში ორგანიზმში
ურთიერთკონვერსიის და სახესხვაობაზე დამოკიდებულობის შედეგად
ორივე იზომერი გენოტოქსიკურია [51,52,]. თავველებზე ჩატარებულმა ცდებმა
აჩვენა, რომ მხოლოდ ერთი ენანტიომერია ტერატოგენური, ხოლო
ბოცვრებზე ჩატარებულმა ტესტმა კი ორივე ენანტიომერის
ტერატოგენურობა დაადასტურა. თალიდომიდის S - იზომერი
(R - იზომერისაგან განსხვავებით) ტერატოგენურია. მიუხედავად
მრავალგზის მცდელობისა R - იზომერის ტერატოგენურობის პრობლემის
გადაჭრა ვერ მოხერხდა, რადგან ცოცხალ ორგანიზმში ორივე იზომერი
მარტივად ინტერკონვერსირებადია [49,53]. უფრო მეტიც, თალიდომიდის
ტოქსიკურობა შესაძლებელია განპირობებულ იქნას მისი ურიცხვი
ქირალური და აქირალური მეტაბოლიტებით და ჯერ კიდევ არ არის
გამოკვლეული მათი ფარმაკოლოგია და ტოქსიკოლოგია.

1.4.5. ქირალური მედიკამენტების ენანტიოსელექტური იმუნოანალიზი

ფიზიკური მეთოდისაგან განსხვავებით, იმუნოანალიზი არ
მოითხოვს ბიოლოგიური სინჯის წინასწარ გამოყოფას. თერაპიული
მედიკამენტების მონიტორინგისთვის იმუნური სინჯებით განისაზღვრება
მედიკამენტები, კლინიკურ მედიცინაში კვლავაც პრობლემურია
ენენტოსელექტური იმუნოანალიზების წარმოება. რადიოიმუნოანალიზი
ან ენზიმოიმუნოანალიზი (ELISA) გამოიყენება გარკვეული
ენანტიომერული მედიკამენტების განსაზღვრის მიზნით, როგორებიცაა

პროპრანოლოლი, მეტადონი, ამფეტამინი, ვარფარინი, ატროპინი, პენტოზარბიტალი, თუმცა ჯერ კიდევ ექსპერიმენტულ ფაზაშია [46,48]. კლასიკური იმუნოსინჯებისაგან (EMIT® , FPIA ან TDx® სხვ.) განსხვავებით აღნიშნული იმუნოსინჯები კვლავაც ავტომატიზებულია.

2. კვლევის მეთოდები და მასალები

2.1. ქირალური ნაერთების (ენანტიომერების) დაყოფის ინსტრუმენტული მეთოდები

ბოლო წლებში ენანტიომერების დაყოფის მიმართულებით შემოთავაზებულ იქნა სხვადასხვა ტექნოლოგიები. ნარევის უძრავ ფაზაზე გასატარებლად იყენებენ სითხეს, აირს ან ზეკრიტიკული წნევების მქონე სითხეებს. შესაბამისად ანსხვავებენ მაღალეფექტური სითხურ (HPLC), აირ (GC) და ზეკრიტიკული სითხეების (SFC) ქრომატოგრაფიას და კაპილარულ ელექტროფორეზს (CE), რომლებიც განიხილება, როგორც უმნიშვნელოვანესი მეთოდები ქირალური ნივთიერებების ენანტიომერების დაყოფისათვის. არსებობს ენანტიომერული ანალიზის სხვადასხვა მეთოდი, მათ შორის პოლარომეტრია, ბირთვულ-მაგნიტური რეზონანსი, კალორიმეტრია და სხვ. თუმცა, ყველა ამ ტექნიკის ნაკლოვანება არის ის, რომ საჭიროებენ სუფთა ქირალურ ნიმუშებს, რომელთა ღირებულება საკმაოდ მაღალია; ხოლო უპირატესობა - შესაძლებელია ზოგჯერ მარცხნივ მბრუნავი და მარჯვნივ მბრუნავი ენანტიომერის იდენტიფიკაცია.

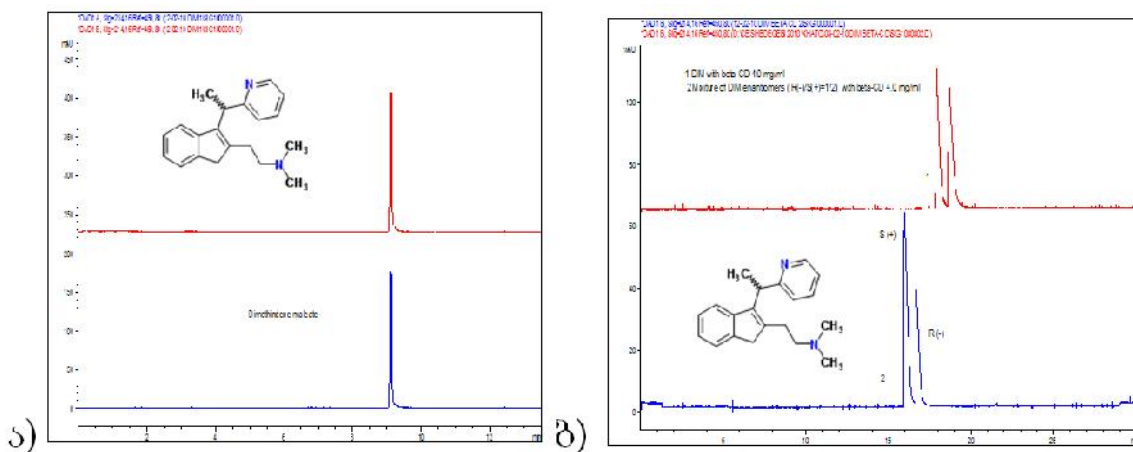
2.2. კაპილარული ელექტროფორეზი

ენანტიომერების დაყოფის უმნიშვნელოვანესი მეთოდია კაპილარული ელექტროფორეზი. პირველად ამ მეთოდით ენანტიომერული ნარევის (ამინომჟავების) დაყოფა განახორციელა ზარეს ჯგუფმა მე-20 საუკუნის 80-იან წლებში [54]. დღეს ეს მეთოდი ენანტიომერების ანალიზური დაყოფის ერთ-ერთ ძირითად ხერხს წარმოადგენს. მის უპირატესობებს მიეკუთვნება დაყოფის მაღალი ეფექტურობა, ნიმუშის მცირე რაოდენობით გამოყენება, მეთოდის მოქნილობა, ანალიზის შედარებით მცირე დრო, დაბალი ღირებულება და ეკოლოგიური სისუფთავე, რადგან არ გამოიყენება ტოქსიკური ორგანული გამხსნელები

და ნარჩენების რაოდენობა ძალიან მცირეა [55; 56; 57]. ძვირად ღირებული სვეტების ნაცვლად შეგვიძლია გამოვიყენოთ კვარცის კაპილარები. ამ მეთოდის გამოყენებით შესაძლებელია, ისეთი ნივთიერებების დაყოფა, რომელთა დაყოფაც საერთოდ შეუძლებელია ან გართულებულია აირ, ან სითხური ქრომატოგრაფიის გამოყენებით [58]. მაგალითად, სელექტორ-სელექტანტის ურთიერთქმედების ისეთი სტერეოსელექტური ეფექტების დაფიქსირება, რომელთა დანახვაც შეუძლებელია ქრომატოგრაფიული, ბირთვულ-მაგნიტური რეზონანსის ან წრიული დიქროიზმის მეთოდების გამოყენებით.

კაპილარული ელექტროფორეზი ეს არის ელექტრონული ველის გავლით დამუხტული ნაწილაკების გადაადგილება, რაც საშუალებას გვაძლევს განისაზღვროს საკვლევი ნაწილაკის ზომა, გეომეტრიული ფორმა და მუხტი.

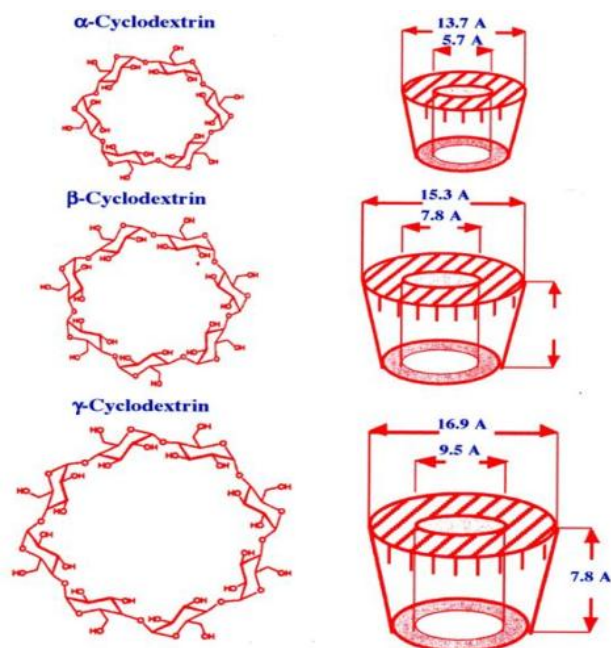
ენანტიომერების დაყოფა დაფუძნებულია საანალიზო ნივთიერებასა და ქირალურ სელექტორს შორის ენანტიოსელექტურ არაკოვალენტურ მოლეკულათშორის ურთიერთქმედებაზე (სურ. 5). [59; 60]



სურათი 5. დიმეთინდენი. ა) აქირალური გარემო - ბუფერი; ბ) ქირალური გარემო - ბუფერში გახსნილი β - ციკლოდექსტრინი

კაპილარულ ელექტროფორეზში ქირალურ სელექტორად ყველაზე ფართოდ გამოიყენება ციკლოდექსტრინები და მათი ნაწარმები [71]. ქირალური ნივთიერების დაყოფისათვის გამოიყენება α, β და γ ციკლოდექსტრინები, რომლებიც ერთმანეთისგან განსხვავდება ზომებით,

რასაც განაპირობებს გლუკოპირანოზული ნაშთების რიცხვი (სურ. 6). [55,61].



სურათი 6. α , β და γ ციკლოდექსტრინები

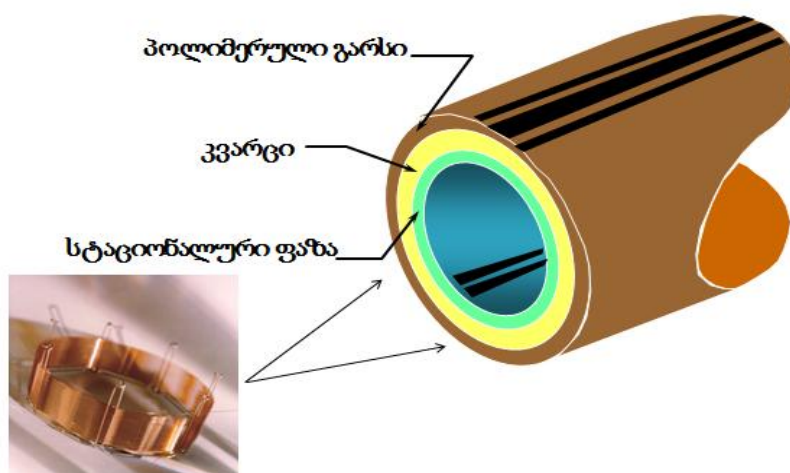
ციკლოდექსტრინები, მათი სტრუქტურული თავისებურებებიდან გამომდინარე (მკვეთრად ჩამოყალიბებული ჰიდროფილური და ჰიდროფობური უბნების გამო), ენანტიომერულ ანალიზში წარმოადგენენ საუკეთესო ქირალურ სელექტორებს. მათი წყალში ხსნადობა და მოლეკულათშორისი წყალბადური ბმების წარმოქმნისათვის ხელსაყრელ ცენტრებს წარმოადგენს გარე ზედაპირზე არსებული პოლარული ჰიდროქსილის ჯგუფები [62].

თანამედროვე კაპილარული ელექტროფორეზის ხელსაწყოები საშუალებას იძლევა ჩატარდეს არა მარტო ელექტროფორეზული, არამედ კაპილარული ელექტროქრომატოგრაფიული (კაპილარული სითხული ქრომატოგრაფიის და კაპილარული ელექტროფორეზის კომბინაცია) ექსპერიმენტები [63].

2.3. ქრომატოგრაფია

გასული საუკუნის დასაწყისში კვლევის ქრომატოგრაფიულ მეთოდებს საფუძველი ჩაუყარა ბოტანიკოსმა მიხეილ ცვეტმა [64]. მისი მიზანი იყო ფოთლის ექსტრაქტიდან პიგმენტების - ქლოროფილის, კაროტენების და ქსანთოფილების დაყოფა. პიგმენტების დასაყოფად მან გამოიყენა ცარცით შევსებული სვეტი. პიგმენტების სხვადასხვა შეფერილობის (მწვანე, ნარინჯისფერი და ყვითელი, შესაბამისად) გამო, მეთოდს ქრომატოგრაფია უწოდა [65]. მეთოდის ძირითად თავისებურებას წარმოადგენდა მისი მაღალი მგრძობიარობა, სელექტიურობა და უნივერსალურობა [64].

არჩერ ჯ.პ. მარტინის და რიჩარდ ლ.მ. სინჯის შრომებმა ქრომატოგრაფიაში საფუძველი ჩაუყარა აირადი ქრომატოგრაფიის და ქაღალდის ქრომატოგრაფიის ტექნიკას. მე-20 საუკუნის 60-იანი წლებში გოლეიმ პირველად ქრომატოგრაფიაში გამოიყენა კაპილარული სვეტი,



სურათი 7. კაპილარული სვეტი

რომელიც 1970-იანი წლებიდან განვითარდა, როგორც მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფიის (HPLC) მეთოდი [66]. ზოგად ტექნოლოგიურ პროგრესთან ერთად ქრომატოგრაფიული მეთოდები და აპარატურა ძალზე მრავალფეროვანი გახდა [67].

ქრომატოგრაფია (ბერძნულად χρώμα-ფერი, γράφειν -აღწერა, ჩაწერა), ანალიზის ფიზიკურ-ქიმიური მეთოდი, არის დინამიკურ პირობებში ქიმიური ნივთიერებების ნარევთა დაყოფის ხერხი, რომელიც ემყარება საანალიზო ნივთიერებების არათანაბარ განაწილებას ორ, მოძრავ და უძრავ ფაზებს შორის. ქრომატოგრაფიულ ექსპერიმენტში ხდება საკვლევი ნარევის შეყვანა უძრავ ფაზაზე (უძრავი ფაზა წარმოადგენს მყარ ნივთიერებას სტრუქტურირებული ზედაპირით, ან მყარ სარჩულზე დაფენილ სითხეს), რომელიც მოთავსებულია მეტალის მილში, ან კვარცის კაპილარში - ქრომატოგრაფიულ სვეტში, ან დაფენილია ჰორიზინტალურ ფირფიტაზე, ხოლო მოძრავი ფაზა (მოძრავი ფაზა შეიძლება იყოს აირის ან სითხის ნაკადი), რომელიც მოძრაობს უძრავი ფაზის ფენაში, ახდენს საანალიზო ნივთიერებების გადატანას მის გასწვრივ და უზრუნველყოფს მათ დაყოფას, ანუ ადგილი აქვს უძრავ ფაზაზე კომპონენტების მუდმივ ადსორბციას და დესორბციას. ადსორბციის და დესორბციის სიჩქარეებს შორის სხვაობა წარმოადგენს ქრომატოგრაფიული დაყოფის საფუძველს. დაყოფილი კომპონენტების რეგისტრაცია ხდება მათი ფიზიკური, ქიმიური თუ ფიზიკურ-ქიმიური თვისებების გაზომვით.

ქრომატოგრაფიული პროცესები ხორციელდება სპეციალური ხელსაწყოთა, ქრომატოგრაფის საშუალებით. ქრომატოგრაფიულ სვეტში ხდება საანალიზო ნარევის შემადგენელ კომპონენტებად დაყოფა. დაყოფილი კომპონენტები, მოძრავი ფაზის საშუალებით, შედის დეტექტორში. დეტექტორის ფუნქციაა მოახდინოს საანალიზო ნარევის თითოეული კომპონენტის რეგისტრაცია დროში მისი კონცენტრაციის (ან სხვა პარამეტრის) ცვლილების შესაბამისად. გაზომილი სიგნალის დამოკიდებულება დროზე ჩაიწერება გრაფიკის - ქრომატოგრამის სახით, ხოლო დაყოფილი კომპონენტები ქრომატოგრამაზე რეგისტრირდება ქრომატოგრაფიული პიკის სახით. პიკის რეგისტრაციის დროისა და ფართობის მიხედვით შეიძლება კომპონენტის პირველადი იდენტიფიკაცია და რაოდენობის დადგენა [66].

ქრომატოგრაფიული პროცესის დანიშნულების, მასშტაბების მიხედვით განასხვავებენ ანალიზურ და პრეპარატულ ქრომატოგრაფიას. ანალიზური ქრომატოგრაფიით ხორციელდება საანალიზო ნარევის თვისობრივი და რაოდენობრივი განსაზღვრა, ხოლო პრეპარატული ქრომატოგრაფიით ხორციელდება სუფთა, მინარევებისაგან თავისუფალი ნივთიერებების მიღება ლაბორატორიულ პირობებში.

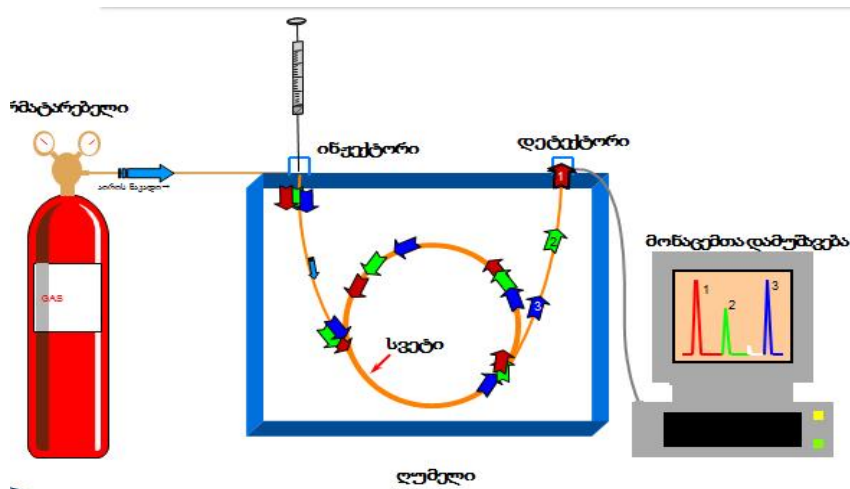
ქრომატოგრაფია გამოიყენება პრაქტიკულად ყველა ნივთიერების გამოკვლევისთვის აირად, თხევად და მყარ მდგომარეობაში. ნარევის უძრავ ფაზაზე გასატარებლად იყენებენ სითხეს, აირს ან ზეკრიტიკული წნევების მქონე სითხეებს. არსებობს ენანტიომერული ანალიზის სხვადასხვა მეთოდები, მათ შორის პოლაროგრაფია, ბირთვულ-მაგნიტური რეზონანსი, კალორიმეტრია და სხვ. თუმცა, ყველა ამ ტექნიკის ნაკლოვანება არის ის, რომ საჭიროებენ სუფთა ქირალურ ნიმუშებს, რომელთა ღირებულება საკმაოდ მაღალია; ხოლო უპირატესობა - შესაძლებელია ზოგჯერ მარცხნივ მბრუნავი და მარჯვნივ მბრუნავი ენანტიომერის იდენტიფიკაცია.

2.3.1. აირქრომატოგრაფია

ინსტრუმენტული მეთოდით ენანტიომერების დაყოფა ქირალური სტაციონარული ფაზის აირქრომატოგრაფიის გამოყენებით პირველად განახორციელა პროფესორმა გილ-ავმა (Gil-Av), თანავტორებთან ერთად, გასული საუკუნის 60-იან წლებში [68]. მაშინდელი ექსპერიმენტული ანალიზი მცირედ განსხვავდება დღევანდელისაგან [69].

აირადი ქრომატოგრაფია გამოიყენება ისეთი ნარევის დასაყოფად, რომლის კომპონენტებიც აირადია, ან დაუშლელად გადადიან ორთქლის მდგომარეობაში. დაყოფის პროცესში საანალიზო ნიმუშის გადატანას, უძრავი ფაზის გასწვრივ, ახდენს აირი, რომელიც წარმოადგენს მოძრავ ფაზას და ურთიერთქმედებაში არ შედის საანალიზო ნივთიერებასთან, მაგ., აზოტი, წყალბადი, ჰელიუმი, არგონი და სხვ. აზოტი ხელმისაწვდომი და უსაფრთხო აირია, წყალბადი ძლიერ ფეთქებადია, ჰელიუმი

მვირადღირებულია, არგონის გამოყენებისას კი ყურადღება უნდა მიექცეს მისი სისუფთავის ხარისხს. [58].



სურ. 8. აირადი ქრომატოგრაფის სქემა

აირადი ქრომატოგრაფია, ძირითადად, გამოიყენება დაბალი მოლეკულური მასის მქონე აქროლადი ნივთიერებებისთვის. მაღალი მოლეკულური მასის მქონე არააქროლადი ნივთიერებებისთვის მისი გამოყენება შეზღუდულია, თუმცა ზოგჯერ შესაძლებელია საკვლევი ნივთიერების დერივატიზაცია და აქროლად ფორმაში გადაყვანა [70].

უძრავი ფაზის ბუნებიდან გამომდინარე, აირ ქრომატოგრაფია იყოფა: აირ-ადსორბციულ (უძრავ ფაზად გამოყენებულია ადსორბენტი) და აირ-თხევად (უძრავ ფაზად გამოყენებულია მაღალი სიბლანტისა და დუდილის ტემპერატურის მქონე სითხე, დაფენილი მყარ სარჩულზე, ან პირდაპირ კაპილარის კედელზე) ქრომატოგრაფიად. აირ-ადსორბციულ ქრომატოგრაფიას ძირითადად იყენებენ აირების დასაყოფად დაბალ ტემპერატურაზე და დაბალმოლეკულური ნივთიერებების დასაყოფად მაღალ ტემპერატურაზე, ასევე აირადი და აქროლადი ნივთიერებების რაოდენობითი და თვისებითი ანალიზისათვის და ნივთიერებების ზედაპირის თვისებების ფიზიკურ-ქიმიური გამოკვლევებისათვის [61].

დღესდღეობით აირადი ქრომატოგრაფიით ენანტიომერების დასაყოფად ორი მიდგომაა გამოყენებული: პირდაპირი - ოპტიკური იზომერების დაყოფა ხდება ქირალური სტაციონარული ფაზების გამოყენებით და არაპირდაპირი - საანალიზო ენანტიომერების ნარევის დერივატიზაცია ენანტიომერულად, სუფთა ქირალური დანამატით და მიღებული დიასტერეომერების ანალიზი, სტანდარტული არაქირალური სტაციონარული ფაზების გამოყენებით. აირ ქრომატოგრაფიის მაღალი ეფექტურობა საშუალებას იძლევა ერთ ანალიზში დაიყოს არა მარტო ენანტიომერები, არამედ აქირალური მინარევები და დამაბინძურებლები, ანუ ხდება არა მარტო ქირალური, არამედ ქიმიური დაყოფაც [58].

ქირალური ნივთიერებების ენანტიომერების დასაყოფად აირქრომატოგრაფიაში გამოიყენება სამი ტიპის ქირალური სტაციონარული ფაზა:

- ა) ამინომჟავების საფუძველზე მომზადებული სტაციონარული ფაზებით;
- ბ) ქირალური მეტალკომპლექსების საფუძველზე მომზადებული სტაციონარული ფაზებით;
- გ) ციკლოდექსტრინების საფუძველზე მომზადებული სტაციონარული ფაზებით.

აირქრომატოგრაფიის უპირატესობაა: ნიმუშის მცირე რაოდენობა, რთული ნარევების დაყოფის შესაძლებლობა და ანალიზის მცირე დრო, ხოლო ნაკლოვანება - მეთოდი გამოიყენება მხოლოდ აქროლადი და თერმოსტაბილური ნივთიერებების ანალიზისათვის [71].

2.3.2. ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფია

ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფია წარმოადგენს აირ და სითხური ქრომატოგრაფიის ჰიბრიდს, სადაც ელუენტის როლს ასრულებს ზეკრიტიკულ მდგომარეობაში სითხე (Supercritical Fluid) (ყველაზე ფართოდ გამოიყენება ნახშირორჟანგი - CO₂, რადგან მისი ზეკრიტიკულ

მდგომარეობაში მოყვანა ადვილია, არის იაფი, ეკოლოგიურად სუფთა, ინერტული და გამოსაყენებლად უსაფრთხო), ზეკრიტიკულია მდგომარეობა, როდესაც ნივთიერების წნევა ან ტემპერატურა თერმოდინამიკურ კრიტიკული წერტილზე მაღლაა.

აირი	კრიტიკული ტემპერატურა	კრიტიკული წნევა/ატმ
CO ₂	31.3	72.9
N ₂ O	36.5	71.7
NH ₃	132.5	112.5
ნ-ბუტანი	152.0	37.5

ცხრილი1. ზეკრიტიკული ელუენტების ძირითადი მახასიათებლები

როგორც წესი, ზეკრიტიკული სითხის ქრომატოგრაფია მიიჩნევა ცალკე მეთოდად, თუმცა რამდენადაც ნიმუშის სვეტში გადაადგილების და დაყოფის მექანიზმები მსგავსია მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფიის, ზეკრიტიკული წნევის სითხე შესაძლოა მივიჩნიოთ როგორც კიდევ ერთი ტიპის მოძრავი ფაზა. გარდა ამისა, ზსქ-ს და მესქ-ს ინსტრუმენტები ძალზე მსგავსია. აირად და სითხურ ქრომატოგრაფიის საზღვარზე აღმოცენებული ამ მეთოდის მთავარი უპირატესობა არის საანალიზო ნივთიერებების მაღალი დიფუზიის სიჩქარე ზეკრიტიკულ სითხეში „ნორმალურ“ სითხესთან შედარებით.

ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფიაში ქირალური დაყოფისთვის ძირითადად გამოიყენება პოლისაქარიდული, ჯაგრისის ტიპის პირკლეს ფაზები და მაკროციკლური, ანტიბიოტიკური ქირალური სტაციონარული ფაზები.

ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფიის (ზსქ) მეთოდის მთავარი უპირატესობაა: ქრომატოგრაფიული სვეტების მაღალი ეფექტურობა (ძირითადად, სწრაფი დიფუზიის გამო), ეკოლოგიური სისუფთავე, უსაფრთხოება და სიაფე.

ზსქ-ის მეთოდის უპირატესობაა ასევე იაფი ნახშირორჟანგის, როგორც მოძრავი ფაზის ადვილი მოშორება. რამდენადაც გათხევადებული ნახშირორჟანგის მაელუირებელი ძალა საანალიზო ნივთიერებების სვეტებიდან ელუირებისთვის ხშირად საკმარისი არ არის, დანამატის სახით გამოიყენება პოლარული მოდიფიკატორები - მეთანოლი, ეთანოლი, და აცეტონიტრილი. ამ შემთხვევაში ხშირად საჭიროა კრიტიკულიდან გადახრილ პირობებში ოპერირება [72]. ასევე საყურადღებოა წნევის და სიმკვრივის გავლენა ქვეკრიტიკულ და ზეკრიტიკულ პირობებში [73-74]. საუკეთესო შედეგების მისაღწევად, უმჯობესია ოპერირება ნახშირორჟანგის დაბალი კუმშვადობის პირობებში, მაღალი კუმშვადობის შემთხვევაში, სიმკვრივის მაღალი გრადიენტი უარყოფითად მოქმედებს გამხსნელის შემადგენლობაზე სვეტის გასწვრივ და შესაბამისად ამცირებს სვეტის ეფექტურობას [75]. ფუძე ბუნების რაცემატებისთვის ამატებენ ფუძე დანამატს, დიეთილამინს [76], ამიაკს [77], ამონიუმის ჰიდროქსიდს [78], ხოლო მჟავა ბუნების რაცემატებისთვის იყენებენ მცირე რაოდენობით მჟავა ბუნების დანამატებს მაგ., ძმარმჟავა, ჭიანჭველმჟავა და ტრიფტორმძმარმჟავა. შემჩნეულია, რომ ხშირ შემთხვევაში არაა საჭირო მჟავა ბუნების დანამატების გამოყენება მჟაური რაცემატების დასაყოფად, რადგან თვითონ ნახშირორჟანგს აქვს „მჟავა“ ბუნება [76]. ეს საკმაოდ მნიშვნელოვანი უპირატესობაა მესქ-სთან შედარებით მჟავა ბუნების რაცემატების პრეპარატული მასშტაბით დაყოფისას.

ქირალური ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფია სწრაფად იმკვიდრებს ადგილს „მწვანე“ ტექნოლოგიის პრეპარატული მასშტაბის გამოყენებისას [79,80].

2.3.3. მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფია (მექს)

სითხური ქრომატოგრაფია განვითარდა XX საუკუნის 50-იანი წლებიდან და მოკლე დროში გახდა ორგანულ ნივთიერებების დაყოფისა და ანალიზის საყოველთაოდ აღიარებული მეთოდი. მოგვიანებით,

მაღალეფექტურმა სითხურმა ქრომატოგრაფიამ, გამოყენების ტემპით, არა მხოლოდ შეცვალა კლასიკური სვეტური, თხელფენოვანი და ქაღალდის ქრომატოგრაფია, არამედ საგრძნობლად ჩამოიტოვა უკან აირქრომატოგრაფიაც. მესქ-ის სწრაფი განვითარება განაპირობა საკვლევი ნივთიერებების მოლეკულური მასების ფართო სპექტრმა. აღნიშნული მეთოდით შესაძლებელია დაიყოს პოლიმერების საკმაოდ რთული მაკრომოლეკულები, ცილები, ნუკლეინის მჟავები და სხვა რთული ნაერთები. ამასთან, თითქმის ყველა დაყოფა შეიძლება ჩატარდეს ოთახის ტემპერატურაზე, ჰაერთან კონტაქტის გარეშე, რაც ძალზე მნიშვნელოვანია ლაბილური ნაერთების, კერძოდ, ბიოლოგიურად აქტიური ნივთიერებების და ბიოპოლიმერების კვლევისას [81]

მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფიის დაყოფის ძირითადი თეორია აღწერილი იყო აირქრომატოგრაფიისთვის. ქრომატოგრაფიული დაყოფის მეთოდები, რომელიც დამყარებულია ნარევის შემადგენელი კომპონენტების განსხვავებული განაწილების უნარზე მოძრავ და უძრავ ფაზებს შორის ხასიათდება ოთხი ძირითადი ქრომატოგრაფიული პარამეტრით: შეკავების ფაქტორი, სელექტივობა, სვეტის ეფექტურობა და გარჩევითობა.

ქრომატოგრაფიული ნიმუში ჯერ იხსნება მოძრავ ფაზაში, შემდეგ კი ხდება მოძრავი ფაზის გატარება უძრავ, შეურევად სტაციონალურ ფაზაზე. ფაზების შერჩევა ხდება ისე, რომ საანალიზო კომპონენტებს ჰქონდეთ განსხვავებული სწრაფვა სხვადასხვა ფაზის მიმართ. საანალიზო კომპონენტი წონასწორობაშია ორ ფაზას შორის:

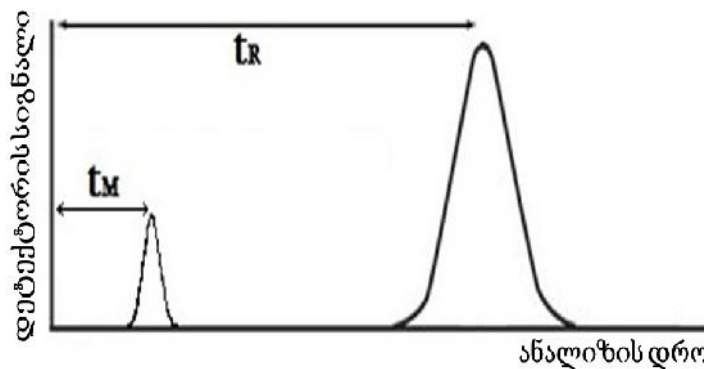


წონასწორობის მუდმივა - K განაწილების კოეფიციენტია და იზომება სტაციონალურ ფაზაზე ადსორბირებული საანალიზო კომპონენტის მოლურ კონცენტრაციის C_s - ის ფარდობით მოძრავ ფაზაში არსებულ საანალიზო კომპონენტის მოლურ კონცენტრაციასთან C_m - თან.

$$K = C_s / C_m$$

განტოლება 1

ამ პრინციპს წონასწორობის პრინციპი ეწოდება. დრო, რომელიც საჭიროა ნიმუშის ინიცირებიდან კომპონენტის დეტექტორამდე გადაადგილებისათვის ანუ შეკავების დრო t_R , ნიმუშში შემავალ ყველა კომპონენტს მათი დაყოფის შემთხვევაში აქვს განსხვავებული. t_R წარმოადგენს მკვდარი მოცულობის შეკავების დროს, ანუ დროს როდესაც ნიმუში ელუირდება ქრომატოგრაფიულ სვეტზე შეკავების გარეშე (სურ. 7).



სურ. 9. ქრომატოგრაფიული პიკის მახასიათებელი (ანალიზის დრო)

ხოლო შეკავების ფაქტორი (k) - გამოითვლება ფორმულით:

$$k = t_R - t_M / t_M$$

განტოლება 2

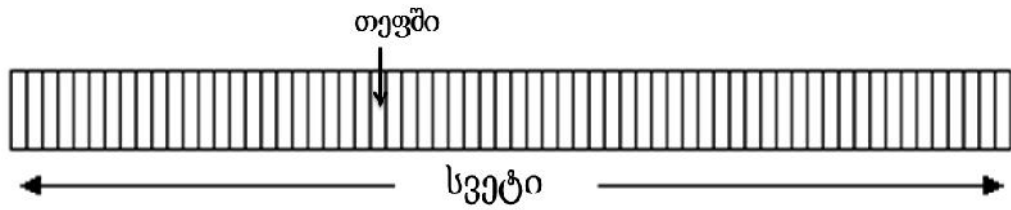
ორი კომპონენტების დაყოფას სვეტზე გვიჩვენებს სელექტივობა (α) და წარმოადგენს ორი საანალიზო ნივთიერების, კომპონენტის, ენანტიომერის შეკავების ფაქტორების ფარდობით:

$$\alpha = k_2 / k_1$$

განტოლება 3

α დამოკიდებულია საანალიზო კომპონენტის ბუნებაზე, ელუენტის ტიპზე, მის შედგენილობაზე, ადსორბენტის ბუნებაზე და მისი ზედაპირის ქიმიაზე.

სვეტის ეფექტურობაა N , მისი საზომი ერთეულია თეორიული თეფშების რიცხვი, ხოლო თეორიული თეფშების რაოდენობა, ქრომატოგრაფიული სვეტის ეფექტურობის მაჩვენებელია (სურ.10).

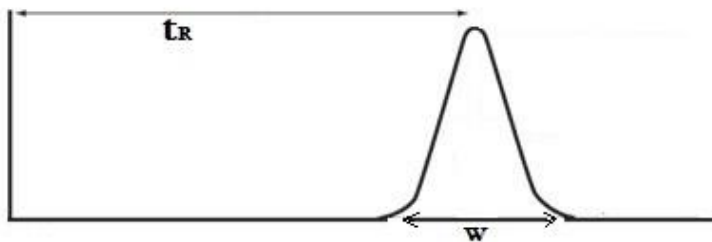


სურ. 10. თეორიული თეფშების მოდელი

თეორიული თეფშების რიცხვი, გამოითვლება ფორმულით:

$$N=16(t_R / W)^2 \quad \text{განტოლება 4}$$

სადაც, სადაც t_R მოცემული პიკის შეკავების დროა, ხოლო W - პიკის სიგანე, რომელიც ასახავს პიკის საწყის და ბოლოს გადაკვეთის წერტილებს შორის მანძილს და ხშირად დროის ერთეულებში იზომება. [35გ] .



სურ. 11. ქრომატოგრაფიული პიკის მახასიათებლები

გარჩევითობა (R_s) წარმოადგენს ტევადობის ფაქტორის (k), სელექტივობის (α) და სვეტის ეფექტურობის (N) გაერთიანებულ გამოსახულებას:

$$R_s = \frac{2(t_R)_B - (t_R)_A}{W_A + W_B}$$

$(t_R)_A$ და $(t_R)_B$ – A და B ნიმუშის (ენანტიომერების) შეკავების დროებია, ხოლო W_A და W_B პიკის სიგანეებია დროის ერთეულში

აპარატურა მაღალეფექტურ სითხურ ქრომატოგრაფიაში. მესქ-ში გამოყენებული აპარატები აღჭურვილია სინჯის ავტომატური შერჩევით, ან ხელით შეყვანის მოწყობილობით, ტემპერატურის მარეგულირებელით, მრავალტალღოვანი დეტექტორით და შედგება რამდენიმე ძირითადი

ბლოკისგან: გამხსნელების შემრჩევი მოწყობილობა, ტუმბო, ინჟექტორი, სვეტების თერმოსტატი, დეტექტორი, მონაცემთა დამუშავებისა და ჩამწერი მოწყობილობა [82].

ტუმბო უზრუნველყოფს მოძრავი ფაზის მუდმივ დინებას, მიწოდებას ქრომატოგრაფიულ სისტემაში, ქრომატოგრაფიულ სვეტსა და დეტექტორში. მას ახასიათებს მოძრავი ფაზის მიმართ მაღალი ინერტულობა, მაღალი წნევა, ნაკადის სიჩქარის მაღალი სტაბილურობა [83]. მესქ-ში გამოიყენება ორი სახის ტუმბოები - გრადიენტული და იზოკრატული. იზოკრატული ტუმბოები იდეალურია ისეთ შემთხვევებში, როდესაც ანალიზის მიმდინარეობისას არ არის საჭირო მოძრავი ფაზის შედგენლობის გრადიენტული ცვლილება, ხოლო როდესაც მრავალკომპონენტური ნარევის ეფექტური ანალიზისთვის ქრომატოგრაფიულ ექსპერიმენტში საჭიროა ორგანული და არაორგანული ფაზის შედგენილობის ცვლილება იყენებენ გრადიენტულ ტუმბოებს.

სითხურ ქრომატოგრაფებში ასევე გამოიყენება მოძრავი ფაზების დეგაზატორების ბლოკი, მოძრავ ფაზებში გახსნილი აირების მოსაცილებლად. თანამედროვე სისტემებში დეგაზატორების ბლოკი ჩამონტაჟებულია უშუალოდ ტუმბოში.

