

ივანე ჯავახიშვილის სახელობის თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტი
ზუსტ და საბუნებისმეტყველო მეცნიერებათა ფაკულტეტი

დოქტორანტურის საგანმანათლებლო პროგრამა: ქიმია

თამარ ხატიაშვილი

სილიკაგელზე დაფენილი და კოვალენტურად იმოზილიზებული
ცელულოზა ტრის(3-ქლორ-5-მეთილფენილკარბამატის) შედარებითი
დახასიათება ენანტიომერული ნარევების დასაყოფად მაღალეფექტურ
სითხურ ქრომატოგრაფია მას-სპექტრომეტრიაში

ქიმიის დოქტორის აკადემიური ხარისხის მოსაპოვებლად წარმოდგენილი
დისერტაცია

სამეცნიერო ხელმძღვანელი: ბეჟან ჭანკვეტაძე
პროფესორი, საქართველოს მეცნიერებათა ეროვნული აკადემიის აკადემიკოსი

თბილისი

2023 წელი

Ivane Javakishvili Tbilisi State University

Faculty of Exact and Natural Sciences

Doctoral Program: Chemistry

Tamar Khatiashvili

**Comparative Study of Cellulose tris(3-chloro-5-methylphenylcarbamate) Coated
and Covalently Immobilized on Silica for Separation of Enantiomers in High-
performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry**

The thesis work is performed to obtain a PhD academic degree in chemistry

Scientific Supervisor: Bezhan Chankvetadze

Professor, Academician of the Georgian National Academy of Sciences

Tbilisi

2023

ანოტაცია

ენანტიომერების ანალიზური და პრეპარატული დაყოფა ერთ-ერთ მნიშვნელოვან პრობლემას წარმოადგენს იმ მიზეზის გამო, რომ ენანტიომერები იდენტურ თვისებებს ავლენენ აქირალურ გარემოში, თუმცა ქირალურ გარემოში მათი თვისებები განსხვავებულია. მხოლოდ 1980 წლიდან გახდა შესაძლებელი მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფიის გამოყენებით ენანტიომერული ნარევების დაყოფა. დღესდღეობით მაღალეფექტურ სითხურ ქრომატოგრაფიაში არსებული ქირალური სელექტორებიდან ყველაზე ხშირად გამოიყენება პოლისაქარიდების საფუძველზე მომზადებული ქირალური სვეტები. პოლისაქარიდული ბუნების ქირალური სტაციონარული ფაზის დამზადება ძირითადად ხდება პოლისაქარიდის ნაწარმის ფიზიკური დაფენით სილიკაგელზე. ქირალური სელექტორის მომზადების ამ მეთოდს რიგი უპირატესობები გააჩნია. ერთის მხრივ, არის სწრაფი მეთოდი, რომელიც არ საჭიროებს სილიკაგელის ზედაპირის წინასწარ გააქტიურებას. რაც შეეხება კოვალენტურად იმობილიზებულ სელექტორებს, აქ პოლისაქარიდული ჯაჭვების ურთიერთდაკავშირება არის იმობილიზაციის მთავარი მექანიზმი. ამ მეთოდის უპირატესობა მდგომარეობს იმაში, რომ იმობილიზირებული ქირალური სტაციონარული ფაზები არის მდგრადი და თავსებადი გამხსნელების მრავალნაირ კომბინაციასთან.

სადისერტაციო ნაშრომის მთავარ მიზანს წარმოადგენდა ცელულოზა ტრის(3-ქლორ-5-მეთილფენილკარბამატის) ფოტოქიმიური იმობილიზაციით მიღებული ქირალური სტაციონარული ფაზის შეფასება და ამ მასალის შედარება სილიკაგელზე ცელულოზა ტრის(3-ქლორ-5-მეთილფენილკარბამატის) დაფენით მომზადებულ ადსორბენტთან ენანტიომერული ნარევების დასაყოფად მაღალეფექტურ სითხურ ქრომატოგრაფიაში. სტაციონარული ფაზები შედარდა ენანტიომერების დაყოფის უნარის მიხედვით მოძრავ ფაზებად მეთანოლის, აცეტონიტრილის და ჰექსანი-იზოპროპანოლის (სხვადასხვა მოცულობითი თანაფარდობით) ნარევების გამოყენებით; შესწავლილია კეტოპროფენის და ზალტოპროფენის ენანტიომერების დაყოფის თერმოდინამიკური

პარამეტრები. ორივე შესწავლილი ქირალური ნივთიერებისთვის ენთალპიური წევრი ხელს უწყობს ადსორბციას, ხოლო ენტროპიული წევრი, პირიქით, უარყოფითად მოქმედებს მასზე.

ვინაიდან ახალი ფსიქოტროპული საშუალებების რაოდენობა მუდმივად იზრდება, და მათი უმრავლესობა ქირალურ ნივთიერებებს წარმოადგენს, სასამართლო ექსპერტიზაში ენანტიოსელექტიური ანალიზის როლი სულ უფრო მნიშვნელოვანი ხდება. ენანტიოსელექტიური მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფია - ტანდემური მას-სპექტრომეტრია (HPLC-MS/MS) აკმაყოფილებს ანალიზური მეთოდისადმი ამ სფეროში არსებულ მოთხოვნებს. ამასთან, არსებობს გარკვეული ტექნიკური საკითხები, რომლებიც მეცნიერებმა უნდა გაითვალისწინონ, რათა სწორად ჩატარდეს ენანტიოსელექტიური HPLC-MS/MS ექსპერიმენტი და ექსპერიმენტულ შედეგებს სწორი ინტერპრეტაცია მიეცეს.

ექსპერიმენტებში, დაკვირვება დაყოფაზე ხორციელდებოდა მაღალეფექტურ სითხურ ქრომატოგრაფთან თანმიმდევრულად მიერთებული UV-VIS და MS/MS დეტექტორებით. შესწავლილია დაყოფის სელექტივობის და ნიმუშის კონცენტრაციის გავლენა ენანტიომერების პიკების ფართობებს შორის განსხვავებაზე. აღმოჩნდა, რომ ენანტიომერების პიკების ფართობებს შორის განსხვავება რაცდმატში სელექტივობის ზრდასთან ერთად იზრდება, ხოლო ნიმუშის განზავებასთან ერთად მცირდება.

Annotation

Analytical and preparative separation of enantiomers is considered as the most difficult problem in separation science for many years due to identical properties of enantiomers in achiral environment. However, in chiral environment their properties are different. Only since 1980s chiral columns for high-performance liquid chromatographic (HPLC) separation of enantiomers became commercially available. Among all chiral stationary phases (CSP) available today for HPLC separation of enantiomers, polysaccharide-based chiral columns are most widely used. Polysaccharide-based CSPs are commonly prepared by physical coating of polysaccharide derivative onto the surface of silica. This is a fast method that does not require pre-activation of silica or polysaccharide derivative. As for covalently immobilized CSPs, the main mechanism of immobilization is a covalent attachment of polysaccharide chain onto silica or crosslinking of polysaccharide chains. The advantage of this method is that immobilized chiral stationary phases are stable and compatible with various mobile phase composition.

The major goal of the present thesis was to evaluate CSP obtained by photochemical immobilization of cellulose tris(3-chloro-5-methylphenylcarbamate) on silica and its comparison with adsorbent prepared by coating cellulose tris(3-chloro-5-methylphenylcarbamate) on silica for separation of enantiomers in HPLC. We also compared separation of enantiomers in different mobile phases, such as methanol, acetonitrile and mixtures of n-hexane and propan-2-ol with various ratios. In addition, in the present work the effect of temperature on HPLC separation of ketoprofen and zaltoprofen enantiomers was studied. In the case of both studied compounds, both, the adsorption and the separation were favored by enthalpic term and disfavored by entropy.

Since the number of illicit drugs grows steadily, and most of them are chiral compounds, the role of enantioselective analysis in forensic toxicology becomes increasingly important. Enantioselective high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS) meets current requirements in this field more or less adequately and has the potential to assist in determination of cause of death. As our experience shows there are some technical issues

the scientists have to consider in order to correctly perform enantioselective HPLC-MS/MS experiment and to interpret experimental results adequately.

In the experiment mentioned above, the enantiomers of chiral substances were separated on coated and covalently immobilized cellulose tris(3-chloro-5-methylphenylcarbamate) in HPLC and detected with serially connected UV-VIS and MS/MS detectors. We studied the effect of separation selectivity and sample concentration on the difference between the value of peak areas of both enantiomers. It was found that the difference between the value of peak areas of both enantiomers in the racemate increases with increasing separation selectivity and decreases with sample dilution.

შინაარსი

1. შესავალი	1
2. ლიტერატურის მიმოხილვა.....	7
2.1. ენანტიომერები	7
2.1.1. ენანტიომერების ზოგადი მიმოხილვა	7
2.1.2. ენანტიომერულად სუფთა ქირალურ ნივთიერებათა მიღების წყაროები.....	7
2.1.3. ენანტიომერულად სუფთა ქირალური ნივთიერებების მიღება რაცემატიდან	8
2.1.4. ენანტიომერული ნარევის მონიშვნის ტექნიკა.....	9
2.1.5. ქირალური ნივთიერებების დაყოფის მნიშვნელობა	10
2.2. ქრომატოგრაფია	12
2.2.1. ქრომატოგრაფიის ზოგადი მიმოხილვა	12
2.2.2. მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფია.....	14
2.2.3. ძირითადი ქრომატოგრაფიული მახასიათებლები	16
2.2.4. პოლისაქარიდების ნაწარმების გამოყენება მაღალეფექტურ სითხურ ქრომატოგრაფიაში	19
2.3. თერმოდინამიკა.....	21
2.3.1. ზოგადი მიმოხილვა.....	21
2.3.2. ენანტიომერული ნარევების დაყოფის თერმოდინამიკური პარამეტრები	24
2.4. მას-სპექტრომეტრია	26
2.4.1. მას-სპექტრომეტრიის ზოგადი მიმოხილვა.....	26
2.4.2. მას-სპექტრომეტრის ხელსაწყოთა სქემა და მუშაობის პრინციპი	27
2.4.3. მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფია/ მას-სპექტრომეტრი (HPLC/MS).....	29
2.4.4. მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფია-მას-სპექტრომეტრიის (HPLC-MS) გამოყენება.....	31
3. ექსპერიმენტული ნაწილი	33
3.1. გამოყენებული ხელსაწყოები	33
3.2. გამოყენებული მასალები	37
4. კვლევის შედეგები და მათი განხილვა	43
4.1. სილიკაგელზე დაფენილი და კოვალენტურად იმობილიზებული ცელულოზა ტრის(3- ქლორ-5-მეთილფენილკარბამატის) შედარებითი დახასიათება ენანტიომერული ნარევების დასაყოფად მოძრავ ფაზად მეთანოლის გამოყენებით	43

4.2. სილიკაგელზე კოვალენტურად იმობილიზებული ცელულოზა ტრის(3-ქლორ-5-მეთილფენილკარბამატის) დახასიათება ენანტიომერული ნარევების დასაყოფად მოძრავ ფაზად ჰექსანი/იზოპროპანოლის (სხვადასხვა მოცულობითი თანაფარდობით) გამოყენებით	47
4.3. სილიკაგელზე დაფენილი და კოვალენტურად იმობილიზებული ცელულოზა ტრის(3-ქლორ-5-მეთილფენილკარბამატის) შედარებითი დახასიათება ენანტიომერული ნარევების დასაყოფად მოძრავ ფაზად აცეტონიტრილის გამოყენებით	48
4.4. მოძრავი ფაზის ოპტიმიზაცია	52
4.5. სილიკაგელზე დაფენილი თუ კოვალენტურად იმობილიზებული ცელულოზა ტრის(3-ქლორ-5-მეთილფენილკარბამატი)?	53
4.6. ტემპერატურის როლის შესწავლა ენანტიომერული ნარევების დაყოფაში	55
4.7. ენანტიომერების პიკების ფართობებს შორის განსხვავებაზე დაკვირვება სელექტივობასთან მიმართებაში მას-სპექტრომეტრული დეტექტორის გამოყენებისას	65
4.8. განზავების გავლენა ენანტიომერების პიკების ფართობებს შორის განსხვავებაზე	68
4.9. ოთხ კომპონენტური ნარევის დაყოფა მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფია-მას-სპექტრომეტრიის გამოყენებით	69
5. დასკვნები	76
6. გამოყენებული ლიტერატურა	77
დანართი 1	90
დანართი 2	110

1. შესავალი

თემის აქტუალობა: ენანტიომერების დაყოფა ერთ-ერთ აქტუალურ საკითხს წარმოადგენს ქიმიაში როგორც პრაქტიკული, ისე თეორიული თვალსაზრისით. ამ თემის პრაქტიკული მნიშვნელობა განპირობებულია იმით, რომ ქირალური პრეპარატების ენანტიომერები შეიძლება ხასიათდებოდეს პრინციპულად განსხვავებული ბიოლოგიურ აქტივობით ან ტოქსიურობით. ნებისმიერი ქირალური ნივთიერება, ქირალურ გარემოში მოხვედრისას, როგორცაა ბიოლოგიური ორგანიზმები, ენანტიოსელექტივობას სხვადასხვაგვარად გამოავლენს. მაგალითად, ქირალური პესტიციდების ენანტიომერები სხვადასხვაგვარად გარდაიქმნებიან ერთი და იგივე ფერმენტულ გარემოში და ხასიათდებიან განსხვავებული მდგრადობით. დღესდღეობით არსებული სამკურნალო პრეპარატების ნახევარზე მეტი ქირალური ნივთიერებაა, მათგან დაახლოებით 90% რაციმული პრეპარატია, რაც ნიშნავს იმას, რომ აქტიური ნივთიერება შეიცავს ტოლი რაოდენობით ენანტიომერებს, რომლებიც ხშირად აბსოლუტურად განსხვავებული ფარმაკოლოგიური აქტივობით, ფარმაკოკინეტიკით და ფარმაკოდინამიკით ხასიათდება. აქედან გამომდინარე, პრეპარატების ქირალობა უმნიშვნელოვანეს საკითხს წარმოადგენს როგორც სამკურნალო პრეპარატების დაგეგმვისა და შემუშავების, ასევე ენანტიომერების განსხვავებული მოქმედების მოლეკულური მექანიზმების გარკვევის თვალსაზრისით. 1980 წლიდან გახდა შესაძლებელი მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფიის გამოყენება და ის ბოლო 30 წლის განმავლობაში ენანტიომერების დაყოფის ერთ-ერთ საუკეთესო მეთოდად იქცა.

დღესდღეობით მაღალეფექტურ სითხურ ქრომატოგრაფიაში არსებული ქირალური სელექტორებიდან ყველაზე ხშირად გამოიყენება პოლისაქარიდული ქირალური სელექტორები და კომერციულად ხელმისაწვდომი ქირალური სვეტების უმეტესობაც დამზადებულია პოლისაქარიდული ქირალური სელექტორების გამოყენებით. მიუხედავად იმისა, რომ პოლისაქარიდული ქირალური სელექტორები ინტენსიურად გამოიყენება, მათი ქირალური გამოცნობის მექანიზმი არ არის კარგად შესწავლილი. წარსულში დიდი ძალისხმევა დაიხარჯა პოლისაქარიდის ფენილკარბამატების მიერ ენანტიომერების დაყოფის ძირითადი მექანიზმის

გარკვევის მიზნით, მაგრამ ძირითად კითხვებზე პასუხები ჯერ კიდევ არ გაცემულა. ერთ-ერთი ყველაზე ადრეული ვარაუდი ეკუთვნის ოკამოტოს და მის თანაავტორებს, რაც ეხებოდა კარბამატის ფრაგმენტის საკვანძო როლს პოლისაქარიდის ფენილკარბამატების ქირალურ გამოცნობის უნარში. ამ ვარაუდის ჭეშმარიტება ძალაში რჩება დღესაც. აღნიშნული კონცეფციის გათვალისწინებამ და ფენილის ჯგუფში ჩამნაცვლებლების გავლენით კარბამატის ფრაგმენტზე ელექტრონული სიმკვრივის ცვლილებამ შესაძლებელი გახადა მძლავრი ქირალური სელექტორების სინთეზი, რომელთა კომერციალიზაციაც წარმატებით განახორციელა რამდენიმე წამყვანმა კომპანიამ. იმ მიზნით, რომ მივიღოთ მეტი ინფორმაცია პოლისაქარიდის ფენილკარბამატის ენანტიოსელექტიური გამოცნობის მექანიზმის შესახებ, აუცილებელია შესწავლილი იქნას ზოგიერთი უჩვეულო ეფექტის მექანიზმი, კერძოდ ისეთის, როგორც არის მოძრავი ფაზის და ტემპერატურის გავლენა ენანტიომერების ელუირების რიგზე და ა.შ.

სამეცნიერო სიახლე: სადოქტორო ნაშრომის მთავარ სიახლეს წარმოადგენს ახალი ტიპის უხსნადი ქირალური სელექტორის ცელულოზა ტრის(3-ქლორ-5-მეთილფენილკარბამატის) გამოყენება. პირველად იქნა დეტალურად შესწავლილი ცელულოზა ტრის(3-ქლორ-5-მეთილფენილკარბამატის) ტიპის ქირალური სელექტორი, როგორც იმობილიზებული სახით, ასევე დაფენილი სახით. აგრეთვე, აღსანიშნავია, რომ მოხდა იმობილიზაციის მექანიზმის შესწავლა ქირალური გამოცნობის უნარზე, ამ ექსპერიმენტში 170-ზე მეტი ქირალური ნივთიერებაა გამოყენებული. ამასთანავე, შედარებულია ერთი და იგივე ქირალური სელექტორისთვის კოვალენტური იმობილიზაციის გავლენა ქირალური გამოცნობის უნარზე. პოლისაქარიდული ბუნების ქირალური სტაციონარული ფაზების დამზადება ხდება პოლისაქარიდის ნაწარმის ფიზიკური დაფენით სილიკაგელზე. ქირალური სელექტორის მომზადების მოწოდებულ მეთოდს რიგი უპირატესობები გააჩნია. ერთის მხრივ, არის სწრაფი მეთოდი, რომელიც არ საჭიროებს სილიკაგელის წინასწარ ქიმიურ გააქტიურებას მასზე სხვადასხვა ქიმიური ჯგუფების მიზმის გზით. ასევე, მეთოდი ქირალური სელექტორის რაოდენობის ვარიაციის საშუალებას იძლევა. მეთოდის მთავარი ნაკლი არის სილიკაგელზე დაფენილი ქირალური სელექტორის უმდგრადობა სხვადასხვა მოძრავი ფაზის მიმართ. მოძრავი ფაზის შემადგენელ

ზოგიერთ ორგანულ გამხსნელში იხსნება ქირალური სელექტორი. ამ პრობლემის გადასაჭრელად ხდება პოლისაქარიდის ნაწარმის იმობილიზაცია ინერტულ სარჩულზე. აღნიშნული მეთოდი მნიშვნელოვნად ზრდის ქირალური სელექტორების გამოყენების არეალს მათი სხვადასხვა მოძრავი ფაზების მიმართ მდგრადობის გაზრდის ხარჯზე. კოვალენტურად იმობილიზებული სელექტორების უპირატესობა მდგომარეობს იმაშიც, რომ ისინი თავსებადია გამხსნელების მრავალნაირ კომპოზიციასთან.

აგრეთვე, აღსანიშნავია, რომ შევიმუშავეთ ენანტისელექტიური სითხური ქრომატოგრაფია - ტანდემური მას-სპექტრომეტრიული (HPLC-MS/MS) მეთოდი, რომელიც საშუალებას გვაძლევს დავყოთ და რაოდენობრივად განვსაზღვროთ დექსტრომეთორფანი და ლევომეთორფანი და მათი ფარმაკოლოგიურად აქტიური O-დემეთილ მეტაბოლიტები, დექსტრორფანი და ლევორფანოლი ადამიანის სისხლის ნიმუშებში. პირველად დავაფიქსირეთ და რაოდენობრივად განვსაზღვრეთ ენანტიოსელექტიური მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფიის მეთოდით დექსტრომეთორფანთან ერთად ლევომეთორფანი სიკვდილის შემდგომ აღებულ სისხლის ნიმუშებში. ადრე, როდესაც მეთორფანის აღმოჩენა ხდებოდა, ყოველთვის ვარაუდობდნენ, რომ ეს იყო დექსტრომეთორფანი.

სამუშაოს მიზნები:

1. სილიკაგელზე დაფენილი ან კოვალენტურად იმობილიზებული ცელულოზა ტრის(3-ქლორ-5-მეთილფენილკარბამატის) საფუძველზე მომზადებული ქირალური სტაციონარული ფაზების შედარება ენანტიომერების დაყოფის უნარის მიხედვით მოძრავ ფაზებად მეთანოლის, აცეტონიტრილის და ჰექსანი-იზოპროპანოლის (სხვადასხვა მოცულობითი თანაფარდობით) ნარევების გამოყენებით.
2. ქრომატოგრაფიული დაყოფების თერმოდინამიკური პარამეტრების განსაზღვრა.
3. დაყოფის სელექტივობის და ნიმუშის კონცენტრაციის გავლენის შესწავლა ენანტიომერების პიკების ფართობებს შორის განსხვავებაზე სითხურ ქრომატოგრაფია - მას-სპექტრომეტრიაში.

4. მეთოდის შემუშავება, რომლის საშუალებითაც შევძლებთ დავყოთ და რაოდენობრივად განვსაზღვროთ დექსტრომეთორფანი და ლევომეთორფანი და მათი ფარმაკოლოგიურად აქტიური O- დემეთილ მეტაბოლიტები, დექსტრორფანი და ლევორფანოლი ადამიანის სისხლის ნიმუშებში.

ნაშრომის თეორიული და პრაქტიკული მნიშვნელობა: რიგი კვლევების საფუძველზე ცნობილია, რომ სილიკაგელზე დაფენილი ქირალური სელექტორები არ ხასიათდება მდგრადობით სხვადასხვა მოძრავ ფაზაში, თუმცა მათ მიერ ენანტიომერული ნარევების ქირალური გამოცნობის უნარი უფრო უნივერსალურია კოვალენტურად იმობილიზებულ ქირალურ სელექტორებთან შედარებით. აქედან გამომდინარე, თანამედროვე გამოკვლევების ძირითად მიზანს ამ მიმართულებით წარმოადგენს ქირალური სელექტორის სილიკაგელზე იმობილიზაციის მეთოდის შეფასება, რომელიც საშუალებას მოგვცემს შევინარჩუნოთ დაფენილი ქირალური სელექტორის ენანტიოსელექტიური გამოცნობის მაღალი უნარი. ამ ორი ტიპის ქირალური სელექტორის გამოყენებით მიღებული შედეგები შევადარეთ ერთმანეთს და დავადგინეთ მათი უპირატესობები და ნაკლოვანებები მოცემულ საანალიზო პირობებში.

საანალიზო ნივთიერებებად გამოყენებულია ფუძე, მჟავა და ნეიტრალური ბუნების ქირალური პრეპარატების ისეთი ჯგუფის ნივთიერებები, როგორებიცაა, სულფოქსიდები, არილპროპიონის მჟავას ნაწარმები, ბეტა-ბლოკატორები, დიჰიდროპირიდინის ნაწარმები, ტრიაზოლის ჯგუფის ანტიმიკოტიკური პრეპარატები, ქირალური აგროქიმიური ნივთიერებები, ამინომჟავას ნაწარმები და სხვა (170-ზე მეტი ქირალური ნივთიერება). (დანართი 1.)

მოცემულ კვლევაში შესწავლილია ზოგიერთი ქირალური ნივთიერების ენანტიომერების დაყოფა სხვადასხვა ტემპერატურაზე, რისი საშუალებითაც გამოვითვალეთ დაყოფის თერმოდინამიკური პარამეტრები.

აგრეთვე, სადისერტაციო ნაშრომის ფარგლებში განხორციელდა სილიკაგელზე დაფენილი და კოვალენტურად იმობილიზებული ცელულოზა ტრის(3-ქლორ-5-მეთილფენილკარბამატის) საფუძველზე მომზადებული ქირალური სელექტორების

შედარება და ენანტიომერების დაყოფის ზოგიერთი ტექნიკური ასპექტის შესწავლა მოძრავ ფაზებად მეთანოლი/წყალი - 97/3 (მოცულობითი თანაფარდობით) და აცეტონიტრილი/წყალი - 97/3 (მოცულობითი თანაფარდობით) ნარევების გამოყენებით (ორივე ფაზას დამატებული აქვს 5 მილიმოლური ამონიუმის აცეტატი) მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფია ტანდემური მას-სპექტრომეტრის ანალიზის მეთოდით. აღნიშნულ კვლევაში 100-ზე მეტი ქირალური ნივთიერებაა გამოყენებული, როგორც მჟავა, ასევე ფუძე და ნეიტრალური ბუნების. (დანართი 1.)

სადისერტაციო ნაშრომის ფარგლებში შემუშავებულია დექსტრომეთორფანის, ლევომეთორფანის და მათი ფარმაკოლოგიურად აქტიური მეტაბოლიტების, დექსტრორფანის და ლევორფანოლის ენანტისელექტიური HPLC-MS/MS ანალიზის მეთოდი, რომელიც უზრუნველყოფს მათ ერთდროულ დაყოფას და რაოდენობრივ განსაზღვრას ადამიანის სისხლის ნიმუშებში.

პუბლიკაციები:

1. Khatiashvili, T., Matarashvili, I., Karchkhadze, M. G., Farkas, T., & Chankvetadze, B. (2023). Comparative study of cellulose tris(3-chloro-5-methylphenylcarbamate) coated or covalently immobilized on silica for the separation of enantiomers in High-Performance Liquid Chromatography. *Chromatographia*. <https://doi.org/10.1007/s10337-023-04295-8>;
2. Khatiashvili, T., & Chankvetadze, B. (2023). The Effect of Temperature on the High-Performance Liquid Chromatographic Separation of Enantiomers on Covalently Immobilized Polysaccharide-Based Chiral Stationary Phase, *Bull. Georg. Natl. Acad. Sci.*, vol. 17, no. 3, 38-43;
3. Jorbenadze, S., Khatiashvili, T., Chelidze, A., Lo Faro, A. F., Farkas, T., Tini, A., Sprega, G., Berardinelli, D., Busardò, F. P., & Chankvetadze, B. (2024). Development of a novel enantioselective high-performance liquid chromatography-mass spectrometry method for the differentiation of dextro- and levo-methorphan and their O-demethylated metabolites in human blood and its application to post-mortem samples. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 237, 115769. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2023.115769>.