მესქ-ში გამოყენებული ინჟექტორები ორი ტიპისაა: ხელის (ფიქსირებული ზომის მქონე ნიმუშის მარყუჟით) და ავტომატორი (შეუღლებული ნიმუშის ავტომატურ მიმწოდებელთან) ინჟექტორი. თანამედროვე ავტომატური ინჟექტორით ნიმუშის შეყვანა ხდება მაღალი სიზუსტით და უმცირესი ჯვარედინი დაბინძურებით რაოდენობის ფართო ზღვრებში (1-100 მკლ), ასევე ანალიზების სრული ავტომატიზაცია, რადგანაც ნიმუშების ავტომატური მიმწოდებელი 100-ზე მეტ ნიმუშს იტევს. ხელის ინჟექტორების ერთადერთი უპირატესობა მისი სიაფაა [84]. ხელსაწყოს ძირითად ნაწილად ითვლება ქრომატოგრაფიული სვეტი. ხელსაწყოს ნებისმიერი წარმატება თუ წარუმატებლობა თითქმის მასზეა დამოკიდებული. მესქ-ში ძირითადად გამოიყენება სხვადასხვა ზომის

უქანგავი ლითონისაგან დამზადებული სვეტები, რომლებიც შევსებულია ანალიზისთვის საჭირო შესაბამისი ფაზით. ქრომატოგრაფიული ადსორბენტის სვეტში შეკავების მიზნით, სვეტის ორივე მხარე დახურულია 1-2 მკმ ფორების დიამეტრის მქონე ფილტრით, რომლის დანიშნულებაც სვეტში შესასვლელად მოძრავი ფაზის და სინჯის თანაბარი განაწილება [85]. ანალიზური მეთოდებისათვის სვეტების სიგრძე ვარიირებს 5 სმ - დან 25 სმ - მდე, ხოლო ნახევრადპრეპარატული და პრეპარატული დაყოფებისათვის გამოიყენება 2 და მეტ - ჯერ დიდი დიამეტრის სვეტები. პრაქტიკაში ასევე კაპილარული სვეტებიც გამოიყენება [86].

მესქ-ში გამოიყენება ულტრაიისფერ-ხილული, რეფრაქტომეტრული, ფლოუორესცენტული, ელექტროქიმიური, მასს-სპექტრომეტრული, სინათლის გაბნევის და სხვ. დეტექტორები. ყველაზე ფართოდ კი ულტრაიისფერ - ხილული დეტექტორები, რომლებიც აფიქსირებენ კიუვეტში გამავალი ხსნარის მიერ სინათლის აბსორბციას [50გ]. ეს დეტექტორები გამოდგება მხოლოდ ისეთი ნივთიერებებისათვის, რომელთაც შეუძლიათ სინათლის შთანთქმა ულტრაიისფერ და ხილულ 190 - 600 ნმ, 190 - 900 ნმ, 190 - 1100ნმ ტალღის სიგრძის უბანში [87]. არსებობს ულტრაიისფერი ერთტალღიანი, მრავალტალღიანი და დიოდური დეტექტორები.

მესქ-ში ასევე იყენებენ სხვადასხვა ტიპის უნივერსალურ - სელექტიურ დეტექტორებს. მაგ., რეფრაქტომეტრული დეტექტორები, რომელთაც მაღალი მგრძნობელობა გააჩნიათ გარკვეული ჯგუფის ნაერთების მიმართ. მაგ., რეფრაქტომეტრული გარდატეხის მაჩვენებლის დეტექტორის მუშაობის პრინციპი დაფუძნებულია მოძრავი ფაზისა და მასში შერეულ საანალიზო ნივთიერებას შორის გარდატეხის მაჩვენებლებს შორის სხვაობაზე და გამოიყენება ნახშირწყლების ანალიზისთვის. ფლოუორესცენტული დეტექტორით ხდება ისეთი ნივთიერებების დეტექტირება, რომელსაც გააჩნია ფლოუორესცენციის უნარი. სინათლის გაბნევის დეტექტორები ხასიათდება მაღალი მგრძნობიარობით. მას-

სპექტრომეტრულ დეტექტორებს კი უფრო მაღალი მგრძობელობა გააჩნიათ, იონურ ქრომატოგრაფიაში გამოიყენება ელექტროქიმიური დეტექტორები და ა.შ. [83].

დამატებითი მოდულებიდან აღსანიშნავია სვეტების თერმოსტატი, რომელშიც შეიძლება მოთავსდეს ორი, ან მეტი სვეტი და მოხდეს მათი შორის ავტომატური გადართვა, ასევე სვეტების თერმოსტატირება მითითებულ ტემპერატურაზე. როგორც წესი, მესქ - ში, სვეტის ტემპერატურა არ არის ისეთი მნიშვნელოვანი, როგორც აირად ქრომატოგრაფიაში და, ძირითადად, გამოიყენება ანალიზების სტაბილურობისა და განმეორებადობის გასაზრდელად, თუმცა უკანასკნელი წლების გამოკვლევები მიუთითებს, რომ ტემპერატურა მნიშვნელოვან გავლენას ახდენს ენანტიომერების დაყოფაზე [88].

თავდაპირველად, დეტექტორის სიგნალების ჩასაწერად გამოიყენებოდა თვითჩამწერები, შემდეგ ინტეგრატორები, რომლებიც გარდა ქრომატოგრამის ჩაწერისა, ახდენდნენ პიკების ინტეგრაციასაც. დღეისათვის უკვე მონაცემთა ჩაწერა, ხელსაწყოს მართვა და მონაცემების დამუშავება ხდება სპეციალიზირებული კომპიუტერული პროგრამული უზრუნველყოფის საშუალებით. ანალიზის შედეგების მიღება და გამოთვლა ხორციელდება ძალიან სწრაფად, პრაქტიკულად ანალიზის დამთავრებისთანავე [87].

2.4. პოლისაქარიდული ქირალური სტაციონარული ფაზების მიმოხილვა

ენანტიომერების თხევად-ფაზური დაყოფისათვის მრავალი სხვადასხვა ტიპის ქირალური სელექტორი (ქს) არსებობს. ნებისმიერი დაბალი ან მაღალი მოლეკულური მასის მქონე ქირალურ ნივთიერება, რომელსაც აქვს უნარი წარმოქმნას არაკოვალენტური მოლეკულათაშორისი ენანტიოსელექტიური კომპლექსი, შეიძლება გამოყენებული იქნას როგორც ქირალური სელექტორი ენანტიომერების თხევადფაზური დაყოფისთვის.

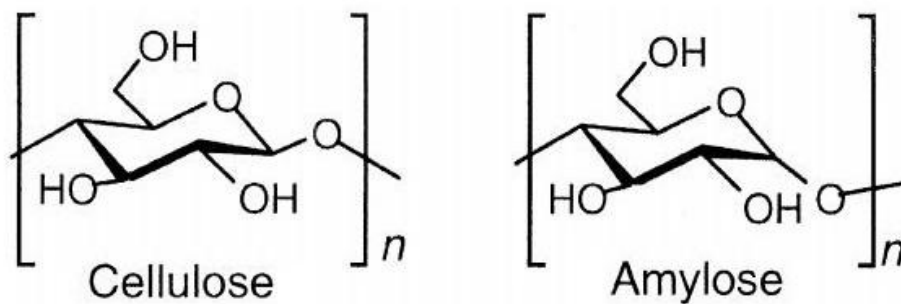
გარდა ამისა მოლეკულათაშორისი კომპლექსების წარმოქმნის კინეტიკა და დინამიკა საშუალებას უნდა იძლეოდეს მაღალი ეფექტურობის მქონე დაყოფებისათვის, მოცემული ქირალური ნივთიერება - უძრავი ფაზა გამოყენებული იქნას მოძრავი ფაზების მესქ - ში და კაპილარულ ელექტროქრომატოგრაფიაში [89], ანუ უნივერსალურად სხვადასხვა მოძრავი ფაზები, როგორებიცაა პირდაპირი და შებრუნებული ფაზები, პოლარულ-ორგანული ფაზები და ზეკრიტიკული სითხეები. ქირალურ სტაციონალურ ფაზებს უნდა გააჩნდეს მრავალრიცხოვანი განსხვავებული სტრუქტურების მქონე ქირალური ნივთიერებების ენანტიოსელექტიური გამოცნობის უნარი [90]; ეს გამოყენება შესაძლებელი იყოს მიკრო და ნანო მასშტაბის ანალიზური და პრეპარატიული დაყოფებისთვის და მათი მოსამზადებელი მასალები და რეაგენტები ხელმისაწვდომი უნდა იყოს.

პოლისაქარიდების ნაწარმები სრულიად შეესაბამებიან ამ კრიტერიუმებს [91].

არსებობს მრავალი პოლისაქარიდის საფუძველზე მომზადებული ქირალური სორბენტები ენანტიომერების თხევად-ფაზური დაყოფისათვის [92], ლიტერატურაში 200-მდე ასეთი ფაზაა აღწერილი [93].

მესქ-ში ენანტიომერების დასაყოფად გამოყენებულ ახალი ტიპის პოლისაქარიდულ ქირალურ სელექტორებზე, კერძოდ პოლისაქარიდების ფენილკარბამატებზე შემოწმებული იყო სხვადასხვა პოლისაქარიდები - ცელულოზა, ამილოზა, ინულინი, კურდლანი, ქიტოზანი, ქსილანი და დექსტრანი [94], მაგრამ ყველაზე საინტერესო მასალებს მათი ქირალური გამოცნობის თვალსაზრისით, სუფთა სახით ხელმისაწვდომობით და მათი დამუშავების სიმარტივით წარმოადგენენ ცელულოზა და ამილოზა [92]. ცელულოზას შემთხვევაში, ქირალური სელექტორის მოსამზადებლად ძირითადად გამოიყენება მიკროკრისტალური ცელულოზა სავაჭრო სახელით „ავიცელი“ (Avicel), ხოლო ამილოზის შემთხვევაში ის შეიძლება იყოს ბუნებრივი, სინთეზური ან ნახევრად სინთეზური ამილოზა. ბუნებრივი პოლისაქარიდების ქირალური გამოცნობის უნარი დიდად არის

დამოკიდებული მის წარმომავლობაზე მაგ., შეიძლება წარმოებული იყოს კარტოფილის, სიმინდის, ბრინჯის, სხვადასხვა სახის ლობიოს ან სხვა მცენარიდან მიღებული სახამებლისგან, რაც ქირალური გამოცნობის შესაძლებლობაზე დიდ გავლენას ახდენს, თუმცა გარკვეული უპირატესობა აქვს ხელოვნურ ამილოზას კონტროლირებადი მოლეკულური მასის და მისი ვიწრო განაწილების გამო [91,95]



სურ. 12. ცელულოზას და ამილოზას სტრუქტურული ფორმულები

პოლისაქარიდების სხვადასხვა ნაწარმებიდან ძირითადად შესწავლილი იქნა რთულ - ეთერული და კარბამატული ნაწარმები, რომლებიც როგორც ქირალური სელექტორები მისაღები აღმოჩნდა მესქ-ში [96-99]. ასევე სინთეზირებული იქნა ცელულოზის ფენილ-კარბონატული ბენზოილფორმატული ნაწარმები, მაგრამ მათი ქირალური გამოცნობის უნარი ნაკლებია, ვიდრე ეთერული და ფენილკარბამატული ნაწარმების [100].

მესქ-ში გამოყენებული პოლისაქარიდული ქირალური სელექტორების ოპტიმიზაცია ჩატარებული იქნა პოლისაქარიდების ნაწარმებში ფენილის ჯგუფის ჩამნაცვლებლების ოპტიმიზაციაზე ი. ოკამოტოს და მისი ჯგუფის მიერ იაპონიაში, ოსაკას უნივერსიტეტში [98,101-104].

პოლისაქარიდების ადსორბენტად გამოყენება ყველაზე კარგია სილიკაგელზე დაფენის შემთხვევაში. სილიკაგელი წარმოადგენს ერთ-ერთ ფართოდ გამოყენებულ სორბენტს სითხურ ქრომატოგრაფიაში [105, 106].

რამდენადაც ქირალურ საანალიზო ნივთიერებას და პოლიმერულ ქირალურ სელექტორს შორის ურთიერთქმედება საკმაოდ ნელი პროცესი შეიძლება იყოს, დაბალმოლეკულურ ქირალურ სელექტორებთან ურთიერთქმედებასთან შედარებით, ამან შესაძლოა დიდი გავლენა მოახდინოს პიკის გაგანიერებაზე მესქ - ში. ამდენად პოლისაქარიდულ ქირალურ სელექტორში მაღალი მოწესრიგებულობის ხარისხის მქონე მეორეული სტრუქტურები და ქირალურ საანალიზო ნივთიერებებთან ურთიერთქმედების ერთგვაროვანი ცენტრების არსებობა ძალზე მნიშვნელოვანი ფაქტორებია. ამასთან, კარბამატის ნაშთს აქვს ორმაგი ფუნქცია პოლისაქარიდების ფენილკარბამატულ ნაწარმებში: ერთი - კარბამატის ჯგუფები ქირალურ საანალიზო ნივთიერებასთან ურთიერთქმედების ყველაზე სავარაუდო ცენტრებია და მეორე მოლეკულათაშორისი წყალბადური ურთიერთქმედებების გავლენით, იგივე კარბამატის ჯგუფები მნიშვნელოვნად განაპირობებენ პოლისაქარიდების ნაწარმების ხსნადობას სხვადასხვა გამხსნელებში, ასევე მათ მოწესრიგებულ სტრუქტურას. რამდენადაც ორივე ეს ფაქტორი მნიშვნელოვანია ქირალური სელექტორისთვის, ქირალურ ნივთიერებებთან ურთიერთქმედებისთვის თავისუფალი კარბამატის ჯგუფებისა და შიგამოლეკულურ ურთიერთქმედებებში ჩართული კარბამატის ნაშთებს შორის კარგი ბალანსის მქონე მასალები ყველაზე პერსპექტიული ქირალური სელექტორებია [157,158].

საწყისი კვლევები განხორციელდა ცელულოზას ნაწარმებისთვის. გარდაქმნის ინფრაწითელი სპექტროსკოპია გამოყენებული იქნა ორი ტიპის NH (თავისუფალი და წყალბადური ბმებით შეკავშირებული) ჯგუფების ფარდობის დასადგენად. ეს საშუალებას იძლევა შეირჩეს ყველაზე პერსპექტიული ქირალური სელექტორები ახალ სინთეზირებულ ნაწარმებს შორის. ამ კვლევებით დადგინდა, რომ Lux ცელულოზა ტრის (4 -ქლორ - 3 - მეთილფენილკარბამატი) შეიცავდა კარგად დაბალანსებულ თავისუფალ და წყალბადურ ბმაში ჩართულ კარბამატის ნაშთებს და მიჩნეული იქნა

როგორც ყველაზე პერსპექტიული ქირალური სელექტორი [108]. ელექტრონული წრიული დიქროიზმის სპექტრმაც აჩვენა, რომ ამ ნაწარმს აქვს ყველაზე მოწესრიგებული მეორეული სტრუქტურა, ქირალურ საანალიზო ნივთიერებებთან ურთიერთქმედებისთვის თავისუფალი ერთგვაროვანი ადსორბციული ცენტრებით. სპექტრალურ თვისებებსა და ქრომატოგრაფიულ მახასიათებლებს შორის გამოვლინდა კარგი კორელაცია [108].

2.4.1. სარჩულის გავლენა პოლისაქარიდულ ქირალურ ფაზებზე

ენანტიოსელექტიურობის განმაპირობებელი ქირალური სელექტორი ნივთიერებათა დამყოფი სისტემის მთავარი კომპონენტია. ქირალურ სელექტორსა და ქირალურ საანალიზო ნივთიერებას შორის ენანტიოსელექტიური ურთიერთქმედების გარეშე ენანტიომერების დაყოფა პრაქტიკულად შეუძლებელია. მაღალმოლეკულური ქირალური სელექტორის ქიმიური თვისებები გავლენას ახდენს არა მარტო გამოცნობის თერმოდინამიკურ სელექტიურობაზე, არამედ ასევე მნიშვნელოვნად მოქმედებს მასის გადატანაზე მოძრავ და უძრავ ფაზას შორის. ამასთან ერთად ინერტული სარჩულის ბუნება და მორფოლოგია კრიტიკული ფაქტორებია, რომლებიც გავლენას ახდენენ დაყოფის პროცესის დინამიკასა და კინეტიკაზე, სვეტის გამტარიანობასა და საბოლოო ჯამში, გარჩევადობასა და დაყოფის სიჩქარეზე [109].

პოლისაქარიდული მასალები ენანტიომერების დასაყოფად შესაძლებელია გამოყენებულ იქნან გრანულირებული სახითაც, ანუ ინერტულ სარჩულზე დაფენის გარეშე [110-111].

ყველაზე ფართოდ გამოყენებული ქრომატოგრაფიული სარჩული პოლისაქარიდული ქირალური სელექტორებისათვის არის ფართეფორიანი სფერული სილიკაგელი ნაწილაკების ნომინალური ზომით 3 - 7 მკმ ანალიზური სვეტებისთვის და 5 - 20 მკმ პრეპარატიული სვეტებისთვის. ლიტერატურაში აღწერილია პოლისაქარიდული ქირალური მასალები სხვა

სარჩულებით, მაგალითად ცირკონიუმის [112], ტიტანის ოქსიდის, მაგნიუმის ოქსიდის [113], ცირკონირებული და ტიტანირებული სილიკაგელის [114], ასევე ორგანული პოლიმერებით [115], თუმცა ამ მასალებს არ გააჩნიათ სილიკაგელთან შედარებით რაიმე ცალსახა უპირატესობა. გარდა ნაწილაკური სარჩულისა, შესაძლებელია სილიკაგელზე დაფუძნებული მონოლითური სარჩულების და ფორიანი ზედაპირის მქონე გლუვი სილიკაგელის [118] გამოყენება ქირალური სტაციონარული ფაზების მოსამზადებლად. მონოლითური სილიკაგელის მასალებს აქვთ ისეთი უპირატესობები, როგორცაა დაბალი უკუწნევა, ასევე თეორიული თეფშების რიცხვის მოძრავი ფაზის ხაზოვან სიჩქარეზე ნაკლები დამოკიდებულება.

ზედაპირულად ფორიანი გლუვი სილიკაგელის (Core-Shell, ზფგს) ტიპის დამყოფ მასალებს გააჩნიათ ისეთი უპირატესობები, როგორცაა დიფუზიური გზის მოკლე სიგრძე და შესაბამისად, სვეტის მაღალი ეფექტურობა, ასევე სვეტის წარმადობის ნაკლები შემცირება მოძრავი ფაზის ხაზოვანი სიჩქარის გაზრდისას.

2.4.2. სტაციონარული უძრავი ფაზების ოპტიმიზაცია

ქირალური სტაციონარული ფაზის ორი ყველაზე მნიშვნელოვანი კომპონენტის, ქირალური სელექტორის და ინერტული სარჩულის ოპტიმიზაცია სხვადასხვა გზით შეიძლება მოხდეს. საწყისი მეთოდი იყო პოლისქარიდის ნაწარმების დაფენა სარჩულის ზედაპირზე (ხშირ შემთხვევაში სარჩული ფორიანი სილიკაგელი იყო). დაფენის პროცესი შედარებით მარტივია და არ საჭიროებს ქირალური სელექტორის, ან სარჩულის ზედაპირის წინასწარ აქტივაციას. ასევე ადვილია ქირალური სელექტორის შემცველობის კონტროლი და პოლისქარიდის ნაწარმები ინარჩუნებენ მოქნილობას.

ბოლო ათწლეულში განვითარდა და დაიხვეწა ადრე შემოთავაზებული რადიკალური თანაპოლიმერიზაციის მეთოდი და

მიღებულ ქირალურ სტაციონალურ ფაზებს აქვთ მსგავსი ენანტიოსელექტიურობა დაფენილი ქირალური სტაციონარული ფაზების ენანტიოსელექტიურობასთან შედარებით [119, 120, 121].

ბ. ჭანკვეტაძემ შემოგვთავაზა ცელულოზას ნაწარმების იმობილიზაცია, რომლებსაც გააჩნდათ თავისუფალი ჰიდროქსილების მცირე ჯგუფი γ -გლიციდოქსიპროპილსილანით მოდიფიცირებულ სილიკაგელზე [122]. ამ მეთოდის უპირატესობა მდგომარეობს იმაში, რომ შესაძლებელია მეტად მოქნილი კოვალენტურად იმობილიზებული ფაზების მომზადება, ასევე რეაქციის მოსახერხებელი პირობები: არ არის საჭირო გაცხელება, ან მშრალი გამხსნელების გამოყენება.

ი. ზოუსა და მისი თანამშრომლების მიერ შემოთავაზებული მეთოდის შემდგომი განვითარებით, ი. ოკამოტომ და მისმა თანამშრომლებმა შეიმუშავეს იმობილიზაციის ეფექტური მეთოდი 1- 2% ტრიეთილსილილის ჯგუფის შემცველი პოლისაქარიდების ნაწარმის მოლეკულათაშორისი პოლიკონდენსაციის გზით მისაღებად [123,124]. ამ მეთოდის აშკარა უპირატესობაა ის, რომ სავარაუდოდ შენარჩუნებული იქნება პოლისაქარიდის მაღალ მოწესრიგებული სტრუქტურა, რადგანაც იმობილიზაცია ხდება მცირე რაოდენობის ტრიეთოქსილილის ჯგუფების ხარჯზე, შესაბამისად მცირეა კავშირების რაოდენობა.

დღესდღეობით კომერციულად ხელმისაწვდომია სხვადასხვა ქირალური სტაციონარული ფაზები გამხსნელებთან უნივერსალური თავსებადობით: Daicel - ის პროდუქტები Chiralpak™ IA, Chiralpak™ IB, Chiralpak™ IC და Chiralpak™ ID, რომლებიც შესაბამისად შეიცავენ ქირალურ სელექტორებს Lux ამილოზა ტრის(5-ქლორ- დიმეთილ ფენილკარბამატი), Lux ცელულოზა ტრის (3,5 - დიმეთილ ფენილკარბამატი), Lux ცელულოზა ტრის (3,5 -დიმეთილფენილკარბამატი) და Lux ცელულოზა ტრის (3,5 -დიქლოროფენილკარბამატი).

2.4.3. მოძრავი ფაზების ოპტიმიზაცია

სილიკაგელზე დაფენილი პოლისაქარიდის ნაწარმები თავდაპირველად რეკომენდირებული იყო ნორმალურ ფაზიანი ელუენტებითვის [98], თუმცა ადრეულ ნაშრომებშივე ცელულოზას ტრიაცეტატისთვის ელუენტად გამოიყენეს სუფთა ეთანოლი [97]. დღესდღეობით, პოლისაქარიდული ქირალური ფაზების გამოყენება შეიძლება ნორმალურ - ფაზიან, შებრუნებულ - ფაზიან პოლარულ - ორგანულ და ზეკრიტიკული სითხის მოძრავ ფაზებთან. თითოეულ ამ რეჟიმს აქვს თავისი უპირატესობა და გამოყენების არეალი, მაგალითად ნორმალურ-ფაზიანი ქრომატოგრაფია უკეთ ერგება ფარმაცევტულ ანალიზებს და პრეპარატულ დაყოფებს, შებრუნებულ - ფაზიან ქრომატოგრაფიას მეტი გამოყენება აქვს ბიოანალიზში და მას - სპექტრომეტრულ შეუღლებულ ქრომატოგრაფიულ დაყოფებში, პოლარულ - ორგანულ ფაზიანი დაყოფები კი მიმზიდველია სწრაფი ანალიზებისთვის და პრეპარატული დაყოფებისთვის. თავსებადობა ყველა ტიპის მოძრავ ფაზებთან პოლისაქარიდული ქირალური სვეტების დიდი უპირატესობაა და ეს თვისება მათ აქცევს ენანტიომერული ნარევების დაყოფის შედარებით უნივერსალურ საშუალებად. ზოგიერთი მწარმოებელი გვთავაზობს ისეთი ტიპის უნივერსალურ სვეტებს, რომლებიც შესაბამისი გაწონასწორების შემდეგ, შეიძლება გამოყენებულ იქნას ყველა ხსენებული ტიპის ფაზასთან. ზოგი კომპანია კი გვთავაზობს სვეტების სპეციალურ მოდელებს, რომლებიც თავსებადია მხოლოდ ერთ კონკრეტულ ქრომატოგრაფიულ მოძრავ ფაზასთან. ორივე ამ მიდგომას აქვს თავისი ნაკლი და უპირატესობა [91].

თავდაპირველად პოლისაქარიდული სვეტების გამოყენება გათვალისწინებული იყო ნორმალურ - ფაზიან (უწყლო) ელუენტებთან კომბინაციაში. ხოლო წყლიან ფაზაში ასეთი ურთიერთქმედებების ალბათობა დაბალი უნდა ყოფილიყო. დღესდღეობით გამოქვეყნებულია ასობით პუბლიკაცია ენანტიომერების დაყოფაზე ნორმალური ფაზის

გამოყენებით, ასევე მრავლადაა მიმოხილვითი სტატიები [98, 126, 127,128]. ნორმალურ ფაზების ძირითად კომპონენტად ხშირად გამოიყენება არაპოლარული ორგანული გამხსნელები, როგორც არის ნ - ჰექსანი, ნ -ჰეპტანი, ასევე ხშირად მათი მოდიფიცირება ხდება დაბალმოლეკულური სპირტების დამატებით, ფუძე ბუნების, მჟავა ბუნების ან ერთდროულად ორივე ტიპის მცირე რაოდენობით დანამატებს იყენებენ იონური ნივთიერებების ენანტიომერების დაყოფების გასაუმჯობესებლად. ზოგ შემთხვევაში ამ დანამატებს ძლიერი გავლენა აქვთ ენანტიოსელექტიურობაზე.

დღეისათვის სინთეზირებულია ენანტიომერების დაყოფის მაღალი უნარის მქონე პოლისაქარიდული ქირალური სელექტორები. საკმაო რაოდენობითაა კომერციულად ხელმისაწვდომი ქირალური სვეტები, თუმცა ქირალური ნივთიერებების ფართო ჯგუფის დასაყოფად საჭიროა ამ სვეტების გამოცდა ნორმალურ, პოლარულ-ორგანულ და შებრუნებულ მოძრავ ფაზებზე, ასევე საჭიროა მცირე რაოდენობით დანამატების გავლენის შესწავლა ამ ფაზებზე. ცოტა ხნის წინ დაიწყო ზედაპირულად ფორიანი გლუვი სილიკაგელის სარჩულების გამოყენება ქირალური სვეტების მოსამზადებლად, ასევე განსაკუთრებულად მცირე ზომის - 1,7 მიკრომეტრიანი ნაწილაკების ზომის მქონე სარჩულების გამოყენება ქირალური სვეტების მოსამზადებლად. საჭიროა მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფების კონფიგურაციის ოპტიმიზაცია ახალი ტიპის ქირალურ სვეტებთან სამუშაოდ.

2.5. ქირალური დაყოფა ფარმაცევტულ წარმოებაში. ანალიტიკური მეთოდები

სითხურ ქრომატოგრაფიას იყენებენ ანალიზური და პრეპარატული დაყოფის მიზნით. თანამედროვე ტექნოლოგიებში მოსამზადებელი არჩევითი მეთოდი ენანტიომერის დასაცალკევებლად არის მაღალ ეფექტური სითხური ქრომატოგრაფია (HPLC, მესქ). ქირალური მესქ - ი

მიჩნეული იქნა, როგორც ენანტიომერების პირდაპირი დაშლის და ანალიზის საუკეთესო მეთოდი. ანსხვაებენ მესქ - ის პირდაპირ და არაპირდაპირ ტექნოლოგიებს.

მაღალი სენსიტიურობის გამო, ბიოანალიზის დროს, ხშირად მიმართავენ არაპირდაპირ მესქ-ს, როცა ქირალური დერივატორულ რეაგენტს იყენებენ ორი დიასტერეომერის ფორმირებისთვის, რის შედეგადაც შესაძლებელია წარმოქმნილი სუფთა ცალკეული ენანტიომერის დაშლა კლასიკური მწკრივების შებრუნების ფაზის დროს [140]. თუმცა, აღნიშნული არაპირდაპირი ტექნოლოგია მედიკამენტის ანალიზისთვის მოითხოვს ფუნქციონალურ ჯგუფს, მაგალითად: ამინს, ჰიდროქსილს, კარბოქსილს, კარბონილს და თიოლს. ქირალური დერივატორული რეაგენტი (სუფთა ცალკეული ენანტიომერი) ემატება სინჯს, რომელიც რეაქციაში შედის, რომ წარმოიქმნას ორი დიასტერეომერი, რომლის დაშლაც ხდება კლასიკური შებრუნებული ფაზის მწკრივით (C18 ან C8) [140]. მაგალითად, პროპანოლის (β-ბლოკატორი), პერჰექსილის (ტიანგენური აგენტი) განსაზღვრა მოხდა აღნიშნული არაპირდაპირი მესქ-ის ფლურესცენციური დეტექტორით [141,142]

ყველაზე ხშირად გამოყენებადია პირდაპირი ქირალური დაყოფა ქირალის უძრავი ფაზის მეშვეობით (CSPs), სიმარტივისა და სისწრაფის გამო, ან პირიქით მოძრავი ფაზის დროს, რომელსაც ქირალის მოძრავი ფაზის დანამატებს უწოდებენ (CMPA) [143,144,146]. აღნიშნულიდან უკანასკნელი მეთოდის გამოყენება საკმაოდ იშვიათად ხდება მათი წარმოებისთვის საჭირო მაღალი ღირებულების და ნაკლებად ეფექტურობის გამო.

ბიოანალიზისას მეორე ადგილს იკავებს ქირალის მესქ მწკრივის გარკვეული სახეობა: ციკლოდექსტრინი და მისი დერივატორები, კარბოჰიდრატი (ცელულოზა, ამილოზა) პირკლისა და ქირობიოტიკური ფაზები. მრავალი რაციმიული მედიკამენტი კარგად იხსნება ციკლოდექსტრინსა და მის დერივატულ ფაზებში. მაგალითად:

პროპანოლოლი [146], მეტადონი [31,147], 3-ჰიდროქსიბენზოდიანაზეპამი (ოქსაზეპამი, ლორაზეპამი, ტემაზეპამი) [33,34].

ანტიბიოტიკების ან ქირობიოტიკების ფაზებს, მაგ., ვანკომიცინი - CSP ან ერემომიცინი - CSP, შეუძლიათ თალიდომიდისა და ამინომჟავების ენანტიომერების დაშლა [148,149]. სამწუხაროდ, დღემდე არ არსებობს ისეთი ცალკეული ქირალური სტაციონარული ფაზა (CSP), რომელსაც შეეძლებოდა ბიონალიზის დროს ყველა კლასის რაცემული კომპონენტის დაშლა, აქირალური რევერსული ფაზის C₁₈ ან C₈-ისაგან განსხვავებით. ზოგადად შესწავლილია ქირალური წყობის შერჩევა ისეთ ურთიერთმოქმედ მექანიზმებს შორის, როგორც არის ქირალური სტაციონარული ფაზა (CSP) და ქირალის გამოსაკვლევი ნივთიერება [150].

ქიმიური სითეზის დროს სხვადასხვა ქიმიური რეაქციით ადგილობრივად მიმდინარეობს მრავალი მედიკამენტის რაცემიზირება. წარმოებაში გამოიყენება ქირალური დაშლის ორი მეთოდი: კლასიკური მეთოდი და თანამედროვე ტექნოლოგიები [143].

ქირალური დაყოფის ყველაზე გავრცელებული კლასიკური მიდგომაა დაშლა დიასტერეომერული მარილის წარმოქმნით. ამ დროს რაცემულ მედიკამენტსა და მცირე ოდენობის ენანტიომერის, დამშლელ აგენტს შორის მიმდინარეობს მჟავე რეაქცია. აღნიშნული ორი დიასტერეომერის დაშლა მარტივადაა შესაძლებელი კრისტალიზაციით ან გაფილტვრით, იმ შემთხვევაში თუ ერთი ხსნადია და მეორე უხსნადი [15,151]. წარმოქმნილი ორი დიასტერეომერის დაშლა შესაძლებელია კლასიკური აქირალური ხსნარის ქრომატოგრაფიული ანალიზით. აღნიშნული მეთოდი გამოიყენება მეთილ - L - დოფას, ასპარაგინისა და გლუტამინის მჟავას დაშლის დროს [15].

დაყოფის მეორე კლასიკურ მეთოდს წარმოადგენს ენზიმური ან კინეტიკური დაშლა. აღნიშნულ შემთხვევაში დაშლა ხდება ბიოქიმიური პროცესებით, რომელიც ერთ ენანტიომერულ ფორმას ანადგურებს [143,152].

ქირალად პირდაპირი დაშლა CSP-ის მეშვეობით უფრო საიმედო და ფართოდ გავცელებული მეთოდია, ქიმიური რეაქციის მექანიზმის კუთხით, ვიდრე ქირალური დანამატები ფაზაში.

რაცემიული ნივთიერების ენანტიოსეპარატორის სწორი თანმიმდევრობის (რიგის) შერჩევა საკმაოდ რთულია. გადაწყვეტილება ძირითადად დამოკიდებულია ემპირიულ მონაცემებზე და გამოცდილებაზე [143]. თუმცა, ქირალური სელექტორების შესწავლა და მექანიზმის ამოცნობა ენანტიომერებთან მიმართებაში ხელს შეუწყობს დაშლის გარკვეული პრობლემების გადაჭრასა და დროის დაზოგვის თვალსაზრისით. ყველა ქირალური სელექტორი ენანტიომერებისთვის წარმოქმნის ქირალურ ზედაპირს, რომელიც ამ სელექტორებით აყალიბებს დროებით კომპლექსებს, რომელთაც განსხვავებული შემაკავშირებელი ენერგია გააჩნიათ [151].

ფარმაცევტულ წარმოებაში ცოტა ხნის წინ დაინერგა ახალი ტექნოლოგია ქრომოგრაფია ფსევდომოდრავი შრით (SMB) [15]. SMB ტექნოლოგიის ძირითადი კონცეფცია მდგომარეობს უძრავი და მოძრავი ფაზების უწყვეტ საწინააღმდეგო მოძრაობაში, რისი მეშვეობითაც მიმდინარეობს უძრავი ფაზის სიმულირება. SMB ქრომატოგრაფიით დაშლილი ფარმაცევტული ნივთიერებაა ტრამადოლი [15]. SMB ქრომატოგრაფიული სქემა [153] SMB იძლევა გამხსნელის შემცირებული მოხმარების საშუალებას, რომელიც შესაბამისად დაწევს წარმოების ღირებულებასაც.

ქირალური მედიკამენტის მომზადებისას, ადგილზე რაცემიზების თავიდან აცილების მიზნით ქირალური კატალიზატორის გამოყენებით შემუშავებულ იქნა ასიმეტრიული სინთეზი. ასიმეტრიული ქიმიური კატალიზატორების უმეტესი ნაწილი ორგანომეტალურია და მოიცავს გარდამავალ ლითონებს - ტიტანი, ოსმიუმი, პალადიუმი და როდიუმი. ქირალის კატალიზატორები ენზიმებს წააგავს, რადგან ორივეს მაღალ ხარისხის სპეციფიკურობა ახასიათებს. ისინი ააქტიურებენ

სტერეოსპეციფიკურ რეაქციებს და თავიდან იცილებენ რაციმატების ჩამოყალიბებას. ქირალის ქიმიური კატალიზატორები ენჯიმებზე მყარია, და გააჩნიათ მაღალი ტემპერატურისადმი მდგრადობა. თუმცა, ქირალის ქიმიური კატალიზატორების გამოყენება საკმაოდ ძვირია. აღნიშნული კატალიზური ასიმეტრიული სინთეზის მეშვეობით დამუშავებული ცალკეული ენანტიომერული მედიკამენტების მაგალითებია L - დოფა (პარკინსონის საწინააღმდეგო აგენტი) და ნაპროქსენი (ანთების საწინააღმდეგო მედიკამენტი) [23, 154, 155].

2.6. ენანტიომერების დაყოფა მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფიის მეთოდით

ბოლო ორი ათწლეულის განმავლობაში ენანტიომერების ქრომატოგრაფიული დაყოფა, ნაწილობრივ ენანტიომერების პირდაპირი დაყოფა მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფით მნიშვნელოვნად გაუმჯობესდა და დაყოფის ეს მეთოდი გახდა ერთ-ერთი ფართოდ გამოყენებული ისეთ სფეროებში, რომლებიც მოიცავენ წამლებს, ბუნებრივი პროდუქტების, აგროქიმიკატების და ა.შ. ანალიზს. მეთოდი გამოიყენება არა მარტო ნიმუშის ენანტიომერული სისუფთავის დასადგენად, არამედ ენანტიომერების დიდი მასშტაბით მისაღებადაც. ფარმაცევტიულ მრეწველობაში ქირალური მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფია აღიარებულია როგორც ძირითადი მეთოდი ქირალური სამკურნალწამლო საშუალებების კვლევასა და განვითარებაში.

ქირალური დაყოფის მექანიზმები. მიუხედავად კარგად განვითარებული ქირალური ნივთიერებების დაყოფის მეთოდებისა, ჯერ-ჯერობით მათი ზუსტი მექანიზმები გარკვეული არ არის. ქირალური დაყოფის ნატიფ მექანიზმებზე წარმოდგენის შესაქმნელად, კარგ მაგალითებს წარმოადგენენ ენანტიომერების ელუირების თანმიმდევრობის ცვლილება, რადგანაც მცირე ცვლილება მოძრავ ფაზაში იძლევა რადიკალურად განსხვავებულ ქრომატოგრაფიულ სურათს.

ენანტიომერების ელუირების თანმიმდევრობის ცვლილება პოლისაქარიდულ სვეტებზე პირველად დაფიქსირდა 1989 წელს მოძრავ ფაზაში სპირტული მოდიფიკატორის შემცველობის ცვლილებით [129]. არსებობს მინიმუმ ორი ტიპის ადსორბციული ურთიერთქმედების ცენტრი ქირალურ ფაზასა და ქირალურ საანალიზო ნივთიერებას შორის. ამ ცენტრებზე კი სხვადასხვა მოლეკულური მასის და მოლეკულის ფორმის მქონე სპირტული ტიპის მოდიფიკატორები სხვადასხვანაირი გავლენას ახდენს.

მსგავსი ეფექტი დაფიქსირდა ცელულოზას ეთერულ ქირალურ სტაციონალურ ფაზაზე [156]. საანალიზო ნივთიერების, ან ქირალური სელექტორის კონფორმაციები სხვადასხვა სპირტული მოდიფიკატორების ზეგავლენით არ იცვლება, ენანტიოსელექტიური ურთიერთქმედების ცენტრების ხელმისაწვდომობაზე გავლენას ახდენენ დანამატები.

ნორმალურ ფაზაში სპირტული დანამატების გავლენით ელუირების თანმიმდევრობის ცვლილების მომდევნო მაგალითი დაფიქსირდა ომეპრაზოლის [130], ასევე იბუპროფენისა და ნუშის მჟავას ენანტიომერებისთვის [131]. ამ შემთხვევაშიც სპირტების გავლენით ქირალური სელექტორი განიცდის შექცევად კონფორმაციულ ცვლილებას, რაც ენანტიომერების რიგის ცვლილების საფუძველია. გარკვეული პირობების (ტემპერატურა) გავლენით, ქირალური სელექტორის თვისებები შესაძლოა ისე შეიცვალოს, რომ ქრომატოგრაფიული შეკავების დრო და სელექტიურობა არაპროგნოზირებადი იყოს. იბუპროფენის შემთხვევაში ამ ფაქტორების არაწრფივი დამოკიდებულება მიუთითებს ტემპერატურული ცვლილებების შესაძლებლობაზე, ხოლო ნუშის მჟავას შემთხვევაში გამოვლენილი ხაზოვანი დამოკიდებულება, ორ ენანტიომერის ადსორბციულ ცენტრებთან ურთიერთმოქმედების განსხვავებული ჯიბის თავისუფალი ენერგიებითაა გამოწვეული. ასევე დაფიქსირებულია ენანტიომერების ელუირების თანმიმდევრობის ცვლილება სპირტის შემცველობაზე დამოკიდებულებით ნაპროქსენისთვის მის იმობილიზებულ

ანალოგზე [132]. აქედან გამოდინარე, მოძრავი ფაზის შემადგენლობის, ან ტემპერატურის მცირე ცვლილებამ შესაძლოა გამოიწვიოს ერთი, ან რამდენიმე ბმის სელექტიური ბლოკირება ქირალურ სელექტორის კონფორმაციული ცვლილების გარეშე.

არილპროპიონის მჟავას ზოგიერთი ქირალური ნაწარმის ენანტიომერების ელუირების თანმიმდევრობის შეცვლა გამოიწვია ნახშირორჟანგის ფაზაში პოლარულ სპირტულმა დანამატმა კერძოდ, მეთანოლიდან იზოპროპანოლზე გადასვლისას, როდესაც სვეტის ტემპერატურა იყო 30° C [133].

მსგავსი მაგალითები ცნობილია 20 წელზე მეტია, თუმცა ამ მოვლენის მექანიზმის დამაკმაყოფილებელი ახსნა ჯერ არ არსებობს.

ენანტიომერების ელუირების თანმიმდევრობაზე გავლენას ახდენს არა მხოლოდ სპირტული მოდიფიკატორი, არამედ მისი რაოდენობა მოძრავ ფაზაში [134,135,136]. რამდენადაც ეს არის უფრო ნატიფი ცვლილება (რაოდენობრივი და არა თვისობრივი), ამ ფენომენის მექანიზმის ახსნა ძალზე მნიშვნელოვანია ენანტიოსელექტიური მოლეკულათაშორისი ურთიერთქმედებების ნატიფი მექანიზმების ასახსნელად. ამ ტიპის ცვლილების პირველ მაგალითში მოძრავი ფაზა შეიცავდა მცირე რაოდენობით წყალს, ხოლო იგივე ეფექტი უწყლო ელუენტებით აღარ გამოვლინდა, რაც იმით ახსნეს, რომ ქირალური სელექტორი შეიცავს მინიმუმ ორი ტიპის ურთიერთქმედების ცენტრებს და ერთ-ერთ მათგანზე წყალი ძლიერ გავლენას ახდენს [127]. ეს ჰიპოთეზა ძალზე ელევანტურია, თუმცა ვერ ახსნა თუ რატომ აქვს ადგილი ამ ფენომენს მხოლოდ კონკრეტული ენანტიომერების შემთხვევაში.

ორი არომატული α -ჩანაცვლებული ალანინის რთულ-ეთერული ნაერთის ენანტიომერების დაყოფისას ორ პოლისაქარიდულ ქირალურ სტაცონალურ ფაზაზე აღმოჩნდა, რომ ელუირების თანმიმდევრობა იცვლება ერთ-ერთი ნივთიერების ენანტიომერებისთვის მოძრავ ფაზაში ეთანოლის, ან ნ - პროპანოლის კონცენტრაციის გავლენით მხოლოდ

ამილოზაზე დაფუძნებული ქირალური სტაციონარული ფაზის შემთხვევაში [137], რადგან ფაზაში სპირტული მოდიფიკატორის შემცველობა გავლენას ახდენს ქირალური სელექტორის კონფორმაციაზე, წყვეტს შიგამოლეკულურ წყალბადური ბმების ნაწილს. ქირალური სელექტორის ამგვარი კონფორმაციული ცვლილებები მიჩნეულია ზოგიერთი ქირალური საანალიზო ნივთიერების ენანტიომერების ელუირების თანმიმდევრობის ცვლილების მიზეზად.

მოდრავ ფაზაში მცირე რაოდენობის დანამატების ძლიერ გავლენის შესახებ პოლისაქარიდული ქირალური ფაზების ენანტიოსელექტიურობაზე ლიტერატურაში აღწერილია რამდენიმე შემთხვევა - ენანტიომერების ელუირების თანმიმდევრობის ცვლილება ქირალური ამინო-სპირტის დაყოფისას Chiralpak AD სვეტზე ალკანი/ალკოჰოლის ფაზაში წყლის შემცველობაზე დამოკიდებულებით [130], ასევე ქირალური დიჰიდროპირიდინის ნაწარმის - ამილოდიპინის ენანტიომერების ელუირების თანმიმდევრობას ცვლილება Lux Cellulose-1, Lux Cellulose-2 და Lux Cellulos-4 სვეტებზე აცეტონიტრილ - დიეთილამინის ფაზაში ჭიანჭველამჟავას კონცენტრაციის მცირე დიაპაზონში [138]. შემდგომში, მსგავსი ეფექტი იგივე ნივთიერებისთვის იგივე სვეტებზე დაფიქსირდა ნორმალურ და შებრუნებულ ფაზიან ელუენტებში [139].

3. ექსპერიმენტული ნაწილი

3.1. გამოყენებული აპარატურა

სითხურ-ქრომატოგრაფიული კვლევებისთვის გამოყენებული იქნა Agilent Technologies წარმოების მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფები, რომლებიც ნაჩვენებია სურათებზე 13-17. ქრომატოგრაფები ერთმანეთისგან განსხვავდებოდა სხვადასხვა ტექნიკური პარამეტრებით, როგორებიცაა მაქსიმალური წნევა და დეტექტორის სიხშირე (სიჩქარე) და შესაბამისად გამოიყენება ექსპერიმენტის სხვადასხვა ეტაპებზე.



სურ. 13. Agilent 1200 სერიის ქრომატოგრაფი

Agilent 1200 სერიის მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფი შედგება G1312A ბინარული ტუმბოს, G1367B ნიმუშების ავტომატური მიმწოდებლის, G1316B სვეტების თერმოსტატის, G1314D ერთტალღიანი დეტექტორის, ხელსაწყოს მართვის და მონაცემთა დამუშავების პროგრამა

Agilent Chemstation-სგან. მაქსიმალური წნევა 400 ბარი, ტალღის სიგრძე 110-900 ნმ, დეტექტორის სიხშირე 20 ჰერცი.



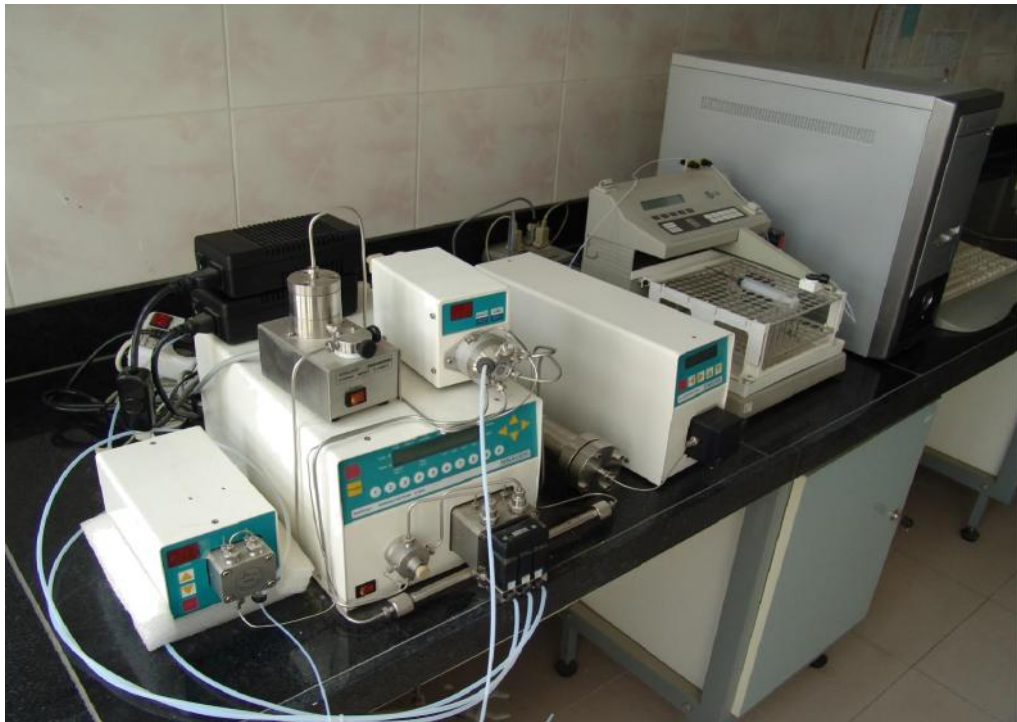
სურ. 14. Agilent 1220 სერიის სითხური ქრომატოგრაფი

Agilent 1220 სერიის სითხური ქრომატოგრაფი შედგება G4290B მონობლოკი, რომელიც შეიცავს ბინარულ ტუმბოს, ნიმუშების ავტომატურ მიმწოდებელს, სვეტის ლუმელს, ერთტალღიან ულტრაიისფერ-ხილულ დეტექტორს. ხელსაწყო მართვის და მონაცემთა დამუშავების პროგრამა Agilent Chemstation-სგან. მაქსიმალური წნევა 600 ბარი, დეტექტორის სიხშირე 40 ჰერცი, ტალღის სიგრძე 110-900ნმ.



სურ. 15 : Agilent 1290 სერიის ზე-მაღალი ეფექტურობის სითხური ქრომატოგრაფი (U-HPLC)

Agilent 1290 სერიის ზე-მაღალი ეფექტურობის სითხური ქრომატოგრაფი (U-HPLC) შედგება G4220A ბინარული ტუმბოს, G4226A ნიმუშების ავტომატური მიმწოდებლის, G1316C სვეტების თერმოსტატის, G1315C დიოდური ულტრაიისფერ-ხილული დეტექტორის და ხელსაწყოს მართვის და მონაცემთა დამუშავების პროგრამა Agilent Chemstation-სგან, მაქსიმალური წნევა 1200 ბარი, დეტექტორის სიხშირე 80 ჰერცი, ტალღის სიგრძე 110-900 ნმ.



სურ. 16. Knauer-ის სითხური ქრომატოგრაფი

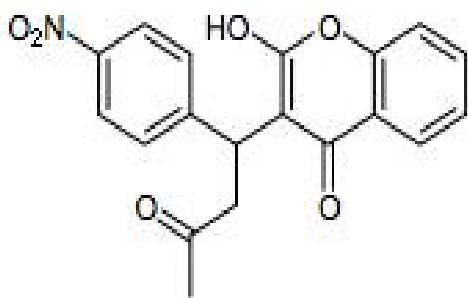
Knauer-ის სითხური ქრომატოგრაფი შედგება Knauer K-1001 იზოკრატული ტუმბოს, ხელის ინჟექტორი 20 მკლ მარყუქით, Knauer K-2001 ულტრაიისფერი დეტექტორი, ხელსაწყოს მართვის და მონაცემთა დამუშავების პროგრამა Eurochrom მაქსიმალური წნევა 400 ბარი, დეტექტორის სიხშირე 10 ჰერცი. ფიქსირებული ტალღის სიგრძეებით 200; 220; 254; 280 ნმ.

სტაციონარული ფაზის ფიზიკურ-ქიმიური მახასიათებლების დასაზუსტებლად გამოიყენება შესაბამისი ხელსაწყოები.

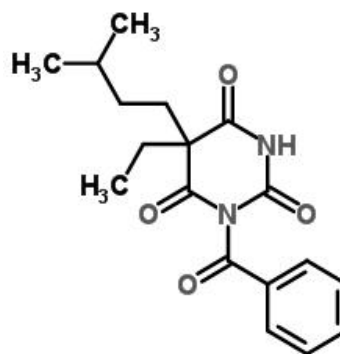
სარჩულის ნაწილაკების ზომის და ფორმის კვლევისათვის გამოიყენება ზედაპირის ფართობის და ფორმების განმსაზღვრავი ხელსაწყო და ელექტრონული მიკროსკოპი.

3.2. გამოყენებული მასალები

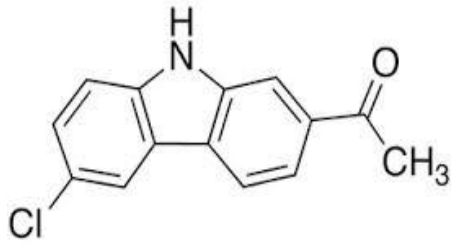
საანალიზოდ გამოყენებული იყო გამოსაკვლევი არილპროპიონის მჟავას 26 ქირალური ნაწარმი, რომელთა სტრუქტურაც წარმოდგენილია სურ. 17 ზე. მათი უმრავლესობა: აცენოკუმარინი, კარპროფენი, კუმატეტრალი, 2 - (3 - ქლორფენოქსი) - პროპიონის მჟავა, კუმაქლორი, დიფენაკუმი, ფენოპროფენი, ფლურბიპროფენი, ჰექსობარბიტალი, იბუპროფენი, ინდოპროფენი, კეტოპროფენი, კეტოროლაკი, ნუშის მჟავის ეთილეთერი, ნუშის მჟავა, პირპროფენი, პროგლამიდი, სურპროფენი, სულინდაკი, 2 - ფენოქსიპროპიონის მჟავა, ვარფარინიმოწოდებული იქნა, სიგმა - ოლდრიჯიდან (შტაინჰაიმი, გერმანია). რაცემიული ნაპროქსანი უზრუნველყოფილი იქნა დოქტორ სალვატორე ფანალის ქიმიური მეთოდოლოგიის ინსტიტუტიდან (რომი, იტალია). რაცემიული ზალტოპროფენი და მისი ენანტიომერები უზრუნველყოფილ იქნა პროფესორ იონგ სეონგ კენგის ფარმაცევტული კოლეჯიდან, ჩუნგამის ნაციონალური უნივერსიტეტი (დაჯეონი, კორეა). ჰალონალი, ნემბუტალი და ბენზობამილი მოწოდებულ იქნა ტომსკის პოლიტექნიკური უნივერსიტეტი, ორგანული ქიმიის კათედრა. ქრომატოგრაფიულად სუფთა მეთანოლი, აცეტონიტრილი და წყალი, ასევე ქიმიურად სუფთა ჰიანჭველმჟავა მოწოდებული იყო კარლ როთის მიერ (კარლსრუე, გერმანია).



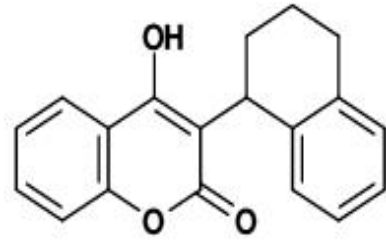
აცენიკოუმარინი



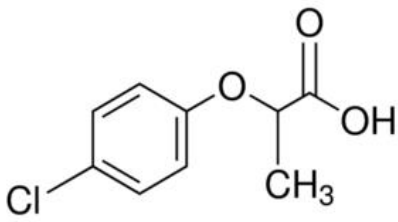
ბენზობამილი



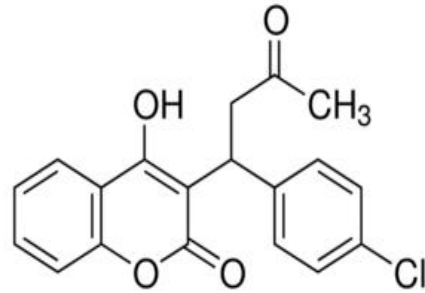
კარპროფენი



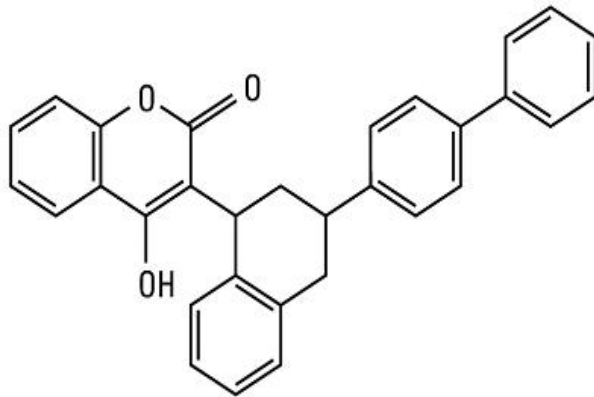
კლუმაბეტრალი



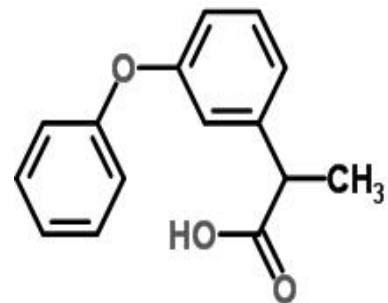
2-(3 - ქლოროფენოქსი) - პროპიონ მჟავა



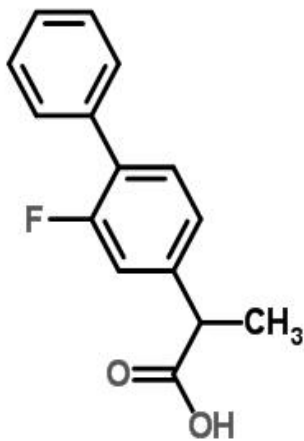
კუმექლორი



დიფენაკუმი



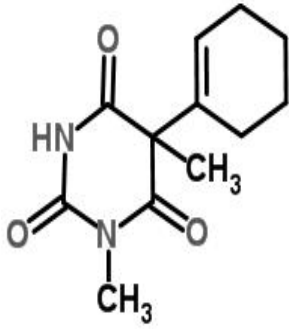
ფენოპროფენი



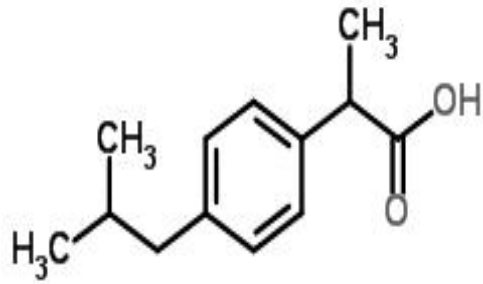
ფლურბიპროფენი



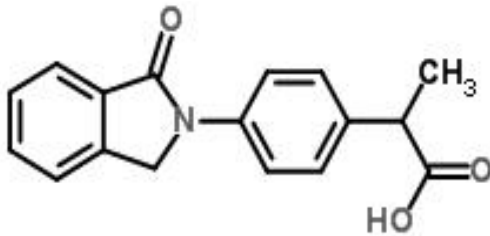
ჰალონალი



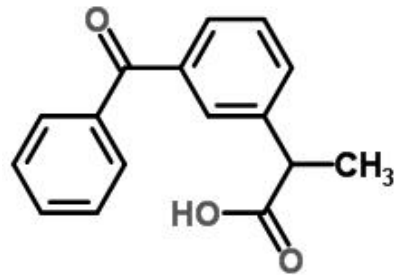
ჰექსობარბიტალი



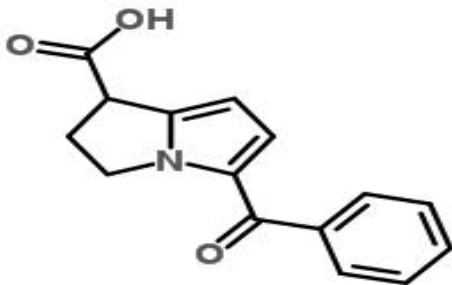
იბუპროფენი



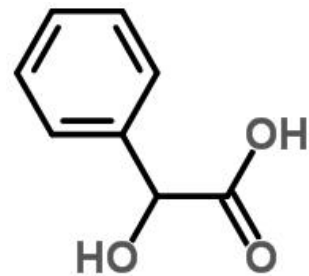
ინდოპროფენი



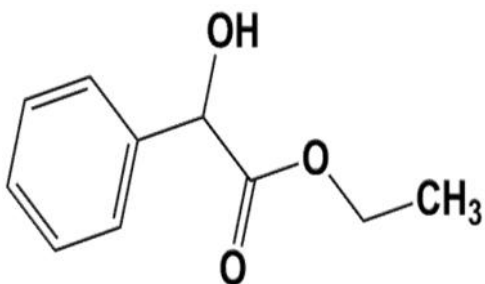
კოტოპროფენი



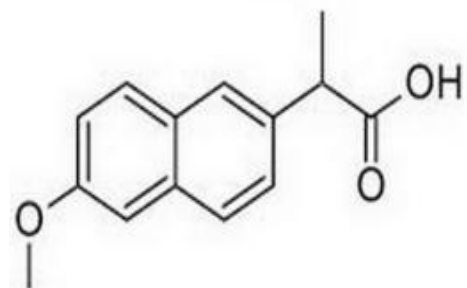
კეტოლორაკი



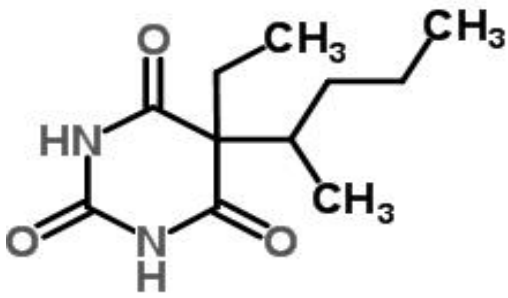
ნუშის მჟავა



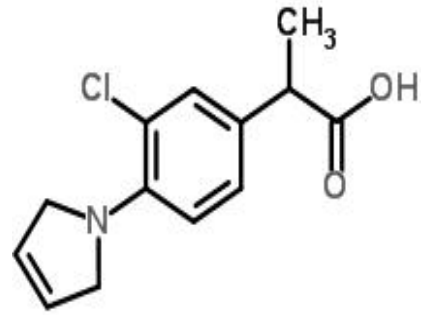
ნუშის მჟავას ეთილეთერი



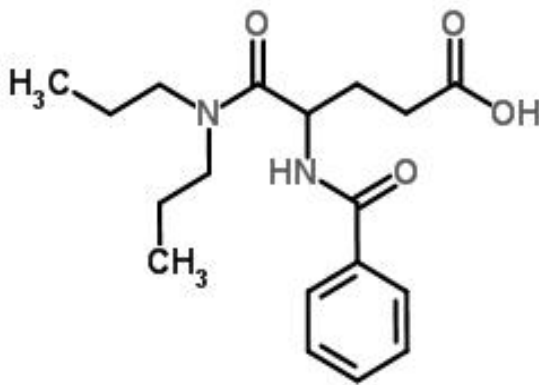
ნაპროქსენი



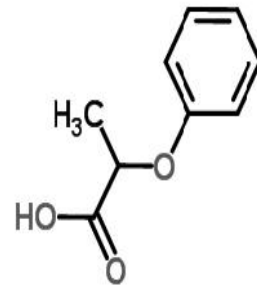
ნემბუტალი



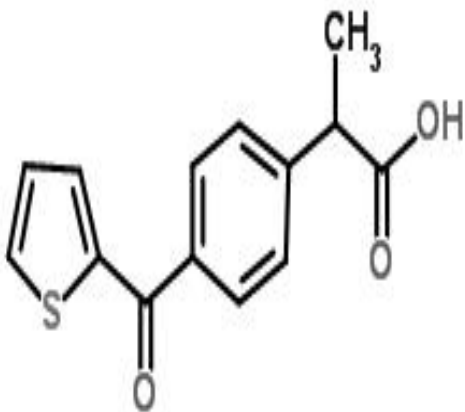
პირპროფენი



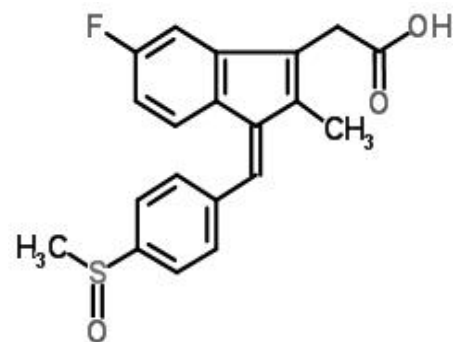
პროფოლი



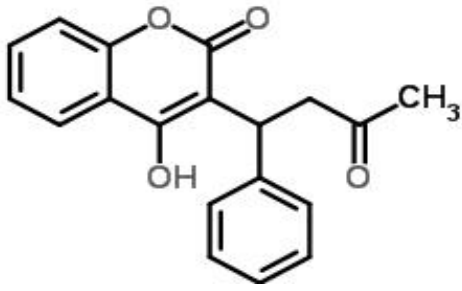
2 - ფენოქსიპროპიონისმუცა



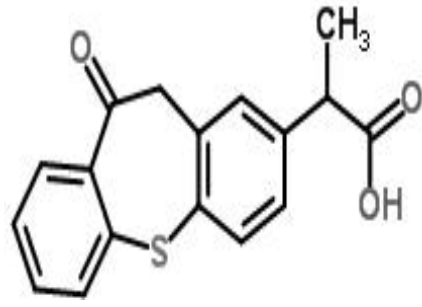
სურპროფენი



სულინდაკი



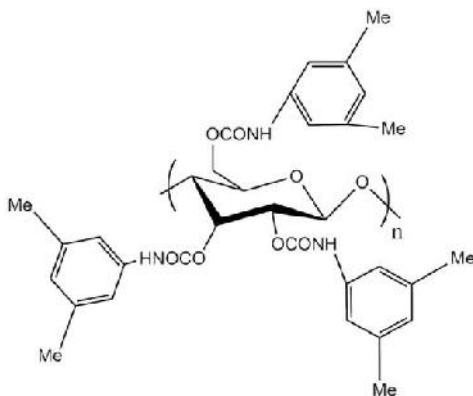
ვარფარინი



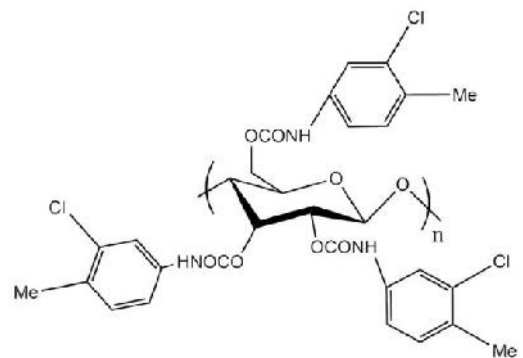
ზალტოპროფენი

სურ. 17. ნაშრომში გამოყენებული არილპროპიონის მკავა ნაწარმების ქირალური სტრუქტურები

მოდრავი ფაზების ოპტიმიზაციისთვის გამოიყენებოდა 7 ქირალური სელექტორის შემცველი სვეტი. კვლევებში გამოყენებული შვიდი ქირალური სვეტი პოლისაქარიდული ქირალური სელექტორებით Lux Cellulose - 1, Lux Cellulose - 2, Lux Cellulose -3, Lux Cellulose - 4 და Lux Amylose – 2 მოწოდებული იყო ფენომენექსის მიერ მიერ (ტორანსი, კალიფორნია, აშშ) და ცელულოზა 3,5-დიქლოფენილკარბამიდის სილიკაგელზე კოვალენტური იმობილიზაციით მომზადებული ექსპერიმენტული სვეტი ADMPC, რომელიც მოწოდებული იყო კომპანია ენანტიოსეპ - ის მიერ (მიუნსტერი, გერმანია). ქირალური სელექტორების სტრუქტურები ნაჩვენებია სურ.18. ყველა სვეტი არის 250×4,6 ზომის და შევსებულია 5 მიკრომეტრი ნომინალური ზომის მქონე სილიკაგელის ნაწილაკებით.

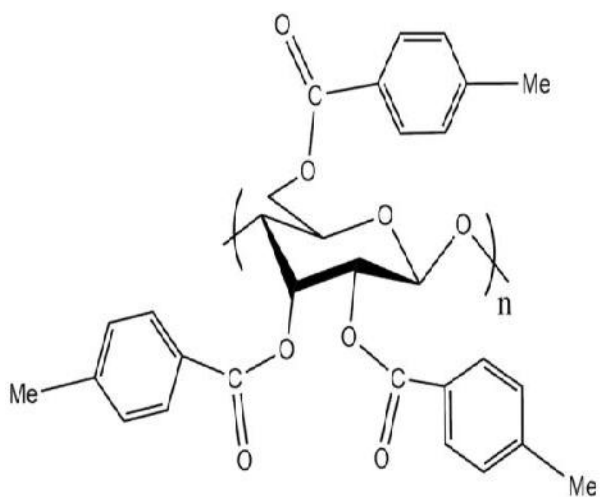


ცელულოზა ტრის (3,5 - დი-მეთილფენილკარბამატი)
Lux Cellulose - 1



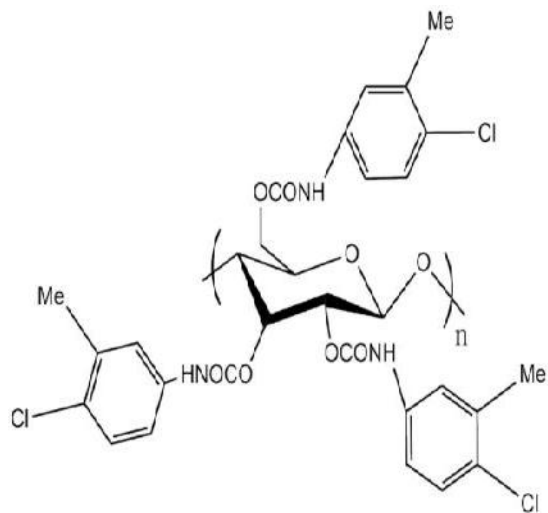
ცელულოზა ტრის (3 - ქლორ - 4 მეთილფენილკარბამატი)

Lux Cellulose - 2



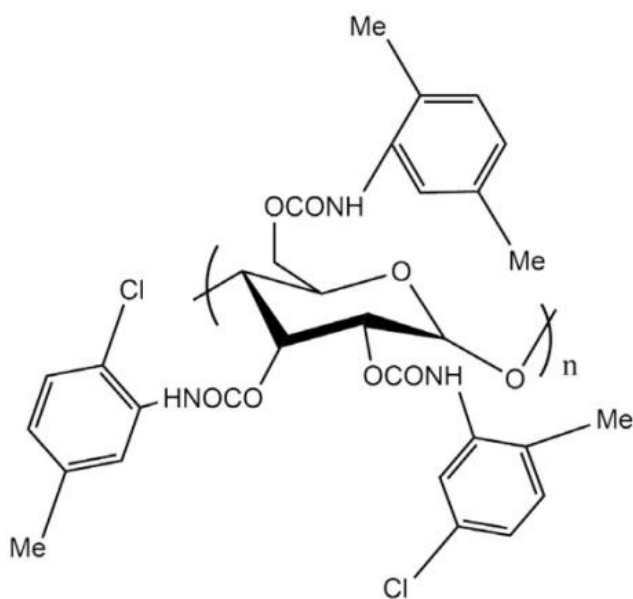
ცელულოზა ტრის (4 –
მეთილბენზოატი)

Lux Cellulose - 3



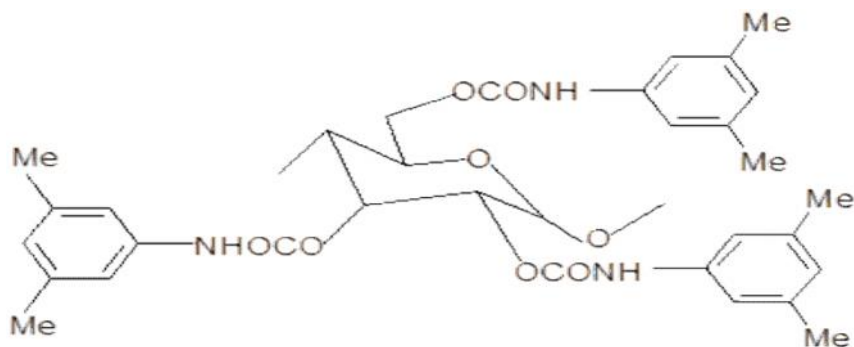
ცელულოზა ტრის (4-ქლორ-3-
მეთილფენილკარბამატი)

Lux Cellulose – 4



ამილოზა ტრის(5-ქლორ -2-მეთილფენილკარბამატი)

Lux Amylose - 2

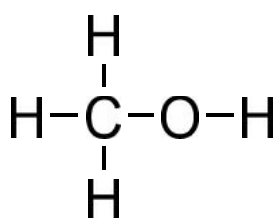


SP-6

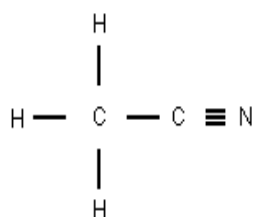
ამილოზატრის (2,4-დიმეთილფენილკარბამატი)

სურ. 18. ნაშრომში გამოყენებული ქირალური სელექტორების სტრუქტურები

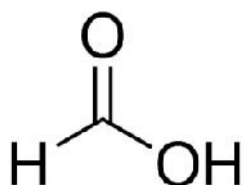
კვლევები მიმდინარეობდა როგორც პოლარულ, ასევე ნორმალურ ფაზაში. პოლარულ ორგანულ გამხსნელად გამოვიყენე აცეტონიტრილი და მეთანოლი. ამ მოძრავმა ფაზამ მნიშვნელოვანი უპირატესობა გამოამჟღავნა ნიმუშების მაღალი ხსნადობისა და ანალიზის მცირე დროის თვალსაზრისით. მოძრავ ფაზაზე გამოვიყენეთ, როგორც მჟავა ბუნების (ჭიანჭველმჟავა) ცალკეულ და ერთდროული დამატებისას 0.1% - იანი მოცულობითი თანაფარდობით.



მეთანოლი



აცეტონიტრილი



ჭიანჭველმჟავა

სურ.19.ნაშრომში გამოყენებული მოძრავი ფაზების სტრუქტურები

მოდრავ ფაზებად ასევე გამოყენებული იყო ნორმალური ფაზა მეთანოლი, აცეტონიტრილი მცირე რაოდენობის მჟავური დანამატით - ჭიანჭველმჟავა.

კვლევების მიმდინარეობისას ნიმუშების ანალიზისთვის გამოვიყენეთ მეთანოლისა და წყლის ექვსი კომბინაცია;

მეთანოლი/წყალი - $95/5 + 0.1\%FA$;

მეთანოლი/წყალი - $90/10 + 0.1\%FA$;

მეთანოლი/წყალი - $80/20 + 0.1\%FA$;

მეთანოლი/წყალი - $70/30 + 0.1\%FA$;

მეთანოლი/წყალი - $60/40 + 0.1\%FA$;

მეთანოლი/წყალი - $50/50 + 0.1\%FA$);

ასევე აცეტონიტრილისა და წყლის ექვსი კომბინაცია;

აცეტონიტრილი/წყალი - $95/5 + 0.1\%FA$;

აცეტონიტრილი/წყალი - $90/10 + 0.1\%FA$;

აცეტონიტრილი/წყალი - $80/20 + 0.1\%FA$;

აცეტონიტრილი/წყალი - $70/30 + 0.1\%FA$;

აცეტონიტრილი/წყალი - $60/40 + 0.1\%FA$;

აცეტონიტრილი/წყალი - $50/50 + 0.1\%FA$);).

ნიმუშები მომზადდა დაახლოებით 1 მგ/მლ კონცენტრაციით, ელუენტის მოცულობითი სიჩქარე იყო: 1 მლ/წთ. ყველა ექსპერიმენტი ჩატარებულია Agilent 1200 სერიის მაღალეფექტურ სითხურ ქრომატოგრაფზე (ეჯილენტი, ვალდბირონი, გერმანია), რომელიც აღჭურვილია G1367C HiP ALS-SL ტიპის ავტოსემპლერით, თერმოსტატით, ტუმბოთი და G1314D VWD ტალღის სიგრძის დეტექტორით. ულტრაიისფერი დეტექტირება ხდებოდა 240ნმ ტალღის სიგრძეზე.

პოლარულ-ორგანულ მოძრავ ფაზაში ენანტიომერების დაყოფაზე ენანტიომერების ქრომატოგრაფიული შეკავებისა და დაყოფის სელექტიურობის დამოკიდებულების განსაზღვრისათვის ანალიზები

მიმდინარეობდა მოძრავი ფაზის 20 °C-ს ტემპერატურაზე 1 მლ/წთ მოძრავი ფაზის ნაკადით.

ხელსაწყოს კონტროლისთვის, მონაცემთა მისაღებად და მონაცემთა დასამუშავებლად გამოყენებული იყო კომპანია ეჯილენტის პროგრამული უზრუნველყოფა.

3.3. ექსპერიმენტის გეგმა

არილპროპიონის მჟავას ნაწარმების - ქირალურ სამკურნალოწამლო საშუალებათა ენანტიომერების ნარევის დაყოფის და ამ პროცესზე მოძრავი ფაზისა და ქირალური სელექტორის ბუნების გავლენის, ენანტიომერების ელუირების რიგისა და მისი ცვლილების პირობების გავლენის დასადგენად ექსპერიმენტები დაგეგმილი იქნა შემდეგი მიმართულებით:

1. ზოგიერთი ქირალური სამკურნალოწამლო საშუალებების არილპროპიონის მჟავას ნაწარმების სკრინინგი პოლარულ და ნორმალურ ფაზაში.
2. მოძრავი ფაზების ოპტიმიზაცია, არსებულ კომერციულ ქირალურ სვეტებზე ნორმალური, შებრუნებული და პოლარულ-ორგანული მოძრავი ფაზების გამოყენებით, ასევე მცირე რაოდენობა ჭიანჭველმჟავას დანამატებით.
3. სტაციონალური ფაზების ოპტიმიზაცია. კომერციულად ხელმისაწვდომი და ექსპერიმენტული სტაციონალური ფაზების გამოყენება, ერთი და იმავე ქირალური სელექტორის დაყოფის უნარის შედარებისათვის სხვადასხვა ტიპის სარჩულზე.
4. აპარატურის ოპტიმიზაცია. კერძოდ, ექსპერიმენტული ფორიანი ზედაპირის მქონე გლუვი სილიკაგელის სარჩულზე მომზადებული ქირალური სტაციონარული ფაზების გამოცდა ე.წ ზემდალ ეფექტური სითხური ქრომატოგრაფიაში, სადაც სამუშაო წნევების

მაქსიმუმი 1200 ბარია, ქრომატოგრაფიული სურათის
გასაუმჯობესებლად.