ნაშრომის აპრობაცია: კვლევის შედეგები წარმოდგენილი იყო შემდეგ კონფერენციებზე:

1. ამერიკის ქიმიური საზოგადოების ქართველ სტუდენტთა წარმომადგენლობის (ACS GSC) მეოთხე საერთაშორისო სიმპოზიუმი, სტენდური მოხსენება, 02.06.2023, თბილისი, საქართველო.
2. 33-ე საერთაშორისო სიმპოზიუმი ფარმაცევტულ და ბიოსამედიცინო ანალიზში, ზეპირი მოხსენება, 02-06 ივლისი 2023, ანკარა, თურქეთი.
3. სასამართლო ტოქსიკოლოგთა საერთაშორისო ასოციაციის მე-60 შეხვედრა, ზეპირი მოხსენება, 27-31 აგვისტო 2023, რომი, იტალია.
4. 29-ე საერთაშორისო სიმპოზიუმი, ელექტრო და თხევადფაზური დაყოფის მეთოდების შესახებ, ზეპირი და სტენდური მოხსენება, 13-17 სექტემბერი 2023, სან ფელიჩე ჩირჩეო, იტალია.
5. მე-12 ყოველწლიური საერთაშორისო სიმპოზიუმი ფიზიკურ და ანალიზურ ქიმიაში, ზეპირი მოხსენება, 15-17 დეკემბერი 2023, თბილისი, საქართველო.

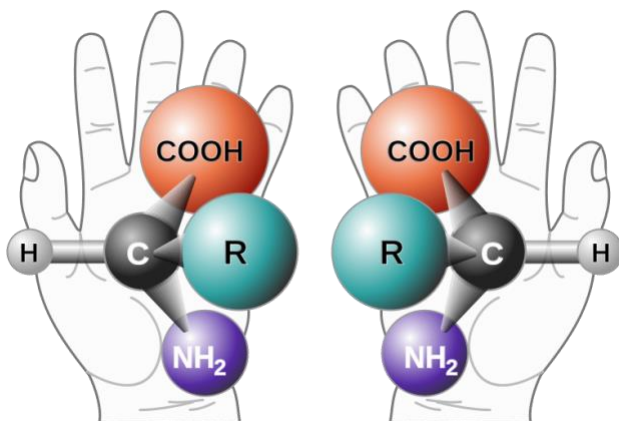
ნაშრომის მოცულობა: სადისერტაციო ნაშრომი შედგება 6 თავისგან: შესავალი, ლიტერატურის მიმოხილვა, ექსპერიმენტული ნაწილი, კვლევის შედეგები და მათი განსჯა, დასკვნები და გამოყენებული ლიტერატურა. ნაშრომი განთავსებულია 125 გვერდზე, მოიცავს 110 ციტირებულ ლიტერატურას, 15 სურათს, 19 ნახაზს, 34 ფორმულას, 3 ცხრილს და 2 დანართს.

2. ლიტერატურის მიმოხილვა

2.1. ენანტიომერები

2.1.1. ენანტიომერების ზოგადი მიმოხილვა

ენანტიომერები ისეთი სტერეოიზომერებია, რომელთა მოლეკულები ისე შეესაბამება ერთმანეთს, როგორც საგანი და მისი სარკული გამოსახულება [1-5]. ენანტიომერები ერთმანეთისგან განსხვავდებიან მხოლოდ ატომთა გარკვეული ჯგუფების განლაგებით სივრცეში. მიუხედავად ამისა, ხშირ შემთხვევაში, მკვეთრად განსხვავებული მათი ბიოლოგიური მოქმედება [6]. ამიტომ ძალზე მნიშვნელოვანია მათი ანალიზი სამკურნალო საშუალებებში, საკვებ პროდუქტებში, სასოფლო-სამეურნეო დანიშნულების შხამქიმიკატებში და ა.შ. ენანტიომერების ფიზიკურ-ქიმიური თვისებები იდენტურია აქირალურ გარემოში, გარდა ბრტყლად პოლარიზებული სინათლის ბრუნვის კუთხის ნიშნისა [7]. მათი გარჩევა შეიძლება მხოლოდ კვლევის „ქირალური“ მეთოდების გამოყენებით. ენანტიომერების დაყოფა წლების მანძილზე ურთულეს პრობლემად რჩებოდა.



სურათი 1. ენანტიომერები

2.1.2. ენანტიომერულად სუფთა ქირალურ ნივთიერებათა მიღების წყაროები

ძირითადად არსებობს სუფთა ენანტიომერების მიღების სამი წყარო:

1. რაცემატი;
2. ბუნებაში არსებული ქირალური ნივთიერებები;
3. პროქირალური ნივთიერებები.

2.1.3. ენანტიომერულად სუფთა ქირალური ნივთიერებების მიღება რაცემატიდან

საწარმოო მასშტაბით ყველაზე უფრო ძველი და გავრცელებული მეთოდია ენანტიომერულად სუფთა ბიოლოგიურად აქტიური მოლეკულების რაცემატიდან (მოცემული ქირალური ნივთიერების 2 ენანტიომერის 1:1 თანაფარდობის ნარევი) მიღება [8]. სუფთა ენანტიომერის ან ენანტიომერულად გამდიდრებული ნაერთის რაცემატიდან მიღება შეიძლება სპონტანური კრისტალიზაციით, დიასტერეომერული კრისტალიზაციით, კინეტიკური დაყოფით ან მემბრანული ტექნოლოგიებით [9-13]. დიასტერეომერული კრისტალიზაციის ჩასატარებლად აუცილებელია ენანტიომერული ნარევის გადაყვანა დიასტერეომერულ ნარევაში. ამ მიზნით რაცემატს უმატებენ ენანტიომერულად სუფთა აგენტს, რის შედეგადაც ხდება დიასტერეომერული ნარევის მიღება. წარმოქმნილი დიასტერეომერები წარმოადგენს არაკოვალენტურად ბმულ კომპლექსურ ნაერთებს. ამიტომ მათი დაყოფის შემდეგ კვლავ ენანტიომერში გადაყვანა შედარებით მარტივი პროცესია. დიასტერეომერული კრისტალიზაცია წარმატებით გამოიყენება სუფთა ენანტიომერების მისაღებად, თუმცა ამ მეთოდის ნაკლს წარმოადგენს ის, რომ სუფთა ენანტიომერის გამოსავალი 50%-ს არ აღემატება. კინეტიკური დაყოფა არის პროცესი, რომლის დროსაც მიმდინარეობს ქიმიური რეაქცია რაცემატში შემავალი ენანტიომერების ენანტიოსელექტიური კატალიზური გარდაქმნის გზით. კატალიზატორი შეიძლება იყოს ბიოლოგიური ან ქიმიური. თუ კატალიზატორი ენანტიოსპეციფიურია, მაშინ მისი საშუალებით ხდება მხოლოდ ერთ-ერთი ენანტიომერის გარდაქმნა. თუ კატალიზატორი ენანტიოსელექტიურია, მაშინ იგი ახდენს ერთი ენანტიომერის უპირატეს გარდაქმნას მეორესთან შედარებით. ბიოლოგიურ კატალიზატორებს (ენზიმებს) გააჩნიათ რიგი უპირატესობანი ქიმიურ კატალიზატორებთან შედარებით. ბიოლოგიური კატალიზატორები მოქმედებს ზომიერ პირობებში, არ მოითხოვს ორგანულ გამხსნელებს, მათთვის დამახასიათებელია მაღალი ეფექტურობა, მაღალი ქიმიური სელექტივობა და ენანტიოსელექტივობა. კინეტიკური დაყოფის ნაკლს წარმოადგენს ის, რომ დიასტერეომერული კრისტალიზაციის მსგავსად, სუფთა ენანტიომერის გამოსავალი ამ მეთოდშიც არ წარმოადგენს 50 %-ზე მეტს. გარდა ამისა, ენზიმური დაყოფა ტარდება უმეტესად წყალხნარებში. თუმცა უკანასკნელ ხანებში შესაძლებელი გახდა ენზიმების გამოყენება ზოგიერთ ორგანულ გამხსნელებშიც. აღსანიშნავია, რომ ზოგიერთ შემთხვევაში ენანტიომერების ნარევი (იშვიათად

რაცემატიც) ყოველგვარი აგენტის დამატების გარეშე თავისთავად გამოკრისტალდება სუფთა ენანტიომერების სახით. ასეთ კრისტალიზაციას უწოდებენ სპონტანურ კრისტალიზაციას. სპონტანური კრისტალიზაცია დამახასიათებელია მხოლოდ კონგლომერატებისთვის. რაც შეეხება მემბრანულ ტექნოლოგიას, იგი შედარებით ახალი მეთოდია და დაფუძნებულია მემბრანების გამოყენებაზე. მემბრანული პროცესი შეიძლება გავყოთ ორ ჯგუფად: 1. პირდაპირი დაყოფა ენანტიოსელექტიურ მემბრანაზე (ენანტიოსელექტიური პოლიმერი ან სითხე); 2. დაყოფა, რომლის დროსაც მემბრანა ხელს უწყობს ენანტიოსელექტიურ პროცესს. პირველ შემთხვევაში ერთ-ერთ ენანტიომერს სელექტიური აფინობა გააჩნია მემბრანას მიმართ, რის გამოც ამ ენანტიომერის მოლეკულებს საკუთარ ზედაპირზე შეაკავებს. ხოლო მეორე შემთხვევაში მემბრანა ასრულებს სარჩულის როლს. მის ზედაპირზე ხდება ქირალური სელექტორის დაფენა ან ქიმიური დამაგრება.

2.1.4. ენანტიომერული ნარევის მონიშვნის ტექნიკა

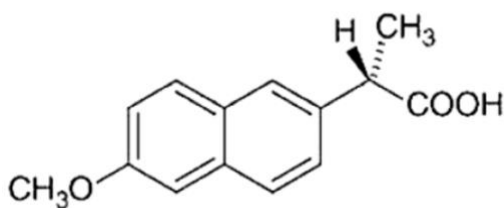
ნიმუშში, ენანტიომერების იდენტიფიკაციის მიზნით, ხდება ენანტიომერების მონიშვნა ხშირად 2/1-თან თანაფარდობით. ამ მიზნით ენანტიომერული ნარევის მონიშნული ნიმუშის დასამზადებლად ვიყენებთ რაცემატზე ერთ-ერთი ცნობილი სუფთა ენანტიომერის დამატებას. მაგალითად თუ გვაქვს რაცემატი და მისი R ენანტიომერი, 2 მგ რაცემატზე ვამატებთ 1 მგ R ენანტიომერს, სადაც მიღებული ენანტიომერული ნარევი R/S იქნება 2/1 -თან თანაფარდობით. ამის გამო, მიღებულ ქრომატოგრამებზე ერთი ენანტიომერის პიკის ფართობი მეორე ენანტიომერის პიკის ფართობთან შედარებით ორჯერ მეტია.

ექსპერიმენტში ყოველთვის არ არის შესაძლებლობა გამოყენებულ იქნას ზემოთ აღნიშნული ენანტიომერების მონიშვნის მეთოდი, რამდენადაც რაცემატთან შედარებით, სუფთა ენანტიომერი ძვირადღირებულია და ყოველთვის არ არის ხელმისაწვდომი. ამ მიზეზის გათვალისწინებით ხდება ენანტიომერების ცალცალკე მიკროპრეპარატული შეგროვება სითხურ ქრომატოგრაფზე. თითოეული ენანტიომერის გარკვეული რაოდენობით შეგროვების შემდგომ ხდება თითოეული კომპონენტის ანალიზი, სადაც ხდება მათი კონცენტრაციების განსაზღვრა.

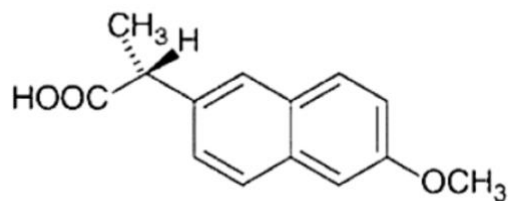
კონკრეტულ ტოლ მოცულობებში მიღებული კონცენტრაციების გათვალისწინებით ვახდენთ ნიმუშის მონიშვნას, სადაც ენანტიომერების თანაფარდობა იქნება 2/1 -თან. ამის შემდეგ ზუსტად ვიმეორებთ უკვე გამოქვეყნებულ ნაშრომში ჩატარებული ქირალური ანალიზის პირობებს, და ვახდენთ ჩვენი მიკროპრეპარატიული მეთოდით შეგროვებულ და მონიშნულ ნიმუშში ენანტიომერების იდენტიფიკაციას.

2.1.5. ქირალური ნივთიერებების დაყოფის მნიშვნელობა

ქირალური ნივთიერებების ენანტიომერები აქირალურ გარემოში იდენტური თვისებების მატარებელია, მაგრამ სიტუაცია იცვლება მის ქირალურ გარემოში მოხვედრისას, მაგალითად, ისეთში როგორც ადამიანის ორგანიზმშია[14]. ამ დროს ენანტიომერები ამჟღავნებენ განსხვავებულ სუნსა და გემოს, მაგალითად, *S*-ლიმონენი განაპირობებს ლიმონის გემოს და *R*-ლიმონენი ფორთოხლის გემოს. რაც ყველაზე მნიშვნელოვანია, ენანტიომერებს განსხვავებული ფარმაკოლოგიური მოქმედება ახასიათებთ. ხშირად მხოლოდ ერთ ენანტიომერს აქვს სამკურნალო თვისება, ხოლო მეორე ენანტიომერი შეიძლება არააქტიური ან ტოქსიკურიც კი იყოს. მაგალითად, *S*-ნაპროქსენი ანთების საწინააღმდეგო წამალია, მაშინ როდესაც *R*-ნაპროქსენი ღვიძლის ტოქსინია[15].



ანთების საწინააღმდეგო პრეპარატი

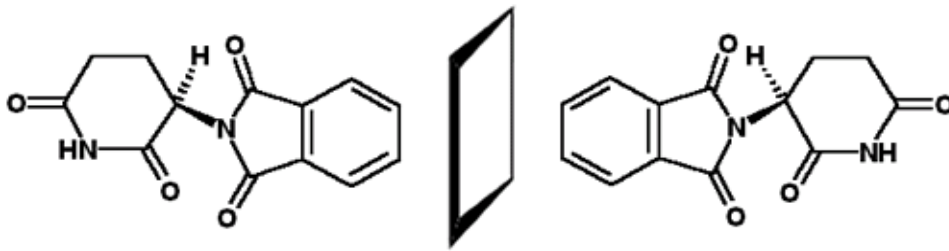


ღვიძლის ტოქსინი

სურათი 2. *S*-ნაპროქსენი და *R*-ნაპროქსენი

შეიძლება მხოლოდ ერთ ენანტიომერს ჰქონდეს დადებითი ფარმაკოლოგიური ეფექტი, მაგრამ ორგანიზმში ენზიმების მოქმედების შედეგად მეორე ფარმაკოლოგიურად არააქტიური ენანტიომერი ასევე გარდაიქმნებოდეს აქტიურ

ენანტიომერად, ანუ ადგილი ჰქონდეს რაცემიზაციის მოვლენას [16]. ამ საკითხის ყველაზე ნათელი მაგალითია გასული საუკუნის 60-იან წლებში მომხდარი პრეპარატი თალიდომიდის შემთხვევა. ეს პრეპარატი რაცემული სახით ენიშნებოდათ ორსულ ქალებს, როგორც გულისრევის საწინააღმდეგო საშუალება, თუმცა შემდეგ აღმოჩნდა, რომ თალიდომიდის ერთ-ერთი ენანტიომერი იწვევდა ნაყოფში კიდურების განუვითარებლობას. მსოფლიო მასშტაბით 10 000-მდე შემთხვევაში დაავადებული ახალშობილების მხოლოდ 50 % გადარჩა [17]. თუმცა შემდგომი კვლევებით გაირკვა, რომ თუნდაც სუფთა ენანტიომერული თალიდომიდის მიღების შემდეგ, ორგანიზმში მეტაბოლიზმის შედეგად ის განიცდის გარდაქმნას მის მავნე ქირალურ ანალოგში და წარმოადგენს საფრთხეს ნაყოფისათვის, ეს პრეპარატი დღესდღეობით აკრძალულია ფეხმძიმეებისთვის [18].



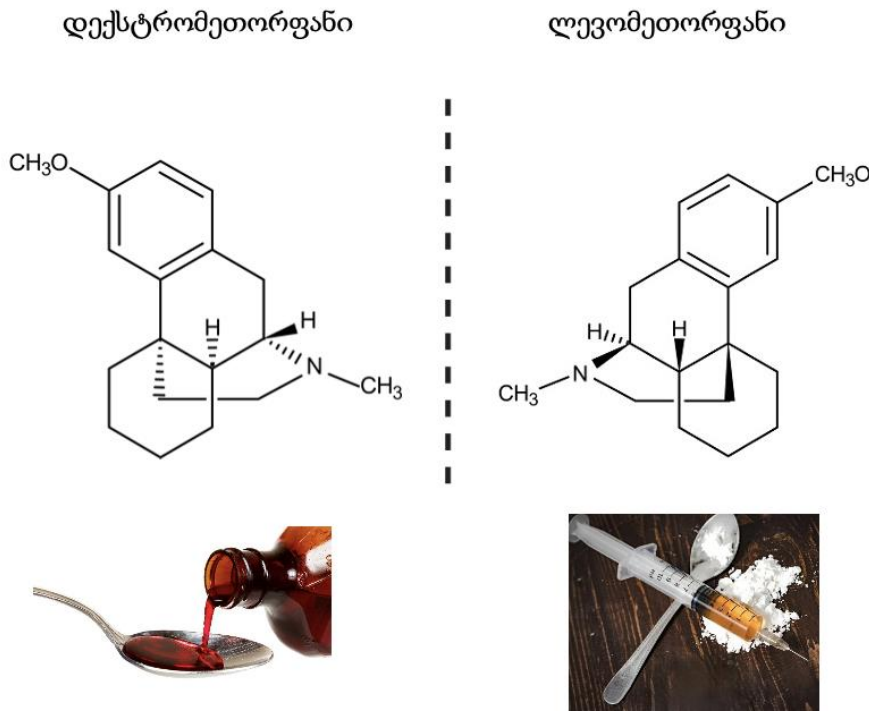
დასაძინებელი სამკურნალო საშუალება

ტერატოგენული ეფექტი

სურათი 3. *R*-თალიდომიდი და *S*-თალიდომიდი

ენანტიომერების დაყოფა ასევე საჭიროა კლინიკურ ტოქსიკოლოგიასა და სასამართლო მედიცინაში. ამის ნათელი მაგალითია მეთორფანი. მეთორფანის ენანტიომერების ფსიქოტროპული ეფექტი და ლეგალური სტატუსი განსხვავებულია, ამიტომ სასიცოცხლოდ მნიშვნელოვანია მისი ენანტიომერების დაყოფა. დექსტრომეთორფანი ლეგალურია, ლევომეთორფანი კი - არალეგალური. დექსტრომეთორფანი არის უსაფრთხო პრეპარატი, რომელსაც იყენებენ ხველების საწინააღმდეგოდ (დაბალი დოზებით), მისი მაღალი დოზით მიღება კი იწვევს ჰალუცინაციებს. რაც შეეხება ლევომეთორფანს, ის მორფინზე ძლიერი ნარკოტიკული

საშუალებაა და მისი მცირე დოზებით მიღებაც კი შესაძლოა ფატალური შედეგით დასრულდეს [19-25].



სურათი 4. დექსტრომეთორფანი და ლევომეთორფანი

გარდა სამკურნალო პრეპარატებისა, ქირალური ნივთიერებები გვხვდება საკვების დანამატების, სასოფლო სამეურნეო შხამ-ქიმიკატების და სხვა სახით. შესაბამისად, მათი ენანტიომერების დაყოფა აუცილებელია, თუმცა აქირალურ გარემოში მათი იდენტური თვისებების გამო, ეს მეტად პრობლემატურია. ერთ-ერთი გამოსავალი არის მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფია [26,27].

2.2. ქრომატოგრაფია

2.2.1. ქრომატოგრაფიის ზოგადი მიმოხილვა

ქრომატოგრაფია არის ქიმიური ნივთიერებების ნარევათა დაყოფის ხერხი, რომელიც ემყარება საანალიზო ნივთიერებების არათანაბარ განაწილებას ორ, მოძრავ და უძრავ ფაზებს შორის [28-35]. ნივთიერებათა ნარევები გახსნილია სითხეში, ან აირში და ხდება ნარევის გატარება სტრუქტურირებულ მასალაზე, რომელსაც უძრავი

ფაზა ეწოდება. ნარევის უძრავ ფაზაზე გასატარებლად იყენებენ სითხეს, აირს, ან ზეკრიტიკული წნევების მქონე სითხეებს, შესაბამისად გამოყოფენ სითხურ, გაზურ და ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფიას. აპარატურული გაფორმებისა და გამოყენებული უძრავი ფაზების ბუნების მიხედვით, თხევადი ქრომატოგრაფიული პროცესების კლასიფიკაცია შეიძლება შემდეგნაირად მოვახდინოთ: ერთის მხრივ პლანარული, რომელიც მოიცავს თხელფენოვან ქრომატოგრაფიას და ქრომატოგრაფიას ქაღალდზე, ხოლო მეორეს მხრივ სვეტური ქრომატოგრაფია, რომელიც მოიცავს ადსორბციულ, აფინურს, თხევად-თხევად, იონმიმოცვლით და გელ-ქრომატოგრაფიას.

ნარევის შემადგენელი სხვადასხვა კომპონენტები სხვადასხვაგვარად ნაწილდება მოძრავ და უძრავ ფაზებს შორის, ამის გამო სხვადასხვა სიჩქარით მოძრაობს ქრომატოგრაფიულ სვეტში, შესაბამისად აქვთ განსვავებული შეკავების დროები, ანუ ელუირდება გარკვეული თანმიმდევრობით. ესაა ქრომატოგრაფიული დაყოფის პრინციპი. ექსპერიმენტები ტარდება როგორც პრეპარატული, ისე ანალიზური მასშტაბებით. პრეპარატული მეთოდის მიზანია დაყოფილი ნივთიერების გასუფთავება-შეგროვება შემდგომი გამოყენების მიზნით, ხოლო ანალიზური მეთოდის მიზანს ძირითადად ნიმუშის რაოდენობრივი შედგენილობის დადგენა წარმოადგენს.

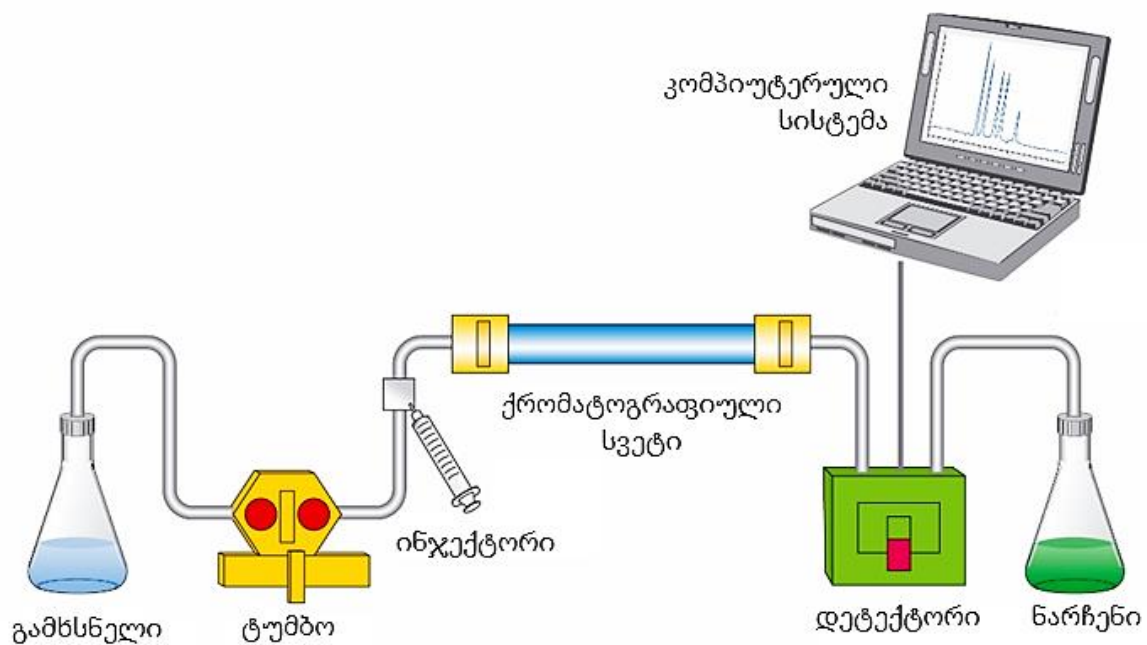
ქრომატოგრაფიის ფუძემდებლად მიიჩნევა მიხეილ ცვეტი, მან 1903 წელს კალციუმის კარბონატით შევსებულ სვეტზე მოძრავ ფაზად პეტროლეინის ეთერისა და ეთანოლის ნარევის გამოყენებით მცენარის პიგმენტები დაყო [36,37]. XX საუკუნის მეორე ნახევარში სხვადასხვა მეცნიერების შრომებმა საფუძველი ჩაუყარა გაზურ, ქაღალდის და სითხურ ქრომატოგრაფიის მეთოდებს, ეს უკანასკნელი განვითარდა როგორც მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფია (HPLC). ცვეტის ექსპერიმენტის შესწავლამ ცხადყო, რომ მიღებული ქრომატოგრაფიული პრინციპების გამოყენება მრავალნაირად შეიძლებოდა. დღესდღეობით, ზოგად ტექნოლოგიურ პროგრესთან ერთად ქრომატოგრაფიული მეთოდები და აპარატურა ძალზე მრავალფეროვანი გახდა [38].