5. ენანტიომერების ელუირების რიგის დადგენა არარაცემული
ნიმუშებისთვის ენანტიომერების 2/1- თან თანაფარდობით.

4. შედეგები და მათი განსჯა

4.1. სუსტი მჟავა ბუნების მქონე ქირალური ენანტიომერების დაყოფა მაღალეფექტურ სითხურ ქრომატოგრაფიაში

შესწავლილი იქნა 26 ქირალური სუსტი მჟავა ბუნების მქონე (არილპროპიონის მჟავას და კარბოქსილის მჟავას) ნაწარმების ენანტიომერების დაყოფა (სკრინინგი) ელუირების რიგის დასადგენად შვიდ სხვადასხვა პოლისაქარიდულ ქირალურ სვეტზე მეთანოლი და აცეტონიტრილი მობილურ ფაზებში მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფიის გამოყენებით. ნიმუშების ანალიზისას გამოვიყენეთ მეთანოლისა და წყლის ექვსი კომბინაცია;

მეთანოლი/წყალი - 95/5 + 0.1%FA;

მეთანოლი/წყალი - 90/10 + 0.1%FA;

მეთანოლი/წყალი - 80/20 + 0.1%FA;

მეთანოლი/წყალი - 70/30 + 0.1%FA;

მეთანოლი/წყალი - 60/40 + 0.1%FA;

მეთანოლი/წყალი - 50/50 + 0.1%FA;)

აცეტონიტრილისა და წყლის ექვსი კომბინაცია ;

აცეტონიტრილი/წყალი - 95/5 + 0.1%FA;

აცეტონიტრილი/წყალი - 90/10 + 0.1%FA;

აცეტონიტრილი/წყალი - 80/20 + 0.1%FA;

აცეტონიტრილი/წყალი - 70/30 + 0.1%FA;

აცეტონიტრილი/წყალი - 60/40 + 0.1%FA;

აცეტონიტრილი/წყალი - 50/50 + 0.1%FA.

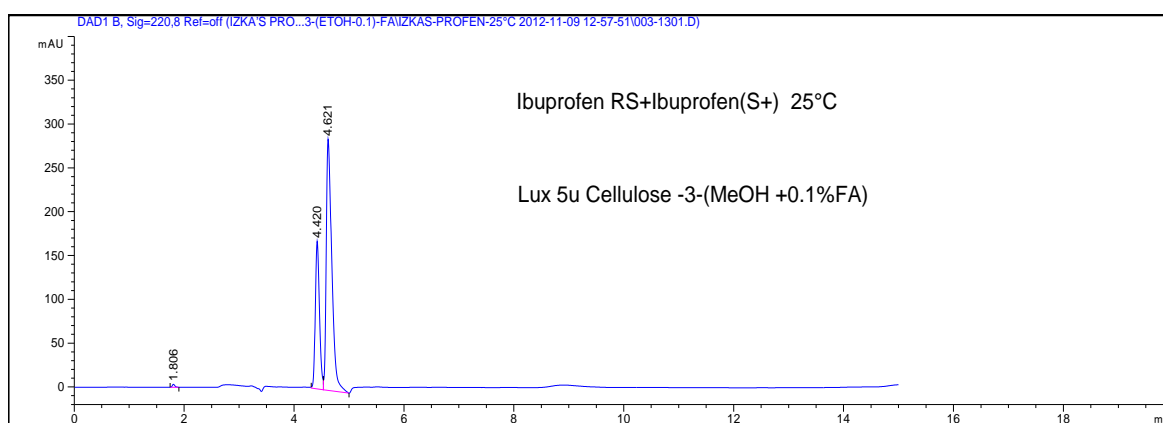
4.2. არილპროპიონის მჟავას ნაწარმების დაყოფა ნორმალურ-ფაზიან ქრომატოგრაფიაში. მობილური ფაზა მეთანოლი, ეთანოლი და აცეტონიტრილი

როგორც ცნობილია, პოლარულ ორგანულ გამხსნელებს ენანტიომერულ დაყოფაში აქვს ის უპირატესობა, რომ საანალიზო ნიმუშები ადვილად იხსნება ამ ფაზაში, მიიღება ვიწრო ქრომატოგრაფიული პიკები და ანალიზიც მიმდინარეობს მცირე დროში.

არილპროპიონის მჟავას ნაწარმები მჟავა ბუნების ნივთიერებებია . ქირალურ ქრომატოგრაფიაში არსებული გამოცდილებიდან გამომდინარე,

მათი დაყოფა უმჯობესია მოძრავ ფაზაში მჟავა დანამატის გამოყენებით. როგორც მოსალოდნელი იყო ელუენტზე დანამატმა -ჭიანჭველმჟავამ გააუმჯობესა დაყოფები. სკრინინგის მიმდინარეობისას ყველა შემთხვევაში მობილური ფაზა შეიცავდა 0.1% ჭიანჭველმჟავას.

26 ქირალური სუსტი მჟავა ბუნების მქონე (არილპროპიონის მჟავას და კარბოქსილის მჟავას) ნაწარმების ენანტიომერების დაყოფა (სკრინინგი) თავდაპირველად მიმდინარეობდა მოძრავი ფაზით მეთანოლი, ეთანოლი და აცეტონიტრილი, ხოლო შემდეგ თანდათანობით ხდებოდა მოძრავ ფაზაში მეთანოლის, ეთანოლის და აცეტონიტრილის შემცველობის შემცირება.

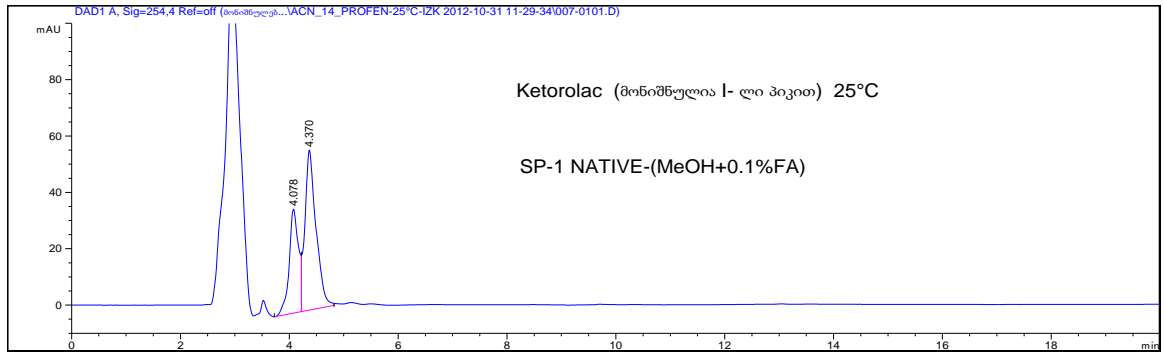


სურათი 20. იბუპროფენის დაყოფა ცელულოზა - 3 სვეტზე მოძრავ ფაზად მეთანოლის გამოყენებით. ყველა შემთხვევაში მობილური ფაზა შეიცავდა 0.1% ჭიანჭველმჟავას.

ენანტიომერების დაყოფას სუფთა მეთანოლში მხოლოდ რამდენიმე შემთხვევაში დაფიქსირდა, რომელიც შემცირდა წყლის დამატებით და მოძრავ ფაზაში წყლის საშუალო კონცენტრაციისას აღარ გამოვლენილა.

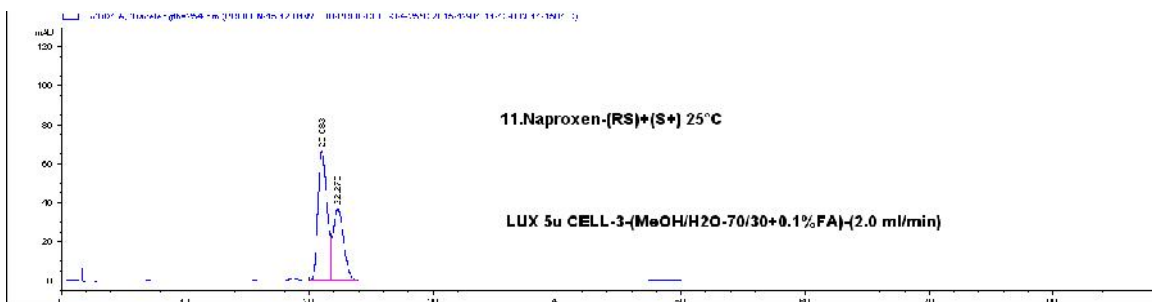
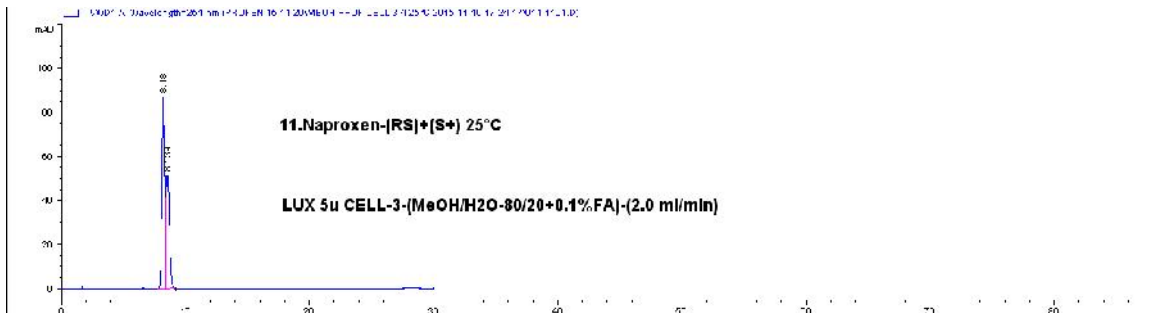
ნორმალურ ფაზაში სპირტული დანამატების გავლენით ელუირების თანმიმდევრობის ცვლილების მაგალითი დაფიქსირდა იბუპროფენისა (სურ.20), კეტოროლაკის (სურ.21) და ნუმის მჟავას ენანტიომერებისთვის. ამ შემთხვევაში სპირტების გავლენით ქირალური სელექტორი განიცდის შექცევად კონფორმაციულ ცვლილებას, რაც ენანტიომერების რიგის ცვლილების საფუძველია.

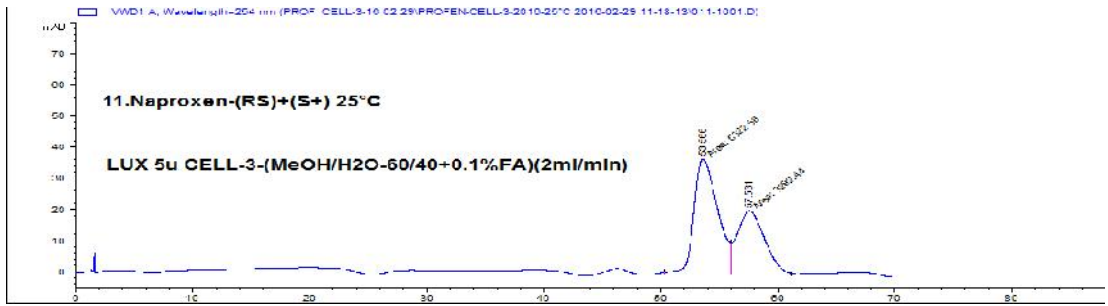
გარკვეული პირობების (ტემპერატურა) გავლენით, ქირალური სელექტორის თვისებები შესაძლოა ისე შეიცვალოს, რომ ქრომატოგრაფიული შეკავების დრო და სელექტიურობა არაპროგნოზირებადი იყოს.



სურათი 21. კეტოროლაკის დაყოფა ცელულოზა - 1 სვეტზე მოძრავ ფაზად მეთანოლის გამოყენებით. ყველა შემთხვევაში მობილური ფაზა შეიცავდა 0.1% ჭიანჭველმჟავას.

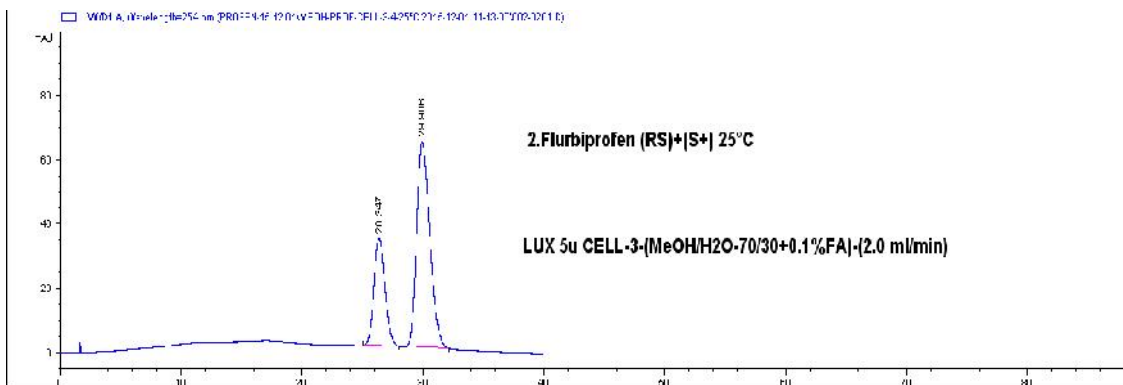
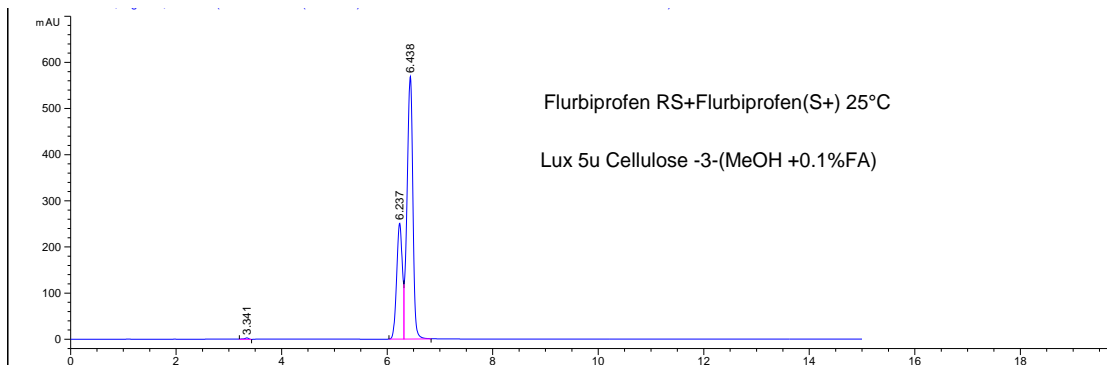
ასევე დაფიქსირებულია ენანტიომერების ელუირების თანმიმდევრობის ცვლილება სპირტის შემცველობაზე დამოკიდებულებით ნაპროქსენისთვის (სურ.22), ფლურბიპროფენისთვის (სურ.23) მის იმობილიზებულ ანალოგზე.

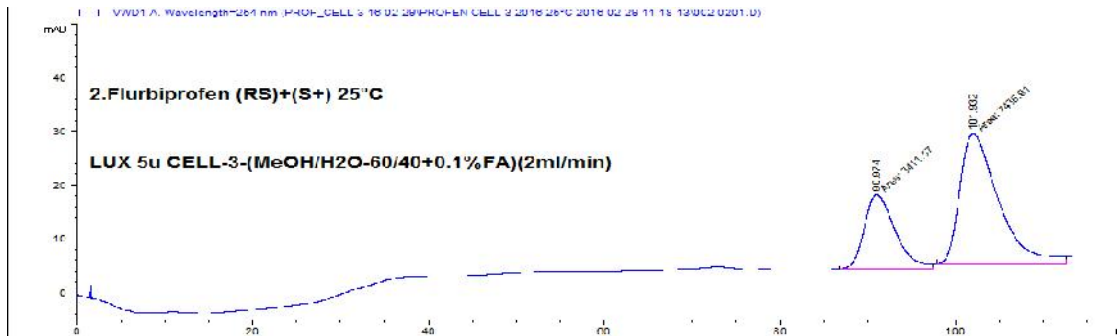




სურათი 22. ნაპროქსენის დაყოფა ცელულოზა - 3 სვეტზე მოძრავ ფაზად მეთანოლის გამოყენებით. ყველა შემთხვევაში მობილური ფაზა შეიცავდა 0.1% ჭიანჭველმჟავას.

აქედან გამოდინარე, მოძრავი ფაზის შედგენილობის, ან ტემპერატურის მცირე ცვლილებამ შესაძლოა გამოიწვიოს ერთი ან რამდენიმე ბმის სელექტიური ბლოკირება ქირალურ სელექტორის კონფორმაციული ცვლილების გარეშე.



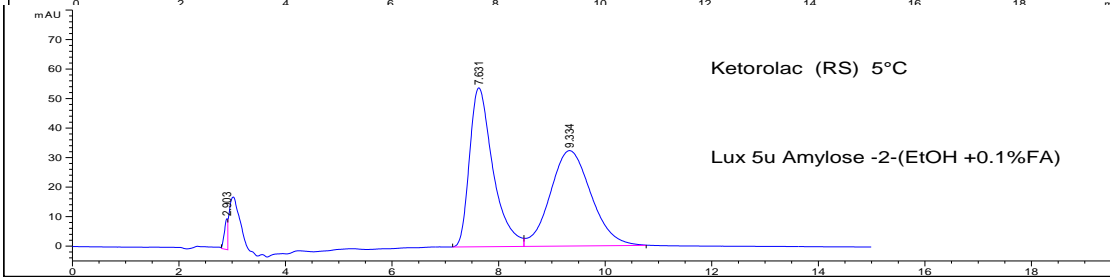
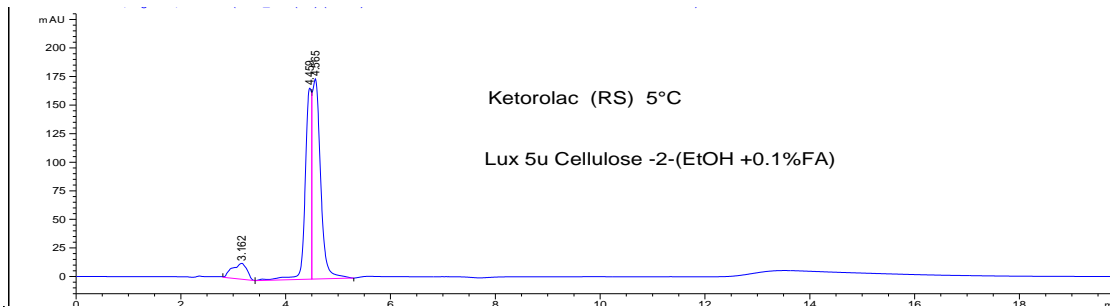
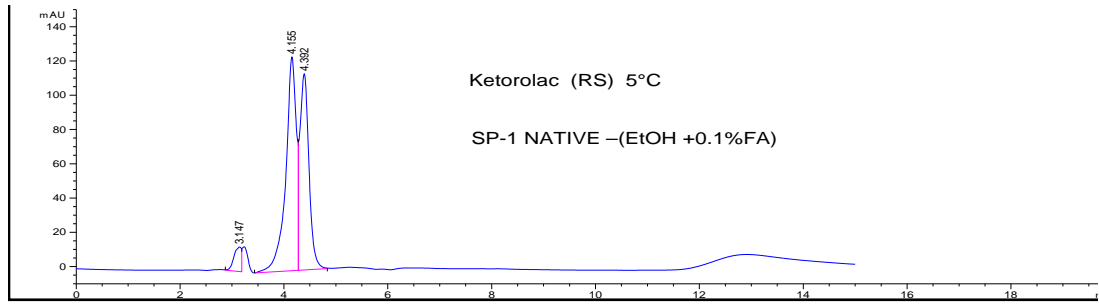


სურათი 23. ფლურბიპროფენის დაყოფა ცელულოზა - 3 სვეტზე მოძრავ ფაზად მეთანოლის გამოყენებით. ყველა შემთხვევაში მობილური ფაზა შეიცავდა 0.1% ჭიანჭველმჟავას.

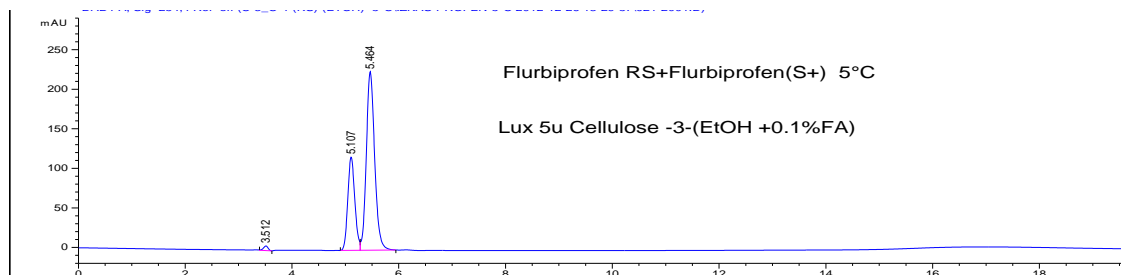
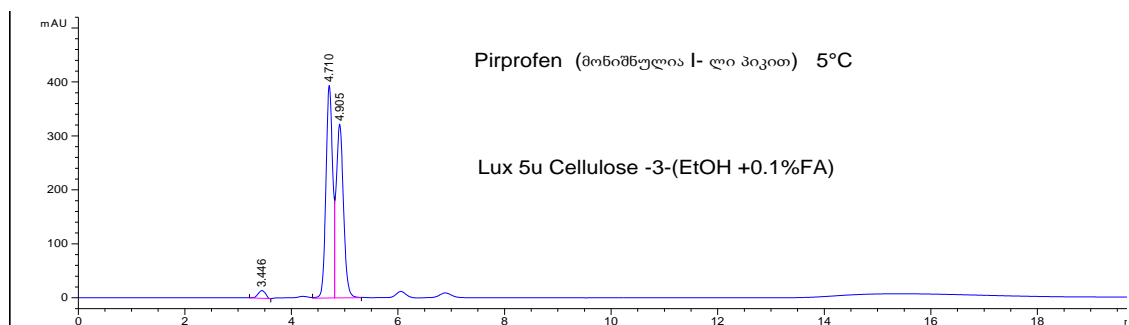
არილპროპიონის მჟავას ზოგიერთი ქირალური ნაწარმის ენანტიომერების ელუირების თანმიმდევრობის შეცვლა გამოიწვია ნახშირორჟანგის ფაზაში პოლარულმა სპირტულმა დანამატმა მეთანოლიდან გადასვლისას, როდესაც სვეტის ტემპერატურა იყო 30 °C.

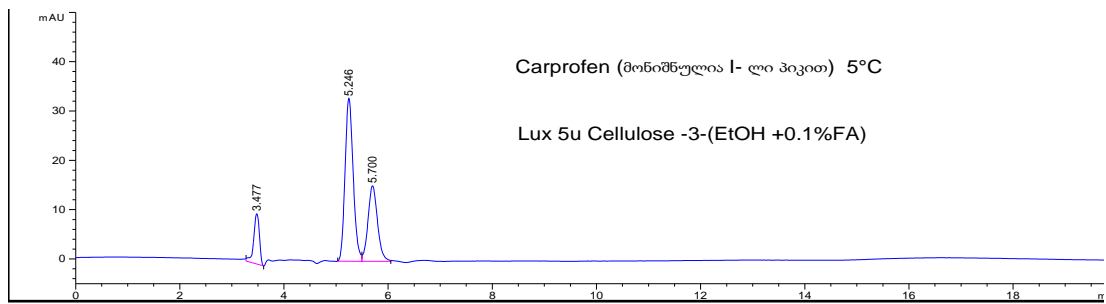
ენანტიომერების ელუირების თანმიმდევრობაზე გავლენას ახდენს არა მხოლოდ სპირტული მოდიფიკატორი, არამედ მისი რაოდენობა მოძრავ ფაზაში. რამდენადაც ეს უფრო ნატიფი ცვლილებაა (რაოდენობრივი და არა თვისობრივი), ამ ფენომენის მექანიზმის ახსნა ძალზე მნიშვნელოვანია ენანტიოსელექტიური მოლეკულათაშორისი ურთიერთქმედებების ნატიფი მექანიზმების ასახსნელად. ამ ტიპის ცვლილების პირველ მაგალითში მოძრავი ფაზა შეიცავდა მცირე რაოდენობით წყალს, ხოლო იგივე ეფექტი უწყლო ელუენტებით აღარ გამოვლინდა, რაც აიხსნა იმით, რომ ქირალური სელექტორი შეიცავს მინიმუმ ორი ტიპის ურთიერთქმედების ცენტრებს.

კვლევების შემდგომ ეტაპზე ნორმალურ ფაზაში მეთანოლი, ჩავანაცვლეთ ეთანოლით. განხორციელდა 26 ქირალური არილპროპიონის მჟავას ნაწარმების სკრინინგი შვიდივე ქირალურ პოლისაქარიდულ სვეტზე. ზოგიერთი ენანტიომერის დაყოფის ქრომატოგრამები სხვადასხვა ქირალურ პოლისაქარიდულ სვეტებზე.

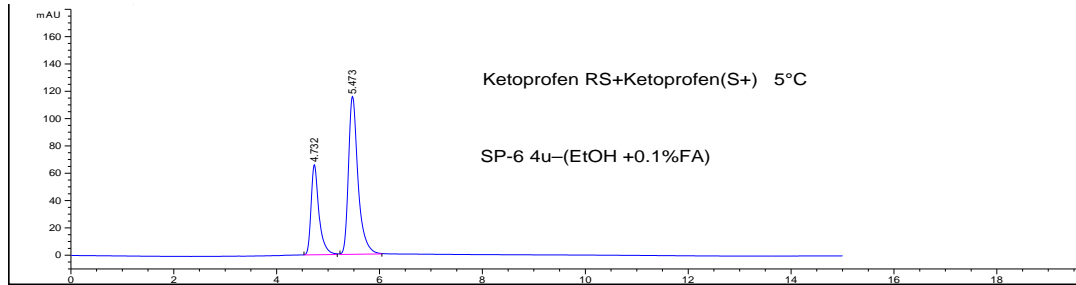
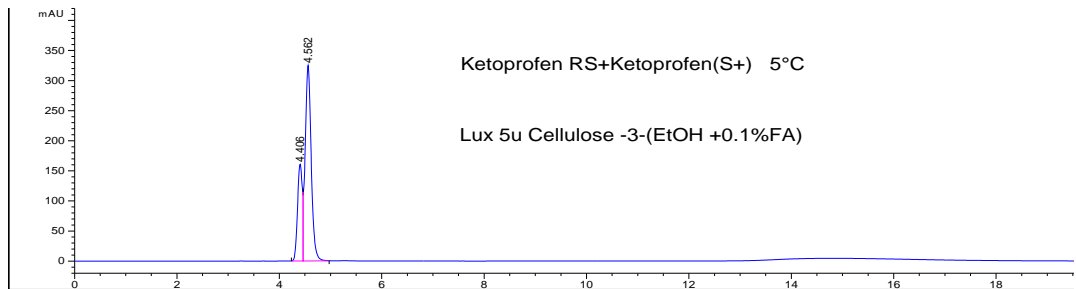


სურათი 24 . კეტოროლაკის დაყოფა Lux- ამილოზა - 1 და Lux ცელულოზა - 2 სვეტზე, Lux ამილოზა - 2 სვეტზე , მოძრავ ფაზად ეთანოლის გამოყენებით. ყველა შემთხვევაში მოზილური ფაზა შეიცავდა 0.1% ჭიანჭველმჟავას.



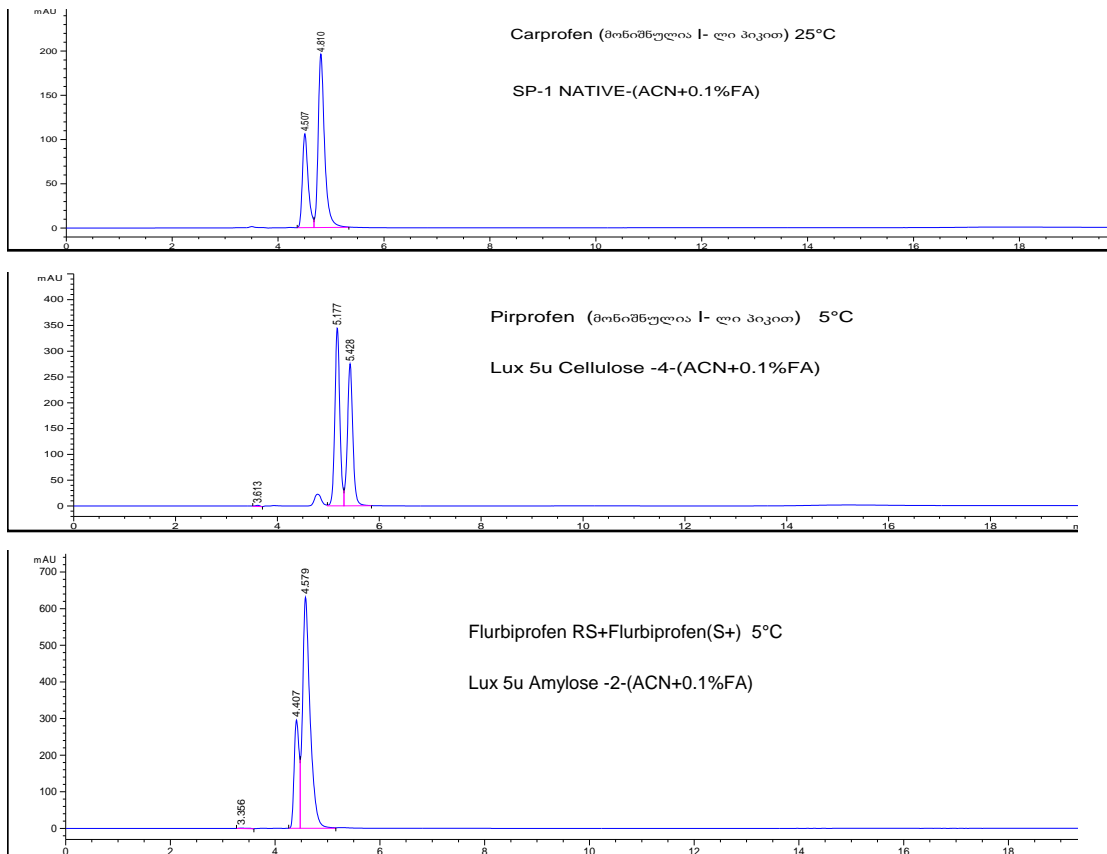


სურათი 25. კარპროფენის, ფლურბიპროფენის, და პირპროფენის დაყოფა Lux ცელულოზა - 3 სვეტზე,სვეტზე,მოდრავ ფაზად ეთანოლის გამოყენებით. ყველა შემთხვევაში მობილური ფაზა შეიცავდა 0.1% ჭიანჭველმჟავას.



სურათი 26. კეტოპროფენის დაყოფა Lux ამილოზა - 1 სვეტზე, Lux ცელულოზა - 3 სვეტზე,მოდრავ ფაზად ეთანოლის გამოყენებით. ყველა შემთხვევაში მობილური ფაზა შეიცავდა 0.1% ჭიანჭველმჟავას.

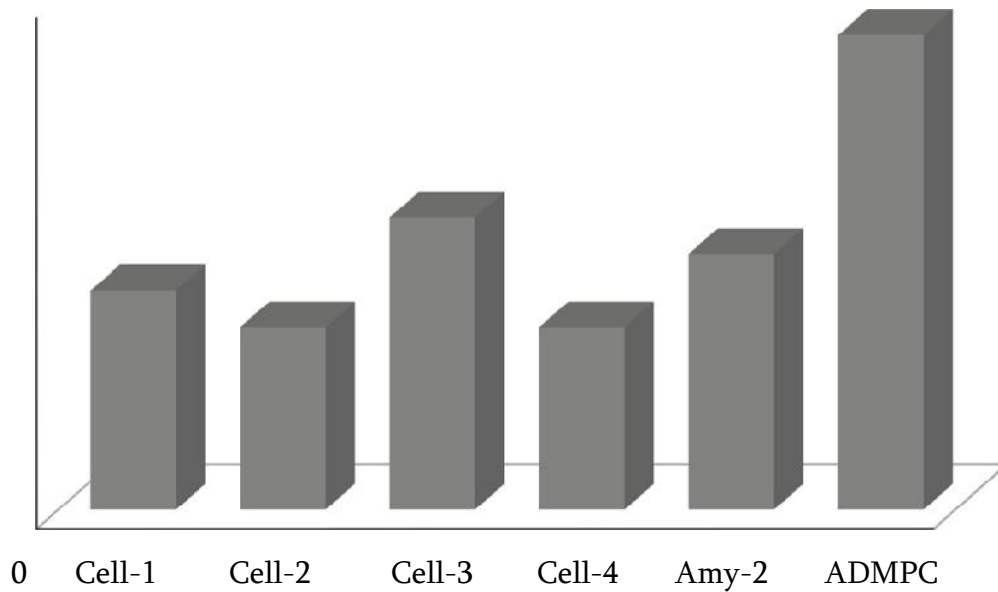
კვლევების შემდგომ ეტაპზე ნორმალურ ფაზაში მეთანოლი, ჩავანაცვლეთ ეთანოლით. განხორციელდა 26 ქირალური არილპროპიონის მჟავას ნაწარმების სკრინინგი შვიდივე ქირალურ პოლისაქარიდულ სვეტზე. ზოგიერთი ენანტიომერის დაყოფის ქრომატოგრამები სხვადასხვა ქირალურ პოლისაქარიდულ სვეტზე მოცემულია სურ.27- ზე.



სურათი 27. კარპროფენის დაყოფა Lux ცელულოზა - 1 სვეტზე, პირპროფენის დაყოფა Lux ცელულოზა - 4 სვეტზე, ფლურბიპროფენის დაყოფა Lux ამილოზა - 2 სვეტზე მოძრავ ფაზად აცეტონიტრილის გამოყენებით. ყველა შემთხვევაში მობილური ფაზა შეიცავდა 0.1% ჭიანჭველმჟავას.

ნორმალურ ფაზაში აცეტონიტრილით სკრინინგისას გაუმჯობესდა ენანტიომერების დაყოფა, მაგრამ უმრავლეს შემთხვევაში გაიზარდა ანალიზის დრო. ცელულოზა - 1 სვეტზე კარპროფენის, ცელულოზა - 4 სვეტზე პირპროფენის და ამილოზა - 2 სვეტზე.

შვიდ სხვადასხვა პოლისაქარიდული ქირალის სვეტზე სამი განსხვავებული პოლარულ-ორგანულ მოძრავი ფაზით (მეთანოლი, ეთანოლი და აცეტონიტრილი) 26 ქირალური სუსტი მჟავა ბუნების ენანტიომერების დაყოფის ექსპერიმენტების შედეგები მოცემულია სურ.28 - ზე.

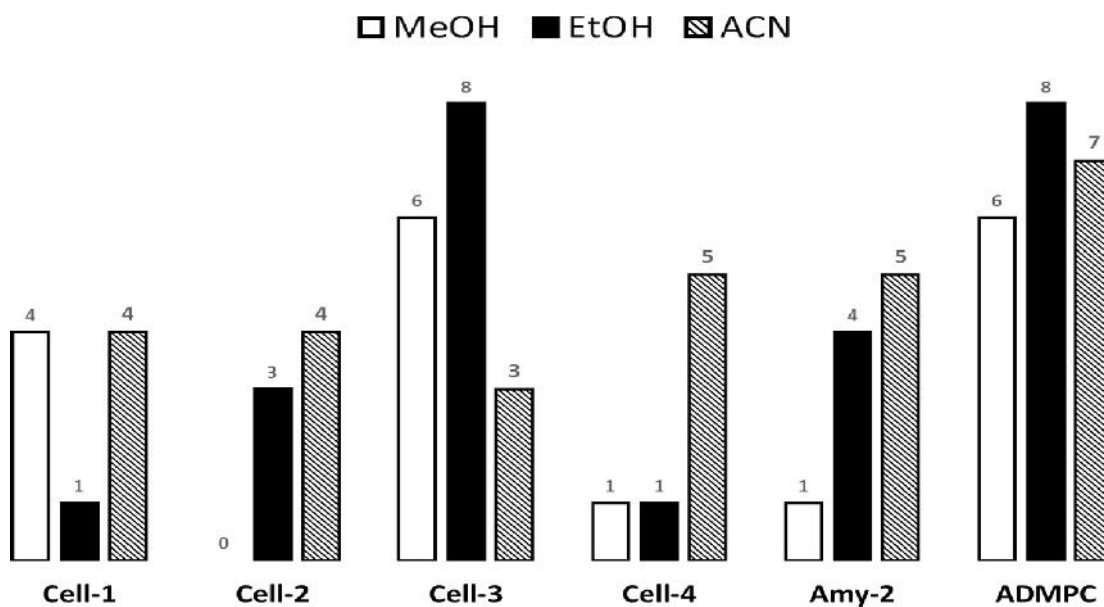


სურათი 28. კუმულაციური ეფექტურობის მაჩვენებლის მიღება სხვადასხვა ქირალურ სვეტით სამ პოლარულ-ორგანულ მოძრავ ფაზაში. ყველა შემთხვევაში მობილური ფაზა შეიცავდა 0.1% ჭიანჭველმჟავას.

აღნიშნული შედეგებისა და ყველა 26 ანალიტის, 3 ელუიტისა და ენანტიომერების ფუძისეული და ნაწილობრივი დაყოფის გათვალისწინებით ყველაზე წარმატებულ ქირალურ სვეტად მიჩნეულია ექსპერიმენტული სვეტი Lux ამილოზა ტრის (3,5-დიმეთილფენილკარბამატი) (ADMPC). ამ სვეტზე უზრუნველყოფილ იქნა ენანტიომერების ნაწილობრივი ან ფუძისეული დაყოფა 13-14 ქირალურ ანალიტებად სამივე მოძრავ ფაზაში ერთობლივად. ექვსი გამოკვლეული სვეტის წარმატების მაჩვენებლების მიხედვით, მათი თანმიმდებობა გამოიყურება შემდგენაირად: Lux ამილოზა ტრის (3,5-დიმეთილფენილკარბამატი (ADMPC), Lux ცელულოზა - 3, Lux ამილოზა - 2, Lux ცელულოზა - 1, Lux ცელულოზა - 2, Lux ცელულოზა - 4 (სურ.29).