2.2.2. მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფია

მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფია ორგანულ ნივთიერებათა დაყოფის და მათი რაოდენობრივი განსაზღვრის მიზნით ყველაზე მისაღები მეთოდია. ქირალური მოლეკულების ენანტიომერების დაყოფა აქირალურ გარემოში (აქირალურ სვეტზე) შეუძლებელია მათი იდენტირობის გამო, მაგრამ ქირალურ სვეტზე ენანტიომერების დაყოფა პრინციპულად შესაძლებელია [39,40]. მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფია უზრუნველყოფს ანალიზის ჩატარებას ოთახის ტემპერატურაზე, რაც მეტად მნიშვნელოვანია თერმოლაბილური და არააქროლადი ორგანული ნივთიერებების ანალიზისთვის.

ქრომატოგრაფიული ანალიზის ჩასატარებლად იყენებენ სპეციალურ ხელსაწყოს, მაღალეფექტურ სითხურ ქრომატოგრაფს. პრინციპი, როგორც ზემოთ ავლნიშნეთ, იმაში მდგომარეობს, რომ ნარევის კომპონენტებს აქვთ განსხვავებული შეკავების და შესაბამისად განსხვავებული ელუირების დროები [41]. ეს გამოწვეულია მათი განსხვავებული განაწილებით ორ ერთმანეთში შეურევად ფაზას შორის, რომელთაგან ერთი მოძრავია, მეორე კი უძრავი. ეს პირობა აუცილებლად უნდა შესრულდეს, მოძრავ და უძრავ ფაზებს უნდა ჰქონდეთ განსხვავებული ბუნება და არ უნდა ჰქონდეს ადგილი ქიმიურ ურთიერთქმედებას ფაზებს შორის. სვეტში რომ მოხდეს კომპონენტების გადაადგილება, საჭიროა მოძრავი ფაზის უწყვეტი მიწოდება. ის კომპონენტები, რომლებიც უფრო მეტად განაწილდება მოძრავ ფაზაში მალე ელუირდება სვეტიდან, ხოლო კომპონენტები, რომლებიც უფრო მეტად განაწილდება სტაციონალურ ფაზაში, შედარებით გვიან ელუირდება სვეტიდან. მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფი შედგება ხუთი ძირითადი ნაწილისგან: 1) ტუმბო 2) ინჟექტორი 3) ქრომატოგრაფიული სვეტი და მისი თერმოსტატი 4) დეტექტორი 5) მონაცემების ჩამწერი და დასამუშავებელი ხელსაწყო (კომპიუტერი). თითოეულ ამ ბლოკს აქვს თავისი დანიშნულება: ტუმბო უზრუნველყოფს მოძრავი ფაზის ნაკადის გადაადგილებას სისტემაში გარკვეული სიჩქარით, ინჟექტორიდან ხდება ნიმუშის შეყვანა სვეტში ანუ ინჟექტირება, ქრომატოგრაფიული სვეტის შევსება ხდება წვრილდისპერსიული, ფოროვანი ნაწილაკებით, რაც ზრდის უძრავი ფაზის ზედაპირის ფართობს და აუმჯობესებს დაყოფის ეფექტურობას [31,42]. თერმოსტატი არის ბლოკი, რომელშიც მოთავსებულია ქრომატოგრაფიული სვეტი მუდმივ

ტემპერატურაზე. აღსანიშნავია, რომ ტემპერატურა მნიშვნელოვან გავლენას ახდენს ენანტიომერების დაყოფაზე [43]. დეტექტორი უზრუნველყოფს ანალიზური სიგნალის დაფიქსირებას და მის გაზომვას. საბოლოო შედეგი კომპიუტერის საშუალებით ჩაიწერება. აბსცისათა ღერძზე გადაზომილია დრო, ხოლო ორდინატთა ღერძზე სიგნალის ინტენსივობა. ამგვარად ჩაწერილ მონაცემის სურათს ეწოდება ქრომატოგრამა [30]. მაშასადე, ქრომატოგრამა არის გაზომილი სიგნალის ინტენსივობის დროზე დამოკიდებულების გრაფიკი. მიღებული პიკის რეგისტრაციის დროითა და ფართობით შეგვიძლია მოვახდინოთ ნივთიერებათა იდენტიფიკაცია და მათი კონცენტრაციების შეფასება. მაშასადამე, მოცემული ინსტრუმენტული მეთოდი გვაძლევს საშუალებას, ჩავატაროთ როგორც თვისობრივი, ასევე რაოდენობრივი ანალიზი. ქრომატოგრამაზე შეკავების დროის ზრდის მიხედვით პიკები ნაწილდება მარცხნიდან მარჯვნივ, ე.ი პირველი პიკი შეესაბამება კომპონენტს, რომელიც ყველაზე პირველი ელუირდა სვეტიდან, ხოლო ყველაზე ბოლო მას, რომელიც სულ ბოლოს, ყველაზე გვიან ელუირდა.



სურათი 5. მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფის სქემა

მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფია, როგორც ანალიზის მეთოდი, გამოიყენება მრავალ დარგში.

სამკურნალწამლო საშუალებათა უმრავლესობა ქირალური ბუნების არის, პრეპარატები სააფთიაქო ქსელში მოხვედრამდე უნდა იქნას შემოწმებული და საფუძვლიანად შესწავლილი. საჭიროების შემთხვევაში უნდა მოხდეს ქირალური ბუნების სამკურნალწამლო საშუალების ენანტიომერების დაყოფა და მავნე ზემოქმედების ენანტიომერის მოცილება. ბოლო დროს ენანტიომერულად სუფთა პრეპარატების დამზადება აქტუალური გახდა. ანალიზის მოცემული მეთოდი გამოიყენება აგრეთვე კვების მრეწველობაში, სხვადასხვა ქიმიურ კვლევებში, სასოფლო-სამეურნეო მხამქიმიკატების ანალიზში და ა.შ.

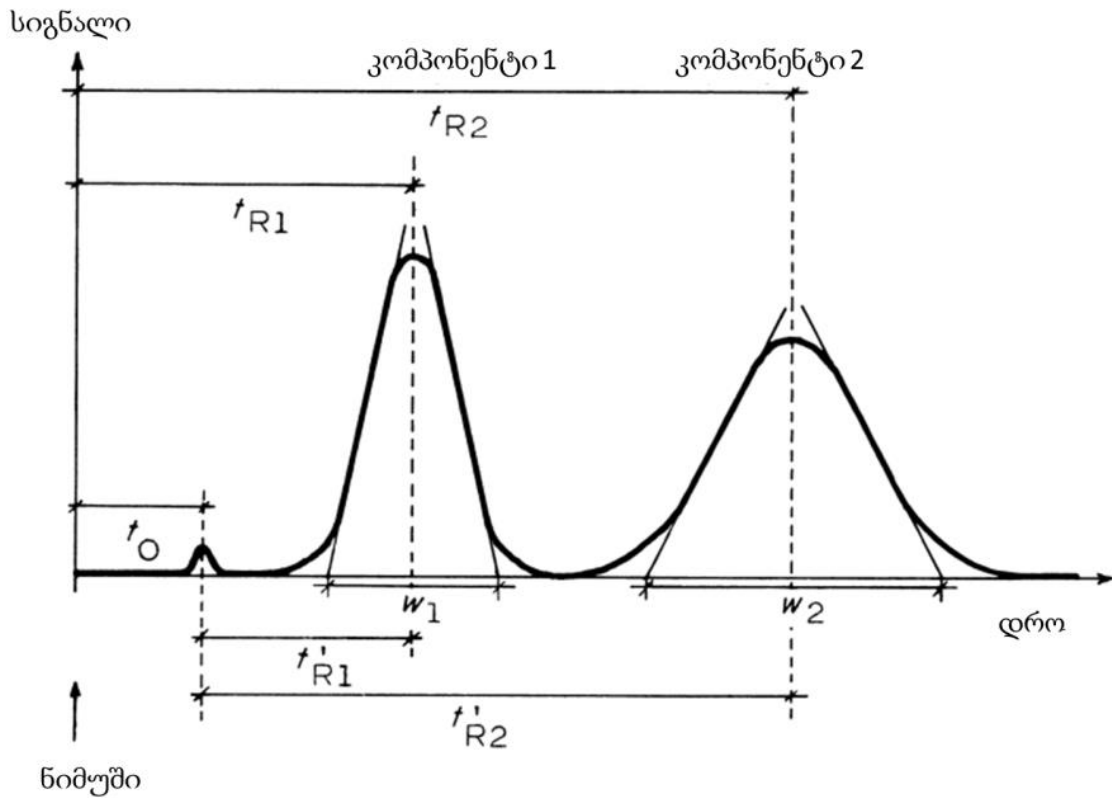
2.2.3. ძირითადი ქრომატოგრაფიული მახასიათებლები

შეკავების დრო t_R - ეს არის დრო ნიმუშის სვეტში შეყვანის მომენტიდან ქრომატოგრამაზე პიკის მაქსიმუმის მიღწევამდე [29,33]:

$$t_R = t_0 + t'_R \quad (1)$$

t_0 - არის არაადსორბირებადი კომპონენტის ელირების დრო და მას მკვდარი დრო ეწოდება;

t'_R - წარმოადგენს საანალიზო ნივთიერების ქრომატოგრაფიულ სვეტში დაყოვნების დროს და იგი განსხვავებული უნდა იყოს დასაყოფი ნარევის კომპონენტებისთვის.



სურათი 6. ნაჩვენებია ორი ენანტიომერის განსხვავებული ელურიების დრო

შეკავების მოცულობა V_R - ეს არის მოძრავი ფაზის მილილიტრების რიცხვი, რომელიც უნდა გავატაროთ სვეტში რათა ნარევის მოცემული კომპონენტი ელურიდეს:

$$V_R = Ft_R \quad (2)$$

F - მოძრავი ფაზის მოცულობითი სიჩქარეა.

სვეტის მკვდარი მოცულობა V_0 : - ეს არის სვეტში მოძრავი ფაზის საერთო მოცულობა დეტექტორის ფანჯრამდე

$$V_0 = Ft_0 \quad (3)$$

V_0 - არაადსორბირებადი კომპონენტის ელურიებისთვის საჭირო ელუენტის მოცულობა.

შეკავების ფაქტორის გამოსათვლელი ფორმულაა:

$$k = \frac{(t_R - t_0)}{t_0} \quad (4)$$

დაყოფის ფაქტორი ანუ სელექტიურობა:

$$\alpha = \frac{k_2}{k_1} = \frac{(t_{R_2} - t_0)}{(t_{R_1} - t_0)} \quad (5)$$

სადაც k არის შეკავების კოეფიციენტი ანუ შეკავების ფაქტორი. თუ კომპონენტებს განსხვავებული k არ აქვთ, ორკომპონენტიანი ნარევი ვერ დაიყოფა. თუ $\alpha = 1$ მაშინ დაყოფას არ აქვს ადგილი, ვინაიდან შეკავების დროები იდენტურია.

ორი მეზობელი პიკის გარჩევითობა R_s გამოითვლება პიკების მაქსიმუმებს შორის მანძილის ფარდობით პიკების სიგანეების ჯამთან:

W – არის პიკის სიგანე ფუძესთან.

$$R_s = \frac{2(t_{R_2} - t_{R_1})}{W_1 + W_2} \quad (6)$$

$$R_s = 1.18 \frac{(t_{R_2} - t_{R_1})}{(W_{(\frac{1}{2})_1} - W_{(\frac{1}{2})_2})} \quad (7)$$

სადაც W არის პიკის სიგანე ფუძესთან ხოლო $W_{(\frac{1}{2})}$ არის პიკის სიგანე პიკის ნახევარ სიგანეზე. თუ $R_s=1.25$ მაშინ დაყოფა სრულია.

თეორიული თეფშების რიცხვი - ქრომატოგრაფიული სვეტის ეფექტურობის მახასიათებელია, სვეტის წარმოსახვითი ნაწილი, სადაც ხორცილდება ადსორბცია-დესორბციის ერთი აქტი. ეს არის ძალიან კარგი საშუალება იმისათვის, რომ სვეტის ეფექტურობა დავახასიათოთ. თეორიული თეფშების რიცხვი შემდეგნაირად გამოითვლება:

$$N = 16 \left(\frac{t_R}{W} \right)^2 \quad (8)$$

$$N = 5.54 \left(\frac{t_R}{W_{(\frac{1}{2})}} \right)^2 \quad (9)$$

სადაც $W_{(\frac{1}{2})}$ არის პიკის სიგანე პიკის ნახევარ სიმაღლეზე.

თეორიული თეფშების რიცხვი დაკავშირებულია ქრომატოგრაფიულ სვეტში ზონის გაფართოებასთან. რაც უფრო გრძელია სვეტი, უკეთესია გარჩევითობა, მაგრამ ხანგრძლივდება ანალიზი.

თეორიული თეფშების ექვივალენტური სიმაღლე H - ეს არის მანძილი, რომელზედაც მიიღწევა ქრომატოგრაფიული წონასწორობა, იგი გამოითვლება ფორმულით:

$$H = \frac{L}{N} \quad (10)$$

სადაც L არის სვეტის სიგრძე.

თეორიული თეფშების ექვივალენტური სიმაღლე H უკავშირდება ვან-დეემტერის განტოლებას:

$$H = A + \frac{B}{U} + CU \quad (11)$$

სადაც U არის მოძრავი ფაზის სიჩქარე, A - გრიგალისებური დიფუზია; B - დიფუზია ქრომატოგრაფიული სვეტის გასწვრივ (ლონგიტუდინალური დიფუზია); C - მასის გადატანა. მოძრავი ფაზის ნაკადის ოპტიმალური მნიშვნელობის პოვნა შესაძლებელია ვან-დეემტერის განტოლების დიფერენციალური ფორმიდან:

$$\frac{dH}{dU} = -\frac{B}{U^2} + C \quad (12)$$

ოპტიუმის პირობიდან გამომდინარე, ოპტიუმის წერტილში: $\frac{dH}{dU} = 0$ ანუ

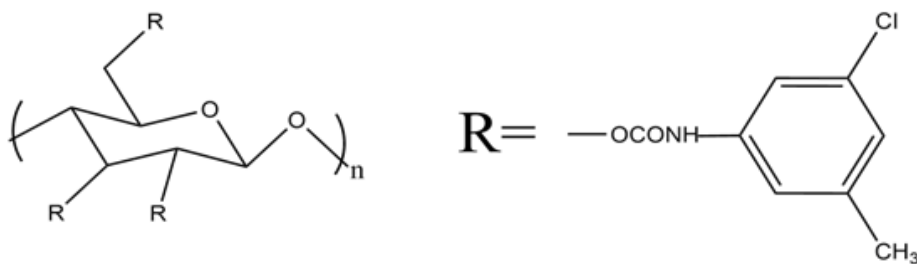
$$U^2 = \frac{B}{C} \quad (13)$$

2.2.4. პოლისაქარიდების ნაწარმების გამოყენება მაღალეფექტურ სითხურ ქრომატოგრაფიაში

პოლისაქარიდების ნაწარმები წარმოადგენს ყველაზე ფართოდ გამოყენებულ ქირალურ სელექტორებს ენანტიომერების დასაყოფად მაღალეფექტური სითხური

ქრომატოგრაფიის მეთოდში [44,50]. ეს გამოწვეულია იმით, რომ ამ ტიპის ქირალური სელექტორები აკმაყოფილებს ძირითად კრიტერიუმებს, რაც აუცილებელია ენანტიომერული ნარევების დაყოფის შესასრულებლად. ეს კრიტერიუმებია: წარმოქმნას მოლეკულათაშორისი კომპლექსები ქირალურ საანალიზო ნივთიერებებთან, გამოყენებული იქნას სხვადასხვა მოძრავ ფაზებში: პოლარულ-ორგანული ფაზები, არაპოლარული-ორგანული, ორგანული ფაზა/წყლის ნარევი და ზეკრიტიკული სითხეები. ასევე უნდა გააჩნდეს მრავალრიცხოვანი განსხვავებული სტრუქტურების მქონე ქირალური ნივთიერებების ენანტიოსელექტიური გარჩევის/გამოცნობის უნარი, გამოსადეგი უნდა იყოს მიკრო და ნანო მასშტაბის დაყოფის მეთოდებისთვის, ასევე ანალიზური და პრეპარატიული დაყოფებისთვისაც. ქირალური სელექტორის მოსამზადებელი მასალები და რეაგენტები ხელმისაწვდომი უნდა იყოს.

პოლისაქარიდული ტიპის სელექტორებიდან ცნობილია ამილოზას და ცელულოზას ნაწარმები [51]. თვალსაჩინოებისთვის მოვიტანოთ ცელულოზა ტრის(3-ქლორ-5-მეთილფენილკარბამატი)-ის სტრუქტურა.



სურათი 7. ცელულოზა ტრის(3-ქლორ-5-მეთილფენილკარბამატი)-ის სტრუქტურა.

ამილოზა ტრის(3-ქლორ-5-მეთილფენილკარბამატის) შემთხვევაში იქნებოდა განსხვავება გლიკოზიდურ ბმებში, ანუ თუ ცელულოზას შემთხვევაში ელემენტარული რგოლები β -1,4 ბმებითაა დაკავშირებული, ამილოზაში გვაქვს α -1,4 გლიკოზიდური ბმები. არსებობს ამილოზას და ცელულოზას სხვა ნაწარმები, რომლებიც ქირალურ სელექტორებად გამოიყენება. ისინი განსხვავდება ერთმანეთისგან ჩამნაცვლებელი ჯგუფებით [51-54].

დღესდღეობით მაღალეფექტურ სითხურ ქრომატოგრაფიაში არსებული ქირალური სელექტორებიდან ყველაზე ხშირად გამოიყენება პოლისაქარიდული ქირალური სელექტორები და კომერციულად ხელმისაწვდომი ქირალური სვეტების უმეტესობაც დამზადებულია პოლისაქარიდული ქირალური სელექტორების გამოყენებით. მიუხედავად იმისა, რომ პოლისაქარიდზე დაფუძნებული ქირალური სელექტორები ინტენსიურად გამოიყენება, მათი ქირალური გამოცნობის მექანიზმი არ არის კარგად შესწავლილი [51, 55-62].

2.3. თერმოდინამიკა

2.3.1. ზოგადი მიმოხილვა

თერმოდინამიკა არის თეორიული ფიზიკის დარგი, რომელიც შეისწავლის ენერჯის სხვადასხვა სახეების ურთიერთგარდაქმნის კანონებს. ყოველი სისტემა ხასიათდება მისი თერმოდინამიკური პარამეტრებით: წნევა, მოცულობა, ტემპერატურა, ქიმიური შედგენილობა და სხვა. ამ პარამეტრების მნიშვნელობათა ერთობლიობა განსაზღვრავს სისტემის მდგომარეობას. თუნდაც ერთი პარამეტრის მნიშვნელობის შეცვლა ნიშნავს სისტემის მდგომარეობის ცვლილებას [63].

ტემპერატურა (T) - წარმოადგენს მოლეკულათა სითხური მოძრაობის ინტენსიურობის რიცხვით საზომს, მისი ერთეულია კელვინი.

შინაგანი ენერჯია (U) - წარმოადგენს თერმოდინამიკური სისტემის შემადგენელ ნაწილაკთა ყველა სახის ენერჯიათა ჯამს. ერთეულთა საერთაშორისო SI სისტემაში მისი ერთეულია ჯოული.

თერმოდინამიკის I კანონი - სისტემისათვის მიწოდებული სითბო იხარჯება შინაგანი ენერჯის გაზრდასა და სისტემის მიერ მუშაობის შესრულებაზე.

$$\delta q = dU + \delta A \quad (14)$$

სადაც, q არის სისტემის მიერ გარემოდან მიღებული სითბო

A - სისტემის მიერ შესრულებული მუშაობა

განასხვავებენ ორი სახის მუშაობას: მექანიკური გაფართოებისა ($A_{\text{გაფ.}}$) და სასარგებლო მუშაობას (A^*).

$$A = A_{\text{გაფ.}} + A^* \quad (15)$$

$$\delta A_{\text{გაფ.}} = PdV \quad (16)$$

როდესაც სისტემა არ ასრულებს სასარგებლო მუშაობას, მაშინ

$$\delta A^* = 0 \quad (17)$$

და შესაბამისად:

$$\delta q = dU + \delta A_{\text{გაფ.}} = dU + PdV \quad (18)$$

იზობარულ პროცესებში. ანუ როცა $P = \text{const}$, მაშინ

$$\delta q = dU + d(PdV) = d(U + PV) \quad (19)$$

სიდიდე $U + PV$ -ს ეწოდება ენთალპია და აღინიშნება H სიმბოლოთი, SI სისტემაში მისი ერთეულია ჯოული.

დაყვანილი სითბო - სისტემის მიერ მიღებული სითბოს შეფარდება იმ ტემპერატურასთან, რომელზედაც მოხდა სითბოს მიღება.

ენტროპია S - სისტემის მოუწესრიგებლობის გარკვეული საზომია, რომელიც შექცევადი პროცესების დროს უტოლდება დაყვანილ სითბოთა ჯამს.

$$dS \equiv \left(\frac{\delta q}{T} \right)_{\text{შექც.}} \quad (20)$$

SI სისტემაში მისი ერთეულია ჯოული/გრადუსი. თუ განიხილება ერთი ინდივიდუალური ნივთიერება, მაშინ ენტროპიას ხშირად ანგარიშობენ 1 მოლის მიმართ და მისი ერთეული იქნება ჯოული/(მოლი·გრადუსი). იზოლირებულ სისტემაში თავისთავად შეიძლება მიმდინარეობდეს მხოლოდ ისეთი პროცესები, რომლებიც იწვევენ ენტროპიისა და, შესაბამისად, მოუწესრიგებლობის ზრდას.

$$TdS \geq \delta q \quad (21)$$

$$TdS \geq dU + PdV + dA^*$$

$$dA^* \leq -(dU + PdV - TdS) \quad (22)$$

იზოთერმულ-იზობარული პროცესის დროს:

$$T, P = \text{const}$$

$$PdV = d(PV)$$

$$TdS = d(TdS)$$

$$dA^* \leq -\partial(U + PV - TS)_{T,P} = -\partial(H - TS)_{T,P} \quad (23)$$

გიბსის ფუნქცია - $H - T * S$ წარმოადგენს სისტემის მდგომარეობის ფუნქციას და აღნიშნება G სიმბოლოთი, მისი ერთეულია ჯოული:

$$G = U - PV - TS = H - TS \quad (24)$$

ანუ

$$H = G + TS \quad (25)$$

იზოთერმულ-იზობარულ პირობებში შექცევადი პროცესის შედეგად გიბსის ენერგია მთლიანად გადადის სასარგებლო მუშაობაში მას უწოდებენ თავისუფალ ენერგიას, TS ნამრავლი კი ახასიათებს სითბოს სახით განხზეულ ენერგიას, რომელიც აღნიშნულ პირობებში მუშაობაში არ გადადის, ანუ ბმულ ენერგიას. როცა სასარგებლო მუშაობა არ სრულდება პროცესის თავისთავად მიმდინარეობის პირობაა გიბსის თავისუფალი ენერგიის შემცირება.

ქიმიური რეაქციის მიმდინარეობისას სისტემის მდგომარეობის ფუნქციების ცვლილება ხდება. G ფუნქციის სასრული ცვლილება ჩაიწერება:

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S \quad (26)$$

ქიმიური წონასწორობა არის მორეაგირე ნარევის ისეთი მდგომარეობა, როდესაც დროის ერთეულის განმავლობაში პირდაპირი რეაქციის შედეგად წარმოქმნილი პროდუქტის მოლეკულათა რიცხვი უტოლდება საპირისპირო რეაქციის შედეგად ამავე პროდუქტის გარდაქმნილ მოლეკულათა რიცხვს.

რეაქციის სტანდარტული იზობარული პოტენციალი ΔG^0 უტოლდება ΔG -ის, როცა გარდაქმნაში მონაწილე ყველა ნივთიერების პარციალური წნევა რჩება 1 ატმოსფეროს ტოლი.

$$\Delta G = -RT \ln K_p \quad (27)$$

სადაც, K_p არის რეაქციის წონასწორობის მუდმივა (გამოსახული წონასწორობის პარციალური წნევებით)

ვანტ-ჰოფის იზობარის განტოლება მდგომარეობს შემდეგში:

$$\frac{d \ln K_p}{dT} = \frac{\Delta H^0}{RT^2} \quad (28)$$

2.3.2. ენანტიომერული ნარეგების დაყოფის თერმოდინამიკური პარამეტრები

ტემპერატურა მნიშვნელოვან გავლენას ახდენს ენანტიომერების დაყოფაზე [43, 64-73].

გიბს-ჰელმჰოლცის განტოლების მიხედვით:

$$\Delta G^0 = \Delta H^0 - T \Delta S^0 = -RT \ln K \quad (29)$$

წონასწორობის მუდმივა უკავშირდება ქრომატოგრაფიულ პარამეტრებს, შეკავების ფაქტორსა (k), და სვეტის ფაზურ თანაფარდობას (ϕ), ანუ სვეტში არსებული სტაციონარული ფაზის შეფარდებას სვეტში არსებული მოძრავ ფაზასთან:

$$k = K\phi \quad (30)$$

ვანტ-ჰოფის განტოლების გამოყენებით შეიძლება აღიწეროს შეკავების ფაქტორის ტემპერატურასთან დამოკიდებულება:

$$\ln k = -\frac{\Delta H^0}{R} \cdot \frac{1}{T} + \frac{\Delta S^0}{R} + \ln \phi \quad (31)$$

თუ ფორმულის მიხედვით ავაგებთ $\ln k$ -ს $1/T$ -სთან დამოკიდებულების გრაფიკს, მაშინ ადსორბციის სტანდარტული მოლური ენთალპიის ცვლილება გამოითვლება

წრფის დახრის კუთხის მიხედვით, ხოლო ადსორბციის მოლური ენტროპიის ცვლილება - ორდინატთა ღერძთან გადაკვეთის მიხედვით.

ენანტიომერების დაყოფისას ადსორბციის თავისუფალი ენერჯიის ცვლილება ჩაიწერება, როგორც:

$$\Delta_{S,R}\Delta G^0 = \Delta_{S,R}\Delta H^0 - T\Delta_{S,R}\Delta S^0 = -RT\ln\frac{K_S}{K_R} \quad (32)$$

ფორმულაში ინდექსები S და R შესაბამისად გამოხატავს მეტად და ნაკლებად შეკავებულ ენანტიომერს.

$\Delta_{S,R}\Delta G^0$ სიდიდეზე დაბალ ტემპერატურაზე მეტ გავლენას ახდენს ენთალპიის ცვლილება, ხოლო მაღალ ტემპერატურაზე - ენტროპიის ცვლილება.

ტემპერატურის ზრდისას ნელ-ნელა იზრდება ენტროპიული წილი და რაღაც ტემპერატურაზე, რომელსაც იზოენანტიოსელექტიურ ტემპერატურას უწოდებენ

(T_{iso}), $T_{iso} = \frac{\Delta_{S,R}\Delta H^0}{\Delta_{S,R}\Delta S^0}$, ენთალპიური ნაწილი და ენტროპიული ნაწილი ერთმანეთს

გაუტოლდება:

$$\Delta_{S,R}\Delta H^0 = T\Delta_{S,R}\Delta S^0$$

ამ დროს ადსორბციის თავისუფალი ენერჯიის ცვლილება იქნება ნული

$$\Delta_{S,R}\Delta G^0 = 0$$

და ენანტიომერების დაყოფა არ მოხდება. T_{iso} -ზე მაღლა ტემპერატურის მატებით ენანტიომერების ელუირების რიგი იცვლება.

დაყოფის ფაქტორის α -ს მნიშვნელობის გათვალისწინებით ($\alpha = K_S/K_R$) (33) ,

შეიძლება ჩაიწეროს დაყოფის ფაქტორის ლოგარითმის დამოკიდებულება აბსოლიტური ტემპერატურის შერბრუნებულ სიდიდეზე და აგებული გრაფიკიდან გამოითვალოს ენანტიომერების დაყოფის ენთალპიის და ენტროპიის მნიშვნელობები:

$$\ln\alpha = -\frac{\Delta_{S,R}\Delta H^0}{R} \cdot \frac{1}{T} + \frac{\Delta_{S,R}\Delta S^0}{R} \quad (34)$$

უნდა აღინიშნოს, რომ ვანტჰოფის მიდგომა სამართლიანია წონაწორული პროცესებისთვის, მაშინ როდესაც ქრომატოგრაფიულ ექსპერიმენტში გავქვს ფსევდოწონასწორობა. გარდა ამისა, სისტემა არ არის ჩაკეტილი, ხოლო პროცესი არც იზობარული და არც იზოქორული არ არის [71,74-78]. აქედან გამომდინარე, საქმე გვაქვს გარკვეულ მიახლოებასთან.

2.4. მას-სპექტრომეტრია

2.4.1. მას-სპექტრომეტრიის ზოგადი მიმოხილვა

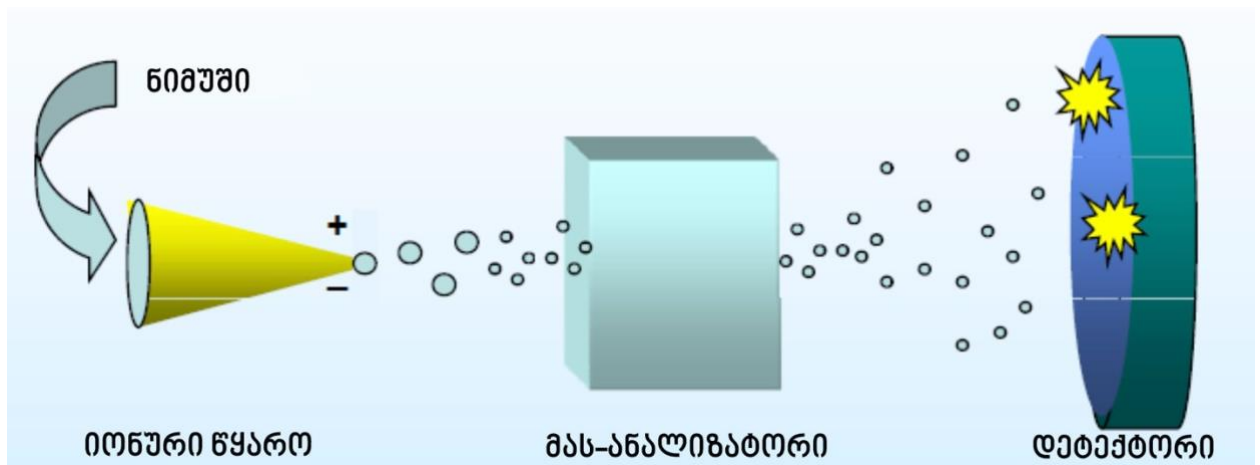
მას-სპექტრომეტრიაში შესაძლებელია მხოლოდ იონურ მდგომარეობაში მყოფი ნაერთების ანალიზი. ნაერთების იონურ მდგომარეობაში გადაყვანა ხდება იონური წყაროს საშუალებით. იონური წყარო შეიძლება იყოს ხისტი და რბილი [79]. ხისტი იონური წყაროა ელექტრონებით იონიზაცია, რადგან ამ შემთხვევაში მაღალი ენერჯია ზემოქმედებს, რაც იწვევს ფრაგმენტების ფორმირებას. რბილი იონური წყაროა ელექტროშეფრქვევის იონიზაცია [80-85]. რბილი იონური წყაროს შემთხვევაში ფრაგმენტაციის ხარისხი დაბალია და ხშირ შემთხვევაში შეგვიძლია უგულებელვყოთ. ელექტროშეფრქვევის იონიზაცია გამოიყენება ძლიერ პოლარული და იონური ნივთიერებებისთვის. ელექტროშეფრქვევის იონიზაციაში ნიმუში გვაქვს სითხის სახით. სითხე არის გამხსნელი, რომელშიც გახსნილია საკვლევი ნივთიერება. ელექტროშეფრქვევის იონიზაცია ძალიან მგრძობიარე მეთოდია, ამიტომ ნიმუში აუცილებლად განზავებული უნდა იყოს. ელექტროშეფრქვევის იონიზაციაში გამხსნელი უნდა იყოს პოლარული და აქროლადი, მაგ: მეთანოლი, აცეტონიტრილი, იზოპროპანოლი და ა.შ. ასევე შესაძლებელია გამოყენებულ იქნას წყალნარევი ორგანული გამხსნელი, მაგრამ წყალი მცირე რაოდენობით გამოიყენება, რადგან წყლის ზედაპირული დაჭიმულობა მაღალია.

ექსპერიმენტში გამოყენებულია ხელსაწყო, რომელსაც ელექტრული შეფრქვევის იონიზაცია აქვს, შესაბამისად გვაქვს მოლეკულური იონები. ელექტრული შეფრქვევის იონიზაციას გამიზნულად ვიყენებთ, რადგან ფრაგმენტაცია არ მოხდეს და მოლეკულური იონი მივიღოთ.

2.4.2. მას-სპექტრომეტრის ხელსაწყო სქემა და მუშაობის პრინციპი

ზოგადად, მას-სპექტრომეტრმა უნდა შეასრულოს სამი ფუნქცია [79,86]:

- ა) იონების წარმოქმნა - ნიმუშს ეცემა ელექტრონების მაღალი ენერჯის სხივი, ნიმუშის მოლეკულების ნაწილი გარდაიქმნება იონებად;
- ბ) იონების დაყოფა - იონები განიცდიან აჩქარებას ელექტრულ ველში და ხვდებიან მაგნიტურ ველში, სადაც ნეიტრალური ნაწილაკები არ იცვლიან მოძრაობის მიმართულებას, ხოლო იონები იცვლიან მოძრაობის ტრაექტორიას და დაიყოფიან მასა-მუხტი შეფარდების (m/z) თანახმად;
- გ) იონების დეტექტირება - მას-სპექტრომეტრმა უნდა შეასრულოს დაყოფილი იონების თვისებითი და რაოდენობითი შეფასება. მას-სპექტრომეტრების ტიპებს შორის განსხვავებას განაპირობებს აღნიშნული ფუნქციების შესრულების მეთოდებს შორის სხვაობა. ყველა მას-სპექტრომეტრისთვის ზოგადი აუცილებლობაა მაღალი ვაკუუმი ($\sim 10^{-6}$ ტორი).



სურათი 8. მას-სპექტრომეტრის პრინციპული სქემა

საკვლევი ნიმუში თავსდება მას-სპექტრომეტრში. ნიმუში ჩვეულებრივ, წყლიან ან ორგანულ გამხსნელში ორთქლდება გამაცხელებლის მიერ, ორთქლად ქცეული ნიმუში კი „იზომბება“ მაღალენერგეტიკული ელექტრონებით. ამ ელექტრონებს საკმარისი ენერჯია აქვთ ნიმუშში არსებული ატომებიდან ელექტრონების მოსახლეჩად, ამ პროცესის შედეგად კი ვიღებთ დადებითად დამუხტულ იონებს. ეს

იონები აჩქარდებიან, გაივლიან ელექტრულ ფირფიტებს შორის და შედეგად გადაიხრებიან მაგნიტურ ველში.

იონის მუხტზე და სიჩქარეზეა დამოკიდებული ის, თუ როგორი ხარისხით გადაიხრება იონი. ნელა მოძრავი იონები (ანუ, უფრო მძიმე იონები) ნაკლებად გადაიხრებიან, ხოლო სწრაფად მოძრავი იონები (ანუ, უფრო მსუბუქი იონები) მეტად გადაიხრებიან. დამატებით, მაგნიტური ველი უფრო მეტად გადახრის მაღალი მუხტის მქონე იონებს, ვიდრე დაბალი მუხტის მქონეს.

მაგნიტურ ველში იონის გადახრის ხარისხი მისი მასისა და მუხტის ფარდობის უკუპროპორციულია - m/z სადაც m არის იონის მასა, ხოლო z - მისი მუხტი. გადახრის შემდეგ იონები მიაღწევენ მას-სპექტრომეტრის დეტექტორს, რაც ზომავს ორ სიდიდეს: 1) თითოეული იონისთვის m/z თანაფარდობას და 2) რამდენი იონია კონკრეტული m/z თანაფარდობით. ნიმუშში არსებული კონკრეტული იონის ფარდობითი შემცველობა დაითვლება შემდეგნაირად: კონკრეტული m/z თანაფარდობის მქონე იონების რაოდენობა გაყოფილი დეტექტორში შესული იონების მთლიან რაოდენობაზე. ექსპერიმენტის ბოლოს, ხელსაწყო იძლევა ნიმუშის მას-სპექტრს, რომელიც გრაფიკულად ასახავს დამოკიდებულებას ფარდობით შემცველობასა და m/z -ს შორის.

ზოგ ექსპერიმენტში, მას-სპექტრომეტრის მიერ გენერირებული ყველა იონის მუხტი +1-ია. ამ შემთხვევაში, თითოეული იონის m/z თანაფარდობა პირდაპირ ტოლია m -ის, ანუ იონის ატომური მასის. შედეგად, უფრო მარტივ მას-სპექტრებში x ღერძზე ატომური მასა u ერთეულით გამოისახება და არა m/z -ით.

მას-სპექტრომეტრული ანალიზების დროს პირველი საფეხურია შემავალი ნიმუშის იონიზაცია. გამოიყენება შემდეგი სახის იონური წყაროები: ელექტრონებით იონიზაციის (EI), ქიმიური იონიზაციის (CI), სწრაფი ატომებით ბომბარდირების (FAB), იონიზაცია ელექტროგაფრქვევით (ESI), მატრიცული ლაზერული დესორბცია/იონიზაცია (MALDI).

იონურ წყაროში წარმოქმნილი იონები შედის მას-ანალიზატორში ანუ მას ფილტრში. გამოიყენება შემდეგი სახის მას-ანალიზატორები: კვადროპოლური,

მაგნიტური სექტორის ველის, ელექტრული სექტორის ველის, განარბენის დროის (TOF), იონების ჩაჭერის.

იონების გაფილტვრის შედეგად მიღებული იონური ნაკადი ფიქსირდება სხვადასხვა ტიპის დეტექტორებით: ელექტრონული გამამრავლებელი, მრავალარხიანი ფირფიტა, ფარადეის ცილინდრი.

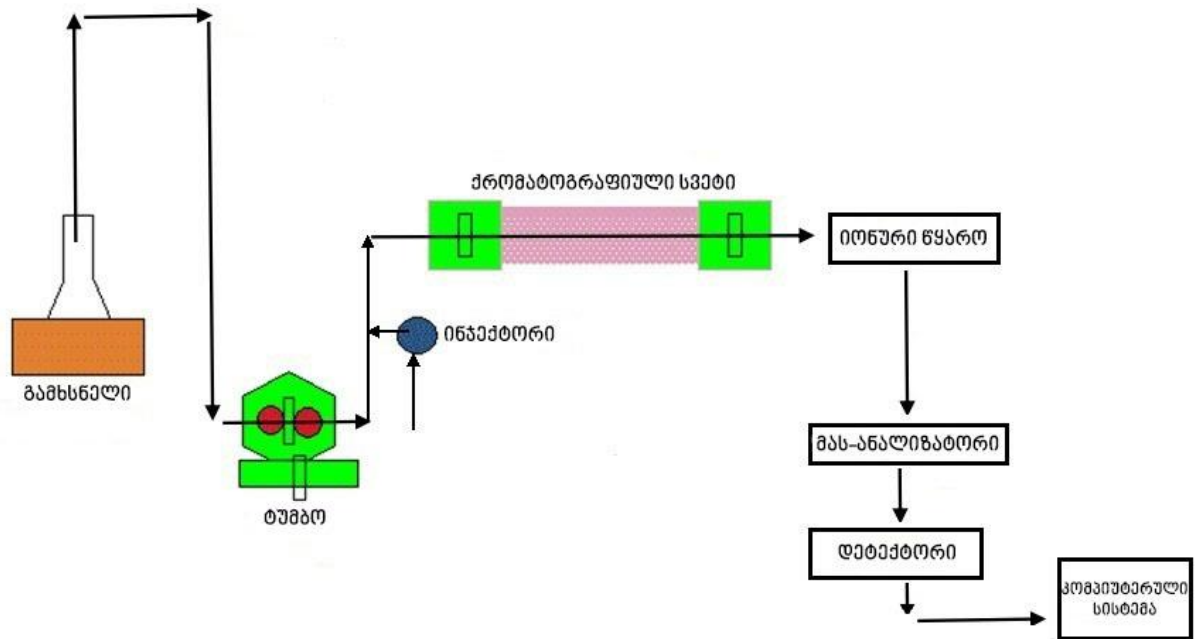
კვადრუპოლური მას-სპექტრომეტრი წარმოადგენს ოთხ მაგნიტს, ჰიპერბოლურ განივ კვეთაში, რომლებიც განლაგებულია შემდეგნაირად: ერთ წყვილს მიეწოდება მუდმივი დენი, მეორე წყვილს კი ცვლადი დენი. მხოლოდ მოცემულ იონს შეუძლია სათანადოდ მოვიდეს რეზონანსში და მიაღწიოს დეტექტორამდე. უპირატესობა არის ინსტრუმენტის კომპაქტურობა, თითოეული ღერო არის ბურთულიანი კალამის ზომის.

მას-სპექტრი წარმოადგენს იონის ფარდობითი შემცველობის მასა/მუხტი ფარდობაზე დამოკიდებულებას. იონიზაციის პროცესში წარმოქმნილი ყველაზე მაღალი შემცველობის იონი იძლევა მას-სპექტრში ყველაზე მაღალ პიკს, იგი წარმოადგენს ძირითად პიკს. ყველა სხვა პიკის ინტენსიურობა ძირითადი პიკის პროცენტული შემცველობის მიმართ ფარდობით სიდიდეს წარმოადგენს. თუ მოლეკულა კარგავს იონიზაციისას მხოლოდ ერთ ელექტრონს, დაიკვირვება მოლეკულური იონი, რომელიც გვამლევს მის მოლეკულურ წონას და სპექტრზე ის აღინიშნება, როგორც M+. უმეტეს შემთხვევებში, როცა მოლეკულა კარგავს სავალენტო ელექტრონს, ბმები წყდება, ანუ იონი სწრაფად წარმოქმნის ფრაგმენტს დაბალი ენერჯის იონებისკენ. დამუხტული იონების მასები რეგისტრირდება სპექტრომეტრის მიერ, როგორც იონების ფრაგმენტები. უნდა აღინიშნოს, რომ ნეიტრალური ფრაგმენტები არ რეგისტრირდება.

2.4.3. მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფი/ მას-სპექტრომეტრი (HPLC/MS)

მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფი/ მას-სპექტრომეტრი შედგება შვიდი ძირითადი ნაწილისგან: 1) ტუმბო 2) ინჟექტორი 3) ქრომატოგრაფიული სვეტი და მისი თერმოსტატი 4) იონური წყარო 5) მას-ანალიზატორი 6) დეტექტორი და 7)

მონაცემთა დამუშავების სისტემა. თითოეულ ამ ბლოკს აქვს თავისი დანიშნულება. მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფის ბლოკების დანიშნულება განხილულია 2.2.2. თავში. რაც შეეხება მას-სპექტრომეტრის ბლოკებს: 4) იონური წყარო, სადაც ნიმუშს შორდება თხევადი მოძრავი ფაზა ვაკუუმის გავლენით და განიცდის იონიზაციას. გამფრქვევი იონიზაციას ანიჭებს ნიმუშს, წარმოქმნება იონები. ელექტრული ლინზების საშუალებით ხდება იონურ წყაროში წარმოქმნილი იონების დაჩქარება და ფოკუსირება მას-ანალიზატორის მიმართულებით. 5) მას-ანალიზატორში მიმდინარეობს იონურ წყაროში ფორმირებული იონების დაყოფა მათი მასის მუხტთან ფარდობის მიხედვით [79,86]. TOF-ში მოცემული იონის იდენტიფიკაცია ხდება იმის მიხედვით, თუ რა დროში მიაღწია დეტექტორამდე. სხვადასხვა ნაწილაკებს აქვს განსხვავებული მასები, ამიტომ სიჩქარეც განსხვავებული ექნებათ და რადგან მათი დასაფარი მანძილი ერთნაირია, ამიტომ ფრენის დრო იქნება განსხვავებული. 6) დეტექტორის დანიშნულებას გასცეს ინფორმაცია დროის მოცემულ მომენტში მასზე დაცემული იონების რაოდენობის შესახებ. 7) შედეგების დამუშავება ხორციელდება კომპიუტერული პროგრამის გამოყენებით, რის საფუძველზეც მიიღება ე.წ. მას-სპექტრი. მას-სპექტრის საშუალებით დგინდება დამოკიდებულება სიგნალის ინტენსივობასა (ორდინატა) და m/z სიდიდეს (აბსცისა) შორის. სიგნალის (პიკის) ინტენსივობა პროპორციულია იონურ წყაროში წარმოქმნილი იმ იონების რაოდენობისა, რომელთაგანაც მოცემული სიგნალია მიღებული.



სურათი 9. მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფი/მას-სპექტრომეტრის სქემა

2.4.4. მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფია-მას-სპექტრომეტრის (HPLC-MS) გამოყენება

სითხური ქრომატოგრაფია - მას-სპექტრომეტრია (LC-MS) არის მძლავრი მეთოდი, რომელიც გამოიყენება უცნობი ქიმიური ნივთიერებების ენანტიომერების დაყოფაში, იდენტიფიკაციაში და რაოდენობრივ ანალიზში [87,91]. ასევე მნიშვნელოვან ინფორმაციას გვაძლევს სხვადასხვა მოლეკულების ქიმიური თვისებების შესახებ და გვეხმარება მათი სტრუქტურის დადგენაში. აღნიშნული მეთოდი ძალიან ეფექტურია მცირე მოლეკულების გასაანალიზებლად, აქვს უფრო მაღალი სელექტიურობა და მგრძობიარობა მრავალკომპონენტური ნარევის კვალის ანალიზში.

მას-სპექტრომეტრის მთავარ უპირატესობას წარმოადგენს ის რომ, იგი ერთდროულად არის როგორც უნივერსალური, ასევე სპეციფიური დეტექტორი. უნივერსალურობა იმაში მდგომარეობს, რომ ერთ ანალიზში შესაძლებელია რამდენიმე კომპონენტის გაანალიზება (მაგალითად: ვუთითებთ 100m/z-400m/z და ამ მასების უბანში დეტექტორი აფიქსირებს ყველა მასას). სპეციფიურობა კი იმაში მდგომარეობს, რომ დეტექტორს შეუძლია დააფიქსიროს მხოლოდ ერთი

მითითებული მასა და არ დააფიქსიროს სხვა მასები. დეტექტორი ასევე ხასიათდება: მაღალი სიზუსტით, სისწრაფით, დეტექტირების დაბალი ზღვართა და გაზომვის მაღალი დიაპაზონით.

სადისერტაციო ნაშრომში აღწერილ ექსპერიმენტში გამოყენებული ინსტრუმენტი იყენებს თანმიმდევრულად დაკავშირებულ ორ ოთხპოლუსიან მასის ანალიზატორს, შეჯახების უჯრედთან ერთად, რათა უზრუნველყოს უფრო მაღალი მგრძობიარობა და სელექტიურობა. ამასთან ერთად სისტემას გააჩნია მოლეკულური მასის იდენტიფიკაციის მაღალი სიზუსტე, აღმოჩენის დაბალი ზღვარი და გაზომვის ფართო დიაპაზონი. პირველად საკვლევი ნიმუშები იყოფა მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფის გამოყენებით, შემდეგ კი მიემართება მას სპექტრომეტრში, სადაც ხდება გამხსნელის მოშორება, ნიმუშის იონიზაცია და საბოლოოდ დეტექტირება. სხვადასხვა უპირატესობა მოცემულ ინსტრუმენტულ სისტემას აქცევს მეტად ღირებულ საშუალებად მრავალი პრობლემის ადეკვატურად გადაჭრაში კვლევისა და ინდუსტრიის სფეროებში. HPLC-MS/MS მეთოდი აქტიურად გამოიყენება გარემოსთან დაკავშირებულ კვლევებში, კერძოდ, ნიადაგის, წყლისა და ჰაერის ნიმუშებში დამაბინძურებლების აღმოსაჩენად და რაოდენობრივი განსაზღვისთვის. მთელი რიგი პესტიციდებისა და სამრეწველო ქიმიკატების იდენტიფიცირებისთვის. საკვებ ნიმუშებში მიკოტოქსინების და სხვადასხვა ტოქსიკური მეტაბოლიტების მონიტორინგისთვის. HPLC-MS/MS მეთოდი აგრეთვე გამოიყენება ფარმაცევტულ ანალიზში. რაც ყველაზე მნიშვნელოვანია, ამ ინსტრუმენტული სისტემის გამოყენება უკონკურენტოა სასამართლო ექსპერტიზაში და კრიმინალისტიკაში ნარკოტიკების იდენტიფიკაციაში და რაოდენობრივად განსაზღვრაში სხვადასხვა ბიოლოგიურ ნიმუშებში [92-105]. HPLC-MS/MS სისტემას დიდი გამოყენება აქვს ფარმაცევტულ ქიმიაში სამკურნალწამლო წაშუალებათა აღმოჩენასა და ხარისხის კონტროლში, აგრეთვე, კომპლექსურ ბიოლოგიურ ნიმუშებში, როგორც მცირე ზომის მოლეკულების, ასევე პეპტიდებისა და ცილების რაოდენობრივ განსაზღვრაში და ასე შემდეგ [106-107].

3. ექსპერიმენტული ნაწილი

3.1. გამოყენებული ხელსაწყოები

ანალიზების ნაწილი ჩატარებულია Agilent-ის 1200 სერიის მაღალეფექტურ სითხურ ქრომატოგრაფზე, რომელიც აღჭურვლია G1367C HiP ALS-SL ავტოსემპლერით, G1316 B TCC-SL სვეტების თერმოსტატით, G1311A ტუმბოთი და G1314DVWD ცვალებადი ტალღის სიგრძის ულტრაიისფერი ხილული დეტექტორით. კომპიუტერული პროგრამა Agilent Chemstation (version B.03.02-SR2) გამოყენებულია ხელსაწყო კონტროლისთვის, მონაცემების მიღებისთვის და მონაცემების დამუშავებისთვის. ქრომატოგრაფიული დაყოფები ჩატარდა ოთახის ტემპერატურაზე და მოძრავი ფაზის ნაკადის მოცულობითი სიჩქარე იყო 1მლ/წთ. ულტრაიისფერი დეტექტორი მუშაობს 254 ნმ ტალღის სიგრძეზე. კვლევის თერმოდინამიკურ ნაწილში ქრომატოგრაფიული დაყოფები ჩატარდა 10-75°C-ზე.