მოძრავი ფაზების მეთანოლის დროს ქირალურმა სვეტმა Lux ცელულოზა - 3 - მაც ასეთვე კარგი შედეგები აჩვენა, მაგრამ მობილურ ფაზა აცეტონიტრილში (ACN) ნაკლებად წარმატებული აღმოჩნდა. აღსანიშნავია ისიც, რომ ამ კონკრეტული პოლარულ-ორგანული მობილური ფაზის პირობებში, ქირალური დაყოფა ამილოზას პოლისაქარიდული ქირალური სტაციონალური სვეტზე უკეთესად წარიმართა, ვიდრე

ცელულოზას ფენილ კარბამატებში. ზოგადად ზოგიერთი კონკრეტული ქირალური ენანტიომერის დაყოფისთვის აცეტონიტრილი აღმოჩნდა უფრო წარმატებული. 84 შესაძლო კომბინაციიდან 28 წარმატებული სეპარაციის შედეგით (14 ქირალური, 4 ანალიტი, 6 ქირალური მწკრივი) ეთანოლსა (EtOH; 25 დაშლა) და მეთანოლთან (MeOH; 18 დაშლა) შედარებით.



სურათი 29. სხვადასხვა მობილური ფაზის ეფექტურობის მაჩვენებლები სხვადასხვა ქირალურ სვეტებზე. ყველა შემთხვევაში მობილური ფაზა შეიცავდა 0.1% ჭიანჭველმჟავას.

შესწავლილი არილპროპიონის მჟავას ზოგიერთი ქირალური ნაწარმის ენანტიომერების დაყოფა პოლარულ-ორგანულ ფაზაში, სკრინინგის შედეგები მოცემულია ცხრილ 2-4 - ში, როდესაც მოძრავ ფაზად ვიყენებდით როგორც მეთანოლს, ასევე ეთანოლსა და აცეტონიტრილს. ყველა შემთხვევაში მობილური ფაზა შეიცავდა 0.1% ჭიანჭველმჟავას. კვლევების შემდგომ ეტაპზე ვახდენდით დაყოფილი რაციმატების ენანტიომერების შეგროვებას და მონიშვნას 2/1-თან თანაფარდობით.

ცხრილი 2 .ქირალური სელექტორების და მოძრავი ფაზების სკრინინგი. სკრინინგის შედეგები მოცემულია ცხრილში
(მეთანოლი მოძრავი ფაზა)

რაცემატი	Lux Cellulose-1			Lux Cellulose-2			Lux Cellulose-3			Lux Cellulose-4			Lux Amylose-1			Lux Amylose-2		
	K ₁	α	Rs	K ₁	α	Rs	K ₁	α	Rs	K ₁	α	Rs	K ₁	α	Rs	K ₁	α	Rs
Carprofen	7.03	1.00	0	0.58	1.00	0	0.92	1.00	0	1.58	1.00	0	1.88	1.1	2.86	1.75	1.00	0
Fenoprofen- Calcium	0.55	1.00	0	1.16	1.00	0	1.53	1.00	0	0.99	1.00	0	1.47	1.00	0	0.97	1.00	0
Flurbiprofen	8.81	1.00	0	0.71	1.00	0	0.87	1.03	1.73	0.81	1.00	0	1.03	1.09	3.44	0.66	1.00	0
Ibuprofen	5.37	1.00	0	0.37	1.00	0	1.45	1.05	2.14	0.38	1.00	0	0.50	1.00	0	0.24	1.00	0
Indoprofen	11.68	1.00	0	1.31	1.00	0	0.99	1.00	0	1.40	1.00	0	1.92	1.12	3.92	1.18	1.00	0
Ketoprofen	8.91	1.00	0	0.86	1.00	0	0.78	1.00	0	0.10	1.00	0	1.11	1.00	0	0.83	1.00	0
Ketorolac	22.87	1.00	0	2.79	1.00	0	2.38	1.23	3.44	5.14	1.00	0	5.79	1.04	1.87	2.26	0.03	1.39
Naproxen	18.92	1.00	0	0.71	1.00	0	1.03	1.00	0	0.80	1.00	0	1.11	1.00	0	0.69	1.00	0
Pirprofen	7.85	1.00	0	0.82	1.00	0	0.70	1.00	0	0.88	1.00	0	0.99	1.03	1.26	0.47	1.00	0
Surprofen	10.31	1.00	0	1.07	1.00	0	0.91	1.11	5.54	1.18	1.00	0	1.37	1.06	2.48	0.24	1.00	0

ცხრილი 3. ქირალური სელექტორების და მოძრავი ფაზების სკრინინგი. სკრინინგის შედეგები მოცემულია ცხრილში (ეთანოლი მოძრავი ფაზა)

რაცემატი	Lux Cellulose-1			Lux Cellulose-2			Lux Cellulose-3			Lux Cellulose-4			Lux Amylose-1			Lux Amylose-2		
	K ₁	α	Rs	K ₁	α	Rs	K ₁	α	Rs	K ₁	α	Rs	K ₁	α	Rs	K ₁	α	Rs
Carprofen	1.64	1.00	0	0.04	1.00	0	0.30	1.06	1.99	0.11	1.00	0	0.13	1.00	0	0.14	1.00	0
Fenopropfen-Calcium	1.51	1.00	0	0.60	1.00	0	0.03	1.00	0	0.47	1.04	0.76	0.09	1.00	0	0.22	1.05	0.95
Flurbiprofen	1.97	1.00	0	0.14	1.00	0	0.22	1.03	1.29	0.06	1.00	0	0.07	1.00	0	0.09	1.00	0
Ibuprofen	1.77	1.00	0	0.06	1.00	0	0.06	1.00	0	0.08	1.00	0	0.06	1.00	0	0.08	1.00	0
Indoprofen	3.10	1.00	0	0.42	1.00	0	0.37	1.00	0	0.41	1.00	0	0.32	1.00	0	0.96	1.00	0
Ketoprofen	2.28	1.00	0	0.21	1.00	0	0.23	1.02	1.19	0.14	1.00	0	0.07	1.00	0	0.40	0.06	1.76
Ketorolac	3.71	1.00	0	0.33	1.66	11.35	1.17	1.29	7.68	0.92	1.00	0	0.18	1.05	1.28	1.34	1.57	10.42
Naproxen	2.09	1.00	0	0.13	1.00	0	0.56	1.00	0	0.11	1.00	0	0.21	1.00	0	0.19	1.00	0
Pirprofen	2.13	1.00	0	0.14	1.00	0	0.19	1.03	1.20	0.12	1.00	0	0.21	1.00	0	0.17	1.00	0
Surprofen	2.48	1.00	0	0.28	1.00	0	0.23	1.11	3.80	0.18	1.00	0	0.10	1.00	0	0.49	1.14	4.08

ეთანოლი

ცხრილი 4. ქირალური სელექტორების და მოძრავი ფაზების სკრინინგი სკრინინგის შედეგები მოცემულია ცხრილში (ACN მოძრავი ფაზა)

რაცემატი	Lux Cellulose-1			Lux Cellulose-2			Lux Cellulose-3			Lux Cellulose-4			Lux Amylose-1			Lux Amylose-2		
	K ₁	α	Rs	K ₁	α	Rs	K ₁	α	Rs	K ₁	α	Rs	K ₁	α	Rs	K ₁	α	Rs
Carprofen	0.51	1.00	0	0.88	1.00	0	0.70	1.00	0	0.89	1.00	0	1.76	1.21	5.78	0.88	1.00	0
Fenoprofen-Calcium	0.28	1.00	0	0.35	1.00	0	0.35	1.00	0	0.52	1.00	0	0.63	1.00	0	0.35	1.00	0
Flurbiprofen	0.33	1.00	0	0.43	1.03	1.06	0.36	1.00	0	0.57	1.00	0	0.881	1.051	2.01	0.43	1.03	1.06
Ibuprofen	0.18	1.00	0	0.27	1.00	0	0.26	1.00	0	0.47	1.00	0	0.64	1.00	0	0.27	1.00	0
Indoprofen	1.32	1.00	0	1.39	1.00	0	0.49	1.00	0	1.58	1.00	0	1.95	1.04	1.44	1.39	1.00	0
Ketoprofen	0.41	1.00	0	0.53	1.00	0	0.35	1.00	0	0.71	1.00	0	0.77	1.00	0	0.53	1.00	0
Ketorolac	1.65	1.00	0	1.43	1.36	9.40	0.86	1.00	0	1.92	1.00	0	1.23	1.27	8.26	1.43	1.36	9.40
Naproxen	0.35	1.00	0	0.43	1.00	0	0.34	1.03	1.46	0.30	1.00	0	0.35	1.03	1.28	0.43	1.00	0
Pirprofen	0.42	1.00	0	0.50	1.00	0	0.37	1.00	0	0.41	0.03	1.24	0.84	1.00	0	0.50	1.00	0
Surprofen	0.64	1.00	0	0.71	1.13	4.24	0.43	1.00	0	0.45	1.05	2.34	1.93	1.00	0	0.71	1.13	4.24

აგეტონიტრილი

4.3. მეთანოლიდან წყლიან - მეთანოლ მობილურ ფაზაზე გადასვლა

პოლისაქარიდზე დაფუძნებული ქირალური სტაციონალური ფაზის ორმაგი ქმედების, საანალიზო ნივთიერების შეკავებასა და მისი ენანტიომერების დაყოფაში წყალბადური ბმის და ჰიდროფობური ურთიერთქმედების როლის დასადგენად, შესწავლილი იქნა 26 ქირალური ნაწარმის ენანტიოსელექტური ანალიზის მეთოდების შექმნა დამუშავება და ენენტიომერების დაყოფაში პოლარულ-ორგანულ მოძრავი ფაზიდან წყლიან-ორგანულ ფაზაზე თანმიმდევრული გადასვლის გავლენა სითხურ ქრომატოგრაფიაში.

ნიმუშების ანალიზისას გამოვიყენეთ მეთანოლისა და წყლის ექვსი კომბინაცია :

ფაზა:

(MeOH+0.1%FA)

(MeOH/H₂O-95/5+0.1%FA)

(MeOH/H₂O-90/10+0.1%FA)

(MeOH/H₂O-80/20+0.1%FA)

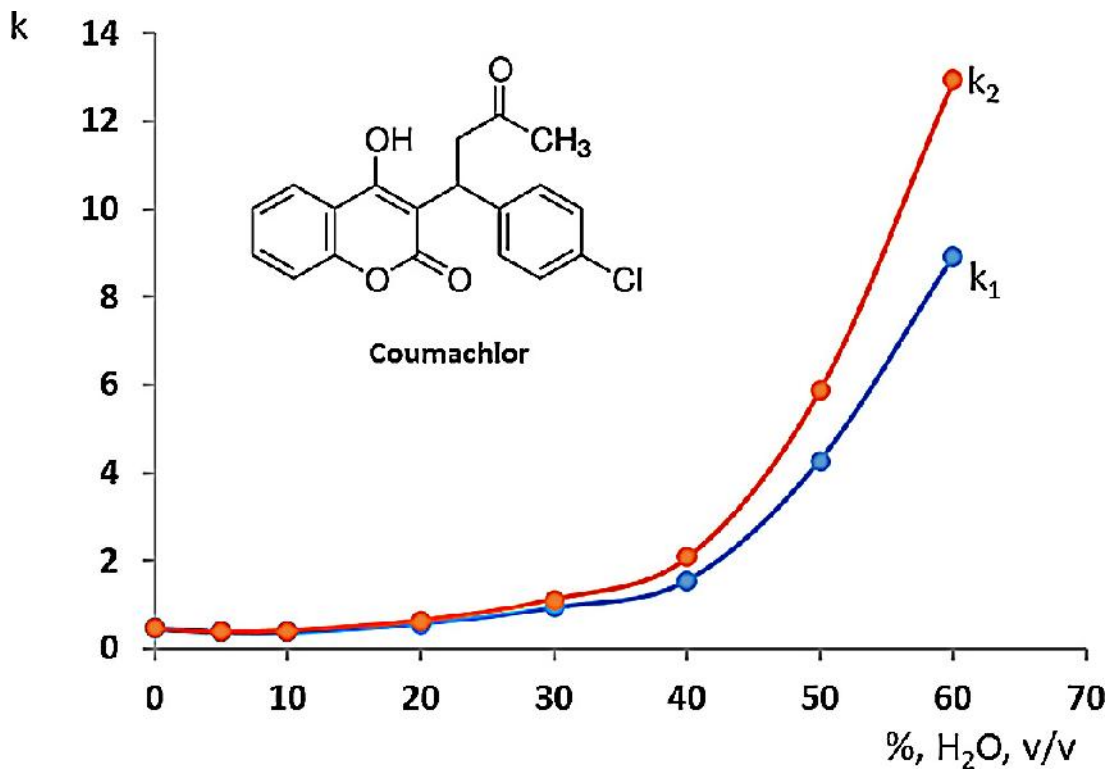
(MeOH/H₂O-70/30+0.1%FA)

(MeOH/H₂O-60/30+0.1%FA)

(MeOH/H₂O-50/50+0.1%FA)

მეთანოლს, როგორც პროტონურ გამხსნელს, შეუძლია შევიდეს ურთიერთქმედებაში როგორც ქირალურ სელექტორთან, ასევე ქირალურ საანალიზო ნივთიერებასთან და მონაწილეობდეს წყალბადური ბმების წარმოქმნაში. უმეტეს შემთხვევებში როდესაც მეთანოლს ემატება წყალი იგი გამოიყენება მობილური ფაზის სახით და არ არის მოსალოდნელი წყალბადური ბმების ურთიერთკავშირის წარმოშობა ან მკვეთრი შემცირება. ჰიდროფობური ურთიერთქმედებები ძლიერდება მოძრავ ფაზაში წყლის

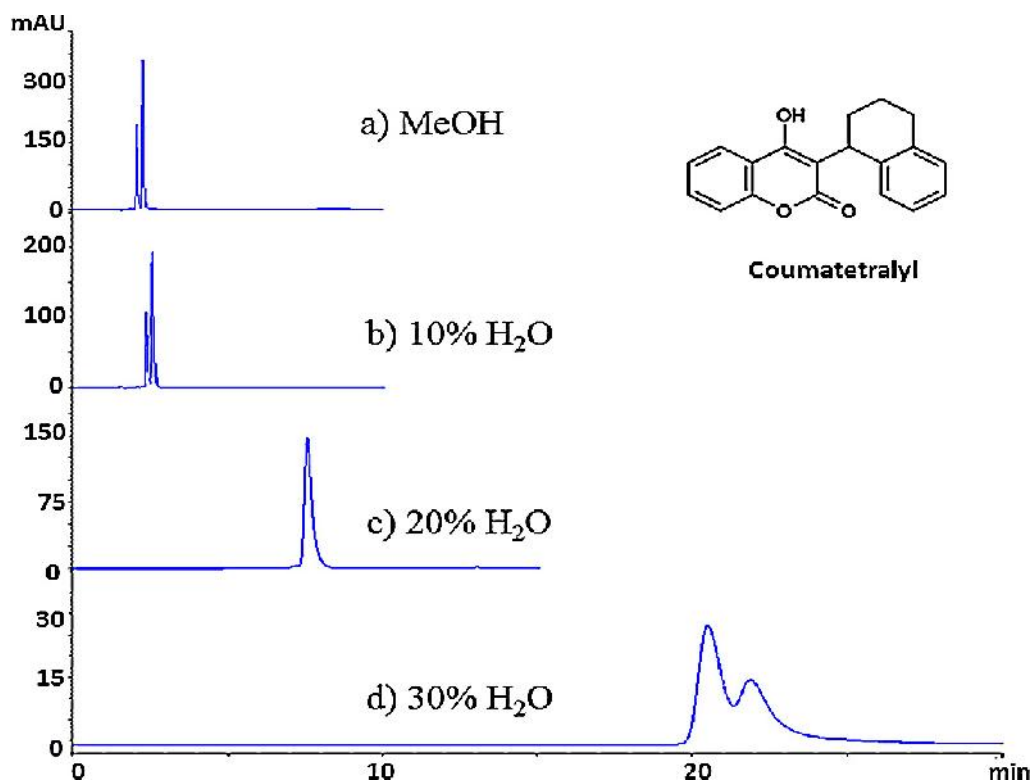
შემცველობის ზრდასთან ერთად, რაც საბოლოოდ იწვევს საანალიზო ნივთიერებების შეკავების ზრდას. გაიზრდება თუ არა შეკავების შედეგები საუკეთესო ენანტიომეროლოგია უმეტესწილად დამოკიდებული იქნება თეორიული თეფშების რაოდენობის წინააღმდეგობრივ, გამანეიტრალებელ ეფექტებზე (ძირითადად შემცირდება) და დაშლის ფაქტორებზე (ძირითადად გაიზრდება).



სურათი. 30. კოუმაქლორის ენანტიომერების მეთანოლში წყლის შემცველობაზე დამყარებული შეკავების დროის დამოკიდებულება Lux ცელულოზა - 3 სვეტზე

ქირალური საანალიზო ნივთიერებების და ქირალური სვეტების ყველა 182 კომბინაციაში (26 ქირალური ნივთიერება 7 ქირალური სვეტი) შეკავების ფაქტორები გაიზარდა მოძრავ ფაზაზე წყლის დამატების შემდგომ (მოცულობით, 5% v/v). სურ. 31- ზე ნაჩვენებია ტიპური ქცევა Lux ცელულოზა - 3 ქირალურ სვეტზე კოუმაქლორის შემთხვევაში.

მრუდების გაყოფა ხდება მოძრავ ფაზაში წყლის მაღალი შემცველობისას, რაც ძირითადად ადასტურებს ენანტიომერების დაყოფის დაწყებას. მობილურ ფაზაში წყლის მოცულობის გაზრდით, ნიმუშის შეკავებასა და ენანტიოსეპარაციაში ჰიდროფობური ურთიერთქმედების წვლილი იზრდება. ქირალურ სელექტორთან ერთი ან მეორე ენანტიომერის ბმა შესაძლებელია ვეღარ აღდგეს, არ შებრუნდეს, რასაც ხელს უწყობს სელექტორის შერჩევასა და ურთიერთქმედებაში და ენანტიოსელექტიური ამოცნობის დროს სხვადასხვა ძალების შეცვლილი ზემოქმედება.



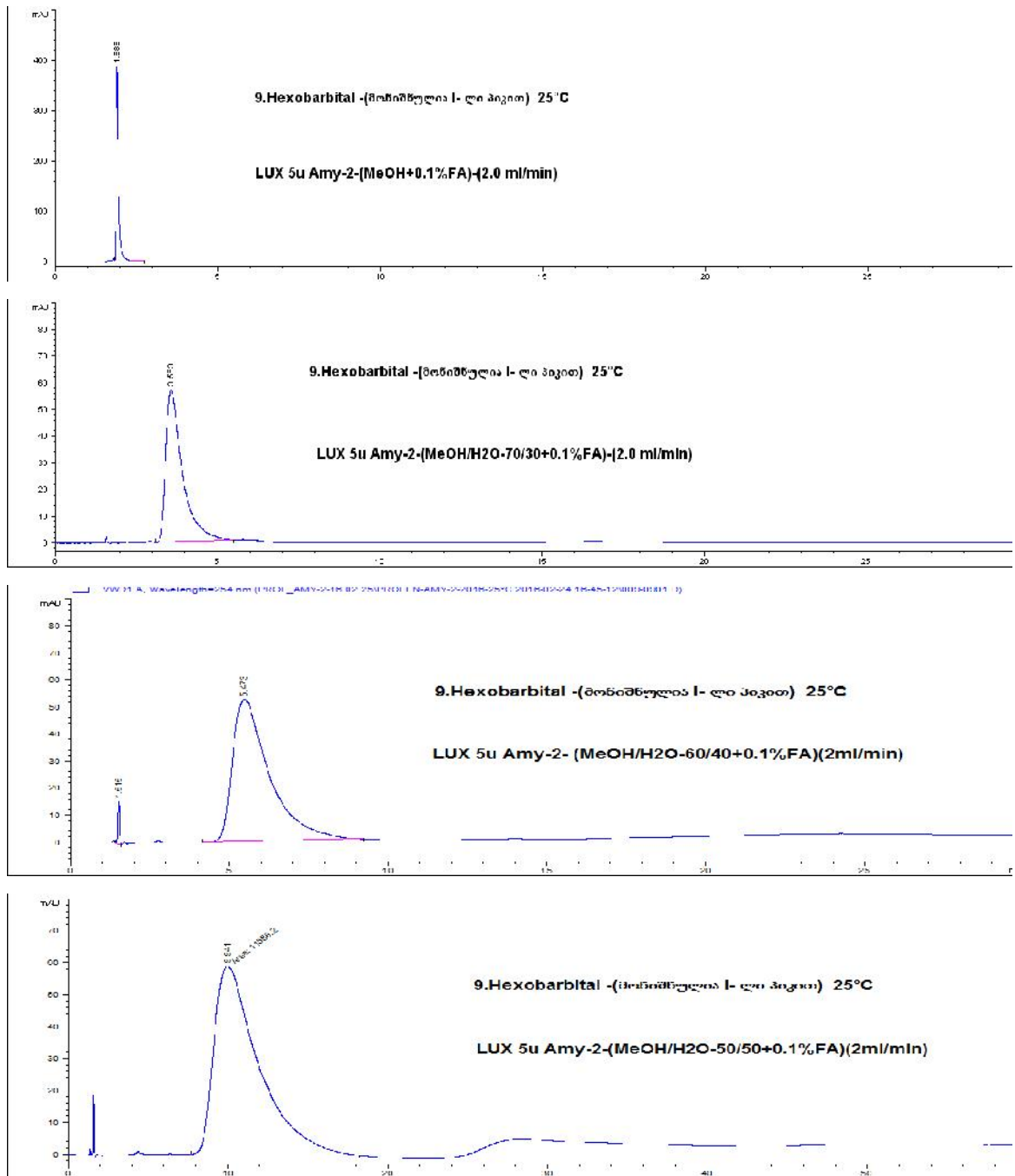
სურათი 31. კომატეტრალის ენანტიომერების დაყოფა Lux ცელულოზა - 1 - ის სვეტზე: (a) მეთანოლი, (b) წყალ-მეთანოლი (90-10, v/v), (c) წყალ-მეთანოლი (80-20,v/v) და (d) წყალ-მეთანოლი (70-30,v/v) როგორც მობილური ფაზები. ყველა შემთხვევაში მობილური ფაზა მოიცავდა 0.1% ჭიანჭველის მჟავას.

ქირალური ამოცნობის მოდელი (ენანტიომერების სწრაფვა ქირალის სელექტორთან ბმისთვის), რომელიც ემყარება წყალბადური ბმების ან სხვა პოლარული ურთიერთქმედებებს, მობილურ ფაზაში წყლის დაბალი შემცველობის ან მისი არარსებობის შემთხვევაში, შესაძლებელია

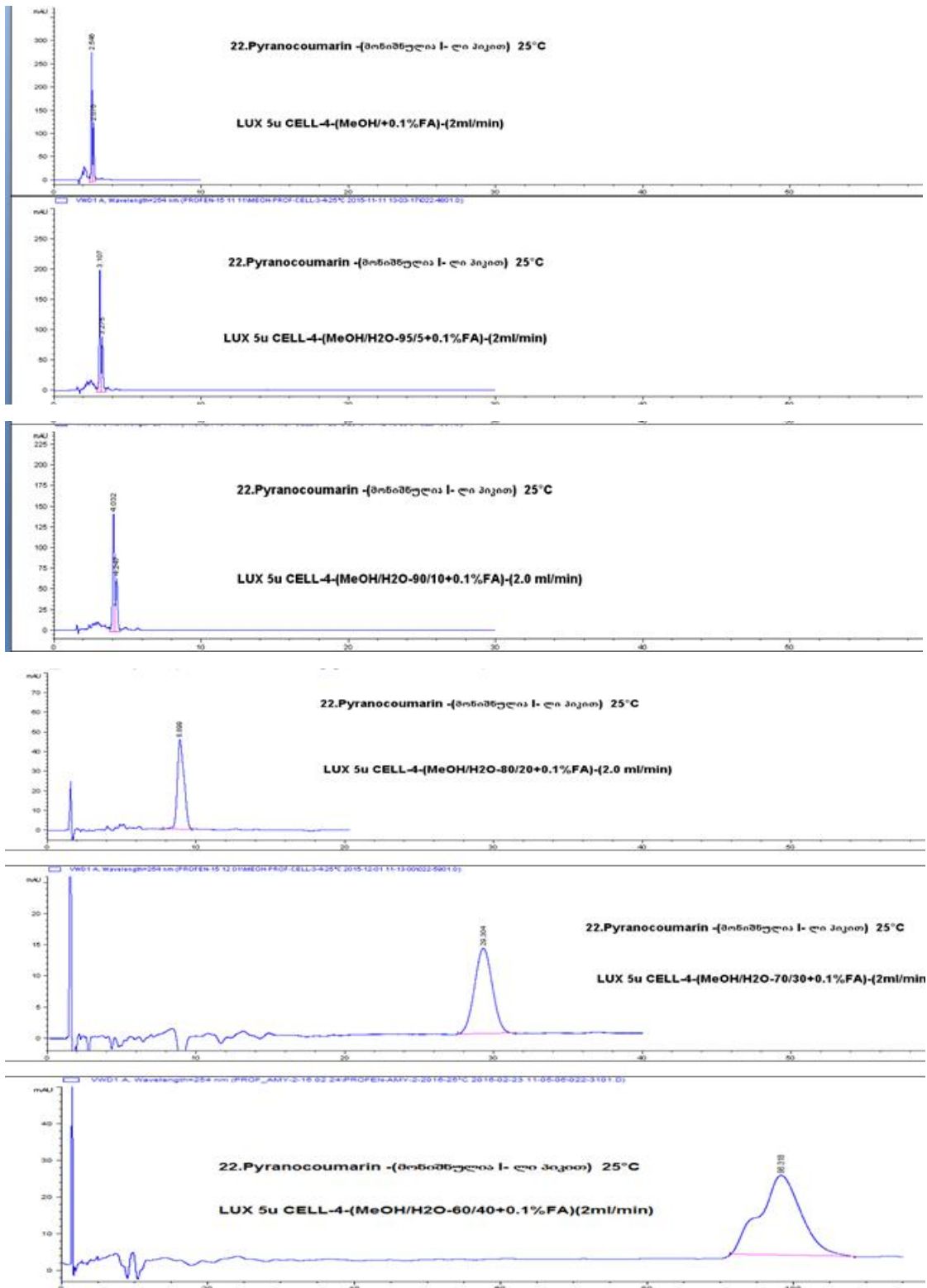
დაემსგავსოს ჰიდროფობურ ურთიერთქმედებებზე დამყარებულ ბმის მოდელს, რომელიც მობილურ ფაზაში წყლის მაღალი კონცენტრაციისას ძლიერდება. ასეთ შემთხვევებში ენანტიომერის ელუირების თანმიმდევრობის შებრუნება არ არის მოსალოდნელი, რაც მობილურ ფაზაში წყლის შემცველობითაა გამოწვეული. მხოლოდ იმ შემთხვევაშია, შესაძლებელი გამოვლინდეს ენანტიომერების ელუციური წყობის შებრუნება, როდესაც ენანტიომერის სწრაფვის მოდელი დამოკიდებულია ზემოთ აღნიშნული ორი განსხვავებული ჯგუფის (პოლარული და ჰიდროფობური) ურთიერთქმედებაზე, ეს ურთიერთქმედება ერთმანეთის საპირისპიროა.

მოდრავ ფაზაში წყლის შემცველობის ზრდისას საინტერესო შედეგები დაფიქსირდა ენანტიომერების დაყოფისას, მეთანოლის მოძრავ ფაზაში წყლის შემცველობის 20%-მდე ზრდისას, ადგილი ჰქონდა ჰიდროფილური ურთიერთქმედების ქრომატოგრაფიის (HILIC) მსგავს სურათს. ანუ წყლის შემცველობის ზრდისას, მცირდებოდა ენანტიომერების შეკავების დრო, ხოლო წყლის შემცველობის 20% ზე მაღლა ზრდისას, პროცესი გაგრძელდა სტანდარტული შებრუნებულ ფაზიანი ქრომატოგრაფიის მექანიზმით, ანუ წყლის შემცველობის ზრდა ფაზაში იწვევდა ენანტიომერების შეკავების დროის ზრდას.

მობილურ ფაზაში წყლის შემცველობის გაზრდის დროს ენანტიომერების ელუირების რიგის შებრუნების საინტერესო მაგალითია - კოუმატეტრალის Lux ცელულოზა - 1 (სურ. 31.) და ჰექსობარბიტალი Lux ამილოზა - 2 სვეტზე (სურ. 33.) და პირანაკუმი Lux ცელულოზა - 4 -ზე (სურ.32).

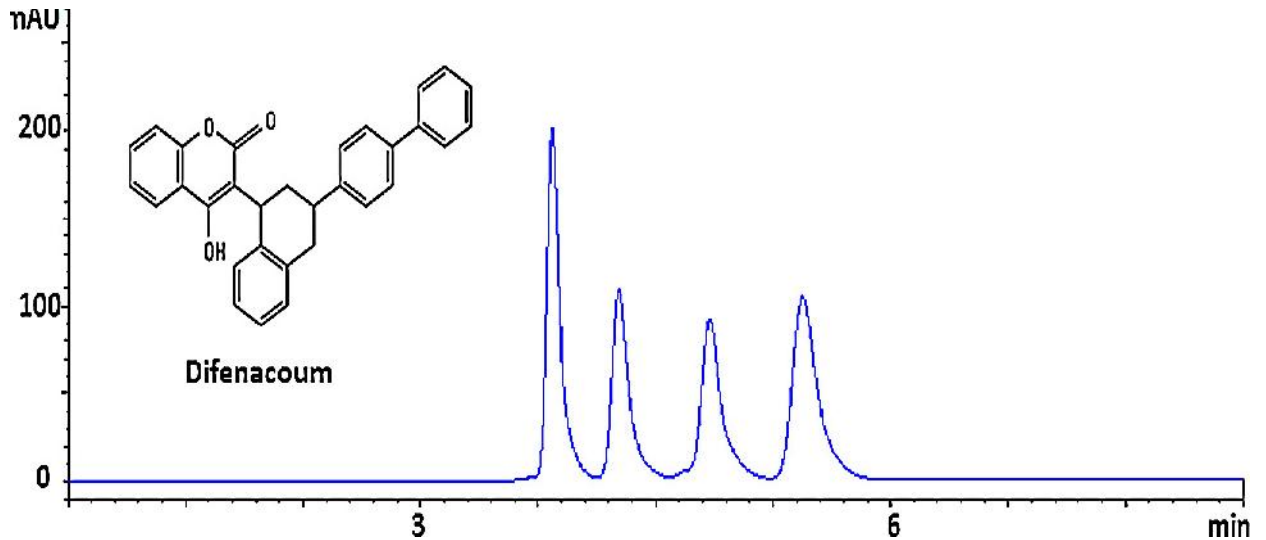


სურათი 32. ჰექსობარბიტალის ენანტიომერების დაყოფა Lux ამილოზა-2-ის სვეტზე. (a) მეთანოლი, (b) წყალ-მეთანოლი (70-30, v/v), (c) წყალ-მეთანოლი (60-40,v/v) და (d) წყალ-მეთანოლი (50-50,v/v) როგორც მობილური ფაზები.ყველა შემთხვევაში მობილური ფაზა მოიცავდა 0.1% ჭიანჭველის მჟავას.



სურათი 33. პირანოკუმარინის ენანტიომერების დაყოფა Lux ამილოზა-2-ის სვეტზე. (a) მეთანოლი, (b) წყალ-მეთანოლი (95-5, v/v), (c) წყალ-მეთანოლი (90-10,v/v), (d) წყალ-მეთანოლი (80-20,v/v), (e)წყალ-მეთანოლი (70-30,v/v), (f)წყალ-მეთანოლი (60-40,v/v) როგორც მობილური ფაზები. ყველა შემთხვევაში მობილური ფაზა მოიცავდა 0.1% ჭიანჭველის მჟავას.

ქირალური აგროქიმიური დიფენაკუმისათვის ყველა ოთხი სტერეოიზომერი დაყო თითქმის ბოლომდე Lux ცელულოზა - 1 სვეტზე წყლიან მეთანოლთან ერთად მობილური ფაზის სახით (სურ. 34).



სურათი 34. დიფენაკუმის სტერეოიზომერის დაყოფა Lux ცელულოზა-1-ის სვეტზე წყლიან მეთანოლთან-ჰიანჭველმჟავას (100/0.1, v/v) მობილური ფაზაში

ცხრილი 4 - ში წარმოდგენილია არილპროპიონის მჟავას 28 ქირალური ნაწარმის სკრინინგის შედეგები შვიდ ქირალურ პოლისაქარიდულ სვეტზე, მოძრავ ფაზაში მეთანოლის შემცველობის შემცირებისას.

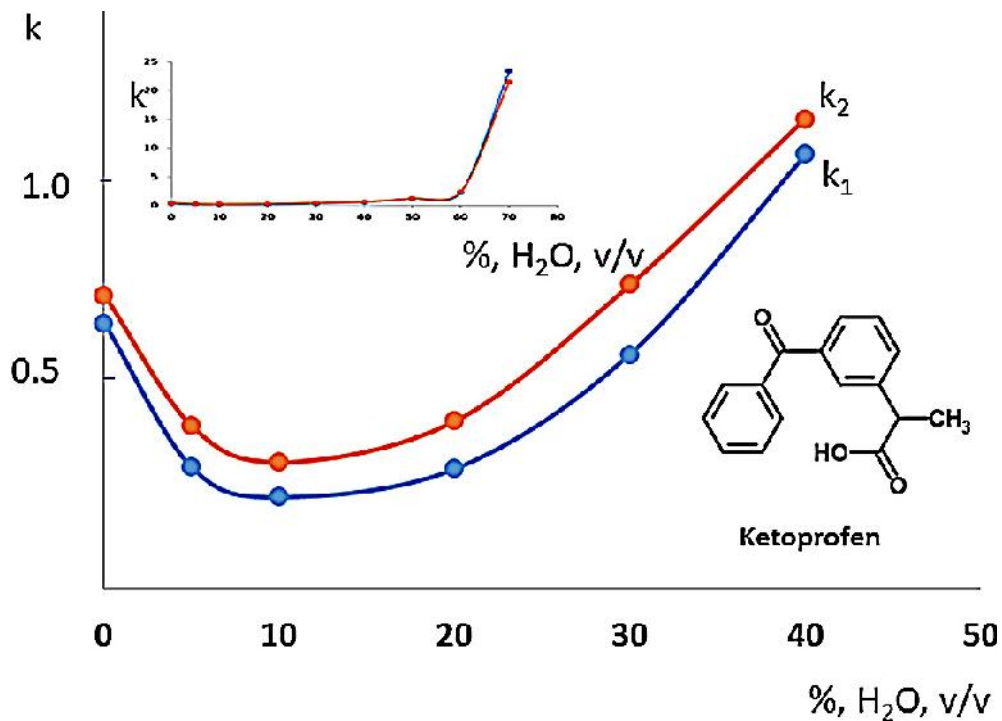
სკრინინგის მსველობისას ხდებოდა ნორმალური ფაზის ოპტიმიზაცია, რათა მოგვეხდინა უფრო მეტი ქირალური არილპროპიონ მჟავას ენანტიომერების დაყოფის წინასწარი პირობები პოლისაქარიდული ტიპის ქირალური სტაციონალური ფაზების გამოყენებით.

ცხრილი 5. 28 ქირალური ნივთიერების სკრინინგის შედეგები ექვს ქირალურ პოლისაქარიდულ სვეტზე, მოძრავ ფაზად გამოყენებულ იქნა (MeOH+H₂O+0.1%FA)

	არილპროპიონის მჟავის ნაწარმები	SP-1 PROFEN-(RS)2015	SP-23u PROFEN(RS) 2015	Cellulose-3	Cellulose-4	Amylose-2	Immob-21 PROFEN-(RS)2015
1	ფენპროფენი	ნაწილობრივი	არ დაიყო	არ დაიყო	არ დაიყო	ნაწილობრივი	ნაწილობრივი
2	ფლურბიპროფენი	ნაწილობრივი	არ დაიყო	ფუძისეული	არ დაიყო	ფუძისეული	არ დაიყო
3	იბუპროფენი	არ დაიყო	ნაწილობრივი	ფუძისეული	ნაწილობრივი	ფუძისეული	არ დაიყო
4	კეტპროფენი	არ დაიყო	არ დაიყო	არ დაიყო	არ დაიყო	არ დაიყო	არ დაიყო
5	ინდოპროფენი	ნაწილობრივი	ნაწილობრივი	ფუძისეული	არ დაიყო	ფუძისეული	არ დაიყო
6	პირპროფენი	ნაწილობრივი	ნაწილობრივი	ნაწილობრივი	ფუძისეული	ნაწილობრივი	ნაწილობრივი
7	კეტოროლაკი	ნაწილობრივი	ფუძისეული	ფუძისეული	ფუძისეული	ნაწილობრივი	არ დაიყო
8	აცნოკოუმარინი	ფუძისეული	ფუძისეული	არ დაიყო	ფუძისეული	ნაწილობრივი	ფუძისეული
9	ჰექსობარბიტალი	ნაწილობრივი	ფუძისეული	ნაწილობრივი	ფუძისეული	ფუძისეული	ფუძისეული
10	პროგლუმედი	ფუძისეული	ფუძისეული	ნაწილობრივი	ფუძისეული	ნაწილობრივი	ფუძისეული
11	ნაპროქსანი	ნაწილობრივი	ნაწილობრივი	ნაწილობრივი	არ დაიყო	ნაწილობრივი	ნაწილობრივი
12	ვარფარინი	არ დაიყო	ნაწილობრივი	ფუძისეული	ნაწილობრივი	ფუძისეული	ფუძისეული
13	სურპროფენი	ნაწილობრივი	არ დაიყო	ფუძისეული	არ დაიყო	არ დაიყო	ნაწილობრივი
14	ზალტოპროფენი	ნაწილობრივი	ნაწილობრივი	ფუძისეული	ფუძისეული	არ დაიყო	არ დაიყო
15	სულინდაკი	ფუძისეული	ნაწილობრივი	არ დაიყო	არ დაიყო	ნაწილობრივი	ნაწილობრივი
16	ფენოქსიპროპიონის მჟავა	ნაწილობრივი	ნაწილობრივი	ფუძისეული	ნაწილობრივი	ნაწილობრივი	ნაწილობრივი
17	2(ჰქლორფენოქსი) პროპიონის მჟავა	ნაწილობრივი	ნაწილობრივი	ფუძისეული	ფუძისეული	ნაწილობრივი	ნაწილობრივი
18	ნუშის მჟავა	ნაწილობრივი	არ დაიყო	ფუძისეული	ნაწილობრივი	ფუძისეული	ფუძისეული
19	ნუშის მჟავის ეთილესტერი	ნაწილობრივი	ფუძისეული	არ დაიყო	არ დაიყო	ნაწილობრივი	ფუძისეული
20	პირანოკოუმარინი	ფუძისეული	არ დაიყო	არ დაიყო	არ დაიყო	ნაწილობრივი	ფუძისეული
21	კოუმაქლორი	ფუძისეული	ფუძისეული	არ დაიყო	ფუძისეული	არ დაიყო	ნაწილობრივი
22	კოუმატეტრალილი	ნაწილობრივი	ნაწილობრივი	ფუძისეული	ფუძისეული	არ დაიყო	ფუძისეული
23	დიფენაკოუმი	ნაწილობრივი	ნაწილობრივი	ნაწილობრივი	ფუძისეული	არ დაიყო	ნაწილობრივი
24	ჰალონალი	ნაწილობრივი	ნაწილობრივი	არ დაიყო	ნაწილობრივი	არ დაიყო	ფუძისეული
25	ნემბუტალი	არ დაიყო	არ დაიყო	ნაწილობრივი	ნაწილობრივი	ფუძისეული	ფუძისეული
26	ბენზოზამილი	ფუძისეული	არ დაიყო	არ დაიყო	არ დაიყო	ფუძისეული	ფუძისეული
27	ბენოქსაპროფენი	ნაწილობრივი	ნაწილობრივი	არ დაიყო	არ დაიყო	ფუძისეული	ნაწილობრივი
28	ჰიდროქსი ნუშის მჟავა	ნაწილობრივი	ნაწილობრივი	არ დაიყო	არ დაიყო	ფუძისეული	ფუძისეული

4.4. აცეტონიტრილიდან წყლიან - აცეტონიტრილი მობილურ ფაზაზე გადასვლა.

აცეტონიტრილმა, როგორც აპროტონულმა გამხსნელმა ხელი არ უნდა შეუშალოს წყალბადური ბმების წარმოქმნას ქირალურ სელექტორებსა და ქირალურ საანალიზო ნივთიერებებს შორის. ამგვარად, როდესაც მოძრავ ფაზად გამოიყენება აცეტონიტრილი, წყალბადური ბმები შეიძლება მნიშვნელოვნად მონაწილეობდეს ქირალურ გამოცნობაში, ხოლო წყალმა, როგორც ძლიერმა კონკურენტმა, წყალბადური ბმების წარმოქმნის თვალსაზრისით, ამ ურთიერთქმედებიდან უნდა გამოაძევეს საანალიზო ნივთიერება, რაც იწვევს საანალიზო ნივთიერების შეკავების დაქვეითებას. საბოლოო შედეგი წყლის ამ თვისების გათვალისწინებით არის აცეტონიტრილზე დაფუძნებულ მოძრავ ფაზაში წყლის რაოდენობის გაზრდით საანალიზო ნიმუშის შეკავების დროის მნიშვნელოვანი შემცირება.

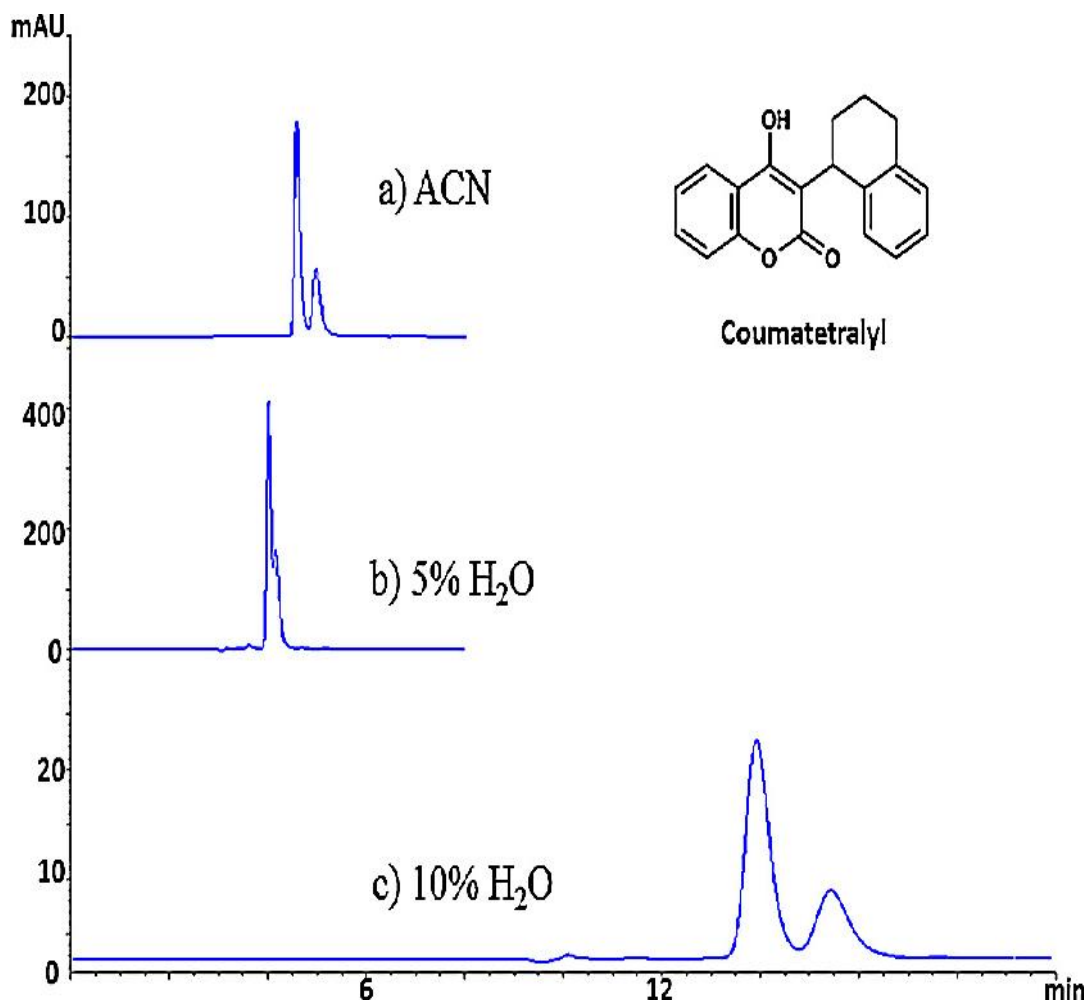


სურათი 35. აცეტონიტრილში წყლის შემცველობაზე დამყარებული შეკავება Lux ამილოზა - 2 სვეტზე.

მსგავსი შედეგი შეიმჩნევა ამ კვლევაში გამოყენებული ქირალური საანალიზო ნიმუშისა და ქირალური სელექტორის ყველა 182 კომბინაციისათვის, აცეტონიტრილში წყლის 20% - ზე მეტი შემცველობისას.

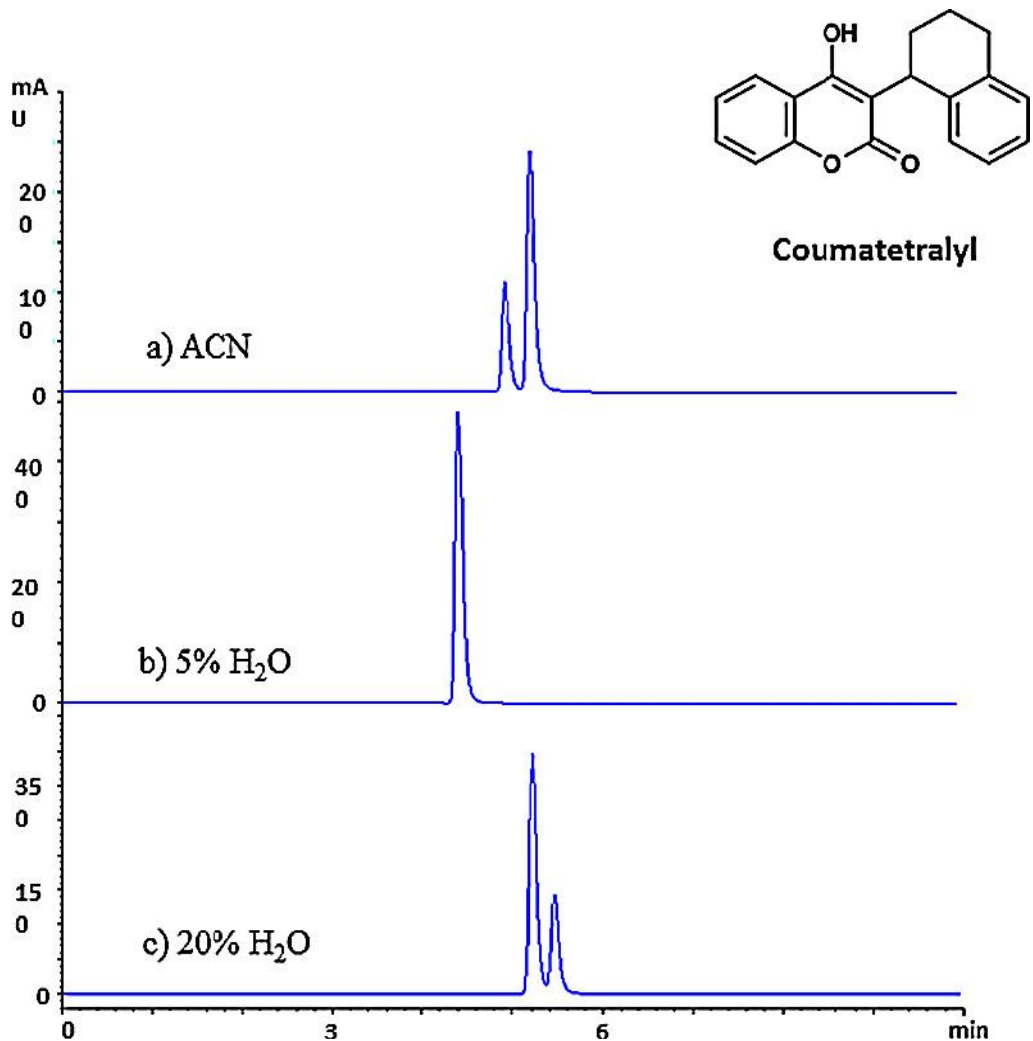
ანალიტის შეკავების ტიპური დამოკიდებულება აცეტონიტრილში წყლის შემცველობაზე Lux ამილოზა - 2 - ის სვეტზე ნაჩვენებია კეტოპროფენის მაგალითზე, სურ. 35. ამ პირობების გათვალისწინებით (აცეტონიტრილში წყლის 20% - მდე შემცველობა) პოლისაქარიდულ ფენილკარბამატებსა და ესტერის ტიპის ქირალურ სელექტორებს ახასიათებს არა შებრუნებულ ფაზიანი მოქმედება, არამედ ჰიდროფილური ურთიერთობის ქრომატოგრაფიისათვის დამახასიათებელი ურთიერთქმედება. მსგავსი ქმედება აცეტონიტრილში უკავშირდება შეკავების შემცირებას მოძრავ ფაზაზე წყლის თანდათანობით დამატებისას, რაც არ შეიმჩნევა მეთანოლის მოძრავ ფაზაზე, სადაც წყლის დამატებით შეკავების ზრდა შეიმჩნევა ყველა 182 საანალიზო ნიმუშის და ქირალური სვეტის კომბინაციებში. საანალიზო ნივთიერებების დაყოფაზე აცეტონიტრილსა და მეთანოლში წყლის შემცველობის გავლენა იმსახურებს განსაკუთრებულ განხილვას.

საანალიზო ნივთიერებებში წყლის შეკავება აბალანსებს ორივე მოძრავი ფაზის სისტემებში აცეტონიტრილი - წყალი და მეთანოლი - წყალი ჰიდროფილურ (წყალბადური ბმებით) და ჰიდროფობური ტიპის ურთიერთქმედებებს, რომელიც წარმოიქმნება სელექტანტანტსა და სელექტორს შორის.



სურათი 36. კოუმატეტრალის ენანტიომერების დაყოფის დამოკიდებულება აცეტონიტრილში წყლის შემცველობაზე Lux ამილოზა - 1 სვეტზე: (a) აცეტონიტრილი, (b) წყალი - აცეტონიტრილი (95-5, v/v) და (c) წყალი - აცეტონიტრილი (90-10, v/v) როგორც მობილური ფაზები. ყველა შემთხვევაში მობილური ფაზა მოიცავდა 0.1% ჭიანჭველის მჟავას.

ორივე შემთხვევაში ჰიდროფობური ურთიერთქმედება თამაშობს მთავარ როლს მობილური ფაზის შეკავებაში და როდესაც წყალბადური ბმები მინიმალურია. წყალბადურ ბმებზე დაფუძნებული ურთიერთქმედება გვაქვს ძირითადად წყლის დაბალი შემცველობისას აცეტონიტრილში (20%-ზე დაბლა), მაშინ როდესაც ჰიდროფობური ურთიერთქმედება დომინირებს წყლის 20%-ზე მაღალი შემცველობისას. ეს თვისება წარმოდგენილია სურ.31 - ზე კოუმატეტრალის ენანტიომერების დაყოფის Lux ცელულოზა - 1 სვეტზე.

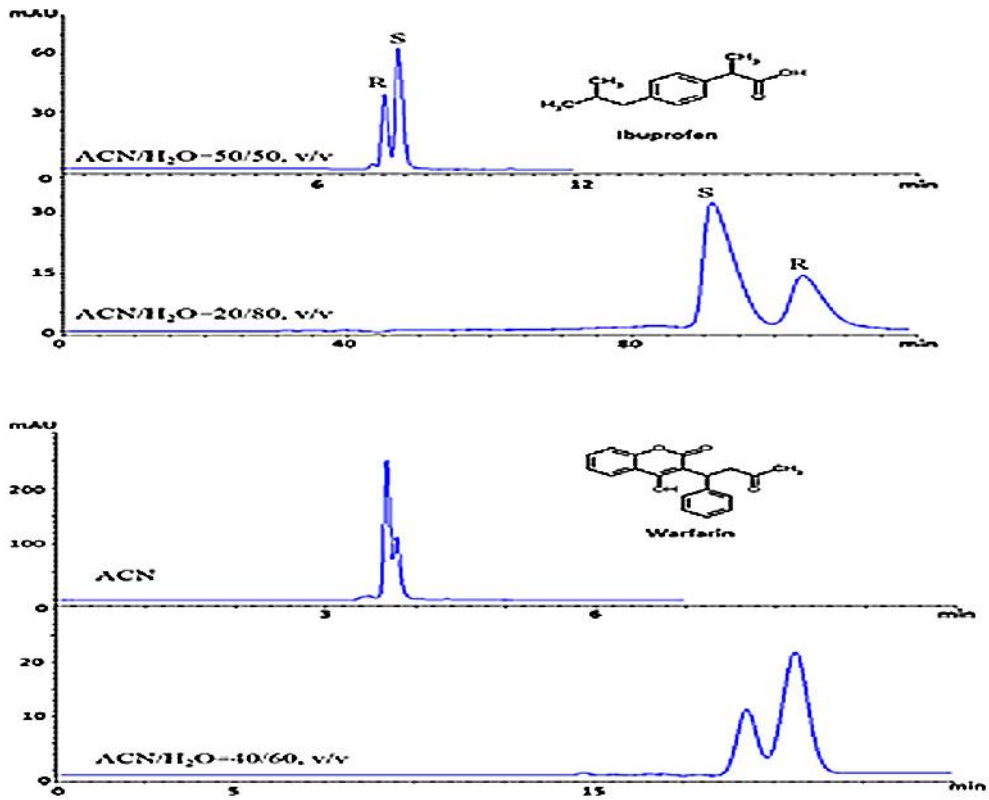


სურათი 37. კოუმატეტრალის ენანტიომერების დაყოფის დამოკიდებულება აცეტონიტრილში წყლის შემცველობაზე Lux ცელულოზა - 1 სვეტზე: (a) აცეტონიტრილი, (b) წყალი - აცეტონიტრილი (95-5, v/v) და (c) წყალი - აცეტონიტრილი (80-20, v/v) როგორც მობილური ფაზები. ყველა შემთხვევაში მობილური ფაზა მოიცავდა 0.1% ჭიანჭველის მჟავას.

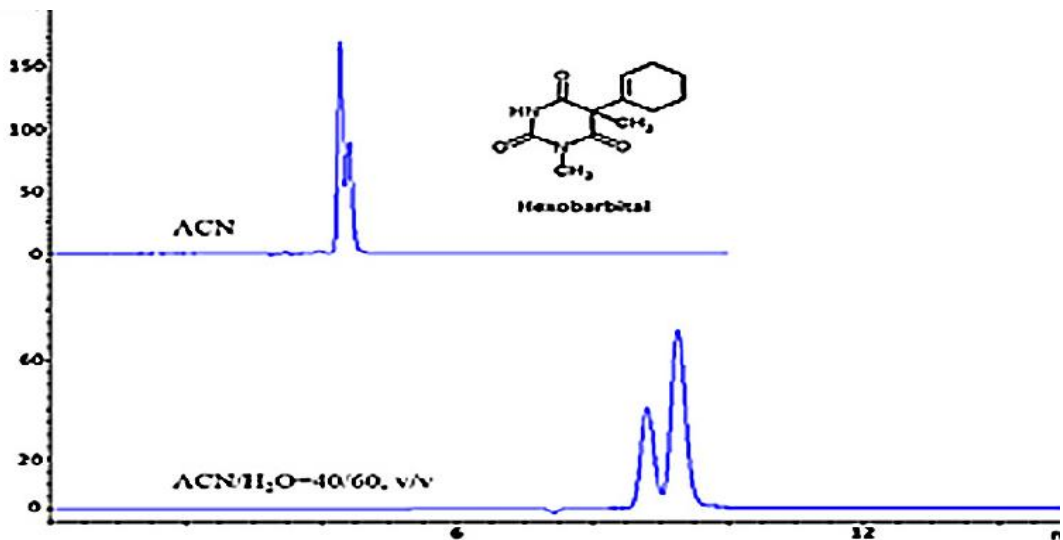
უნდა აღინიშნოს, რომ აფინობის ტიპი კოუმატეტრალის ენანტიომერებსა და ქირალურ სელექტორებს შორის, რომელიც გამოწვეულია წყალბადური (პოლარული) ბმებით და ჰიდროფობური ურთიერთქმედებით, ცელულოზა ტრის (3,5 - დიმეთილფენილ კარბამატი) -ზე დაფუძნებული ქირალური სელექტორის შემთხვევაში ურთიერთსაწინააღმდეგოა. ამის გამო ხდება ენანტიომერების ელუირების რიგის შებრუნება აცეტონიტრილში წყლის შემცველობის გაზრდით, სურ.37.

რაც შეეხება ამილოზა - 1 სვეტს აქ ზემოთხსენებული ორი ტიპის ურთიერთქმედებებით გამოწვეული აფინობის ტიპი ერთი და იგივეა. ამის გამო მოძრავ ფაზაში წყლის შემცველობის გაზრდა არ ცვლის ენანტიომერების აფინურობის (ელუირების) რიგს.

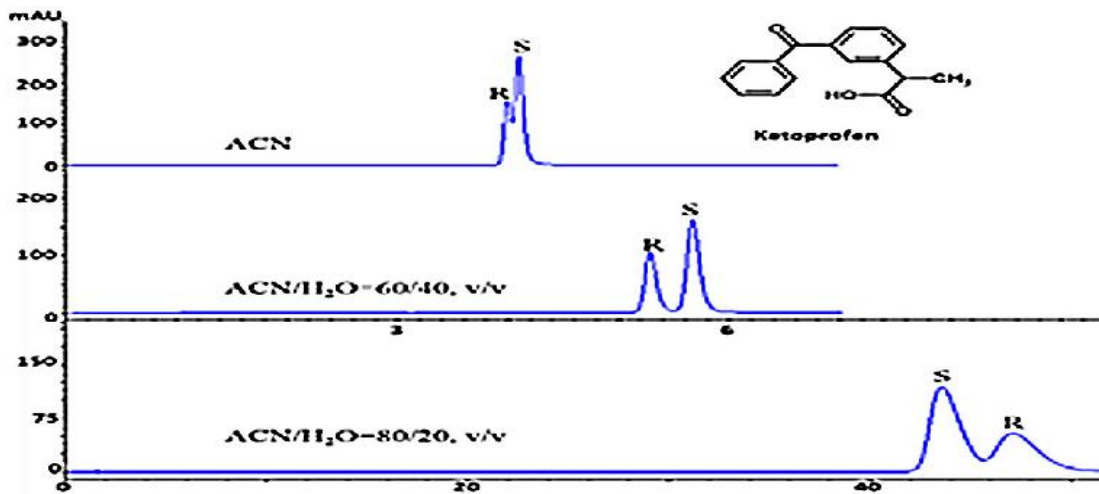
გამომდინარე იქიდან, რომ აცეტონიტრილის სელექტიურობა 100% იყო იგი გაუჩინარდა 5% (v/v) წყალში და კვლავ გამოჩნდა, როდესაც აცეტონიტრილში წყლის შემცველობა გაიზარდა 20%-მდე. თუმცა, ქირალური ამოცნობის მოდელების თვასაზრისით ამ ორ დამშლელ სისტემას შორის მნიშვნელოვანი განსხვავებაა. თავდაპირველად, მობილურ ფაზაში სადაც წყალბადური ბმების ტიპის ურთიერთქმედებებს შეეძლოთ კუმატეტრალურ ენანტიომერების აფინური მოდელების გაძლიერება (100% აცეტონიტრილი), ზემოთ განხილულ ორ ქირალურ სელექტორებთან მიმართებაში წინააღმდეგობაში მოდიოდა. მიუხედავად ამისა, მობილურ ფაზაში, სადაც უპირატესობა ჰიდროფობურ ურთიერთქმედებებს ენიჭებოდა, (>10% წყალი (v/v) აცეტონიტრილში) კუმატეტრალური ენანტიომერების აფინური მოდელების ქირალურ სელექტორებთან მიმართებაში ერთმანეთის მსგავსია. ამის საფუძველზე უნდა აღინიშნოს, რომ ელუირების რიგის შებრუნება გამოვლენილ იქნა კუმატეტრალური ენანტიომერების Lux - ცელულოზას - 1 მწკრივისთვის, რომელიც დამოკიდებული იყო აცეტონიტრილში წყლის შემცველობაზე (სურ.36). მიღებული შედეგების მიხედვით აშკარა ხდება, რომ წყალბადურ ბმაზე და ჰიდროფობურ ურთიერთქმედებაზე დაფუძნებული ამოცნობის აფინური მოდელები წინააღმდეგობაში მოდიან საპირისპიროა იბუპროფენისა და ვარფარინის ენანტიომერებისთვის Lux - ცელულოზას - 3 სვეტზე (სურ.38. a,b შესაბამისად), ჰექსობარბიტალის ენანტიომერისთვის Lux - ცელულოზას - 1 და ცელულოზა (3,5 - დიმეთილფენილკარბამატი) (სურ.39 c, შესაბამისად) და Lux - ამილოზა - 2 სვეტი კეტოპროფენის ენანტიომერებთან (სურ.40. d, შესაბამისად)



სურათი 38. ენანტიომერების დაყოფის დამოკიდებულება აცეტონიტრილში წყლის შემცველობაზე Lux ამილოზა - 3 სვეტზე: იბუპროფენის (a) აცეტონიტრილი/წყალი (50–50, v/v), აცეტონიტრილი/წყალი (20–80, v/v), როგორც მობილური ფაზა; ვარფარინი(b) აცეტონიტრილი/წყალი (40-60, v/v), როგორც მობილური ფაზა (ტენპერატურა5°C);

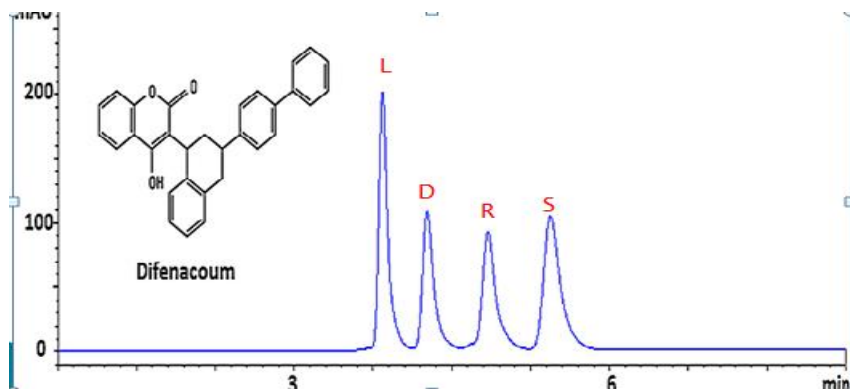


სურათი 39. ენანტიომერების დაყოფის დამოკიდებულება აცეტონიტრილში წყლის შემცველობაზე Lux ამილოზა - 3 სვეტზე:(ტენპერატურა5°C) აცეტონიტრილისა და აცეტონიტრილი/წყალი (40-60, v/v) როგორც მობილური ფაზა;



სურათი 40. ენანტიომერების დაყოფის დამოკიდებულება აცეტონიტრილში წყლის შემცველობაზე; კეტოპროფენონის ენანტიომერის დაყოფა Lux ამილოზა-2 სვეტზე აცეტონიტრილისა და აცეტონიტრილი/წყალი (60-40, v/v) როგორც მობილური ფაზა; ყველა შემთხვევაში მობილური ფაზა მოიცავდა 0.1% ჭიანჭველის მჟავას

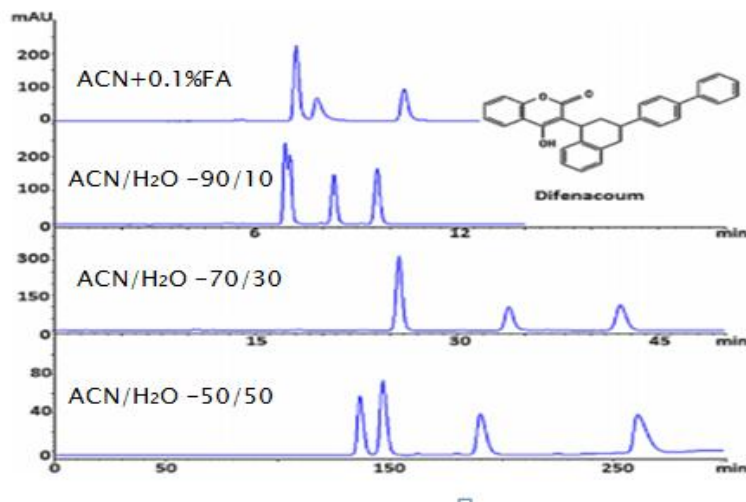
ცელულოზა-4 სვეტზე დიფენაკუმის სტერეოიზომერის შემთხვევაში, (მეთანოლი/წყალი-90/10-ზე+0.1%FA)-ელუენტით გაანალიზებისას, ოთხივე პიკის ელუირებისას, შეიცვალა სტერეოიზომერების ელუირების რიგი. პირველად ელუირდა L სტერეოიზომერი S-ს სტერეოიზომერის ნაცვლად, მეორედ D- R-ის ნაცვლად, მესამედ- R- D-ს ნაცვლად და მეოთხედ S- L -ის ნაცვლად.



სურ 41. დიფენაკუმის სტერეოიზომერების დაყოფა Lux ცელულოზა-4 სვეტზე , მოძრავ ფაზად გამოყენებულია- წყალი/მეთანოლთან ჭიანჭველ მჟავა დანამატით.

დიფენაკუმში სტერეოიზომერების დაყოფა Lux ცელულოზა -1 სვეტზე ; მოძრავი ფაზის შემცველობის ცვლილებით, 25°C- ტემპერატურაზე ცელულოზა -1 სვეტზე დიფენაკუმის სტერეოიზომერის შემთხვევაში,

(მეთანოლი/წყალი-90/10-ზე+0.1%FA)-ელუენტით გაანალიზებისას, ოთხივე პიკის ელუირებისას, შეიცვალა სტერეოიზომერების ელუირების რიგი. ა)პირველ შემთხვევაში მოზრავი ფაზა არის (აცეტონიტრილი+0.1%FA) ბ)მეორე შემთხვევაში მოზრავი ფაზა არის (აცეტონიტრილი/წყალი-90/10+0.1%FA) გ)მესამე შემთხვევაში მოზრავი ფაზა არის (აცეტონიტრილი/წყალი-70/30+0.1%FA) დ)მეოთხე შემთხვევაში მოზრავი ფაზა არის (აცეტონიტრილი/წყალი-50/50+0.1%FA)

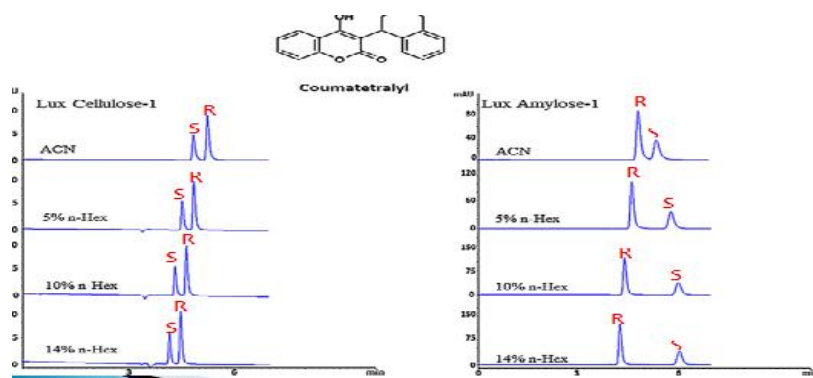


სურათი 42. დიფენაკუმის ენანტიომერების დაყოფა Lux ცელულოზა-1 აცეტონიტრილში. (a), აცეტონიტრილ-წყალი (90/10, v/v) (b), აცეტონიტრილ-წყალი (70/30, v/v) (c), და აცეტონიტრილ-წყალი (50/50, v/v) (d), მობილური ფაზები. ყველა შემთხვევაში მობილური ფაზა შეიცავდა 0.1% ჰიანჭველმჟავას.

სურათის თანახმად შესაძლებელია ელუირების რიგი გაიზარდოს მობილურ ფაზაში წყლის შემცველობის მიხედვით, მაგრამ მოსალოდნელია გაიზარდოს როგორც ენანტიომერების, ასევე ერთმანეთისაგან განსხვავებული სტერეოიზომერების ელუირების თანმიმდევრობაც. აღსანიშნავია, რომ დიფენაკუმის სხვადასხვა სტერეოიზომერების ელუციური წყობა მკვეთრად განსხვავდება სხვადასხვა ქირალური სვეტებზე .

კოუმატეტრალის ენანტიომერების ელუირების რიგის ცვლილება, სტაციონალური მოძრავი ფაზის შემცველობის ცვლილებით, ამილოზა-1 სვეტზე, T- 5°C -ზე .

ა)პირველ შემთხვევაში მოძრავი ფაზა არის (აცეტონიტრილი+0.1%FA) ბ)მეორე შემთხვევაში მოძრავი ფაზა არის (აცეტონიტრილი/ჰექსანი-95/5+0.1%FA) გ)მესამე შემთხვევაში მოძრავი ფაზა არის (აცეტონიტრილი/ჰექსანი-90/10+0.1%FA) დ)მეოთხე შემთხვევაში მოძრავი ფაზა არის (აცეტონიტრილი/ჰექსანი-86/14+0.1%FA)



სურ 43. კოუმატეტრალის ენანტიომერების ელუირების რიგის ცვლილება, სტაციონალური მოძრავი ფაზის შემცველობის ცვლილებით, 1) Lux ამილოზა-1 სვეტზე, T- 5°C -ზე, 2) Lux ცელულოზა-1 სვეტზე, T- 5°C -ზე

კოუმატეტრალის ენანტიომერების ელუირების რიგის ცვლილება, სტაციონალური მოძრავი ფაზის შემცველობის ცვლილებით, ცელულოზა-1 სვეტზე, T- 5°C -ზე)პირველ შემთხვევაში მოძრავი ფაზა არის (აცეტონიტრილი+0.1%FA) ბ)მეორე შემთხვევაში მოძრავი ფაზა არის (აცეტონიტრილი/ჰექსანი-95/5+0.1%FA) გ)მესამე შემთხვევაში მოძრავი ფაზა არის (აცეტონიტრილი/ჰექსანი-90/10+0.1%FA) დ)მეოთხე შემთხვევაში მოძრავი ფაზა არის (აცეტონიტრილი/ჰექსანი-86/14+0.1%FA) კოუმატეტრალის რაცემატის დაყოფა ორ სხვადასხვა სელექტორზე: Lux ამილოზა-1 და Lux ცელულოზა-1 სვეტებზე.

Lux ამილოზა-1-ზე, აცეტონიტრილი; აცეტონიტრილ-წყალი (95-5, v/v); აცეტონიტრილ-წყალი (90-10, v/v). ყველა შემთხვევაში მობილური ფაზა შეიცავდა 0.1% ჭიანჭველ მჟავას. დანარჩენი ექსპერიმენტალური პირობებისთვის მნიშვნელოვანი აღინიშნოს, რომ კუმატეტრალილის ენანტიომერების აფინურობის მოდელი განპირობებული წყალბადური ბმის ტიპითა და ჰიდროფობური ტიპის ურთიერთქმედებებით Lux ამილოზა-1 და Lux ცელულოზა-3 (3,5- დიმეთილფენილკარბამატი) ქირალურ სელექტორთან ერთი და იგივეა. თუმცა ამ ქირალურ სვეტში არ გამოვლენილა წყალშემცველ აცეტონიტრილზე დამოკიდებული EEO შებრუნება. Lux -ცელულოზას-1 გამოყენებისას, გამომდინარე იქიდან, რომ აცეტონიტრილის სელექტიურობა 100% იყო იგი გაუჩინარდა 5% (v/v) წყალში და კვლავ გამოჩნდა, როდესაც აცეტონიტრილში წყლის შემცველობა გაიზარდა 20%-მდე. თუმცა, ქირალური ამოცნობის მოდელების თვალსაზრისით ამ ორ დამშლელ სისტემას შორის მნიშვნელოვანი განსხვავებაა. თავდაპირველად, მობილურ ფაზაში სადაც წყალბადური ბმების ტიპის ურთიერთქმედებებს შეეძლოთ კუმატეტრალურ ენანტიომერების აფინური მოდელების გაძლიერება (100% აცეტონიტრილი), ზემოთ განხილულ ორ ქირალურ სელექტორთან მიმართებაში წინააღმდეგობაში მოდიოდა. მიუხედავად ამისა, მობილურ ფაზაში სადაც უპირატესობა ჰიდროფობურ ურთიერთქმედებებს ენიჭებოდა, (>10% წყალი (ვ/ვ) აცეტონიტრილში) კუმატეტრალური ენანტიომერების აფინური მოდელები ქირალურ სელექტორებთან მიმართებაში ერთმანეთის მსგავსია. აღნიშნული მსჯელობის საფუძველზე უნდა აღინიშნოს, რომ EEO შებრუნება გამოვლენილ იქნა კუმატეტრალური ენანტიომერების Lux-ცელულოზას-1 სვეტისათვის, რომელიც დამოკიდებული იყო აცეტონიტრილში წყლის შემცველობაზე.

ცხრილი 6-ში წარმოდგენილია არილპროპიონის მჟავას 28 ქირალური ნაწარმის სკრინინგის შედეგები ექვს ქირალურ

პოლისაქარიდულ სვეტზე, მოძრავ ფაზაში აცეტონიტრილის შემცველობის შემცირებისას.

ფაზა:

(ACN/OH+0.1%FA)

(ACN/H₂O-95/5+0.1%FA)

(ACN/H₂O-90/10+0.1%FA)

(ACN/H₂O-80/20+0.1%FA)

(ACN/H₂O-70/30+0.1%FA)

(ACN/H₂O-60/30+0.1%FA)

(ACN/H₂O-50/50+0.1%FA)

ცხრილი 6. არილპროპიონის მჟავას 26 ქირალური ნაწარმის სკრინინგის შედეგები ქირალურ პოლისაქარიდულ სვეტზე, მოძრავ ფაზაში (ACN/H₂O+0.1%FA) აცეტონიტრილის შემცველობის შემცირებისას

	არილპროპიონის მჟავას ნაწარმები	SP-1 PROFEN 2015	SP-2 3u PROFEN 2015	Cellulose-3	Cellulose-4	Amylose-2	SP-6-Immob
1	ფენპროფენი	არ დაიყო	არ დაიყო	ნაწილობრივი	არ დაიყო	არ დაიყო	არ დაიყო
2	ფლურბიპროფენი	არ დაიყო	არ დაიყო	ნაწილობრივი	არ დაიყო	ფუძისეული	ნაწილობრივი
3	იბუპროფენი	ნაწილობრივი	ფუძისეული	ნაწილობრივი	არ დაიყო	ნაწილობრივი	არ დაიყო
4	კეტპროფენი	არ დაიყო	ფუძისეული	არ დაიყო	არ დაიყო	ნაწილობრივი	არ დაიყო
5	ინდოპროფენი	არ დაიყო	არ დაიყო	ფუძისეული	არ დაიყო	ნაწილობრივი	ნაწილობრივი
6	პირპროფენი	ნაწილობრივი	ფუძისეული	ფუძისეული	ფუძისეული	ნაწილობრივი	არ დაიყო
7	კეტოროლაკი	არ დაიყო	ფუძისეული	ფუძისეული	ფუძისეული	ფუძისეული	ფუძისეული
8	აცენოკოუმარინი	არ დაიყო	ფუძისეული	არ დაიყო	არ დაიყო	ნაწილობრივი	ფუძისეული
9	ჰექსობარბიტალი	არ დაიყო	ფუძისეული	არ დაიყო	ნაწილობრივი	ფუძისეული	ფუძისეული
10	პროგლუმიდი	ნაწილობრივი	ნაწილობრივი	არ დაიყო	ფუძისეული	ნაწილობრივი	არ დაიყო
11	ნაპროქსანი	არ დაიყო	არ დაიყო	ნაწილობრივი	ნაწილობრივი	ფუძისეული	არ დაიყო
12	ვარფარინი	ფუძისეული	ნაწილობრივი	ნაწილობრივი	ფუძისეული	ფუძისეული	ნაწილობრივი
13	სურპროფენი	არ დაიყო	ნაწილობრივი	ფუძისეული	ნაწილობრივი	არ დაიყო	ნაწილობრივი
14	ზალტპროფენი	არ დაიყო	ნაწილობრივი	ნაწილობრივი	ნაწილობრივი	არ დაიყო	ნაწილობრივი
15	სულინდაკი	არ დაიყო	ნაწილობრივი	ფუძისეული	ნაწილობრივი	არ დაიყო	ნაწილობრივი
16	ფენოქსიპროპიონის მჟავა	ნაწილობრივი	ნაწილობრივი	ფუძისეული	ნაწილობრივი	ნაწილობრივი	არ დაიყო
17	2(3ქლორფენოქსი) პროპიონის მჟავა	არ დაიყო	არ დაიყო	ნაწილობრივი	არ დაიყო	არ დაიყო	არ დაიყო
18	ნუმის მჟავა	ნაწილობრივი	ნაწილობრივი	ნაწილობრივი	არ დაიყო	არ დაიყო	არ დაიყო
19	ნუმის მჟავის ეთილესტერი	ნაწილობრივი	ფუძისეული	არ დაიყო	არ დაიყო	ნაწილობრივი	არ დაიყო
20	პირანოკოუმარინი	ფუძისეული	არ დაიყო	ფუძისეული	ნაწილობრივი	არ დაიყო	ფუძისეული
21	კოუმაქლორი	ნაწილობრივი	ფუძისეული	ფუძისეული	ფუძისეული	ფუძისეული	ნაწილობრივი
22	კოუმატეტრალილი	ნაწილობრივი	ფუძისეული	არ დაიყო	ფუძისეული	ფუძისეული	ნაწილობრივი
23	დიფენაკოუმე	ნაწილობრივი	ნაწილობრივი	ნაწილობრივი	ნაწილობრივი	ნაწილობრივი	ნაწილობრივი
24	ჰალონალი	არ დაიყო	ნაწილობრივი	ფუძისეული	ნაწილობრივი	არ დაიყო	ნაწილობრივი
25	ნემზუტალი	არ დაიყო	ფუძისეული	ნაწილობრივი	ნაწილობრივი	არ დაიყო	ნაწილობრივი
26	ბენზობამილი	არ დაიყო	არ დაიყო	არ დაიყო	არ დაიყო	არ დაიყო	არ დაიყო

4.5. ენანტიომერების ელუირების რიგის, ელუციური წყობის შებრუნება

ენანტიომერული ელუირების თანმიმდევრობის შებრუნება მობილურ ფაზაზე დამოკიდებულია ქირალური სელექტორების ქიმიურ სტრუქტურაზე (ცხრილი 7).