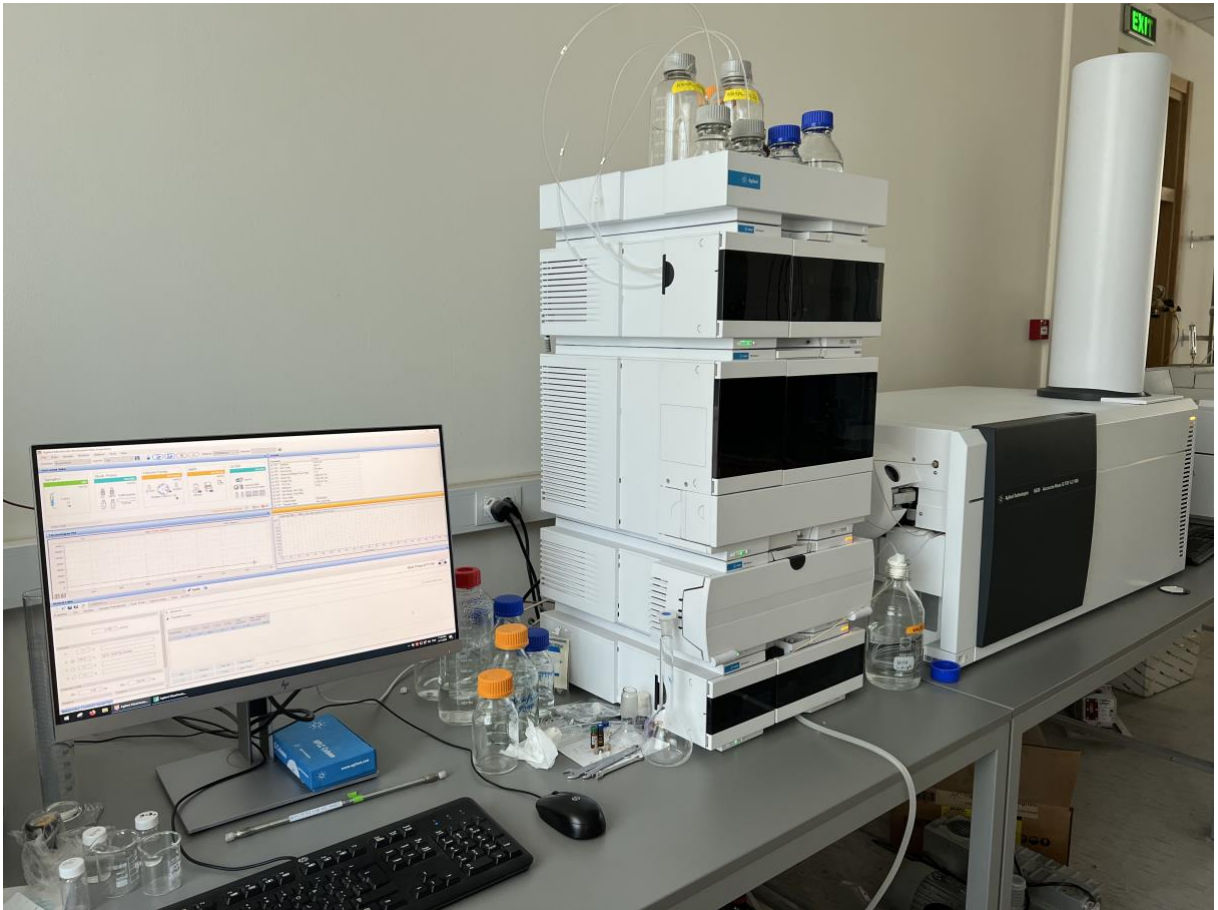
სურათი 10. Agilent 1200 სერიის მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფი

აგრეთვე, ქრომატოგრაფიული კვლევებისთვის გამოყენებული იყო Agilent Technologies წარმოების 1220 სერიის მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფი, რომლის შემადგენელი კომპონენტებიც არის ბინარული ტუმბო, ნიმუშების ავტომატური მიმწოდებელი, სვეტის თერმოსტატი და ცვალებადი ტალღის სიგრძის ულტრაიისფერი ხილული დეტექტორი. ხელსაწყოს პროგრამულად მართვისა და მონაცემთა დამუშავებისთვის გამოყენებული იყო Agilent Chemstation. ამ შემთხვევაშიც, ქრომატოგრაფიული დაყოფები ჩატარდა ოთახის ტემპერატურაზე. მოძრავი ფაზის ნაკადის მოცულობითი სიჩქარე იყო 1 მლ/წთ. ულტრაიისფერი დეტექტორი მუშაობდა 254 ნმ ტალღის სიგრძეზე.



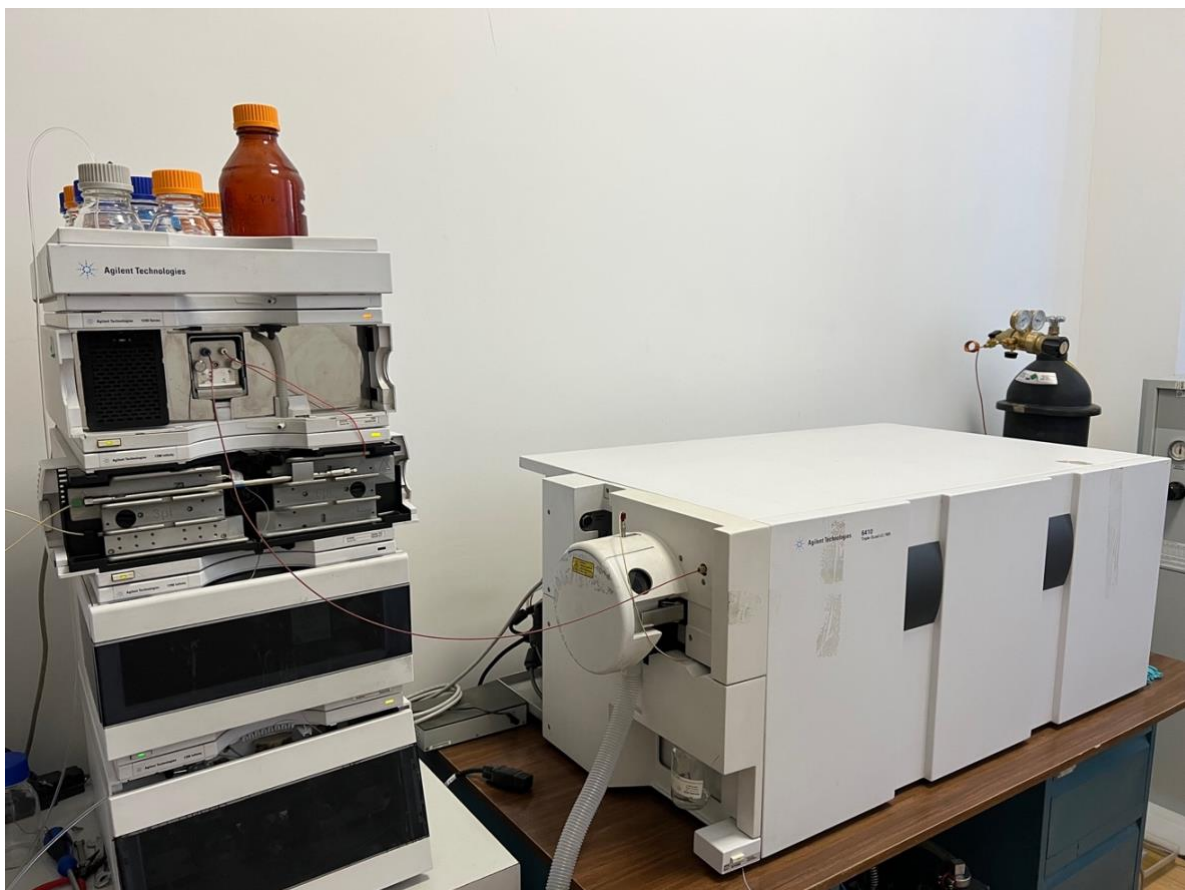
სურათი 11. Agilent 1220 სერიის მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფი

აგრეთვე, ანალიზები ჩატარდა Agilent 1260 Infinitive II სერიის გრადიენტულ მაღალეფექტურ სითხურ ქრომატოგრაფზე, აღჭურვილი ავტოსემპლერით (1260), თერმოსტატით (1260), ტუმბოთი (1260) და ცვალებადი ტალღის სიგრძის ულტრაიისფერი ხილული დეტექტორით (1290). სითხური ქრომატოგრაფი შერწყმულია მას-სპექტრომეტრთან - Agilent Technologies 6530 Q-TOF LC/MS. კომპიუტერული პროგრამა Agilent Chemstation გამოყენებულია ხელსაწყო კონტროლისთვის, მონაცემების მიღებისთვის და მონაცემების დამუშავებისთვის. ანალიზები ჩატარდა ოთახის ტემპერატურაზე და მოძრავი ფაზის ნაკადის მოცულობითი სიჩქარე იყო 1მლ/წთ, ინიცირებული ნიმუშის მოცულობა იყო 10 მკლ. ულტრაიისფერი დეტექტორი მუშაობდა 254 ნმ ტალღის სიგრძეზე. მეთოდი - MS2 სკანირების რეჟიმი.



სურათი 12. მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფი/ მას-სპექტრომეტრის ხელსაწყო.

აგრეთვე, აღსანიშნავია რომ ანალიზების ნაწილი ჩატარდა Agilent 1290 Infinite II სერიის მაღალეფექტურ სითხურ ქრომატოგრაფზე, აღჭურვილი ავტოსემპლერით (1290), თერმოსტატით (1290), ტუმბოთი (1290) და ცვალებადი ტალღის სიგრძის ულტრაიისფერი ხილული დეტექტორით (1200). სითხური ქრომატოგრაფი შერწყმულია მას-სპექტრომეტრთან - Agilent Technologies 6410 Triple Quad LC-MS. კომპიუტერული პროგრამა Agilent Chemstation გამოყენებულია ხელსაწყო კონტროლისთვის, მონაცემების მიღებისთვის და მონაცემების დამუშავებისთვის. ანალიზები ჩატარდა 25°C-ზე და მოძრავი ფაზის ნაკადის მოცულობითი სიჩქარე იყო 1მლ/წთ, ინიცირებული ნიმუშის მოცულობა იყო 5 მკლ. ულტრაიისფერი დეტექტორი მუშაობდა 254 ნმ ტალღის სიგრძეზე. მეთოდი - MRM.



სურათი 13. მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფი/ მას-სპექტრომეტრის ხელსაწყო.

3.2. გამოყენებული მასალები

ა) მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფის ექსპერიმენტში გამოყენებული იყო შემდეგი მოძრავი ფაზები: მეთანოლი, აცეტონიტრილი და ჰექსანი/იზოპროპანოლის ნარევი (სხვადასხვა მოცულობითი თანაფარდობით).

სამივე ელუენტზე გამოყენებული იყო ფუძე და მჟავე დანამატები:

1. დიეთილამინის დანამატი 0,1% (DEA) (v/v)
2. ჭიანჭველმჟავას დანამატი 0,1% (FA) (v/v)

მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფი-მას-სპექტრომეტრის ექსპერიმენტში მოძრავ ფაზად გამოვიყენეთ მეთანოლი-წყლის და აცეტონიტრილი-წყლის ნარევი 5 მილიმოლური ამონიუმის აცეტატის დანამატით, რომელიც იონიზატორის როლში იქნა შეტანილი მოძრავ ფაზაში. მოძრავი ფაზის თანაფარდობა:

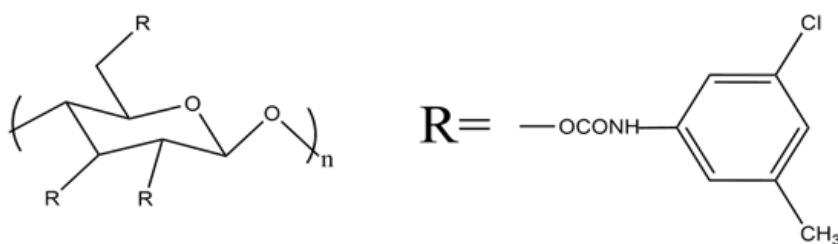
MeOH/HOH 97/3% +5 mM NH₄ Ac

ACN/HOH 97/3% + 5 mM NH₄ Ac

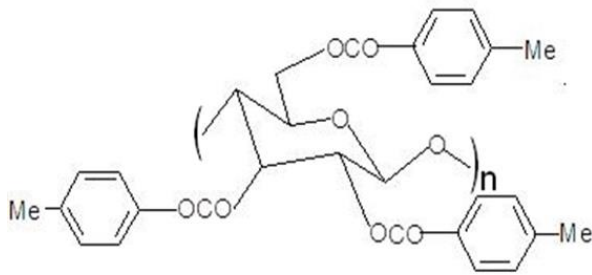
ამონიუმის აცეტატის იმიტომ ვიყენებთ, რომ აქროლადია. მარილი აუცილებლად აქროლადი უნდა იყოს, რათა არ მოხდეს იონური წყაროს დაზიანება.

რაც შეეხება მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფი-მას-სპექტრომეტრის ექსპერიმენტს, სადაც მოვახდინეთ ოთხ კომპონენტის ნარევის დაყოფა, გამოყენებული იყო შემდეგი მოძრავი ფაზები: მეთანოლი და აცეტონიტრილი, რომლებსაც დამატებული აქვს 0.1% დიეთილამინი (v/v).

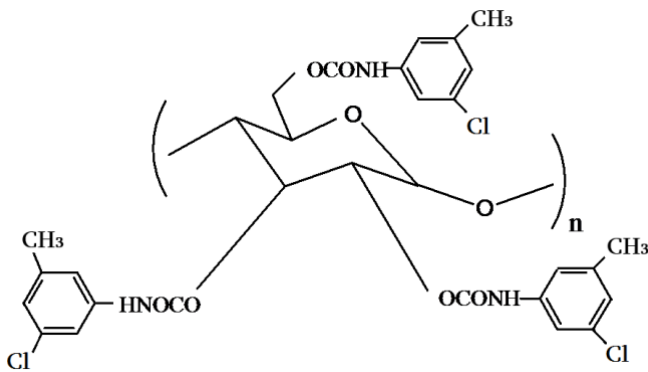
ბ) ექსპერიმენტში გამოყენებული ქირალური სელექტორები:



სურათი 7. ცელულოზა ტრის(3-ქლორ-5-მეთილფენილკარბამატი)-ს სტრუქტურა.



სურათი 14. ცელულოზა ტრის(4-მეთილბენზოატი)-ს სტრუქტურა.



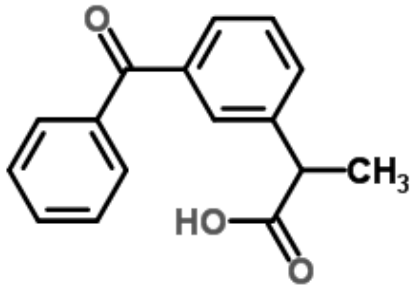
სურათი 15. ამილოზა ტრის(3-ქლორ-5-მეთილფენილკარბამატი)-ს სტრუქტურა.

ექსპერიმენტში გამოყენებული იყო სტანდარტული 25 სმ-ის სიგრძის სვეტები 4,6 მმ შიგა დიამეტრით. ნაწილაკების ზომა 3 მკმ. ქირალური სელექტორის დაფენის ხარისხი 25 %, სილიკაგელის ფორების ზომა 1000 ანგსტრემი.

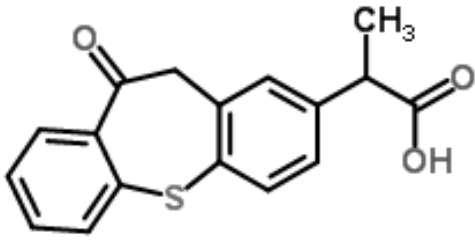
ექსპერიმენტში გამოყენებული სვეტები (გარდა Lux Cellulose 3-სა და Lux i-Amylose 3-სა) შევსებულია თსუ-ს ფიზიკური და ანალიზური ქიმიის კათედრის ლაბორატორიაში.

გ) ექსპერიმენტში გამოყენებული იყო 170-ზე მეტი ქირალური ნივთიერება.

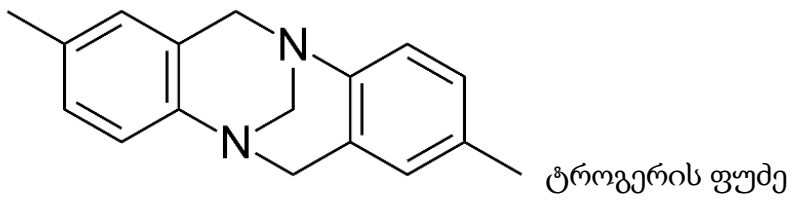
ქვემოთ მოცემულია აღნიშნული ქირალური ნივთიერებების მცირე ნაწილის სტრუქტურული ფორმულები:



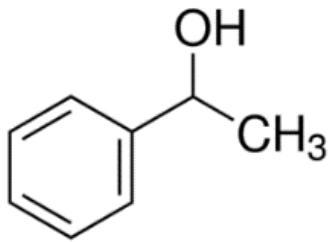
კეტოპროფენი



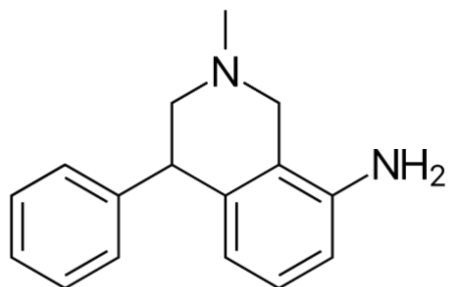
ზალტოპროფენი



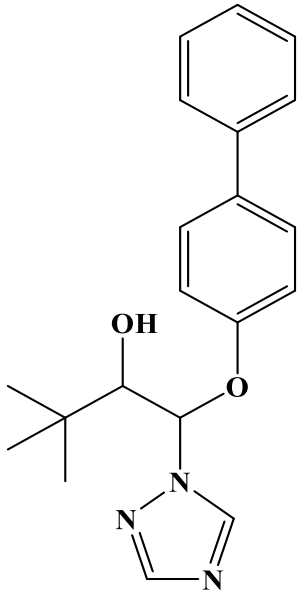
ტროგერის ფუძე



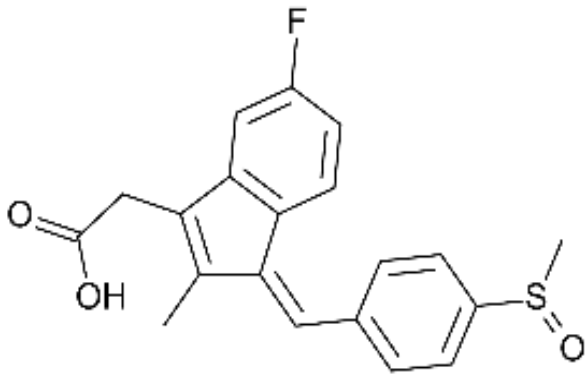
1-ფენილეთანოლი



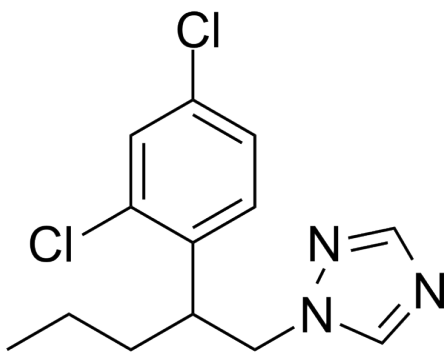
ნომიფენსინი



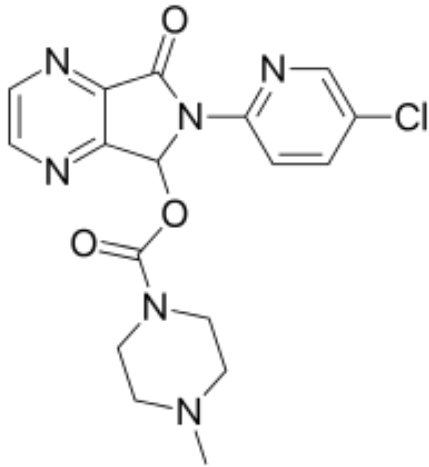
ბიტერტანოლი



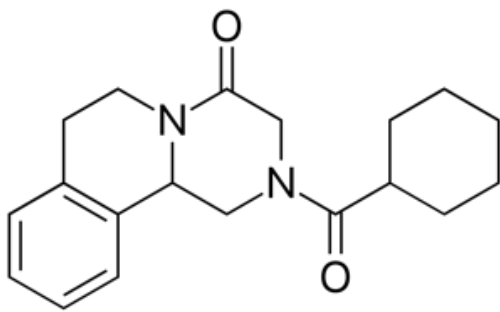
სულინდაკი



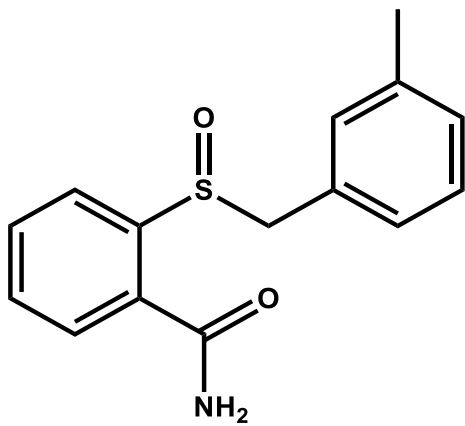
პენკონაზოლი



ცოპიკლონი



პრაოქუანტელი



2-(3-მეთილ-ბენზილსულფინილ) ბენზამიდი

ნახ.1. ნაშრომში გამოყენებული ქირალური ნივთიერებების მცირე ნაწილის სტრუქტურული ფორმულები.

დანარჩენი ქირალური ნივთიერებების სტრუქტურული ფორმულები იხილეთ დანართ 1-ში.

დ) ტემპერატურა: ოთახის ტემპერატურა, ხოლო ტემპერატურული კვლევის დროს: 10-75°C, ბიჯით 5°C და 75°C-ის შემდეგ ტემპერატურის დადმავალი მიმართულებით ისევ 10°C -მდე.

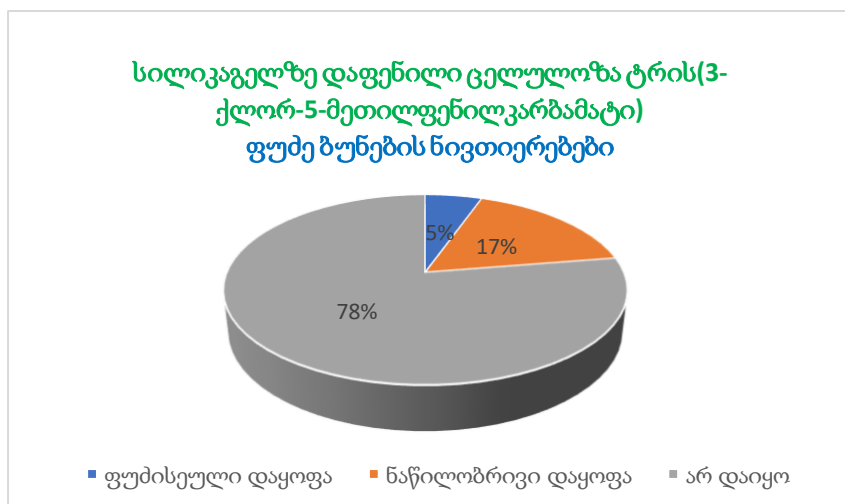
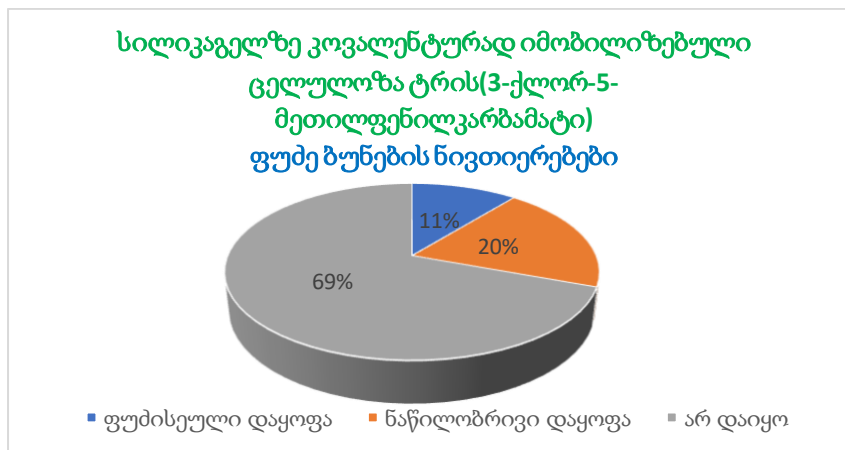
ე) ნაკადის სიჩქარე: 1 მლ/წთ.

ვ) დეტექტორის ტალღის სიგრძე: 254 ნმ.

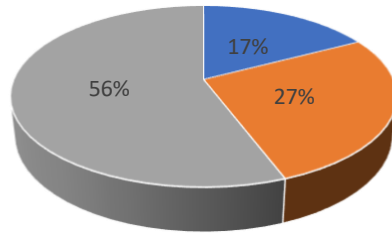
4. კვლევის შედეგები და მათი განსჯა

4.1. სილიკაგელზე დაფენილი და კოვალენტურად იმობილიზებული ცელულოზა ტრის(3-ქლორ-5-მეთილფენილკარბამატი) შედარებითი დახასიათება ენანტიომერული ნარეგების დასაყოფად მოძრავ ფაზად მეთანოლის გამოყენებით

მოცემულ ექსპერიმენტში გამოყენებული იყო 172 ქირალური ნივთიერება. აქედან 117 იყო ფუძე ბუნების, 34 მჟავა ბუნების და 21 ნეიტრალური ბუნების. კოვალენტურად იმობილიზებულ სვეტზე გამოვლინდა უფრო მეტი ფუძისეული და ნაწილობრივი დაყოფა, როგორც ფუძე, ასევე მჟავა და ნეიტრალური ბუნების ნივთიერებების შემთხვევაში სილიკაგელზე დაფენილ სვეტთან შედარებით.

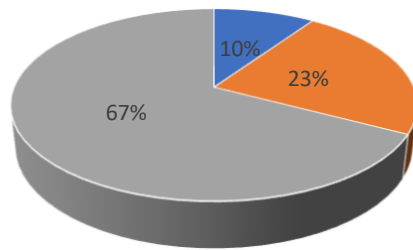


სილიკაგელზე კოვალენტურად იმობილიზებული ცელულოზა ტრის(3-ქლორ-5-მეთილფენილკარბამატი) მჟავა ბუნების ნივთიერებები



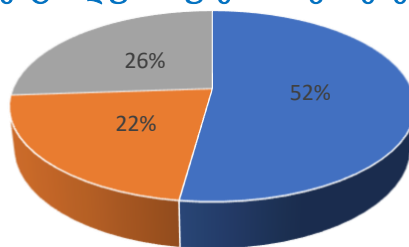
■ ფუძისეული დაყოფა ■ ნაწილობრივი დაყოფა ■ არ დაიყო

სილიკაგელზე დაფენილი ცელულოზა ტრის(3-ქლორ-5-მეთილფენილკარბამატი) მჟავა ბუნების ნივთიერებები



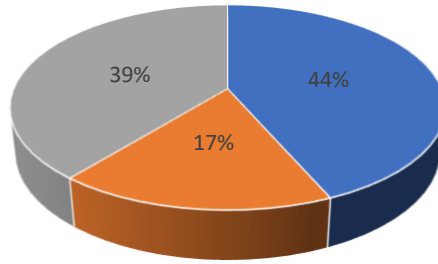
■ ფუძისეული დაყოფა ■ ნაწილობრივი დაყოფა ■ არ დაიყო

სილიკაგელზე კოვალენტურად იმობილიზებული ცელულოზა ტრის(3-ქლორ-5-მეთილფენილკარბამატი) ნეიტრალური ბუნების ნივთიერებები



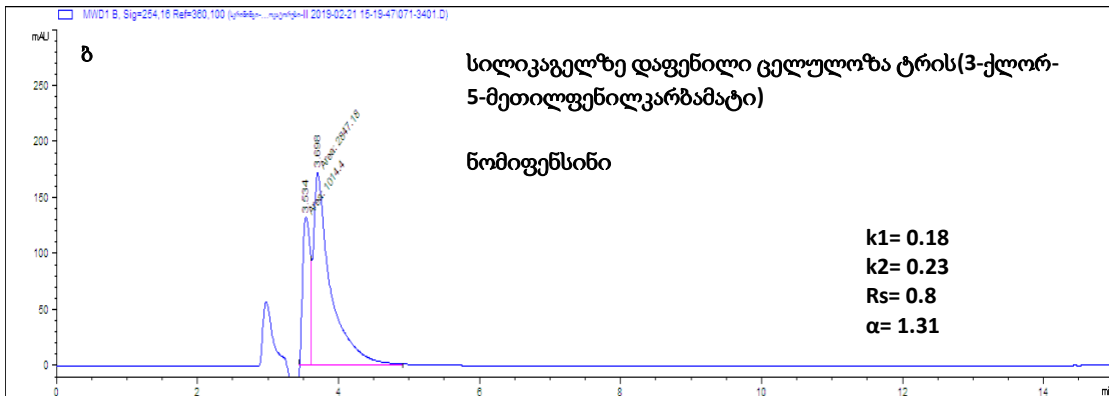
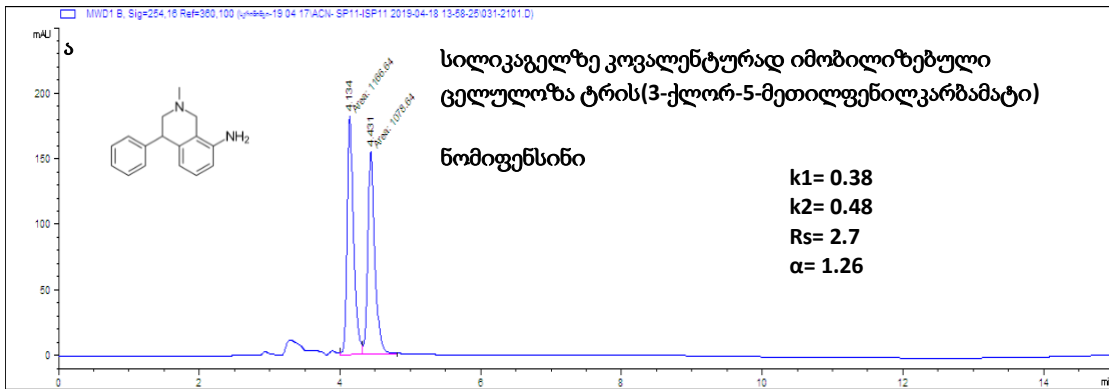
■ ფუძისეული დაყოფა ■ ნაწილობრივი დაყოფა ■ არ დაიყო

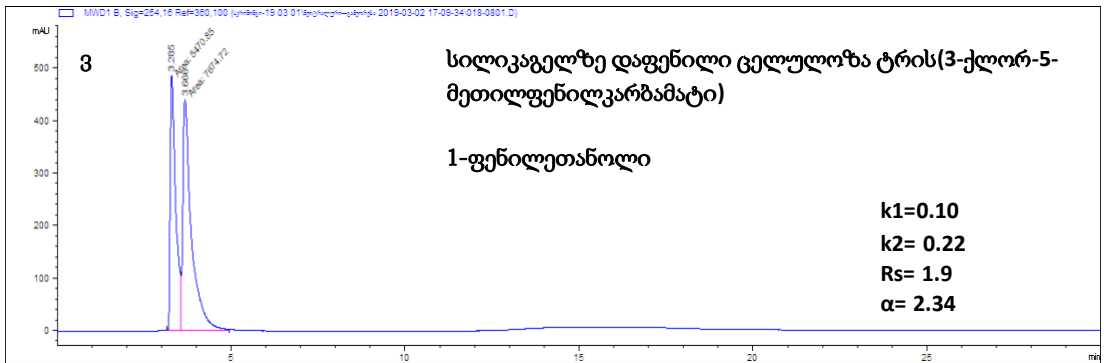
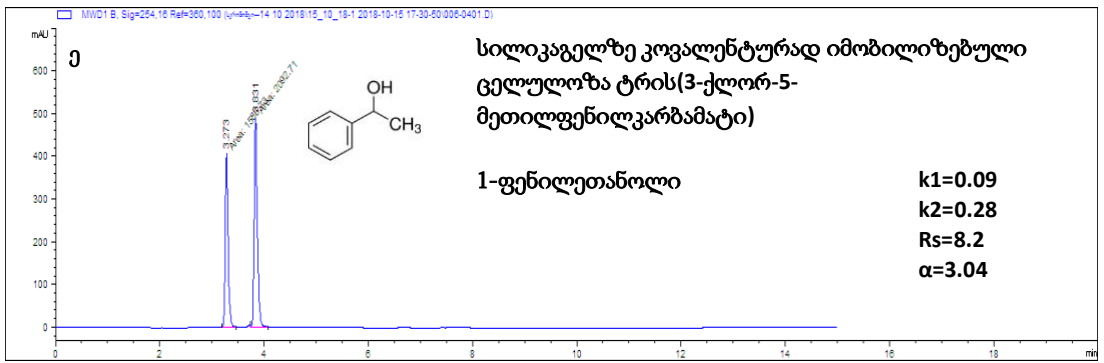
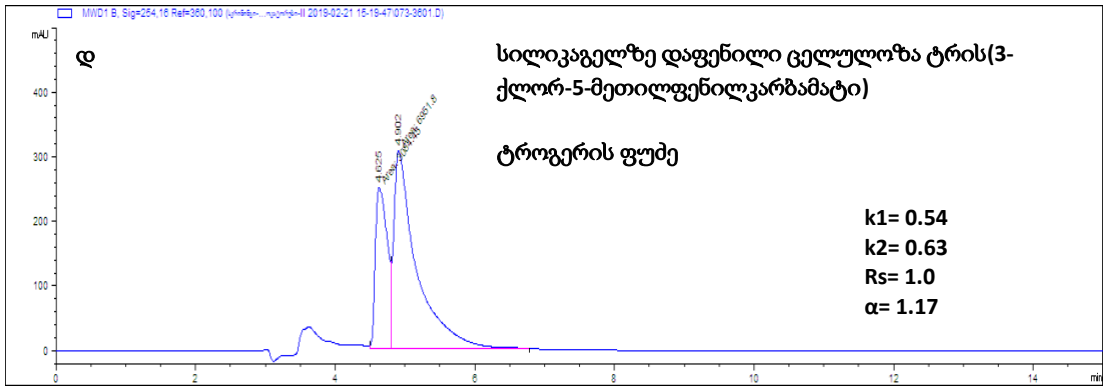
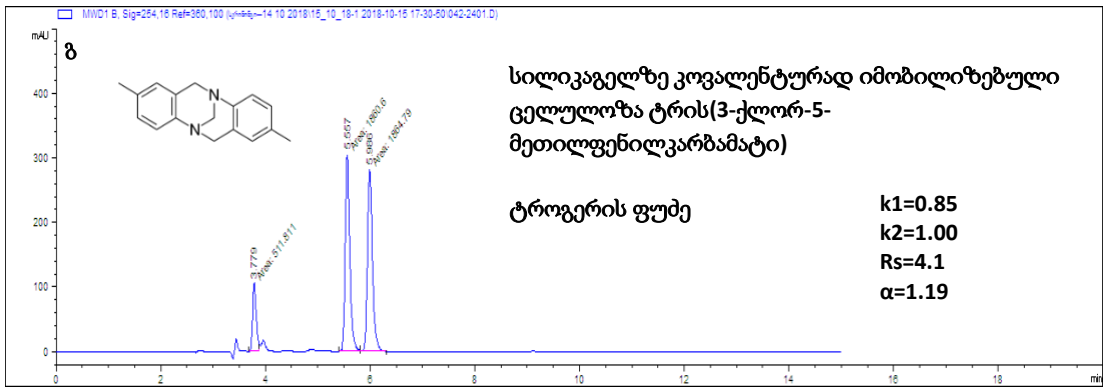
სილიკაგელზე დაფენილი ცელულოზა ტრის(3-
ქლორ-5-მეთილფენილკარბამატი)
ნეიტრალური ბუნების ნივთიერებები



■ ფუძისეული დაყოფა ■ ნაწილობრივი დაყოფა ■ არ დაიყო

მაგალითისთვის შევადართ სილიკაგელზე დაფენილი და კოვალენტურად იმობილიზებულ სვეტებზე ნომიფენსინის, ტროგერის ფუძის და 1-ფენილეთანოლის ენანტიომერების დაყოფა მოძრავ ფაზად მეთანოლის გამოყენებით.



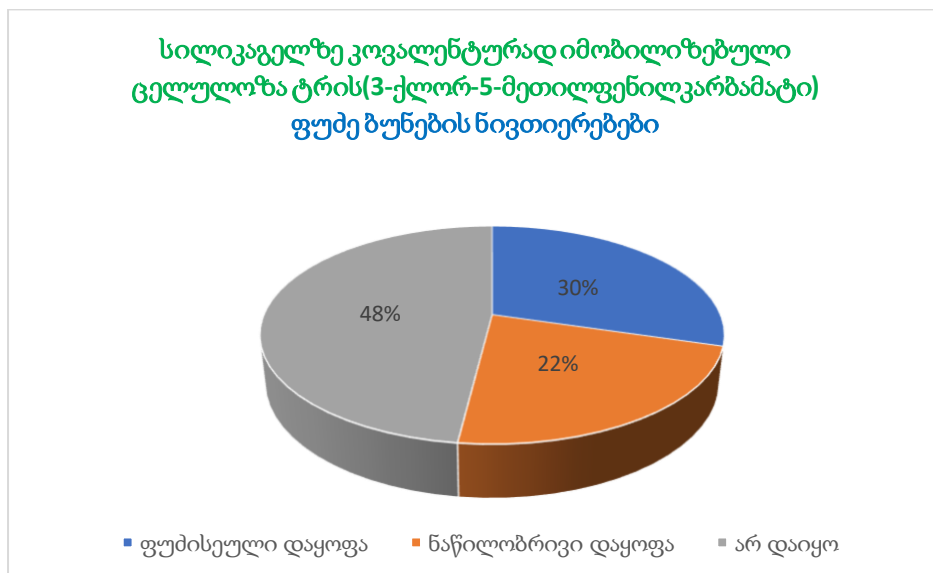


ნახ.2. ნომიფენსინის (ა,ბ), ტროგერის ფუძის (გ,დ) და 1-ფენილეთანოლის (ე,ვ) ენანტიომერების დაყოფა მეთანოლში სილიკაგელზე დაფენილი და კოვალენტურად იმობილიზებული ცელულოზა ტრის(3-ქლორ-5-მეთილფენილკარბამატი)-ს გამოყენებით.

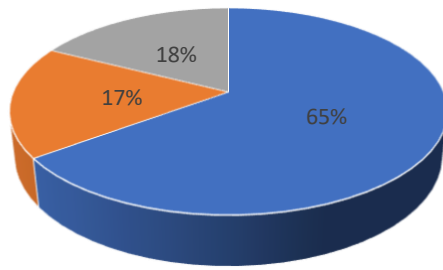
სამივე ნივთიერების შემთხვევაში აშკარაა სილიკაგელზე კოვალენტურად იმობილიზებული ცელულოზას ნაწარმით მომზადებული ქირალური სტაციონარული ფაზის უპირატესობა სილიკაგელზე დაფენილ ცელულოზას იგივე ნაწარმით მომზადებულ ქირალურ სტაციონარულ ფაზასთან შედარებით. სილიკაგელზე კოვალენტურად იმობილიზებული ქირალური სელექტორით მომზადებული სტაციონარული ფაზის გამოყენებისას მივიღეთ ფუძისეული დაყოფები, ხოლო სილიკაგელზე დაფენილი ქირალური სელექტორით მომზადებული სტაციონარული ფაზის გამოყენებისას ადგილი აქვს ნაწილობრივ დაყოფებს.

4.2. სილიკაგელზე კოვალენტურად იმობილიზებული ცელულოზა ტრის(3-ქლორ-5-მეთილფენილკარბამატის) დახასიათება ენანტიომერული ნარევების დასაყოფად მოძრავ ფაზად ჰექსანი/იზოპროპანოლის (სხვადასხვა მოცულობითი თანაფარდობით) გამოყენებით

მოცემულ ექსპერიმენტში გამოყენებული იყო 172 ქირალური ნივთიერება. აქედან 117 იყო ფუძე ბუნების, 34 მჟავა ბუნების და 21 ნეიტრალური ბუნების. ექსპერიმენტი ჩავატარეთ მხოლოდ კოვალენტურად იმობილიზებულ სვეტზე, რადგან სილიკაგელზე დაფენილი ქირალური სელექტორი არ არის მდგრადი ჰექსანი/იზოპროპანოლის (სხვადასხვა მოცულობითი თანაფარდობით) მიმართ, ამიტომ ქირალური სელექტორი სვეტიდან გამოირეცხება.

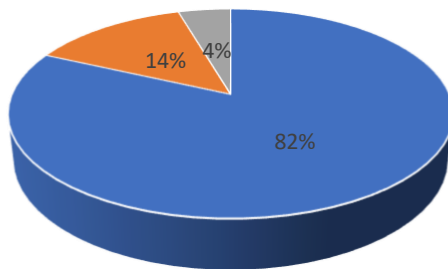


სილიკაგელზე კოვალენტურად იმობილიზებული ცელულოზა ტრის(3-ქლორ-5-მეთილფენილკარბამატი) მჟავა ბუნების ნივთიერებები



■ ფუძისეული დაყოფა ■ ნაწილობრივი დაყოფა ■ არ დაიყოფა

სილიკაგელზე კოვალენტურად იმობილიზებული ცელულოზა ტრის(3-ქლორ-5-მეთილფენილკარბამატი) ნეიტრალური ბუნების ნივთიერებები



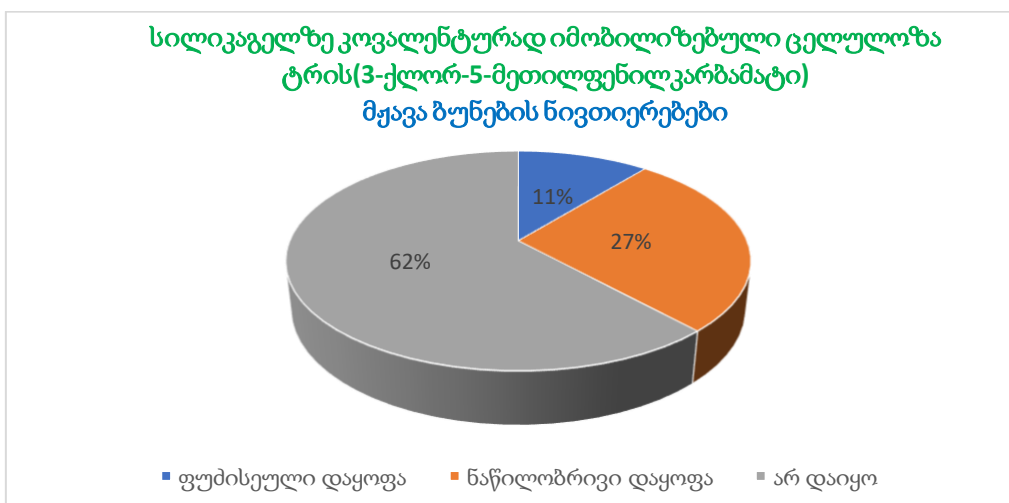
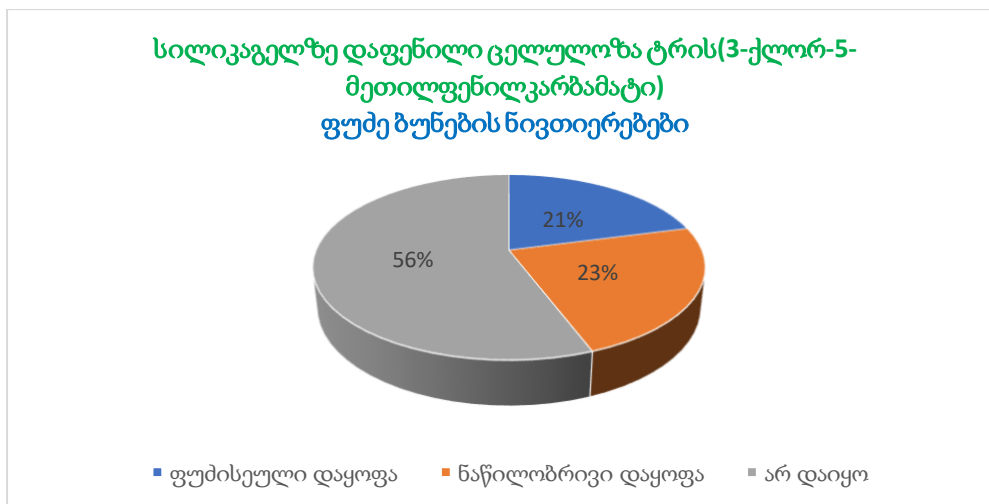
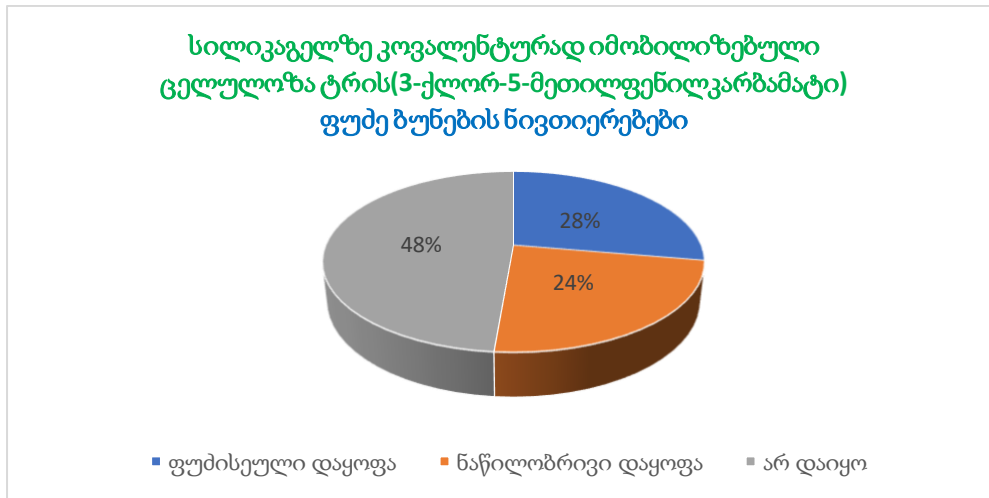
■ ფუძისეული დაყოფა ■ ნაწილობრივი დაყოფა ■ არ დაიყოფა

აღსანიშნავია, რომ მოძრავ ფაზად ჰექსანი/იზოპროპანოლის (სხვადასხვა მოცულობითი თანაფარდობით) გამოყენების შემთხვევაში მჟავა ბუნების ნივთიერებების 65%, ხოლო ნეიტრალური ბუნების ნივთიერებების 82% ფუძისეულად დაიყო.

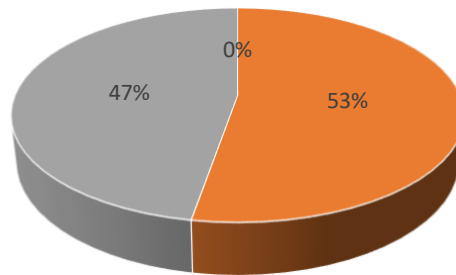
4.3. სილიკაგელზე დაფენილი და კოვალენტურად იმობილიზებული ცელულოზა ტრის(3-ქლორ-5-მეთილფენილკარბამატის) შედარებითი დახასიათება ენანტიომერული ნარევების დასაყოფად მოძრავ ფაზად აცეტონიტრილის გამოყენებით

მოცემულ ექსპერიმენტში გამოყენებული იყო 172 ქირალური ნივთიერება. აქედან 117 იყო ფუძე ბუნების, 34 მჟავა ბუნების და 21 ნეიტრალური ბუნების.

კოვალენტურად იმობილიზებულ სვეტზე გამოვლინდა უფრო მეტი ფუძისეული და ნაწილობრივი დაყოფა, როგორც ფუძე, ასევე მჟავა და ნეიტრალური ბუნების ნივთიერებების შემთხვევაში სილიკაგელზე დაფენილ სვეტთან შედარებით.

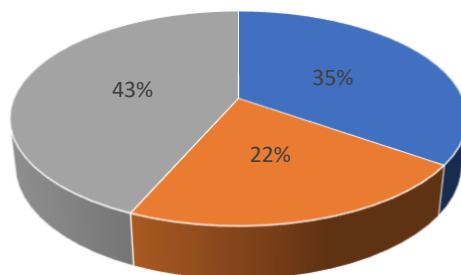


სილიკაგელზე დაფენილი ცელულოზა ტრის(3-ქლორ-5-მეთილფენილკარბამატი) მჟავა ბუნების ნივთიერებები



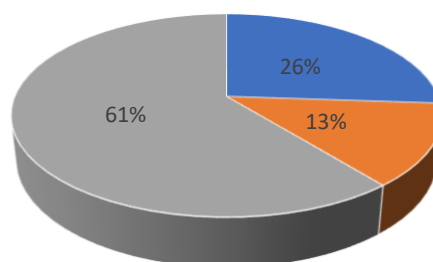
■ ფუძისეული დაყოფა ■ ნაწილობრივი დაყოფა ■ არ დაიყო

სილიკაგელზე კოვალენტურად იმობილიზებული ცელულოზა ტრის(3-ქლორ-5-მეთილფენილკარბამატი) ნეიტრალური ბუნების ნივთიერებები



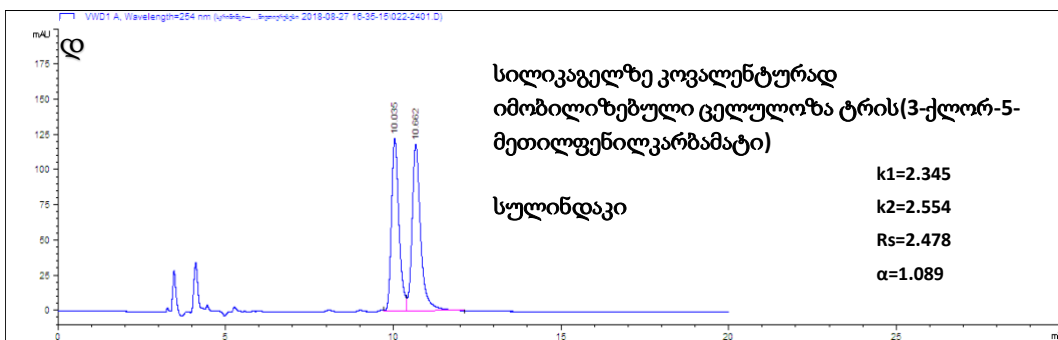
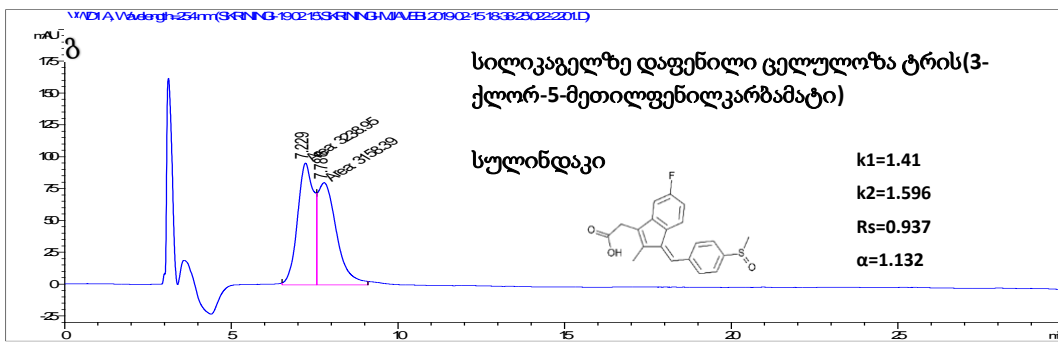
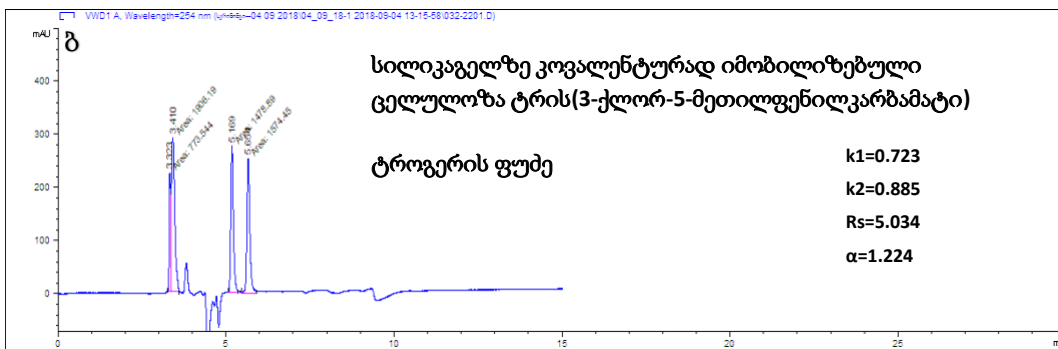
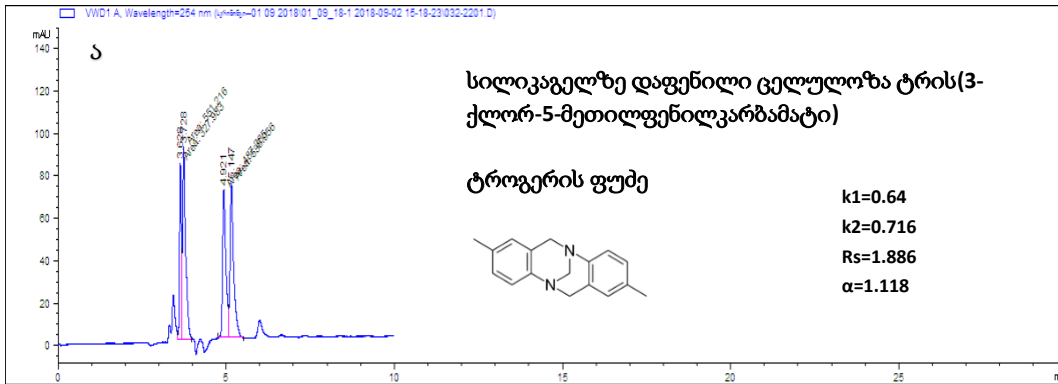
■ ფუძისეული დაყოფა ■ ნაწილობრივი დაყოფა ■ არ დაიყო

სილიკაგელზე დაფენილი ცელულოზა ტრის(3-ქლორ-5-მეთილფენილკარბამატი) ნეიტრალური ბუნების ნივთიერებები



■ ფუძისეული დაყოფა ■ ნაწილობრივი დაყოფა ■ არ დაიყო

მაგალითისთვის შევადართო სილიკაგელზე დაფენილი და კოვალენტურად იმობილიზებული ტროგერის ფუძის და სულინდაკის ენანტიომერების დაყოფა მოძრავ ფაზად აცეტონიტრილის გამოყენებით.