ქირალური სელექტორის ქიმიურ სტრუქტურაზე დაფუძნებული ენანტიომერული ელუციის თანმიმდევრობის შებრუნება გვკარნახობს, რომ ენანტიომერული ელუირების თანმიმდევრობის ნებისმიერი შებრუნება, რასაც თან ახლავს პოლისაქარიდული ქირალური სტაციონალური ფაზების (CSP) ქიმიური სტრუქტურის ცვლილება უფრო ხშირია და ნაკლებ ინტერესს იწვევს. სინამდვილეში ამგვარი შებრუნების რაციონალიზება და განჭვრეტა კვლავაც რთულ ამოცანად რჩება. აქედან გამომდინარე, ენანტიომერული ელუირების თანმიმდევრობა უნდა განისაზღვროს პოლისაქარიდული ქირალური სტაციონალური ფაზების (CSP) კომბინაციებისა და მოძრავი ფაზის მდგომარეობის სისტემატური შემოწმებით, ასეთი შედეგების ანგარიში უდიდეს ინტერესს წარმოადგენს ანალიტიკოსებისთვის. რამაც შესაძლებელია პოლისაქარიდული ქირალური სტაციონალური ფაზების (CSP) საშუალებით, ქირალური მექანიზმის ამოცნობაზე შეგვიქმნას წარმოდგენა.

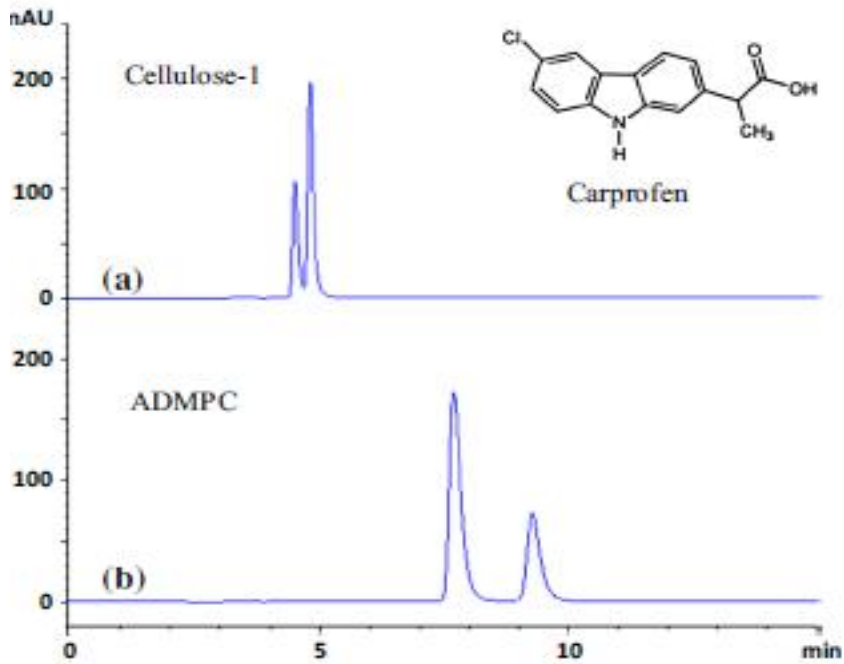
განსაკუთრებით საინტერესო შემთხვევებია ენანტიომერული ელუირების თანმიმდევრობის შებრუნება, რაც გამოწვეულია ქირალური სელექტორების სუფთა სტრუქტურული ან ქიმიური მოდიფიცირებით. მაგალითად, პოლისაქარიდული ფენილ-კარბამატული ქირალების სელექტორებზე არილპროპიონის მჟავას დერივატებისთვის ენანტიომერული ელუირების თანმიმდევრობის შებრუნებით გაანალიზებულ იქნა ფენილის კომპონენტების შემცვლელების განლაგების ფუნქცია, პოლიმერული ჯაჭვის ერთი რგოლის მეორეთი შეცვლა (ცელულოზა- ამილოზას საპირისპიროდ), ეს იმ დროს, როდესაც გვერდითი ჯგუფები უცვლელად რჩება.

ცხრილი 7. ენანტიომერული ელუირების თანმიმდევრობის შებრუნება.

ქირალური სვეტები	ანალიტები	მობილური ფაზა
Lux ცელულოზა-1 ADMPC - ის საპირისპიროდ	კარპროფენი	ACN
ლუქს ცელულოზა-1 Lux ცელულოზა-2 ან Lux ამილოზა-2-ის ADMPC-ის საპირისპიროდ	პროგლუმიდი	ACN
Lux ცელულოზა-2 ან Lux ცელულოზა-4 Lux ამილოზა-2-ის საპირისპიროდ	სურპროფენი	ACN
Lux ცელულოზა-3 (S -ი R-მდე) ADMPC-ის საპირისპიროდ	ნაპროქსენი	ACN
Lux ცელულოზა-1 Lux ცელულოზა-4-ის საპირისპიროდ	პროგლუმიდი	MeOH
Lux ცელულოზა-3 Lux ამილოზა-2-ის საპირისპიროდ	სურპროფენი	EtOH

ნაშრომში განხილულია ქირალური სელექტორის ქიმიურ სტრუქტურაზე დაფუძნებული ენანტიომერული ელუირების თანმიმდევრობის მრავალი მაგალითი (ცხრილი 7). თუმცა, მათ შორის პოლიმერულ ჯაჭვში ენანტიომერის ელუციის შებრუნების მხოლოდ ერთი შემთხვევა იქნა დაფიქსირებული ცელულოზა-1-სა და ამილოზის ტრომეტამოლის სტრუქტურული ანალიზის (ADMPC) ქირალურ მწკრივს შორის აცეტონიტრილში მობილური ფაზის სახით (სურ.38). ამ ორი ქირალური სელექტორის გვერდითი ჯგუფები ფენოლის კომპონენტში, ისევე როგორც მათი ელემენტური განლაგება ერთი და იგივეა.

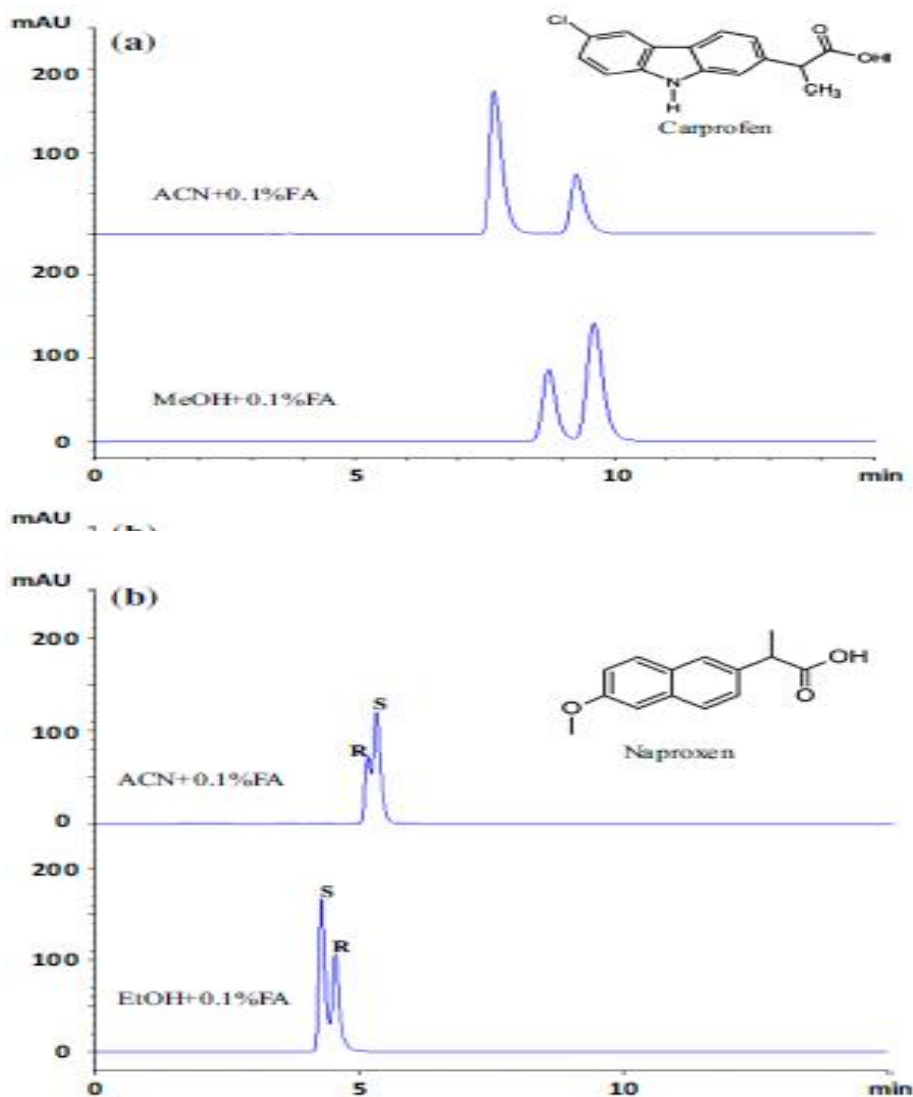
ცხადია, რომ ქირალური პოლიმერის სტრუქტურა ზემოქმედებას ახდენს კარპროფენის ენანტიომერებთან მის თვისობრივ კავშირებზე. საჭიროა აღინიშნოს, რომ სპირტის მობილურ ფაზასთან შედარებით, აცეტონიტრილში ენანტიომერული ელუციის თანმიმდევრობის შებრუნების უფრო მეტი შემთხვევაა დაფიქსირებული.

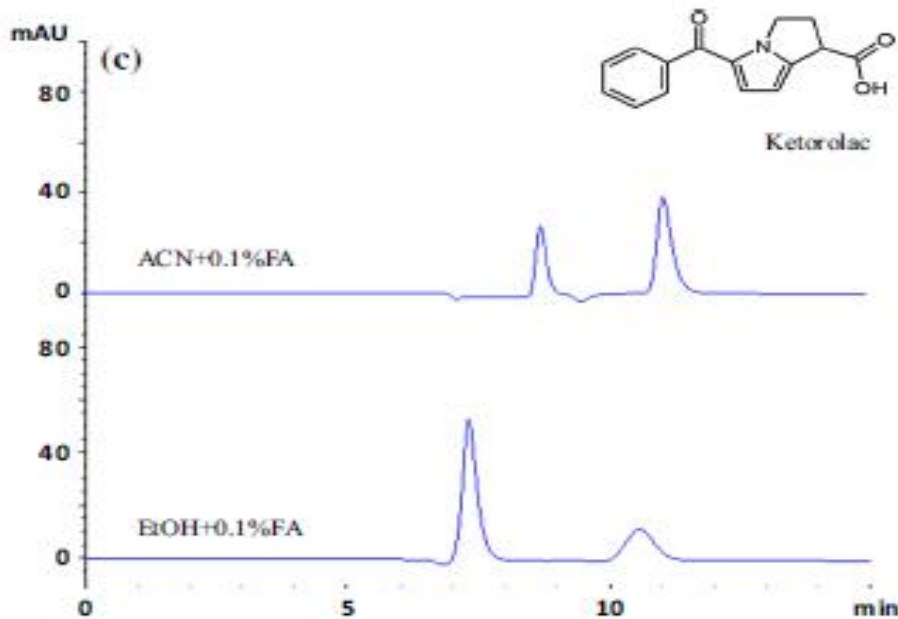


სურათი 44. კარპროფენის ენანტიომერების დაყოფა Lux ცელულოზა-1 (a) და ADMPC (b) სვეტში მობილური ფაზა აცეტონიტრილით. ფაზები ყველა შემთხვევაში მობილური ფაზა შეიცავდა 0.1% ჭიანჭველმჟავას.

ამილოზას სტრუქტურული ანალიზის მწკრივში მოყვანილია მობილური ფაზის ენანტიომერული ელუირების თანმიმდევრობის შებრუნების ფუნქციური ბუნების მეტად საინტერესო მაგალითები. ამგვარად, კარპროფენის ენანტიომერული ელუირების თანმიმდევრობა ამ სვეტში საპირისპიროდ იყო წარმოდგენილი, როდესაც აცეტონიტრილი შეიცვალა მეთანოლით (MeOH), როგორც მოძრავი ფაზა (სურ 44 a). მსგავსი ეფექტი აღმოჩენილ იქნა ნაპროქსენის შემთხვევაში აცეტონინსა და ეთანოლს შორის. სახელდობრ, R- ნაპროქსენი ელუირება, როგორც პირველ პიკურ დატვირთვაზე ამილოზის ტრომეტამოლის სტრუქტურულ ანალიზის (ADMPC) ქირალური სვეტის აცეტონინში, იმ დროს როდესაც მისი ელუირება მეორე პიკური დატვირთვისას მოხდა ეთანოლში, როგორც მობილური ფაზა (სურ 44 b).

კეტოროლაკის ენანტიომერების ელუირების თანმიმდევრობის შებრუნება იგივე სვეტში აცეტონიტრილის და ეთანოლის, როგორც ალტერნატიული მოძრავი ფაზების გამოყენებით (სურ 44 c). მოძრავ ფაზას გააჩნია ცალკეულ ქირალურ სელექტორთან ქირალურ ანალიტთან ან ორივესთან ურთიერთქმედების თვისება და სელექტორ-სელექტანტის ურთიერთქმედებით ენანტიოსელექტიურობაზე (და აგრეთვე არაენანტიომერულ სელექტიურობაზე) ზეგავლენის მოხდენის უნარი, ნებისმიერ ოპონენტებთან პუნქტობრივი ინტერაქციის გარეშე. სამაგიეროდ, მედიუმს გააჩნია ქირალური სელექტორის სტრუქტურაზე ზემოქმედების უნარი.





სურათი 45. კარპროფენის, ნაპროქსენისა და კეტოროლაკის ენანტიომერების სეპარაცია ADMPC სვეტში მოძრავი ფაზით

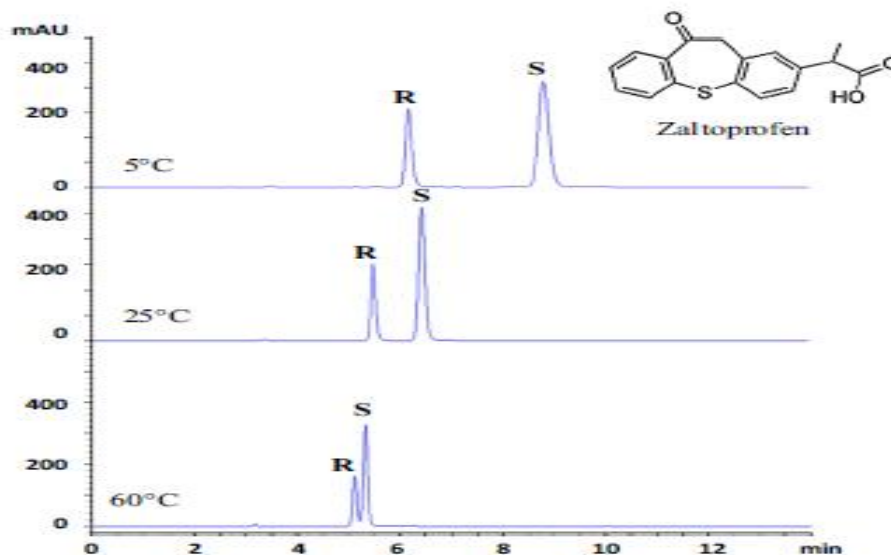
ამრიგად, მეტად საინტერესოა იმის გამორკვევა, თუ ზემოთ მოცემული ეფექტებიდან, რომელს ეკისრება თვისებებში შეზღუდვის პასუხისმგებლობა, წინამდებარე ნაშრომში წარმოდგენილი მოძრავ ფაზებში მიმდინარე ცვლილებების გამო.

ენანტიომერების ელუირების რიგის მართვა ქირალურ ნივთიერებათა ენანტიოსელექტიურ დაყოფებში საინტერესოა როგორც პრაქტიკული, ასევე თეორიული თვალსაზრისით. ამ საკითხის პრაქტიკულ ღირებულებას განაპირობებს ის ფაქტი, რომ არარაცემული ენანტიომერების ნარევების ანალიზში (განსაკუთრებით ერთ-ერთი ენანტიომერის ძალიან დაბალი შემცველობის დროს) აუცილებელია დაბალი შემცველობის მქონე ენანტიომერი ელუირდებოდეს ძირითადი ენანტიომერის პიკის წინ. ამის ანალოგიურად, ენანტიომერების პრეპარატიული დაყოფების დროს აუცილებელია სასურველი ენანტიომერი (ეუტომერი) ელუირდებოდეს არასასურველი ენანტიომერის (დისტომერი) წინ. გარდა ამისა, ენანტიომერების ელუირების რიგზე დაკვირვება და მისი მართვა

სხვადასხვა ფაქტორების გავლენით იძლევა იმ არაკოვალენტური ძალების ბუნების გარკვევის შესაძლებლობას, რომლებიც მონაწილეობს საანალიზო ნივთიერებისა და ქირალური სელექტორის ურთიერმოქმედებასა და ქირალურ გამოცნობაში.

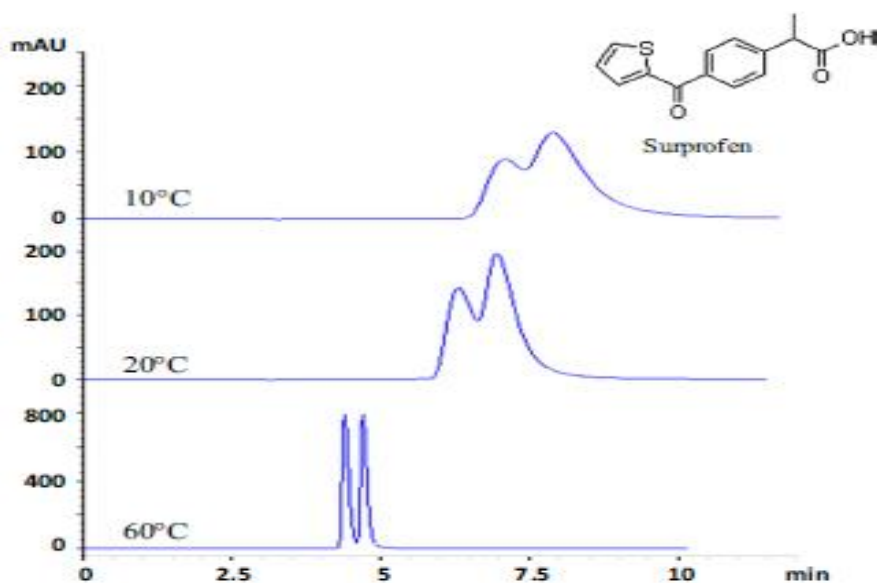
4.6. ტემპერატურის გავლენა ენანტიომერების დაყოფაზე

დაყოფის ტემპერატურის განსაზღვრისას გამოიკვეთა გარკვეული ანალიტის ზოგადი დამოკიდებულება ენანტიომერების შეკავებაზე, ენანტიოსელექტიურობასა და პიკის გაფართოებაზე. განსაკუთრებით, შეკავება და ენანტიოსელექტიურობა შემცირდა ტემპერატურის გაზრდით და აღნიშნულმა შემცირებამ გადააჭარბა პიკური ეფექტურობისას მიღწეულ მიზანს. ამრიგად, მსგავსად ზალპროფენის (სურ.46) ტემპერატურის გაზრდით პიკის გაფართოების შემცირება ან გარკვეული ანალიტების შემთხვევაში საერთოდ დაკარგვა (მონაცემები არ არის ნაჩვენები). დანარჩენი ანალიტების შემთხვევაში, ტემპერატურის გაზრდით კერძოდ, 5°C - დან 60°C - მდე უმნიშვნელო შეკავებას ქონდა ადგილი.



სურათი 46. ზალტოპროფენის ენანტიომერების დაშლა ცელულოზა 1-ის სვეტში სხვადასხვა ტემპერატურაზე აცეტონიტან ერთად ACN + 0.1 % FA (v/v) როგორც მოძრავი ფაზა.

აღნიშნული დაფიქსირდა, მაგალითად მოძრავ ფაზაში კეტოპროფენის ენანტიომერის Lux ცელულოზა-2-ზე (მონაცემები არ არის წარმოდგენილი). ლიტერატურაში ქირალური ანალიტების შეკავებისა უცვლელობის ან ზრდადობის მხოლოდ რამდენიმე მაგალითია წარმოდგენილი, მაგალითად ტემპერატურის მომატებით დაყოფის სელექტიურობისა და პიკის გაფართოების გაუმჯობესება. აცეტონიტრილის ADMPC -ის სვეტის, როგორც მოძრავი ფაზა სურპროფენის ენანტიომერების დაყოფის საკმაოდ საინტერესო მაგალითებია მოყვანილი. აღნიშნული ანალიტისთვის ტემპერატურის მომატებით შემცირდა შეკავებისა და დაყოფის სელექტიურობა, იმ დროს როდესაც პიკის გაფართოება საგრძნობლად გაიზარდა.

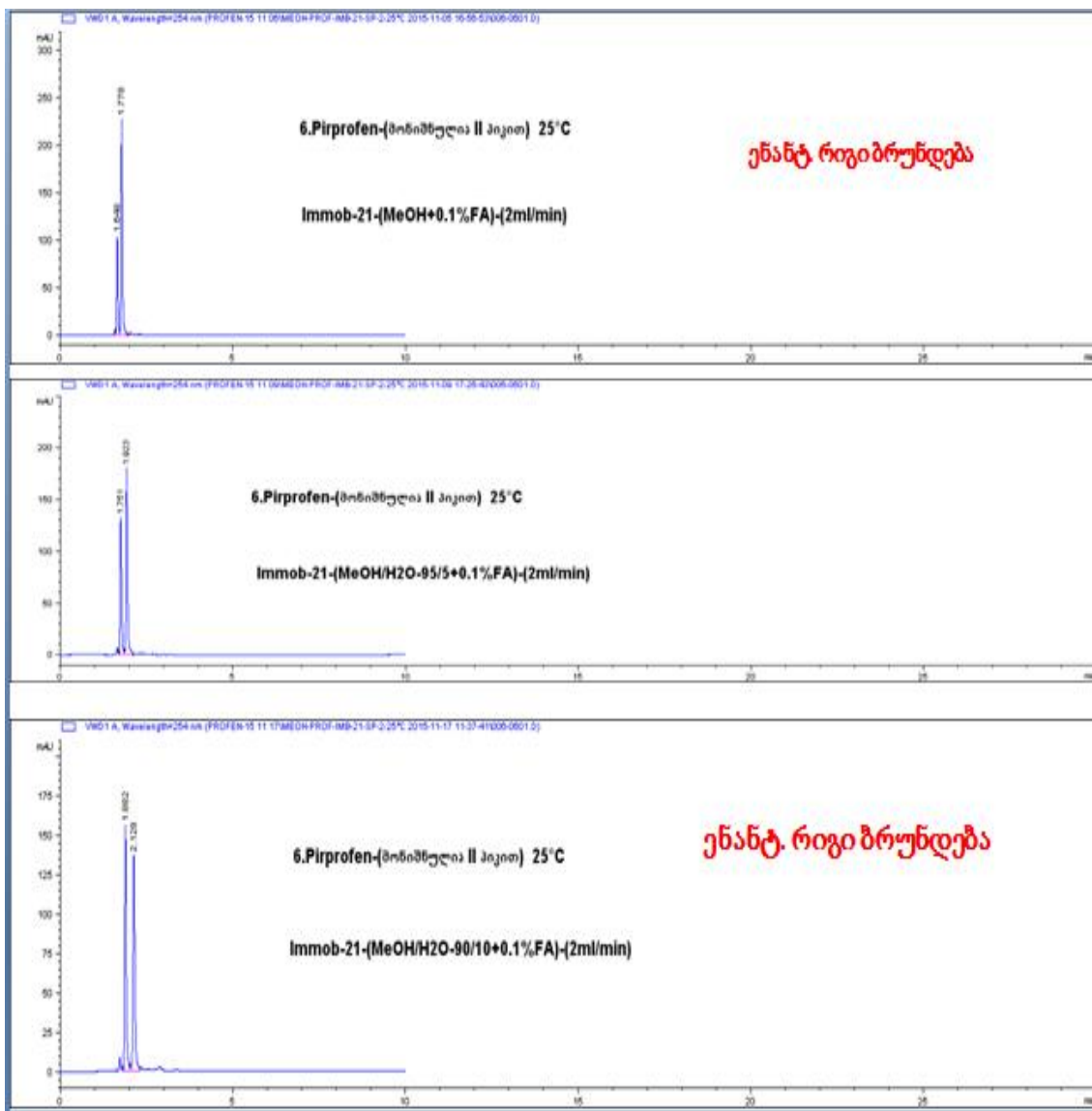


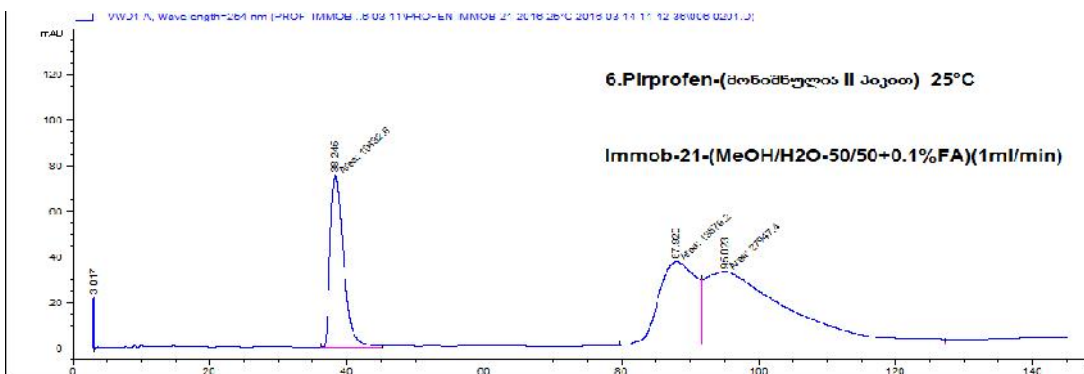
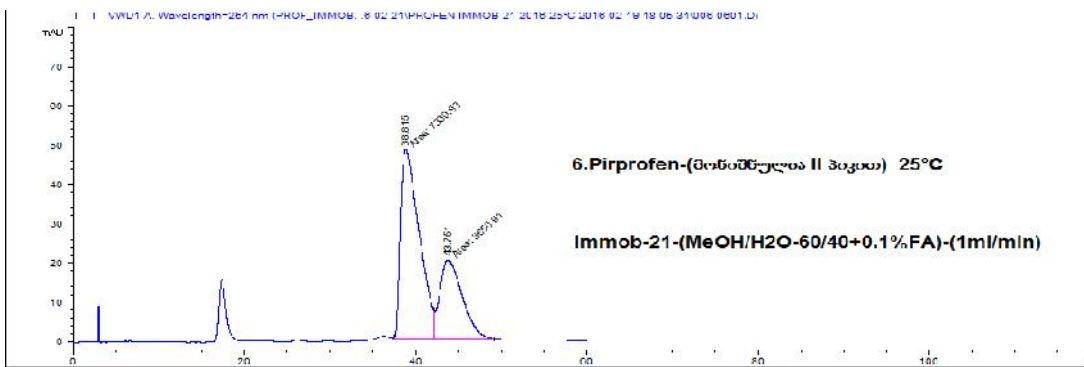
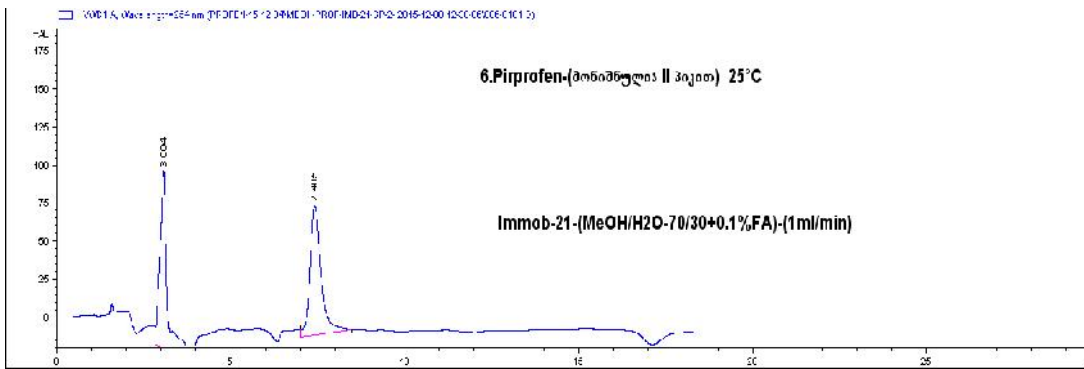
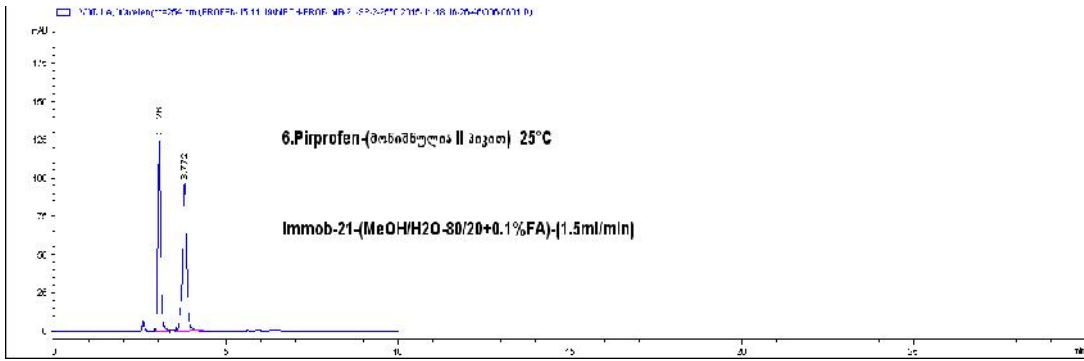
სურათი 47. სურპროფენის ენანტიომერები დაშლა ADMPC-ის სვეტში სხვადასხვა ტემპერატურაზე აცეტონიტრილთან ერთად ACN + 0.1 % FA (v/v) როგორც მოძრავი ფაზა.

აღნიშნული ეფექტების ურთიერთქმედება, ენანტიომერების მხოლოდ მარგინალური სეპარაცია 10 °C -ზე თითქმის სრულყოფილი ბაზისია 60 °C-ზე სეპარაციისთვის (სურ.47).

ქირალური კარბონმჟავის ენანტიომერების აფინურობა პოლისაქარიდული ქირალის სტაციონალურ ფაზებზე დამოკიდებულია

ქირალური სელექტორის ბუნებაზე და მოძრავი ფაზის შედგენილობამ. ზოგჯერ, ქირალური სელექტორის სტრუქტურაში მხოლოდ უმნიშვნელო ცვლილებამ ან მობილური ფაზის შემადგენლობამ განაპირობოს ენანტიომერების ცალკეული წყვილის აფინურობა. ტემპერატურა შესაძლებელია მიჩნეულ იქნას, როგორც დაყოფის გაუმჯობესების უმნიშვნელოვანესი პარამეტრი. ამ ფენომენალური შემთხვევის დამატებითი კვლევებით შესაძლებელია მოვიპოვოთ პოლისაქარიდული ქირალის სტაციონალური ფაზებით ქირალური ამოცნობის მექანიზმების შესახებ მეტად მნიშვნელოვანი ინფორმაცია.





სურათი 48. პირპროფენის ენანტიომერები დაშლა ADMPC-ის სვეტში მეთანოლთან ერთად MeOH + 0.1 % FA (v/v) როგორც მოძრავი ფაზა. ელუირების რიგი ბრუნდება.

დასკვნები

წინამდებარე ნაშრომში წარმოდგენილი სამეცნიერო კვლევის შედეგები გვადლევს შემდეგი დასკვნების გამოტანის საშუალებას:

1. შესწავლილი იქნა 26 ქირალური სუსტი მჟავა ბუნების მქონე ნივთიერების (არილპროპიონის მჟავას ნაწარმი) ენანტიომერების დაყოფა კლასიკურ და ახალი თაობის წარმომადგენელ პოლისაქარიდულ ქირალურ სტაციონარულ ფაზებზე მაღალეფექტურ სითხურ ქრომატოგრაფიაში. ძირითადად გამოყენებული იყო პოლარულ-ორგანული და ე.წ. ნორმალური მოძრავი ფაზები და განსაკუთრებული ყურადღება ექცეოდა ენანტიომერების ელუირების რიგს.
2. როდესაც პოლისაქარიდებზე დაფუძნებული ქირალური სვეტები გამოიყენება თხევად-ორგანულ მობილურ ფაზასთან ერთად, შესაძლოა ყოველთვის არ მოიქცეს ტიპური შებრუნებული-ფაზის სვეტების მსგავსად, განსაკუთრებით აცეტონიტრილში წყლის დაბალი შემცველობის პირობებში (<20% მლ/მლ).
3. როდესაც ენანტიომერების წყალბადური ბმების ურთიერთქმედებაზე დამყარებული აფინური მოდელი ქირალური სელექტორთან მიმართებაში გამოიყენება, წინააღმდეგობაში მოდის ჰიდროფობური ტიპის ურთიერთქმედებასთან.
4. ამ სამუშაოს განსაკუთრებულ სიახლეს წარმოადგენს ის ფაქტი, რომ ლიტერატურაში პირველად იქნა აღწერილი ენანტიომერების ელუირების რიგის ცვლილება მოძრავი ფაზის მცირე დანამატის ბუნებიდან გამომდინარე, კერძოდ კი, რამდენიმე ქირალური ნივთიერებისათვის მოძრავ ფაზაში ფუძე ბუნების დანამატით დამზერილი ენანტიომერების ელუირების რიგი შებრუნდა ფუძე ბუნების დანამატის მჟავა ბუნების დანამატით შეცვლით.
5. პირველად იქნა განხორციელებული ენანტიომერების ელუირების რიგის სისტემატური მონიტორინგი ამ ჯგუფის ნივთიერებებისათვის

პოლარულ-ორგანულ მოძრავ ფაზებში და დადგენილ იქნა ენანტიომერების ელუირების რიგის შებრუნების რამდენიმე საინტერესო შემთხვევა, როგორც ქირალური სელექტორის ბუნების, ასევე მოძრავი ფაზის შედგენილობის მიხედვით. ენანტიომერის ელუციური წყობის შებრუნება დამოკიდებულია მობილურ ფაზაში წყლის შემცველობაზე. ეს ფენომენი უმეტესწილად ვრცელდება აპროტონურ წყლის გამხსნელ სისტემაზე, ვიდრე პროტონურ წყლის გამხსნელ სისტემაზე.

6. ორგანულ-მობილურ ფაზაში წყლის დანამატების შედეგების დეტალური კვლევით შესაძლებელი გახდება ქირალური ამოცნობის მექანიზმებთან ერთად პოლისაქარიდული ქირალური სელექტორების უკეთ შესწავლა.
7. მოყვანილი შედეგების საფუძველზე აშკარად იკვეთება, რომ წყალბადურ ბმებზე და ჰიდროფობურ ურთიერთქმედებებზე დამყარებული ამოცნობის აფინური მოდელები წინააღმდეგობაში მოდიან იბუპროფენის, ვარფარინის, ჰექსობარბიტალის და კეტოპროფენის ენანტიომერებთან.
8. ქირალური ანალიტების ყველა 182 კომბინაციაში და ქირალურ სვეტებში (26 ქირალური ნივთიერება და 7 ქირალური სვეტი) შემაკავებელი ფაქტორების ზრდა მიმდინარეობს მობილურ ფაზაზე წყლის დამატების შემდგომ, თუნდაც უმნიშვნელო კონცენტრაციით (5% v/v).
9. ამგვარად, წყალმა, როგორც ანალიტზე და ქირალის სელექტორზე წყალბადური ბმის ადგილის კონკურენტმა, შესაძლოა შეცვალოს ანალიტი წყალბადური ბმის ურთიერთქმედების ადგილიდან ქირალის სელექტორზე და გამოიწვიოს შეკავების დაქვეითება. კვლევაში ეს ეფექტი აღინიშნა ქირალის ანალიტების და სელექტორების ყველა 168 კომბინაციისათვის აცეტონიტრილში წყლის 20%-ან შემცველობაზე.