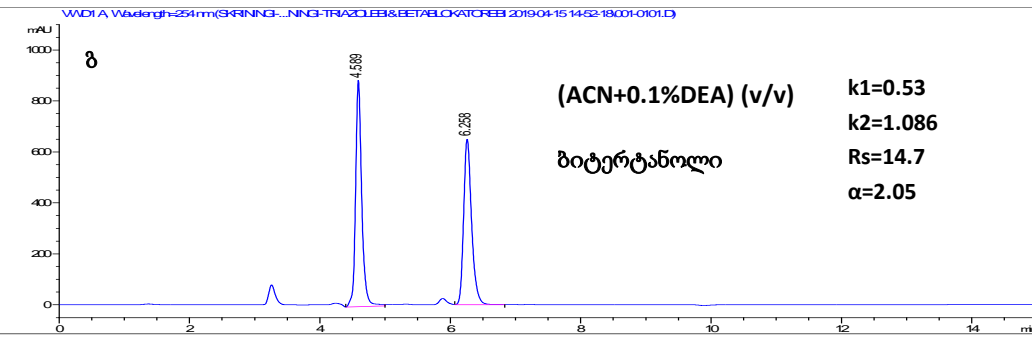
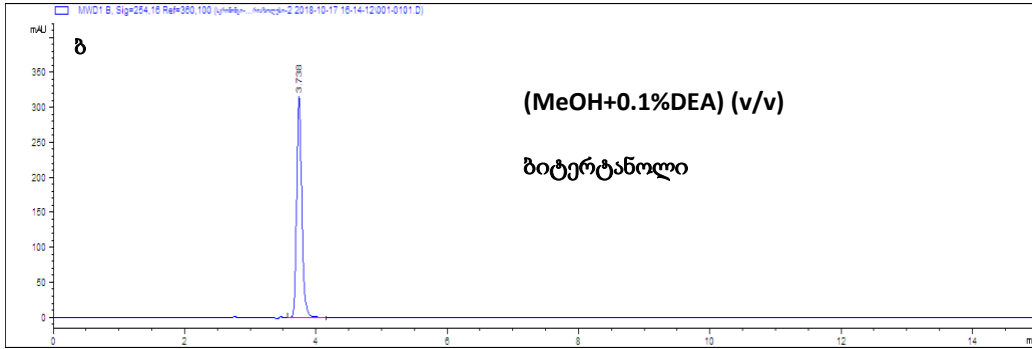
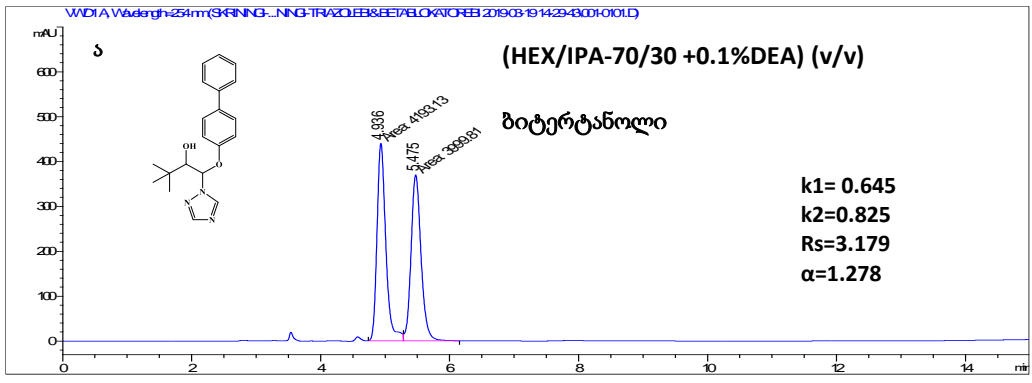


ნახ.3. ტროგერის ფუძის (ა,ბ) და სულინდაკის (გ,დ) ენანტიომერების დაყოფა აცეტონიტრილში სილიკაგელზე დაფენილი და კოვალენტურად იმობილიზებული ცელულოზა ტრის(3-ქლორ-5-მეთილფენილკარბამატი)-ს გამოყენებით.

ორივე ნივთიერების შემთხვევაში აშკარაა სილიკაგელზე კოვალენტურად იმობილიზებული ქირალური სელექტორის უპირატესობა სილიკაგელზე დაფენილ ქირალურ სელექტორთან შედარებით. სილიკაგელზე კოვალენტურად იმობილიზებული ქირალური სელექტორის გამოყენებისას მივიღეთ ფუძისეული დაყოფები, ხოლო სილიკაგელზე დაფენილი ქირალური სელექტორის გამოყენებისას ადგილი აქვს ნაწილობრივ დაყოფებს.

4.4. მოძრავი ფაზის ოპტიმიზაცია

უძრავ ფაზად ექსპერიმენტში გამოყენებულია სილიკაგელზე კოვალენტურად იმობილიზებული ქირალური ქირალურის სელექტორი ცელულოზა ტრის(3-ქლორ-5-მეთილფენილკარბამატი). როგორც ბიტერტანოლის, ასევე ნიმოდიპინის ენანტიომერების დაყოფის დროს მივიღეთ ფუძისეული დაყოფები ჰექსანი/იზოპროპანოლის-70/30 გამოყენებისას, ხოლო მოძრავ ფაზად მეთანოლის გამოყენებისას არ ქონდა ადგილი ენანტიომერების დაყოფას.

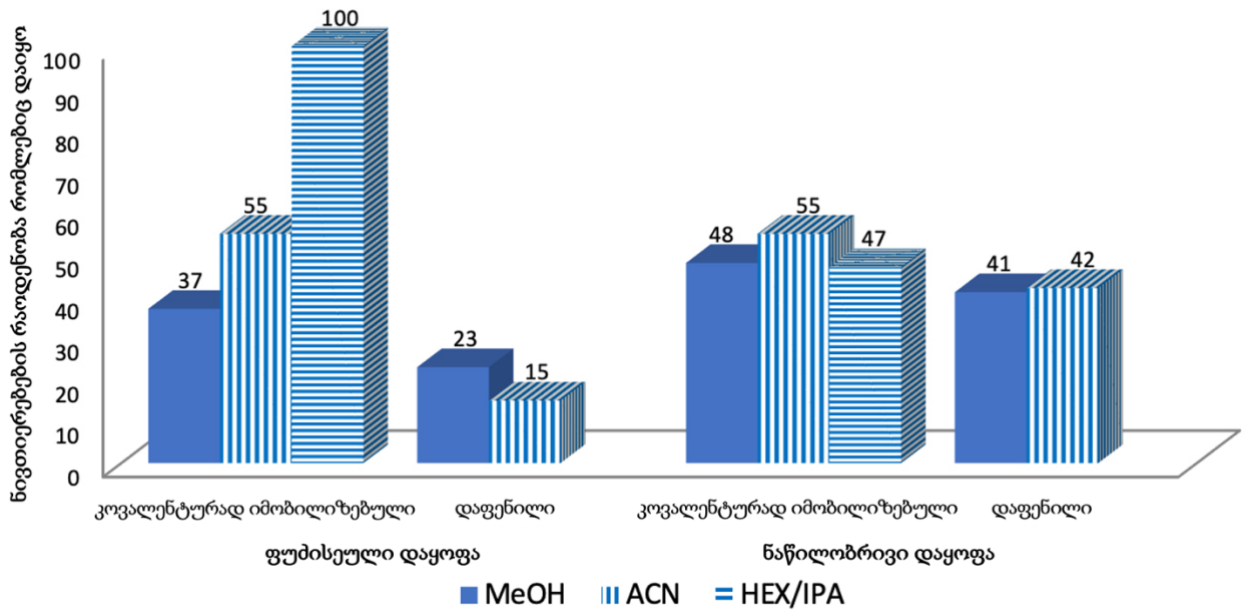


ნახ.4. ბიტერტანოლის ენანტიომერების დაყოფა მოძრავ ფაზად ჰექსანი/იზოპროპანოლის-70/30+0.1%DEA (v/v) (ა) მეთანოლის (ბ) და აცეტონიტრილის (გ) გამოყენებით სილიკაგელზე კოვალენტურად იმობილიზებული ქირალური სელექტორის დროს.

4.5. სილიკაგელზე დაფენილი თუ კოვალენტურად იმობილიზებული ცელულოზა ტრის(3-ქლორ-5-მეთილფენილკარბამატი)?

შეჯამებულია 170-ზე მეტი ქირალური ნივთიერების ანალიზის შედეგი და აღმოჩნდა, რომ ფუძისეული დაყოფების დროს აშკარად იგრძნობა სილიკაგელზე კოვალენტურად იმობილიზებული ქირალური სელექტორის უპირატესობა სილიკაგელზე დაფენილ ქირალურ სელექტორთან შედარებით. ენანტიომერების ნაწილობრივი დაყოფის დროსაც სილიკაგელზე კოვალენტურად იმობილიზებული

ქირალური სელექტორი უკეთეს შედეგს გვაძლევს, ვიდრე სილიკაგელზე დაფენილი ქირალური სელექტორი[108].



ნახ.5. 170-ზე მეტი ქირალური ნივთიერების ანალიზი 2 სხვადასხვა სვეტის და 3 სხვადასხვა მოძრავი ფაზის გამოყენებით

სილიკაგელზე კოვალენტურად იმობილიზებული ქირალური სელექტორის გამოყენებით 37 ქირალური ნივთიერება დაიყო ფუძისეულად, ხოლო 48 ნაწილობრივ მოძრავ ფაზად მეთანოლის გამოყენებისას.

სილიკაგელზე დაფენილი ქირალური სტაციონარული ფაზის გამოყენებით 23 ქირალური ნივთიერება დაიყო ფუძისეულად, ხოლო 41 ნაწილობრივ მოძრავ ფაზად მეთანოლის გამოყენებისას.

სილიკაგელზე კოვალენტურად იმობილიზებული ქირალური სელექტორის გამოყენებით 55 ქირალური ნივთიერება დაიყო ფუძისეულად, ხოლო 55 ნაწილობრივ მოძრავ ფაზად აცეტონიტრილის გამოყენებისას.

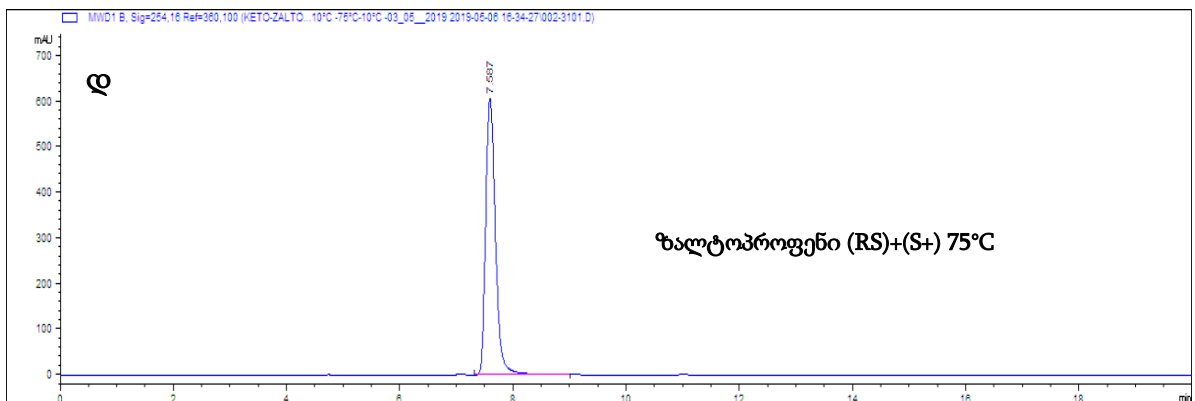
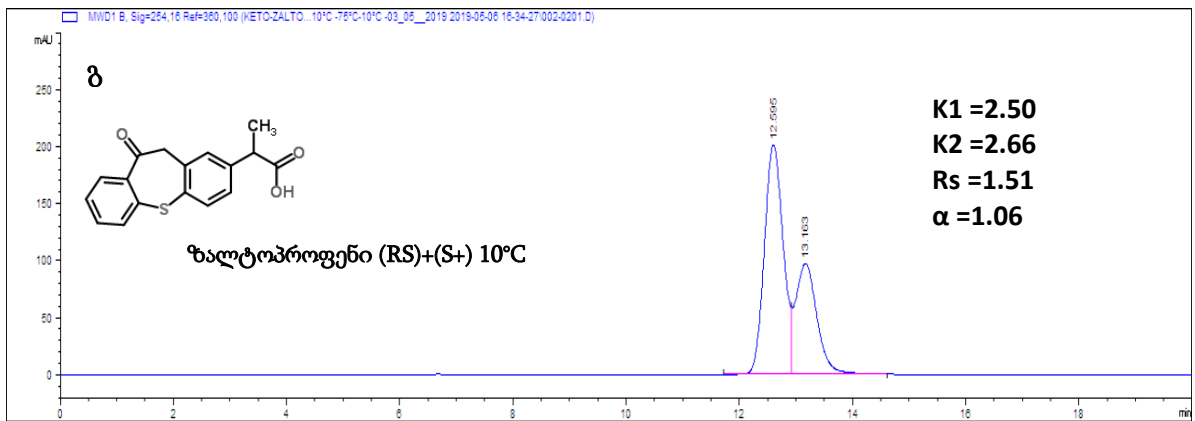
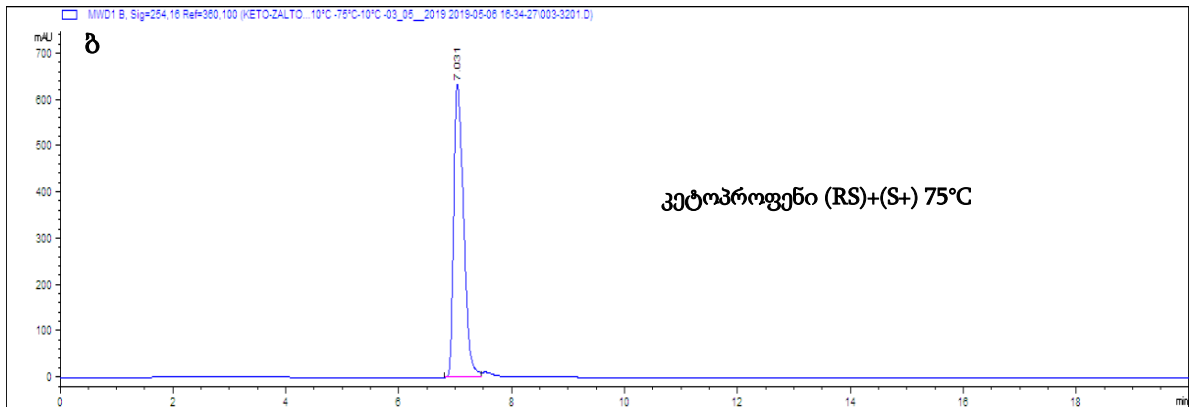
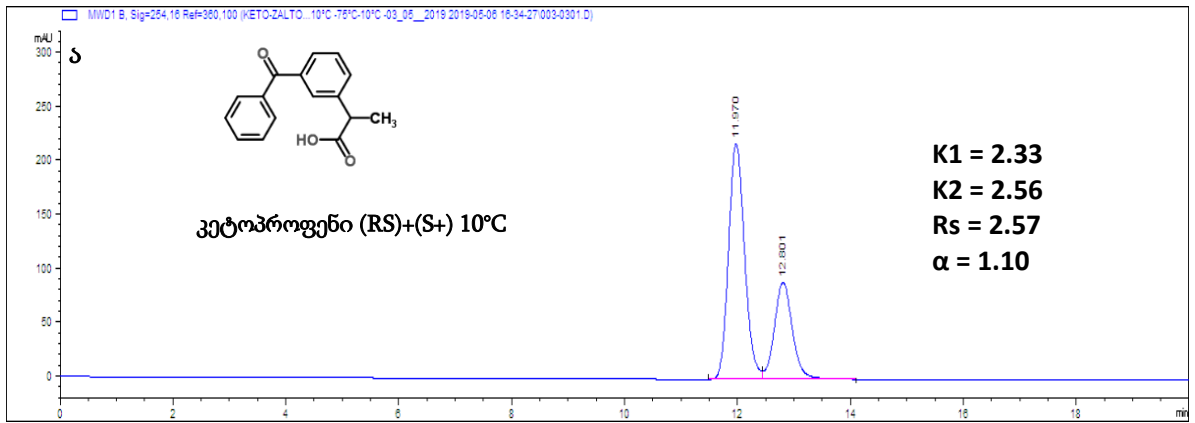
სილიკაგელზე დაფენილი ქირალური სელექტორის გამოყენებით 15 ქირალური ნივთიერება დაიყო ფუძისეულად, ხოლო 42 ნაწილობრივ მოძრავ ფაზად აცეტონიტრილის გამოყენებისას.

სილიკაგელზე კოვალენტურად იმობილიზებული ქირალური სელექტორის გამოყენებით 100 ქირალური ნივთიერება დაიყო ფუძისეულად, ხოლო 47 ნაწილობრივ მოძრავ ფაზად ჰექსანი/იზოპროპანოლის გამოყენებისას.

4.6. ტემპერატურის როლის შესწავლა ენანტიომერული ნარეგების დაყოფაში

ქრომატოგრაფიულ ექსპერიმენტში ხდება ნივთიერების გადატანა ერთი ფაზიდან მეორეში. ამ პროცესს რაღაც ძალა უნდა ამოძრავებდეს, სწორედ ეს მამოძრავებელი ძალაა ენთალპიის შემცირება ან ენტროპიის გაზრდა, ან ორივე ერთდროულად.

ამ ექსპერიმენტებისთვის შეირჩა ორი მჟავა ბუნების ნივთიერება, კერძოდ არილპროპიონის მჟავას ნაწარმები, რომლებიც არასტეროიდული, ანთების საწინააღმდეგო საშუალებებია. შევისწავლეთ კეტოპროფენის და ზალტოპროფენის ენანტიომერების დაყოფის თერმოდინამიკური პარამეტრები. ანალიზები ჩატარდა სხვადასხვა ტემპერატურაზე ჰექსანი/იზოპროპანოლი-90/10+0.1%FA (v/v) მოძრავი ფაზის და სილიკაგელზე კოვალენტურად იმობილიზებული ქირალური სელექტორის გამოყენებით. გაანალიზებული ნივთიერებების შეკავების ფაქტორის ნატურალური ლოგარითმის დამოკიდებულების გრაფიკის მიხედვით აბსოლუტური ტემპერატურის შეზღუდვებულ სიდიდეზე, გამოვთვალეთ ადსორბციის ენთალპიისა და ენტროპიის სხვაობათა მნიშვნელობები. შევისწავლეთ ენტროპიულ თუ ენთალპიურ ხასიათს ატარებს მოცემულ სვეტზე ენანტიომერების დაყოფის მექანიზმი და როგორია ტემპერატურის გავლენა შეკავებისა და დაყოფის პროცესებზე.

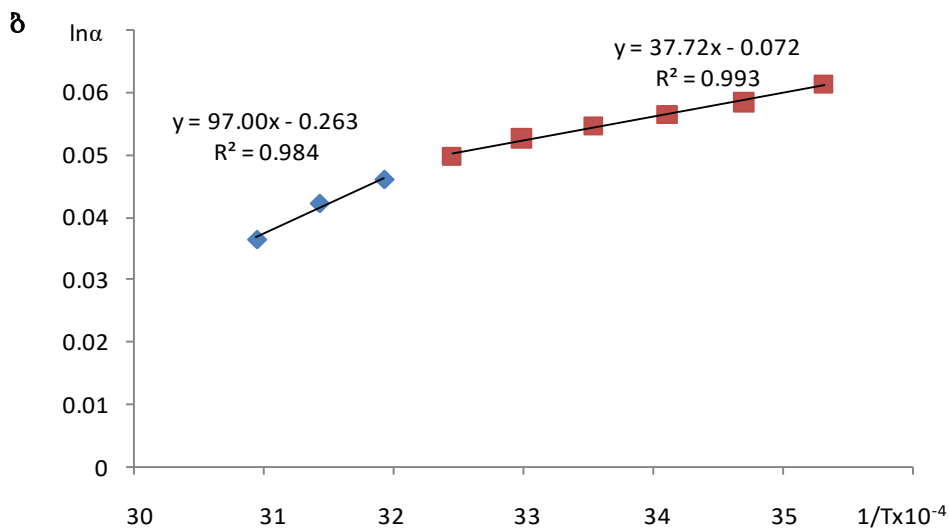
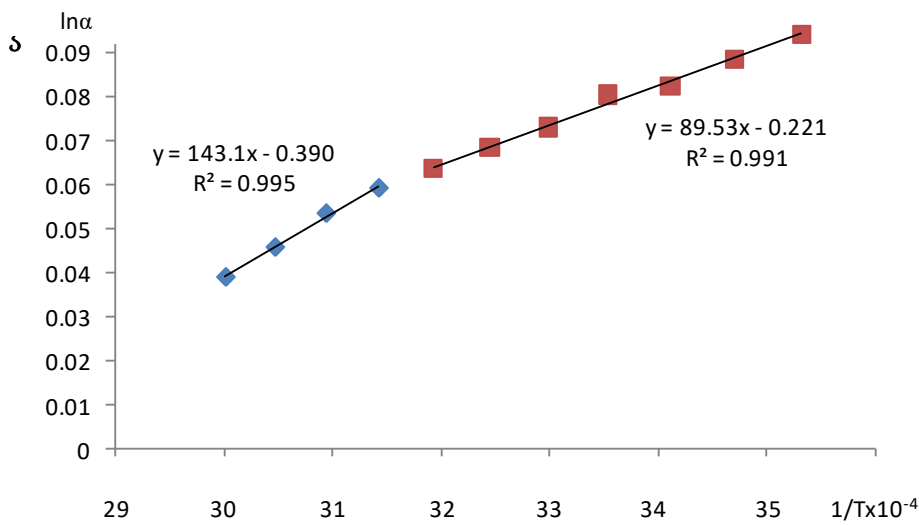


ნახ.6. კეტოპროფენის (ა, ბ) და ზალტაპროფენის (გ, დ) ენანტიომერების დაყოფა სხვადასხვა ტემპერატურებზე მოძრავ ფაზად ჰექსანი/იზოპროპანოლი-90/10+0.1%FA-ს (v/v) და სილიკაგელზე კოვალენტურად იმობილიზებული ქირალური სელექტორის

გამოყენებით. 10°C-დან 75°C-მდე კეტოპროფენის და ზალტოპროფენის ყველა ჩატარებული ქირალური ანალიზი იხილეთ დანართ 2-ში.

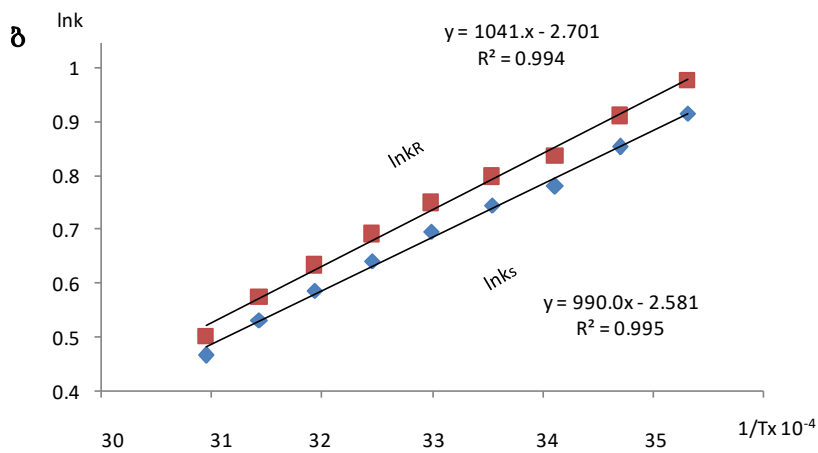
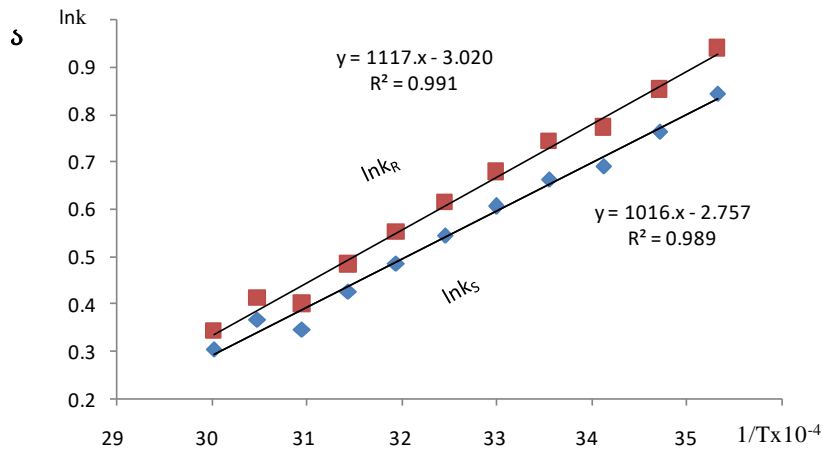
აღსანიშნავია, რომ ტემპერატურის ზრდისას ადგილი აქვს ენანტიომერების კოელუირებას, მაგრამ არ მოხდა ენანტიომერების ელუირების რიგის ცვლილება.