10. კუმატეტრალილის ენანტიომერების აფინურობის მოდელი განპირობებული წყალბადური ბმის ტიპითა და ჰიდროფობური ტიპის ურთიერთქმედებებით Lux ამილოზა - 1 და Lux ცელულოზა - 3 ქირალურ სელექტორთან ერთი და იგივეა. თუმცა ამ ქირალურ სვეტში არ გამოვლენილა ელუირების რიგის შებრუნება და დამოკიდებულება აცეტონიტრილში წყლის შემცველობაზე.
11. ელუირების რიგის შებრუნება გამოვლენილ იქნა კუმატეტრალური ენანტიომერების Lux ცელულოზას-1 სვეტისათვის, რომელიც დამოკიდებული იყო აცეტონიტრილში წყლის შემცველობაზე.
12. შედეგების საფუძველზე აშკარად იკვეთება, რომ წყალბადურ-ბმებზე და ჰიდროფობურ-ურთიერთქმედებებზე დამყარებული ამოცნობის აფინური მოდელები იბუპროფენსა და ვარფარინის ენანტიომერებთან წინააღმდეგობაში მოდიან Lux ცელულოზა - 3 სვეტზე.
13. შესწავლილი 7 ქირალური სვეტიდან პოლარულ-ორგანულ მოძრავ ფაზებში ენანტიომერების დაყოფის უფრო მაღალი უნარით გამოირჩეოდა ამილოზას საფუძველზე მომზადებული სვეტები. მიღებული შედეგებისა ყველა ანალიტის, ელუენტისა და ორივე ენანტიომერების დაყოფის გათვალისწინებით ყველაზე წარმატებულ ქირალურ მწკრივად მიჩნეულია ექსპერიმენტული სვეტი Lux ამილოზა ტრის (3,5-დიმეთილფენილკარბამატი) -ის საფუძველზე მომზადებული ექსპერიმენტული სვეტი (ADMPC). ამ მწკრივში უზრუნველყოფილ იქნა ენანტიომერების დაყოფა 13-14 ქირალურ ანალიტებად მოძრავ ფაზაში ერთობლივად.

4. გამოყენებული ლიტერატურა

1. B. Chankvetadze. Recent developments on polysaccharide-based chiral stationary phases for liquid-phase separation of enantiomers. *J Chromatogr A*, Volume 1269.2012.26-51.
2. Challener CA. Overview of chirality. In: *Chiral drugs*. 1st ed. Aldershot (England): Ashgate Publisher. 2001; 3-14
3. Drayer DE. The early history of stereochemistry. In: *Drug stereochemistry, Analytical methods and pharmacology*. 2nd ed., Wainer IW, editor. New York: Marcel Dekker Publisher. 1993;1-24
4. Cahn RS, Ingold CK, Prelog V. The specification of asymmetric Rentsch KM. The importance of stereoselective determination of drugs in the clinical laboratory. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*. 2002; 54 (1-3): 1-9.
5. Katzung BG. The nature of drugs. In: *Basic and clinical pharmacology*. 9th ed. New York: Lange Medical Books/McGraw Hill. 2004; 3-5.
6. Liu JT, Liu RH. Enantiomeric composition of abused amine drugs: chromatographic methods of analysis and data interpretation. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*. 2002; 54(1-3): 115-146.
7. Landoni MF, Soraci A. Pharmacology of chiral compounds: 2-Arylpropionic acid derivatives. *Current Drug Metabolism*. 2001; 2 (1): 37-51.
8. Ariens EJ. Stereoselectivity of bioactive agents: general aspects. In: *Stereochemistry and Biological activity of Drugs*, by Ariens EJ, Soudijn W & Timmermans PBMWM (Eds). Oxford: Blackwell Scientific. 1983; 11-33.
9. Drayer DE. Pharmacodynamic and pharmacokinetic differences between drug enantiomers in human: an overview. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*. 1986; 40 (2): 125-133.
10. Davies NM, Teng XV. Importance of chirality in drug therapy and pharmacy practice. Implication for psychiatry. *Advances in Pharmacy*. 2003; 1 (3): 242-252.
11. Jamali F, Mehvar R, Pasutto FM. Enantioselective aspects of drug action and disposition: Therapeutic pitfalls. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 1989; 78 (9): 695-715.
12. Burke D, Henderson DJ. Chirality: a blueprint for the future. *British Journal of Anesthesia*. 2002; 88 (4): 563-576.
13. McConalhy J, Owens MJ. Stereochemistry in drug action. *Journal of Clinical Psychiatry – Primary Care Companion*. 2003; 5 (2) 70-73.
14. Bentley R. Chemical methods for the investigation of stereochemical problems in biology. In: *Stereochemistry*, Gamm CT, Editor. New York: Elsevier Biomedical Press. 1982; 49-112.

15. Stoschitzky K, Lindner W, Zernig G. Racemic beta-blockers fixed combinations of different drugs. *Journal of Clinical and Basic Cardiology*. 1998; 1 (1): 15-19.
16. Rahn K, Hawhina A, Kersting F, Planz G. Studies on the antihypertensive action of propranolol in man. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*. 1974; 286: 319-323.
17. J. Agustiana. A. H. Kamaruddina. S. Bhatiaa. Single enantiomeric beta-blockers The existing technologies. *Proc. Biochem*. Volume 45 Issue 10. 2010. 1587-1604.
18. Stoschitzky K, Lindner W, Egginger G, Brunner F, et al. Racemic (R,S)-propranolol versus half-dosed optically pure (S)-propranolol in man at steady state: Hemodynamic effects, plasma concentrations, and influence on thyroid hormone levels. *Clinical Pharmacology, and Therapeutics*. 1992; 51: 445-453.
19. Harrower ADB, Fyffe JA, Horn DB, Strong JA. Thyroxine and triiodothyronine levels in hyperthyroid patients during treatment with propranolol. *Clinical Endocrinology*. 1977; 7: 41-44.
20. Industry Overview. An international symposium on chirality. Cambridge University, Cambridge, UK, organised by scientific update. Conferences 5-7 September 1999. <http://www.geocities.com/jefferywinkler/bcc.doc>.
21. Echizen H, Manz M, Eichelbaum M. Electrophysiologic effects of dextro- and levo- verapamil on sinus node and AV node function in humans. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*. 1988; 12: 543-546.
22. Satoh K, Yanagisawa T, Taira N. Coronary vasodilator and cardiac effects of optical isomers of verapamil in the dog. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*. 1980; 2: 309-318.
23. Asmus MJ, Hendeles L. Levalbuterol nebulizer solution: Is it worth five times the cost of Albuterol? *Pharmacotherapy*. 2000; 20 (2): 123-129.
24. Nowak R. Single-isomer Levalbuterol: A Review of the Acute Data. *Current Allergy and Asthma Reports*. 2003; 3: 172-178.
25. Ho II, Harris RA. Mechanism of action of barbiturates. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*. 1988; 37 (10): 1919-1926.
26. Lee EJD, Williams KM. Clinical pharmacokinetic and pharmacodynamic considerations. *Clinical Pharmacokinetics*. 1990; 18(5): 339-345.
27. Olsen GD, Wendel HA, Livermore JD, Leger RM, et al. Clinical effects and pharmacokinetics of racemic methadone and its optical isomers. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*. 1977; 21: 147-157.
28. Pham-Huy C, Chikhi-Chorfi N, Galons H, Sadeg N, et al. Enantioselective HPLC determination of methadone enantiomers and its major metabolite in human biological fluids using a new derivatized cyclodextrin-bonded phase. *Journal of Chromatography B*. 1997; 700: 155-163.

29. Marzo A, Heftman E. Enantioselective analytical methods in pharmacokinetics with specific reference to genetic polymorphic metabolism. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*.2002; 54(1-3): 57-70.
30. Pham-Huy C, Vilain-Pautet G, He H, Chikhi-Chorfi N, et al. Separation of oxazepam, lorazepam and temazepam enantiomers by HPLC on a derivatized cyclodextrin-bonded phase: Application to the determination in plasma. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*. 2002; 54 (1-3): 287-299.
31. He H, Liu Y, Sun C, Pham-Huy C, et al. Effect of temperature on enantiomer separation of oxazepam and lorazepam by HPLC on a β -cyclodextrin derivatized bonded chiral stationary phase. *Journal of Chromatographic Science*. 2004; 42: 62-66.
32. Mohler H, Richards JC. Benzodiazepine receptors in the central nervous system. In: *The benzodiazepines. From molecular biology to clinical practice*. Costa E, editor. New York: Raven Press.1983; 93-116.
33. Pham-Huy C, Galons H, Voisin J, Zhu J, et al. In vitro and in vivo immunosuppressive potential of thalidomide and its derivative, N-hydroxythalidomide, alone and in combination with cyclosporine A. *International Journal of Immunopharmacology*. 1997; 19(5): 289-296.
34. Robin S, Zhu J, Galons H, Pham-Huy C, et al. A convenient asymmetric synthesis of thalidomide. *Tetrahedron Asymmetry*. 1995;6 (6): 1249-1252.
35. Flaih N, Pham-Huy C, Galons H. An expeditious synthesis of cyclic imides. *Tetrahedron Letters*.1999; 40: 3697-3698.
36. Lin JH, Lu AYH. Role of Pharmacokinetics and Metabolism in Drug Discovery and Development. *Pharmacological Reviews*.1997; 49 (4): 403-449.
37. Mehvar R, Brocks DR, Vakily M. Impact of stereoselectivity on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of antiarrhythmic drugs. *Clinical Pharmacokinetics*. 2002; 41 (8): 533-558.
38. Mehvar R, Brocks DR. Stereospecific pharmacokinetics and pharmacodynamics : Cardiovascular drugs. In: *Chirality in drug design and development*. Reddy IK and Mehvar R, Editors. New York: Marcel Dekker Publisher. 2004; 245-270.
39. Pham-Huy C, Chikhi-Chorfi N, Galons H, Sadeg N, et al. Enantioselective HPLC determination of methadone enantiomers and its major metabolite in human biological fluids using a new derivatized cyclodextrin-bonded phase. *Journal of Chromatography B*. 1997;700: 155-163.
40. Eap CB, Finkbeiner T, Gastpar M, Scherbaum N, et al. Replacement of (R)-methadone by a double dose of (R,S)-methadone in addicts: Interindividual variability of the (R)/(S) ratios and evidence of adaptive changes in

- methadone pharmacokinetics. *European Journal of Clinical Pharmacology*. 1996; 50: 385-389.
41. Chikhi-Chorfi N, Pham-Huy C, Galons H, Manuel N, et al. Rapid determination of methadone and its major metabolite in biological fluids by gas-liquid chromatography with thermoionic detection for maintenance treatment of opiate addicts. *Journal of Chromatography B*. 1998; 718: 278-284
 42. Got PA, Scherrmann JM. Stereoselectivity of antibodies for the bioanalysis of chiral drugs (review). *Pharmaceutical Research*. 1997; 14 (11): 1516-1523.
 43. Cook CE. Enantiomer analysis by competitive binding methods. In: *Drug stereochemistry. Analytical methods and pharmacology*. 2nd ed., Wainer IW, editor. New York: Marcel Dekker Publisher ;1993; 35-64.
 44. Sahui-Gnassi A, Pham-Huy C, Galons H, Warnet JM, et al. Selective antibodies to propranolol enantiomers produced from a new conjugate. *Chirality*. 1993; 5: 448-454.
 45. Chikhi-Chorfi N, Galons H, Pham-Huy C, Thevenin M, et al. Selective antibodies to methadone enantiomers: Synthesis of (R)- and (R,S)-methadone conjugates and determination by an immunoenzymatic method in human serum. *Chirality*. 2001; 13: 187-192.
 46. Waldeck B. Three-dimensional pharmacology, a subject ranging from ignorance to overstatements. *Pharmacology and Toxicology*. 2003; 93 (5):203-210.
 47. Hutt AJ, Valentova J. The chiral switch: The development of single enantiomer drugs from racemates. *Acta Facultatis Pharmaceuticae Universitatis Comenianae*. 2003; 50: 7-23.
 48. Scott AK. Stereoisomers and drug toxicity. The value of single stereoisomer therapy. *Drug Safety*. 1993; 8 (2): 149-159.
 49. Eichelbaum M. Side effects and toxic reactions of chiral drugs: a clinical perspective. *Archives of Toxicology, Supplement*. 1995; 17: 514-521
 50. Raikumar SV. Thalidomide: Tragedy past and promising future. *Commentary. Mayo Clinic Proceedings*. 2004; 79 (7): 899-903.
- Manuel J. Gordon. Xiaohua Huang. and al. *Capillary Electrophoresis. Science. new Series. Vol 242. Issue 4876. 1988. 224-228.*
- Z. Juvancz G. Alexander and J. Szejtli. *Permethyated β -cyclodextrin as stationary phase in capillary gas chromatography* *Journal of High Resolution Chromatography* Volume 10. Issue 2 1987. 105-107
51. B. Chankvetadze, *Capillary Electrophoresis in Chiral Analysis*, John Wiley & Sons, 1997, 555pp.
 52. B. Chankvetadze. *Capillary Electrophoresis in Chiral Analysis*. West Sussex, England. Wiley & Sons L.T.D. 1997. 561.

53. RAY H LIU, WARREN W KU. Chiral stationary phases for the gas-liquid chromatographic separation of enantiomers. *J Chromat.* Volume 271 Issue 2. 1983. 309-323.
54. E. Gasmann, J.E. Cuo, R.N. Zare. Separation of enantiomeric amino acids in ligand exchange capillary electrophoresis. *Science* 230. 1985. 13-24.
55. Separation of enantiomers of chiral drug dimethindene maleate in capillary electrophoresis by using native cyclodextrins as chiral selectors KhatunaGogaladze, BezhanChankvetadze. ნივთიერებათა ელექტრო- და თხევადფაზური დაყოფების მეთოდების მე-18 საერთაშორისო სიმპოზიუმი. 2011. თბილისი.
56. Volker Schurig. Separation of Enantiomers by Gas Chromatography on Chiral Stationary Phases . Chiral separation methods for pharmaceutical and biotechnological products.S. Ahuja (Editor). New Jersey USA. Wiley & Sons Inc. 2011. 251-297.
57. S. Fanali, Enantioselective determination by capillary electrophoresis with cyclodextrins as chiral selectors, *Chromatogr. A*, vol.875. 2000. 89-122
58. Capillary Electrophoresis in Chiral Analysis. B. Chankvetadze. West Sussex, England. Wiley & Sons L.T.D. 1997. 561.
59. Ettre L.S. M.S. Tswett and the invention of chromatography. *LCGC North America*. 2003. Volume 21 Issue 5. 458-467
60. Ettre L.S. M.S. Tswett and the invention of chromatography. *LCGC North America*. 2003. Volume 21 Issue 5. 458-467
61. Fanali S. Haddad P.R. Poole C. Schoenmakers P. Lloyd D. *Liquid Chromatography Fundamentals and Instrumentation*. Waltham USA. Elsevier. 2013. 520.
62. *Liquid Chromatography Fundamentals and Instrumentation*. Fanali S. Haddad P.R. Poole C. Schoenmakers P. Lloyd D. Waltham USA. Elsevier. 2013. 520.
63. Gil-Av E. Freibusch B. Charles-Sigler R. Separation of enantiomers by gas liquid chromatography with an optically active stationary phase. *Tetraheron Letters* 7. 1966. 1009-1015.
64. E. Gil-Av. B.Freibusch. R. Charles-Sigler. Separation of enantiomers by gas liquid chromatography with an optically active stationary phase. *Tetraheron Letters*. Volume 7 Issue10.1966. 1009-1015.
65. Chiral separation methods for pharmaceutical and biotechnological products.S. Ahuja (Editor). New Jersey USA. Wiley & Sons Inc. 2011. 458.
66. StigAllenmark, Volker Schuring. *Chromatography on chiral stationary phases*, *J.Mater. Chem.*,1997, volume 7 Issue 10. 1955-1963.
67. Packed Column SFC. Berger T.A. Newark USA. The Royal Society of Chemistry. 1995. 266
68. Tarafder A. Kaczmariski K. Ranger M. Poe D.P. Guiochon G. Use of the isopycnic plots in designing operations of supercritical fluid chromatography: IV. Pressure and density drops along columns. *Journal of Chromatography A*. 2012. Volume 1238. 132-145

69. Guiochon G. Tarafder A. Fundamental challenges and opportunities for preparative supercritical fluid chromatography. *Journal of Chromatography A*. 2011 Volume 1218 Issue 28. 1037-1114
70. Tarafder A. Guiochon G. Use of isopycnic plots in designing operations of supercritical fluid chromatography: II. The isopycnic plots and the selection of the operating pressure–temperature zone in supercritical fluid chromatography. *Journal of Chromatography A*. 2011. Volume 1218 Issue 28. 4576-4585
71. Ye Y.K. Lynam K.G. Stringham R.W. Effect of amine mobile phase additives on chiral subcritical fluid chromatography using polysaccharide stationary phases. *Journal of Chromatography A*. 2004. Volume 1041 Issue 1-2. 211-217
72. Ventura M. Murphy B. Goetzinger W. Ammonia as a preferred additive in chiral and achiral applications of supercritical fluid chromatography for small, drug-like molecules. *Journal of Chromatography A*. 2012. Volume 1220. 147-155
73. Hamman C. Schmidt Jr D.E. Wong M. Hayes M. The use of ammonium hydroxide as an additive in supercritical fluid chromatography for achiral and chiral separations and purifications of small, basic medicinal molecules. *Journal of Chromatography A*. 2011. Volume 1218 Issue 43. 7886-7894
74. Terfloth G. Enantioseparations in super- and subcritical fluid chromatography. *Journal of Chromatography A*. 2001. Volume 906 Issue 1-2. 301-307
75. Tarafder A. Guiochon G. Use of isopycnic plots in designing operations of supercritical fluid chromatography: I. The critical role of density in determining the characteristics of the mobile phase in supercritical fluid chromatography. *Journal of Chromatography A*. 2011. Volume 1218 Issue 28. 4569-4575
76. StigAllenmark, Volker Schuring. Chromatography on chiral stationary phases, *J.Mater. Chem.* 1997. 7(10). 1955-1963.
77. Javier Hernandez-Borges ZeinebAturki Anna Rocco Salvatore Fanali Recent applications in nanoliquid chromatography *J. Sep. Sci.* 30. 2007. 1589 – 1610.
78. Zhai Z.D. Shi Y.P. Wang T. Development and validation of HPLC methods for enantioseparation of mirtazapine enantiomers at analytical and semipreparative scale using polysaccharide chiral stationary phases. *Anal. Chim. Acta.* 550. 2005. 123-129.
79. Ishihama, Y., *J. Chromatogr. A*. Vol. 1067. 2005. 73 – 83.

80. Hideko Kanazawa, Kazuo Yamamoto and Yoshikazu Matsushima. Temperature-Responsive Chromatography Using Poly(N-isopropylacrylamide)-Modified Silica. *Anal.Chem.* Vol. 68 Issue 1.1996.100–105.
81. Vissers, J. P. C., Claessens, H. A., Cramers, C. A., *J. Chromatogr. A.* 779. 1997. 1–28.
82. Yewen Zhang, Shun Yao, Hao Zeng and Hang Song. Chiral separation of pharmaceuticals by performance liquid chromatography. *Current Pharmaceutical Analysis*, 6. 2010. 114-130
83. Chankvetadze L. Ghibradze N. Karchkhadze M. Peng L. Farkas T. Chankvetadze B. Enantiomer elution order reversal of fluorenylmethoxycarbonyl-isoleucine in high-performance liquid chromatography by changing the mobile phase temperature and composition. *Journal of Chromatography A.* 2011. Volume 1218, Issue 37. 6554–6560
84. W.H. Pirkle, J.M Finn, J.L Schreiner, B.C Hamper. A widely useful chiral stationary phase for high performance liquid chromatography separation of enantiomers. *Journal of The American Chemical Society* 103. 1981. 3964-3966.
85. Okamoto Y. Yashima E. Polysaccharide derivatives for chromatographic separation of enantiomers. *Angewandte Chemie International Edition.* 1998. Volume 37 Issue 8. 1020-1043.
86. Chankvetadze B. Recent developments on polysaccharide-based chiral stationary phases for liquid-phase separation of enantiomers. *Journal of Chromatography A.* 2012. Volume 1269. 26-51
87. Yashima E. Yamamoto C. Okamoto Y. Polysaccharide-based chiral LC columns. *Synlett.* 1998. Volume 4. 344-360
88. Andrei Medvedovici, Pat Sandra, Laura Toribio, Frank David. Chiral packed column subcritical fluid chromatography on polysaccharide and macrocyclic antibiotic chiral stationary phases. *Journal of Chromatography A.* Volume 785, Issues 1–2. 1997. 159–171.
89. Okamoto Y. Kawashima M. Hatada K. Chromatographic resolution. 7. Useful chiral packing materials for high-performance liquid chromatographic resolution of enantiomers: phenylcarbamates of polysaccharides coated on silica gel. *Journal of the American Chemical Society.* 1984. Volume 106 Issue 18. 5357–5359
90. Bezhanchankvetadze. Recent developments on polysaccharide-based chiral stationary phases for liquid-phase separation of enantiomers. *Journal of Chromatography A,* 1269 (2012) 26– 51.
91. Lüttringhaus A. Hess U. Rosenbaum H.J. *Naturforsch Z. Konformations-Enantiomerie.* I. Mitt.: Optisch aktives 4.5.6.7-Dibenzo-1.2-dithiacyclooctadien. *Zeitschrift für Naturforschung.* 1967. Volume 22b. 1296-1300

92. Hesse G. Hagel R. Einevollständige Recematten nungdur cheluitons-chromagographie an cellulose-tri-acetat. *Chromatographia*. 1973. Volume 6 Issue 6. 277-280
93. Ikai T. Okamoto Y. Structure Control of Polysaccharide Derivatives for Efficient Separation of Enantiomers by Chromatography. *Chemical Reviews*. 2009. Volume 109 Issue 11. 6077–6101
94. Okamoto Y. Kawashima M. Hatada K. Chromatographic resolution: XI. Controlled chiral recognition of cellulose triphenylcarbamate derivatives supported on silica gel. *Journal of Chromatography A*. 1986. Volume 363 Issue 2 173-186
95. Ikai T. Yamamoto C. Kamigaito M. Okamoto Y. Enantioseparation by HPLC using phenylcarbonate, benzoylformate, p-toluenesulfonylcarbamate and benzoylcarbamates of cellulose and amylose as chiral stationary phases. *Chirality*. 2005. Volume 17 Issue 6. 299-304
96. Gübitz G. Schmid M. Chiral separation by chromatographic and electromigration techniques. A review. *Biopharmaceutics & Drug Disposition*. 2001. Volume 22 Issue 7-8. 291-336
97. A. Ichida, T. Shibata, I. Okamoto, Y. Yuki, H. Namikoshi, Y. Toda. Resolution of enantiomers by HPLC on cellulose derivatives. *Chromatographia*. 1984. Volume 19 Issue 4. 280-284
98. Okamoto Y. Aburatani R. Hatada K. Chromatographic chiral resolution: XIV. Cellulose tribenzoate derivatives as chiral stationary phases for high-performance liquid chromatography, *Journal of Chromatography A*. 1987. Volume 389. 95-102
99. Okamoto Y. Kawashima M. Hatada K. Chromatographic resolution: XI. Controlled chiral recognition of cellulose triphenylcarbamate derivatives supported on silica gel. *Journal of Chromatography A*. 1986. Volume 363 Issue 2 173-186
100. Hesse, R. Hagel. Eine vollständige Recemattennung durch eluitons-chromagographie an cellulose-tri-acetat. *Chromatographia* 6 (1973) 277.
101. K.R. Lindner, A. Mannschreck. Separation of enantiomers by high-performance liquid chromatography on triacetylcellulose, *Journal of Chromatography A* 193 (1980) 108.
102. John W. Dolan . Temperature selectivity in reversed-phase high performance liquid chromatography .Journal of Chromatography A 965. Issue 1-2 2002. 195-205
103. R.K. Gilpin. J.A. Squires.Effect of Temperature on the Orientation of Bonded Hydrocarbon Phases in Totally Aqueous Liquid Chromatographic Systems. *Chromatogr Sci*. Vol. 19 Issue 4 1981. 195-199.
104. S. Fanali. P.R. Haddad, C. Poole, P. Schoenmakers, D. K. Lloyd. *Liquid Chromatography Fundamentals and Instrumentation*. 2013. 3-4.

105. Lindner K.R. Mannschreck A. Separation of enantiomers by high-performance liquid chromatography on triacetylcellulose. *Journal of Chromatography A*. 1980. Volume 193 Issue 2. 308-310
106. Ikai T. Yamamoto C. Kamigaito M. Okamoto Y. Organic-inorganic hybrid materials for efficient enantioseparation using cellulose 3,5-dimethylphenylcarbamate and tetraethyl orthosilicate. *Chemistry – An Asian Journal*. 2008. Volume 3 Issue 8-9. 1494-1499
107. J.H. Park, Y.-C. Whang, Y.-J. Jung, Y. Okamoto, C. Yamamoto, P.W. Carr, C.V. McNeff. Separation of racemic compounds on amylose and cellulose dimethylphenylcarbamate-coated zirconia in HPLC. *Journal of Separation Science*. 2003. Volume 26. Issue 15-16. 1331-1336.
108. Xu H. Zhang Y. Lu Q. Covalently bound polysaccharide-based chiral stationary phases and method for their preparation. US Patent application number: US 2009/0216006 A1. Filed: February 19, 2009. Publication Date: August 27, 2009.
109. Seo Y.-J. Kang G.-W. Park S.-T. Moon M. Park J.-H. Cheong W.-J. Titanized or zirconized porous silica modified with a cellulose derivative as new chiral stationary phases. 2007. *Bulletin of the Korean Chemical Society*. Volume 28 Issue 6. 999-1004
110. Ling F. Brahmachary E. Xu M. Svec F. Fréchet J.M.J. Polymer-bound cellulose phenylcarbamate derivatives as chiral stationary phases for enantioselective HPLC. *Journal of Separation Science*. Volume 26 Issue 15-16. 1337-1346.
111. B. Chankvetadze, C. Yamamoto, Y. Okamoto. Very Fast Enantioseparation in High-performance Liquid Chromatography Using Cellulose Tris(3,5-dimethylphenylcarbamate) Coated on Monolithic Silica Support. *Chemistry Letters*. 2003. Volume 32. 240-241
112. B. Chankvetadze. Monolithic chiral stationary phases for liquid-phase enantioseparation techniques. *Journal of Separation Science*. 2010. Volume 33 Issue 3. 305-314
113. G. Guiochon, F. Gritti. Shell particles, trials, tribulations and triumphs, *Journal of Chromatography A*. 2011. Volume 1218 Issue 15. 1915-1938
114. B. Chankvetadze, E. Yashima, Y. Okamoto. Dimethyl-, dichloro- and chloromethylphenylcarbamates of amylose as chiral stationary phases for high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*. 1995. Volume 694 Issue 1. 101-109
115. Kubota T. Yamamoto C. Okamoto Y. Phenylcarbamate derivatives of cellulose and amylose immobilized onto silica gel as chiral stationary phases for high-performance liquid chromatography. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*. 2004. Volume 42 Issue 18. 4704-4710
116. Chen X. Yamamoto C. Okamoto Y. One-pot synthesis of polysaccharide 3,5-dimethylphenylcarbamates having a random vinyl group for immobilization on silica gel as chiral stationary phases. *Journal of Separation Science*. 2006. Volume 29 Issue 10. 1432-1439

117. B. Chankvetadze, T. Ikai, C. Yamamoto, Y. Okamoto. High-performance liquid chromatographic enantioseparations on monolithic silica columns containing a covalently attached 3,5-dimethylphenylcarbamate derivative of cellulose. *Journal of Chromatography A*. 2004. Volume 1042 Issue 1-2. 55-60
118. Ikai T. Yamamoto C. Kamigaito M. Okamoto Y. Efficient immobilization of cellulose phenylcarbamate bearing alkoxyethyl Group onto Silica Gel by Intermolecular Polycondensation and Its Chiral Recognition. *Chemistry Letters*. 2006. Volume 35 Issue 11. 1250-1251
119. Ikai T. Yamamoto C. Kamigaito M. Okamoto Y. Immobilization of polysaccharide derivatives onto silica gel: Facile synthesis of chiral packing materials by means of intermolecular polycondensation of triethoxysilyl groups. *Journal of Chromatography A*. 2007. Volume 1157 Issue 1-2. 151-158
120. Ghanem A. Naim L. Immobilized versus coated amylose tris(3,5-dimethylphenylcarbamate) chiral stationary phases for the enantioselective separation of cyclopropane derivatives by liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*. 2006. Volume 1101 Issue 1-2. 171-178
121. Yamamoto C. Okamoto Y. Optically active polymers for chiral separation. *Bulletin of the Chemical Society of Japan*. 2004. Volume 77. 227-257
122. Okamoto Y. Yashima E. Polysaccharide derivatives for chromatographic separation of enantiomers. *Angewandte Chemie International Edition*. 1998. Volume 37 Issue 8. 1020-1043
123. Cavazzini A. Pasti L. Massi A. Marchetti N. Dondi F. Recent applications in chiral high performance liquid chromatography: A review. *Analytica Chimica Acta*. 2011. Volume 706 Issue 2. 205-222
124. Balmér K. Persson B.-A. Lagerström P.-O. Stereoselective effects in the separation of enantiomers of omeprazole and other substituted benzimidazoles on different chiral stationary phases. *Journal of Chromatography A*. 1994. Volume 660 Issue 1-2. 269-273
125. Gyllenhaal O. Stefansson M. Reversal of elution order for profen acid enantiomers in normal phase LC on Chiralpak AD. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2008. Volume 46 Issue 5. 860-865
126. Chen X. Jin W. Qin F. Liu Y. Zou H. Guo B. Capillary electrochromatographic separation of enantiomers on chemically bonded type of cellulose derivative chiral stationary phases with a positively charged spacer. *Electrophoresis*. 2003. Volume 24 Issue 15. 2559-2566.
127. Gyllenhaal O. Stefansson M. Reversal of elution order for profen acid enantiomers in packed-column SFC on Chiralpak AD. *Chirality*. 2005. Volume 17 Issue 5. 257-265
128. Xiang C. Liu G. Kang S. Guo X. Yao B. Weng W. Zeng Q. Unusual chromatographic enantioseparation behavior of naproxen on an

- immobilized polysaccharide-based chiral stationary phase. *Journal of Chromatography A*. 2011. Volume 1218 Issue 48. 8718-8721.
129. Balmer K, Lagerström P.-O, Persson B.-A. Reversed retention order and other stereoselective effects in the separation of amino alcohols on Chiralcel OD. *Journal of Chromatography A*. 1992. Volume 592 Issue 1-2. 331-337
 130. Matarashvili I, Chankvetadze L, Fanali S, Farkas T, Chankvetadze B. HPLC separation of enantiomers of chiral arylpropionic acid derivatives using polysaccharide-based chiral columns and normal-phase eluents with emphasis on elution order. *Journal of Separation Sciences*. 2013. Volume 36 Issue 1. 140-147.
 131. Ma S, Shen S, Lee H, Eriksson M, Zeng X, Xu J, Fandrick K, Yee N, Senanayake C, Grinberg N. Mechanistic studies on the chiral recognition of polysaccharide-based chiral stationary phases using liquid chromatography and vibrational circular dichroism: Reversal of elution order of N-substituted alpha-methyl phenylalanine esters. *Journal of Chromatography A*. 2009. Volume 1216 Issue 18. 3784-3793
 132. Dossou K.S.S, Chiap P, Chankvetadze B, Servais A.-C, Fillet M, Crommen J. Enantioresolution of basic pharmaceuticals using cellulose tris(4-chloro-3-methylphenylcarbamate) as chiral stationary phase and polar organic mobile phases. *Journal of Chromatography A*. 2009. Volume 1216 Issue 44. 7450-7455
 133. Jibuti G, Mskhiladze A, Takaishvili N, Chankvetadze L, Karchkhadze M, Farkas T, Chankvetadze B. HPLC separation of dihydropyridine derivatives enantiomers with emphasis on elution order using polysaccharide-based chiral columns. *Journal of Separation Science*. 2012. Volume 35 Issue 19. 2529-2537
 134. Toyo'oka T. Resolution of chiral drugs by liquid chromatography based upon diastereomer formation with chiral derivatization reagents. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*. 2002; 54 (1-3): 25-56.
 135. Pham-Huy C, Sahui-Gnassi A, Saada V, Gramond JP, et al. Microassay of propranolol enantiomers and conjugates in human plasma and urine by HPLC after chiral derivatization for pharmacokinetic study. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 1994; 12 (9): 1189-1198.
 136. Davies BJ, Herbert MK, Culbert JA, Pyke SM, et al. Enantioselective assay for the determination of perhexiline enantiomers in human plasma by liquid chromatography. *Journal of Chromatography B*. 2006; 832: 114-120.
 137. Aboun-Enein HY, Ali I. Introduction. In: *Chiral separations by liquid chromatography and related technologies*. Aboun-Enein HY, Ali I. Editors. New York: Marcel Dekker. 2003; 1-20.
 138. Gubitz G., Schmid MG. Chiral separation principles. In: *Chiral separations: Methods and protocols*. Gubitz G., Schmid MG. Editors. New Jersey: Humana Press Inc. 2004; 1-28

139. Anderson S, Allenmark SG. Preparative chiral chromatographic resolution of enantiomers in drug discovery. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*. 2002; 54 (1-3): 11-23.
140. Davies BJ, Herbert MK, Culbert JA, Pyke SM, et al. Enantioselective assay for the determination of perhexiline enantiomers in human plasma by liquid chromatography. *Journal of Chromatography B*. 2006; 832: 114-120.
141. He H, Sun C, Wang XR, Pham-Huy C, et al. Solid-phase extraction of methadone enantiomers and benzodiazepines in biological fluids by two polymeric cartridges for liquid chromatographic analysis. *Journal of Chromatography B*. 2005; 814: 385-391.
142. Murphy-Poulton SF, Boyle F, Gu XQA, Mather LE. Thalidomide enantiomers: Determination in biological samples by HPLC and vancomycin-CSP. *Journal of Chromatography B*. 2006; 831: 48-56.
143. Staroverov SM, Kuznetsov MA, Nesterenko PN, Vasiarov GG, et al. New chiral stationary phase with macrocyclic glycopeptide antibiotic ceremomycin chemically bonded to silica. *Journal of Chromatography A*. 2006; 1108: 263-267.
144. Bojarski J, Aboun-Enein HY, Ghanem A. What's new in chromatographic enantioseparations. *Current Analytical Chemistry*. 2005; 1: 59-97.
145. Stirling DI. Enzymatic synthesis and resolution of enantiomerically pure compounds. In: *Drug stereochemistry. Analytical methods and pharmacology*. 2nd ed., Wainer IW, editor. New York: Marcel Dekker Publisher. 1993; 213-242
146. Stirling DI. Enzymatic synthesis and resolution of enantiomerically pure compounds. In: *Drug stereochemistry. Analytical methods and pharmacology*. 2nd ed., Wainer IW, editor. New York: Marcel Dekker Publisher. 1993; 213-242.
147. Johannsen M, Peper S, Depta A. Simulated moving bed chromatography with supercritical fluids for the resolution of binaphthol enantiomers and phytol isomers. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*. 2002; 54 (1-3): 85-102.
148. Mann A, Wermuth CG. Prix Nobel de Chimie 2001: William S. Knowles, Ryoji Noyori, K. Barry Sharpless. *La catalyse asymetrique. Medecine/Sciences*. 2001; 17: 1230-1232 (French).
149. Challener CA. Methodologies for obtaining chiral compounds: some examples. In: *Chiral drugs*. 1st ed. Aldershot (England): Ashgate Publisher. 2001; 77-110.
150. Okamoto M, Nakazawa H. Reversal of elution order during direct enantiomeric separation of pyriproxyfen on a cellulose-based chiral stationary phase. *Journal of Chromatography A*. 1991. Volume 588 Issue 1-2. 177-180
151. Chankvetadze B, Yashima E, Okamoto Y. Tris(chloro- and methyl-disubstituted phenylcarbamate)s of cellulose as chiral stationary phases for

- chromatographic enantioseparation. Chemistry Letters. 1993. Volume 22. 617-620
152. Chankvetadze B. Chankvetadze L. Sidamonidze Sh. Kasashima E. Yashima E. Okamoto Y. 3-Fluoro-, 3-chloro- and 3-bromo-5-methylphenylcarbamates of cellulose and amylose as chiral stationary phases for high-performance liquid chromatographic enantioseparation. Journal of Chromatography A. Volume 787 Issue 1-2. 67-77
153. დ.ღუღუნიშვილი, ი.მათარაშვილი, თ.ხატიაშვილი, ნ.თაყაიშვილი, მ.ცინცაძე. „კუმარინის ზოგიერთი ქირალური ნაწარმის ენანტიომერების დაყოფა მაღალეფექტურ სითხურ ქრომატოგრაფიაში პოლისაქარიდული ქირალური სტაციონალური ფაზების და წყალი ორგანული გამხსნელის ტიპის მოძრავი ფაზების გამოყენებით“. საქართველოს ქიმიური ჟურნალი. ტ.16 , N1, გვ.221-230.
154. Manuel J. Gordon. Xiaohua Huang. and al. Capillary Electrophoresis. Science. new Series. Vol 242. Issue 4876. 1988.224-228.
155. Z. JuvanczG. Alexander andJ. SzejtliPermethylated β -cyclodextrin as stationary phase in capillary gas chromatographyJournal of High Resolution ChromatographyVolume 10.Issue 2 1987. 105-107
156. Darejan Ghughunishvili, Iza Matarasvili, Lali Chakvetadze, NinoTakaisvili, Tamar XatiaSvili, Maia Tsincaadze, Tivadar Farkas, Bezhan Chankvetadze. „Separation of enantiomers of chiral weak acids withpolysaccharide-based chiral columns and aqueous-organic mobilephases in high-performance liquid chromatography: Typicalreversed-phase behavior? XIV Jurnal of Chromatography A.1483(2017) (86-92) www.elsevier.com/locate/chroma.
157. დ.ღუღუნიშვილი, მ.ცინცაძე, ი.მათარაშვილი. „არილპროპიონის მჟავის ზოგიერი ქირალური ნივთიერებების ენანტიომერების დაყოფა მაღალეფექტურ სითხურ ქრომატოგრაფიაში პოლისაქარიდული ქირალური სტაციონარული ფაზების და წყალი-ორგანული გამხსნელის ტიპის მოძრავი ფაზების გამოყენებით. საქართველოს ქიმიური ჟურნალი. ტ.16, N1, გვ. 221-230.
158. დ.ღუღუნიშვილი, მ.ცინცაძე. „სუსტი მჟავა ბუნების (კარბონმჟავის) შემცველი ქირალური ნივთიერებების ენანტიომერების დაყოფა მესქ (HPLC) პოლისაქარიდული ქირალური სვეტითა დამოძრავი პოლარულ-ორგანული ფაზებით. საქართველოს ტექნიკური უნივერსიტეტის შრომები.