დაყოფის ფაქტორის ნატურალური ლოგარითმის აბსოლუტურ ტემპერატურის შებრუნებულ სიდიდეზე დამოკიდებულების გრაფიკიდან გამოვთვალეთ ენანტიომერების დაყოფის პროცესის ენთალპიისა და ენტროპიის მნიშვნელობები:



ნახ.7. დაყოფის ფაქტორის ნატურალური ლოგარითმის დამოკიდებულება აბსოლუტური ტემპერატურის შებრუნებულ სიდიდეზე კეტოპროფენის (ა) და ზალტოპროფენის (ბ) მაგალითზე.

ამით ვითვლით ორივე ენანტიომერის (ანუ ჯამურ) ენთალპიის ცვლილების ცვლილებას და ენტროპიის ცვლილების ცვლილებას. შეკავების ფაქტორის ნატურალური ლოგარითმის დამოკიდებულებით აბსოლუტური ტემპერატურის შებრუნებულ სიდიდეზე, კი გამოვივლით ცალკეული ენანტიომერის ენთალპიის ცვლილებას და ენტროპიის ცვლილებას თხევადი ფაზიდან ადსორბირებულ მდგომარეობაში გადასვლისას.



ნახ.8. შეკავების ფაქტორის ნატურალური ლოგარითმის დამოკიდებულება აბსოლუტური ტემპერატურის შებრუნებულ სიდიდეზე კეტოპროფენის (ა) და ზალტოპროფენის (ბ) მაგალითზე.

მე-7 ნახაზზე მოცემულ გრაფიკებზე დაყრდნობით ვასკვნით, რომ როგორც კეტოპროფენის, ასევე ზალტოპროფენის შემთხვევაში დაყოფას ენთალპია აკონტროლებს. აღსანიშნავია, რომ მე-7 ნახაზზე მოცემული გრაფიკებიდან ადსორბციაზე ინფორმაციას ვერ ვიღებთ. მე-8 ნახაზზე მოცემული გრაფიკებიდან კი

ვაკეთებთ დასკვნას, რომ როგორც კეტოპროფენის, ასევე ზალტოპროფენის შემთხვევაში ადსორბციას (ასევე დაყოფას) ენთალპია აკონტროლებს [109].

თერმოდინამიკური პარამეტრების დათვლა კეტოპროფენის მაგალითზე (283-313 K):

$$\ln \alpha = -\frac{\Delta_{S,R}\Delta H^0}{R} \cdot \frac{1}{T} + \frac{\Delta_{S,R}\Delta S^0}{R}$$

$$y = 89.53x - 0.221$$

წრფის განტოლების თანახმად:

$$y = kx + l$$

ანუ:

$$y = \ln \alpha, \quad x = \frac{1}{T}, \quad k = -\frac{\Delta_{S,R}\Delta H^0}{R}, \quad l = \frac{\Delta_{S,R}\Delta S^0}{R}$$

რადგან,

$$R = 1.9872036 \frac{\text{cal}}{\text{mol} \times \text{K}}$$

$$\Delta_{S,R}\Delta H^0 = -(89.53 \times 1.9872036) \approx -177.91 \frac{\text{cal}}{\text{mol}}$$

$$\Delta_{S,R}\Delta S^0 = -(0.221 \times 1.9872036) \approx -0.44 \frac{\text{cal}}{\text{mol} \times \text{K}}$$

პიკების კოელურიების ტემპერატურის პოვნა:

$$T_{iso} = \frac{\Delta_{S,R}\Delta H^0}{\Delta_{S,R}\Delta S^0}$$

$$T_{iso} = \frac{-177.91}{-0.44 \text{ J}} \approx 404.34 \text{ K}$$

$$t_{iso} = T_{iso} - 273.15 = 404.34 - 273.15 = 131.19 \text{ } ^\circ\text{C}$$

თერმოდინამიკური პარამეტრების დათვლა კეტოპროფენის მაგალითზე (318-333 K):

$$\ln \alpha = -\frac{\Delta_{S,R}\Delta H^0}{R} \cdot \frac{1}{T} + \frac{\Delta_{S,R}\Delta S^0}{R}$$

$$y = 143.1x - 0.390$$

წრფის განტოლების თანახმად:

$$y = kx + l$$

ანუ:

$$y = \ln \alpha, \quad x = \frac{1}{T}, \quad k = -\frac{\Delta_{S,R}\Delta H^0}{R}, \quad l = \frac{\Delta_{S,R}\Delta S^0}{R}$$

რადგან,

$$R = 1.9872036 \frac{\text{cal}}{\text{mol} \times \text{K}}$$

$$\Delta_{S,R}\Delta H^0 = -(143.1 \times 1.9872036) \approx -284.37 \frac{\text{cal}}{\text{mol}}$$

$$\Delta_{S,R}\Delta S^0 = -(0.390 \times 1.9872036) \approx -0.78 \frac{\text{cal}}{\text{mol} \times \text{K}}$$

პიკების კოელურიების ტემპერატურის პოვნა:

$$T_{iso} = \frac{\Delta_{S,R}\Delta H^0}{\Delta_{S,R}\Delta S^0}$$

$$T_{iso} = \frac{-284.37}{-0.78 \text{ J}} \approx 364.58 \text{ K}$$

$$t_{iso} = T_{iso} - 273.15 = 364.58 - 273.15 = 91.43 \text{ } ^\circ\text{C}$$

თერმოდინამიკური პარამეტრების დათვლა ზალტოპროფენის მაგალითზე (283-308 K):

$$\ln \alpha = -\frac{\Delta_{S,R}\Delta H^0}{R} \cdot \frac{1}{T} + \frac{\Delta_{S,R}\Delta S^0}{R}$$

$$y = 37.72x - 0.072$$

წრფის განტოლების თანახმად:

$$y = kx + l$$

ანუ:

$$y = \ln \alpha, \quad x = \frac{1}{T}, \quad k = -\frac{\Delta_{S,R}\Delta H^0}{R}, \quad l = \frac{\Delta_{S,R}\Delta S^0}{R}$$

რადგან,

$$R = 1.9872036 \frac{\text{cal}}{\text{mol} \times \text{K}}$$

$$\Delta_{S,R}\Delta H^0 = -(37.72 \times 1.9872036) \approx -74.96 \frac{\text{cal}}{\text{mol}}$$

$$\Delta_{S,R}\Delta S^0 = -(0.072 \times 1.9872036) \approx -0.14 \frac{\text{cal}}{\text{mol} \times \text{K}}$$

პიკების კოელუირების ტემპერატურის პოვნა:

$$T_{iso} = \frac{\Delta_{S,R}\Delta H^0}{\Delta_{S,R}\Delta S^0}$$

$$T_{iso} = \frac{-74.96}{-0.14 \text{ J}} \approx 535.43 \text{ K}$$

$$t_{iso} = T_{iso} - 273.15 = 535.43 - 273.15 = 262.28 \text{ } ^\circ\text{C}$$

თერმოდინამიკური პარამეტრების დათვლა ზალტოპროფენის მაგალითზე (313-323 K):

$$\ln \alpha = -\frac{\Delta_{S,R}\Delta H^0}{R} \cdot \frac{1}{T} + \frac{\Delta_{S,R}\Delta S^0}{R}$$

$$y = 97.00x - 0.263$$

წრფის განტოლების თანახმად:

$$y = kx + l$$

ანუ:

$$y = \ln \alpha, \quad x = \frac{1}{T}, \quad k = -\frac{\Delta_{S,R}\Delta H^0}{R}, \quad l = \frac{\Delta_{S,R}\Delta S^0}{R}$$

რადგან,

$$R = 1.9872036 \frac{\text{cal}}{\text{mol} \times \text{K}}$$

$$\Delta_{S,R}\Delta H^0 = -(97.00 \times 1.9872036) \approx -192.76 \frac{\text{cal}}{\text{mol}}$$

$$\Delta_{S,R}\Delta S^0 = -(0.263 \times 1.9872036) \approx -0.52 \frac{\text{cal}}{\text{mol} \times \text{K}}$$

პიკების კოელუირების ტემპერატურის პოვნა:

$$T_{iso} = \frac{\Delta_{S,R}\Delta H^0}{\Delta_{S,R}\Delta S^0}$$

$$T_{iso} = \frac{-192.76}{-0.52 \text{ J}} \approx 370.69 \text{ K}$$

$$t_{iso} = T_{iso} - 273.15 = 370.69 - 273.15 = 97.54 \text{ } ^\circ\text{C}$$

5

ΔH_s cal/mol	ΔH_R cal/mol	$\frac{\Delta S^0}{R} + \ln \phi$ cal/mol	$\frac{\Delta S^0}{R} + \ln \phi$ cal/mol	$\Delta\Delta H_{S,R}$ cal/mol	$\Delta\Delta S_{R,S}$ cal/mol	$T_{iso}, \text{ K}$
-2086.76	-2379.28	-5.70	-6.53	-177.91 (283- 313 K)	-0.44 (283- 313 K)	404 (283- 313 K)
				-284.37 (318- 333 K)	-0.78 (318- 333 K)	365 (318- 333 K)

8

ΔH_s cal/mol	ΔH_R cal/mol	$\frac{\Delta S^0}{R} + \ln \phi$ cal/mol	$\frac{\Delta S^0}{R} + \ln \phi$ cal/mol	$\Delta\Delta H_{S,R}$ cal/mol	$\Delta\Delta S_{R,S}$ cal/mol	$T_{iso}, \text{ K}$
-2280.32	-2504.47	-6.18	-6.83	-74.96 (283- 308 K)	-0.14 (283- 308 K)	535 (283- 308 K)
				-192.76 (313- 323 K)	-0.52 (313- 323 K)	370 (313- 323 K)

ცხრილი 1. კეტოპროფენის (ა) და ზალტოპროფენის (ბ) თერმოდინამიკური პარამეტრები.

სელექტივობის მიხედვით გამოთვლილ თერმოდინამიკურ პარამეტრებს აქვს ორი სხვადასხვა მნიშვნელობა: დაბალი ტემპერატურების დროს და მაღალი ტემპერატურების დროს. დაბალ ტემპერატურაზე ენთალპიური წევრის მნიშვნელობა არის მაღალი.

$$\ln \alpha = -\frac{\Delta_{S,R}\Delta H^0}{R} \cdot \frac{1}{T} + \frac{\Delta_{S,R}\Delta S^0}{R}$$

ფორმულის მიხედვით, როცა დაყოფას განაპირობებს ენთალპიური წევრი, ტემპერატურის გაზრდით ენთალპიური წევრის რიცხვითი მნიშვნელობა ნელ-ნელა მცირდება და რაღაც გარკვეული დროის შემდეგ, გარკვეულ ტემპერატურაზე მისი წვლილი დაყოფაში უტოლდება ენტროპიულ წევრს, ამ ტემპერატურას ეწოდება იზოენანტიოსელექტიური ტემპერატურა და გამოითვლება შემდეგი ფორმულით.

$$T_{iso} = \frac{\Delta_{S,R}\Delta H^0}{\Delta_{S,R}\Delta S^0}$$

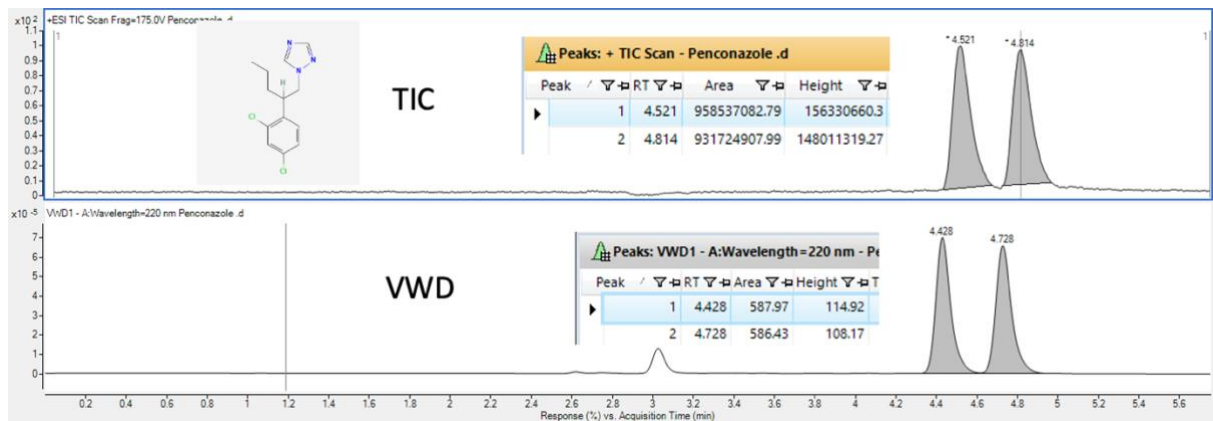
ამ დროს ხდება ენთალპიურ-ენტროპიული კომპენსაცია, $\ln \alpha = 0$, $\alpha = 1$, რადგან სელექტივობა 1-ის ტოლია დაყოფა არ მოხდება.

ენანტიომერების დაყოფა ხდება, როდესაც მათი თავისუფალი ენერგიების სხვაობა უარყოფითია. თავისუფალი ენერგიის უარყოფითი მნიშვნელობა შეიძლება განპირობებული იყოს ენთალპიის შემცირებით და/ან ენტროპიის გაზრდით. მოცემულ ანალიზში, თავდაპირველად ენთალპიური წევრი ხელს უწყობს დაყოფას, ხოლო ენტროპიული, პირიქით, უარყოფითად მოქმედებს მასზე, ანუ პროცესს აქვს ენთალპიური კონტროლი. ორივე შემთხვევაში როგორც ენთალპიური, ასევე ენტროპიული წევრი უარყოფითია, ამიტომ დაყოფის პროცესი მიმდინარეობს ენთალპიური კონტროლით.

4.7. ენანტიომერების პიკების ფართობებს შორის განსხვავებაზე დაკვირვება სელექტივობასთან მიმართებაში მას-სპექტრომეტრული დეტექტორის გამოყენებისას

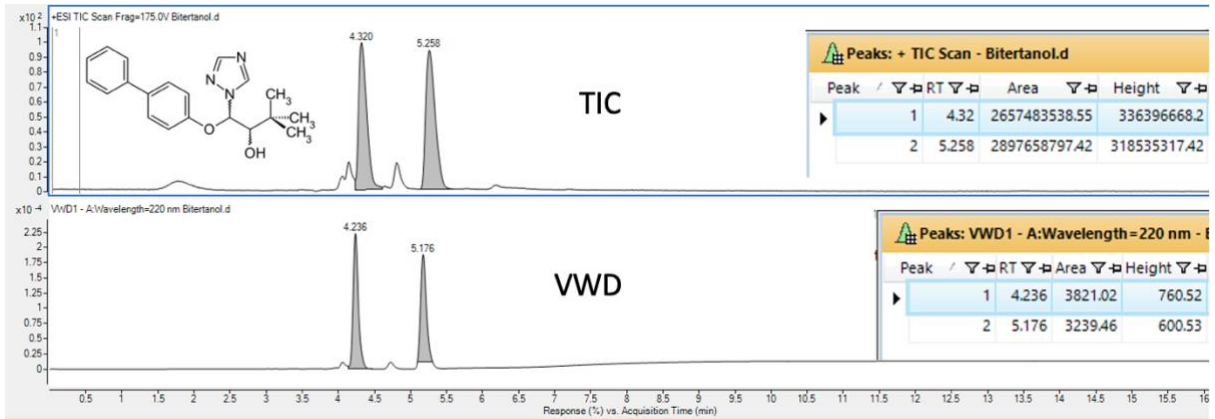
შევამჩნიეთ, რომ როდესაც ნიმუშის კონცენტრაცია მაღალია, ენანტიომერებს განსხვავებული გამოძახილი დაიკვირვება სრული დენის ქრომატოგრამაში (TIC), მაშინ როცა ცვალებადი ტალღის სიგრძის ულტრაიისფერმა ხილულმა დეტექტორმა (VWD) აჩვენა, რომ ორივე ენანტიომერის ფართობი ერთმანეთის ტოლია. კვლევის მიზანი იყო დაგვედგინა შემდეგი: ორი ენანტიომერის განსხვავებული ფართობები (TIC)-ში მხოლოდ გამონაკლის შემთხვევებში მიიღება თუ ეს დამოკიდებულია დაყოფის სელექტიურობაზე, ნივთიერებების კონცენტრაციაზე ან სხვა ფაქტორებზე.

ექსპერიმენტის ფარგლებში შევისწავლეთ 100-მდე ქირალური ნივთიერების ენანტიომერების დაყოფა სილიკაგელზე დაფენილ და კოვალენტურად იმოხილიზებულ ცელულოზა ტრის(3-ქლორ-5-მეთილფენილკარბამატის) საფუძველზე მომზადებულ სვეტებზე მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფიაში. დაკვირვება მიმდინარეობდა თანმიმდევრულად ჩართული UV-VIS და MS/MS დეტექტორებით.



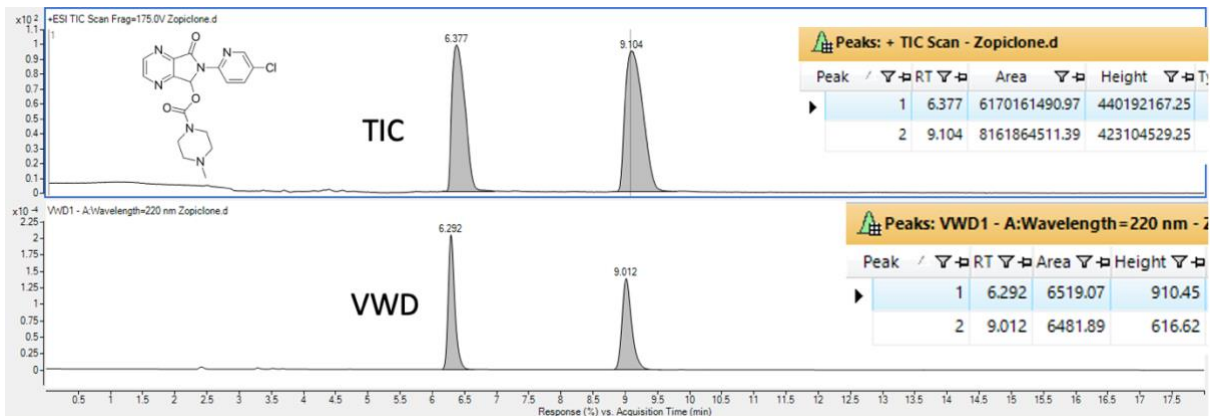
ნახ.9.1. პენკონაზოლის ენანტიომერების დაყოფა სილიკაგელზე დაფენილი ცელულოზა ტრის(3-ქლორ-5-მეთილფენილკარბამატი)-ს გამოყენებით, მოძრავი ფაზა: მეთანოლი/წყალი - 97/3 (მოცულობითი თანაფარდობით), რომელსაც დამატებული აქვს 5 მილიმოლი ამონიუმის აცეტატი.

სელექტივობა 1.19-ის ტოლია, ხოლო ენანტიომერების პიკების ფართობებს შორის განსხვავება რაცემატში (TIC) –2.8%. პენკონაზოლის მოლეკულური მასაა 284.2გ/მოლი.



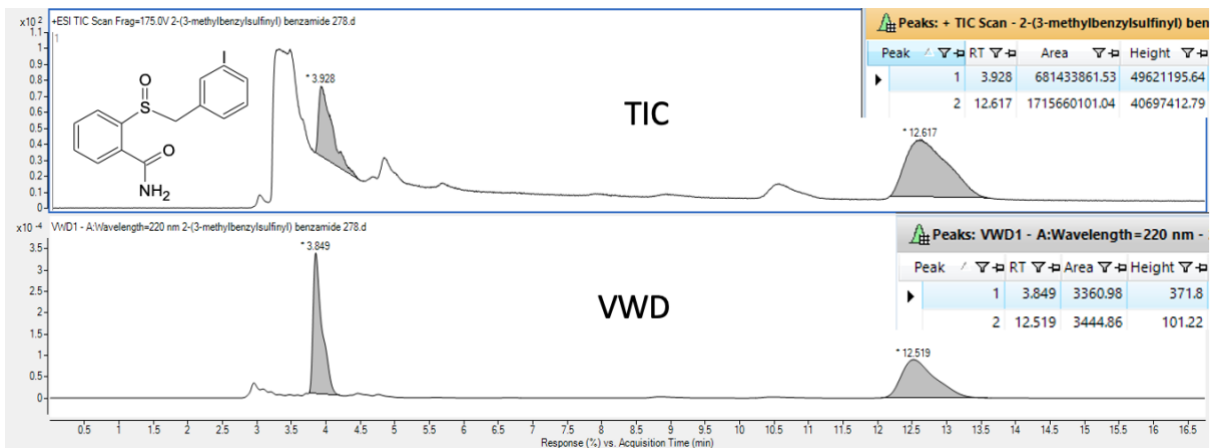
ნახ.9.2. ბიტერტანოლის ენანტიომერების დაყოფა სილიკაგელზე დაფენილი ცელულოზა ტრის(3-ქლორ-5-მეთილფენილკარბამატი)-ს გამოყენებით, მოძრავი ფაზა: აცეტონიტრილი/წყალი - 97/3 (მოცულობითი თანაფარდობით), რომელსაც დამატებული აქვს 5 მილიმოლი ამონიუმის აცეტატი.

სელექტივობა 1.71-ის ტოლია, ხოლო ენანტიომერების პიკების ფართობებს შორის განსხვავება რაცემატში (TIC) –8.3%. ბიტერტანოლის მოლეკულური მასაა 337.4155გ/მოლი.



ნახ.9.3. ცოპიკლონის ენანტიომერების დაყოფა სილიკაგელზე დაფენილი ცელულოზა ტრის(3-ქლორ-5-მეთილფენილკარბამატი)-ს გამოყენებით, მოძრავი ფაზა: აცეტონიტრილი/წყალი - 97/3 (მოცულობითი თანაფარდობით), რომელსაც დამატებული აქვს 5 მილიმოლი ამონიუმის აცეტატი.

სელექტივობა 1.81-ის ტოლია, ხოლო ენანტიომერების პიკების ფართობებს შორის განსხვავება რაცენტში (TIC) –24.4%. ცოპიკლონის მოლეკულური მასაა 388.81გ/მოლი.

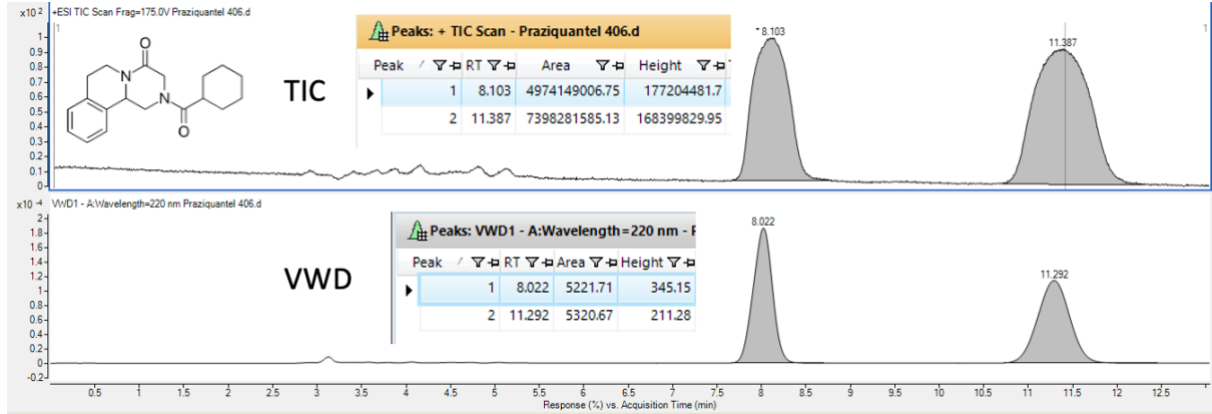


ნახ.9.4. 2-(3-მეთილ-ბენზილსულფინილ) ბენზამიდის ენანტიომერების დაყოფა სილიკაგელზე დაფენილი ცელულოზა ტრის(3-ქლორ-5-მეთილფენილკარბამატი)-ს გამოყენებით, მოძრავი ფაზა: მეთანოლი/წყალი - 97/3 (მოცულობითი თანაფარდობით), რომელსაც დამატებული აქვს 5 მილიმოლი ამონიუმის აცეტატი.

სელექტივობა 10.36-ის ტოლია, ხოლო ენანტიომერების პიკების ფართობებს შორის განსხვავება რაცენტში (TIC) –60.3%. 2-(3-მეთილ-ბენზილსულფინილ) ბენზამიდის მოლეკულური მასაა 273 გ/მოლი.

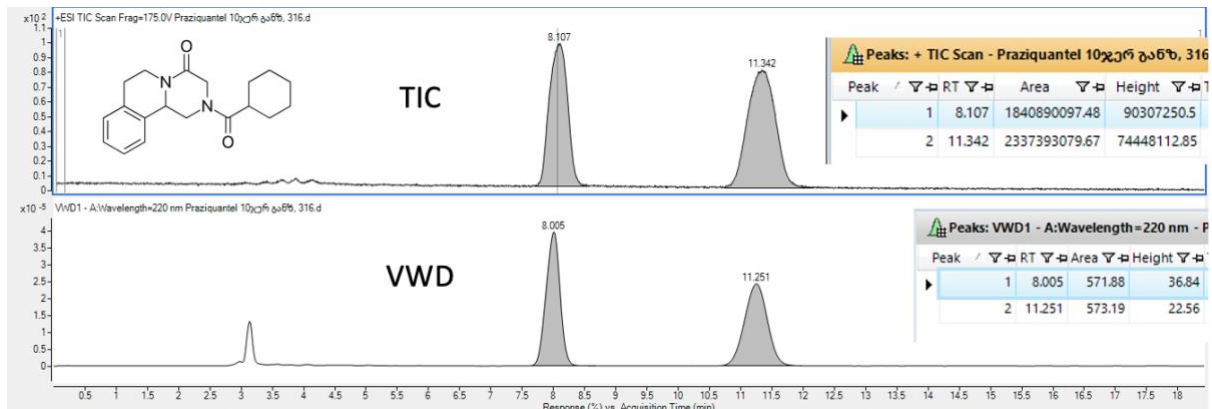
აღსანიშნავია, რომ მოცემულ შემთხვევებში ენანტიომერების პიკების ფართობებს შორის განსხვავება რაცენტში (TIC)-ში სელექტივობის ზრდასთან ერთად იზრდება.

4.8. განზავების გავლენა ენანტიომერების პიკების ფართობებს შორის განსხვავებაზე



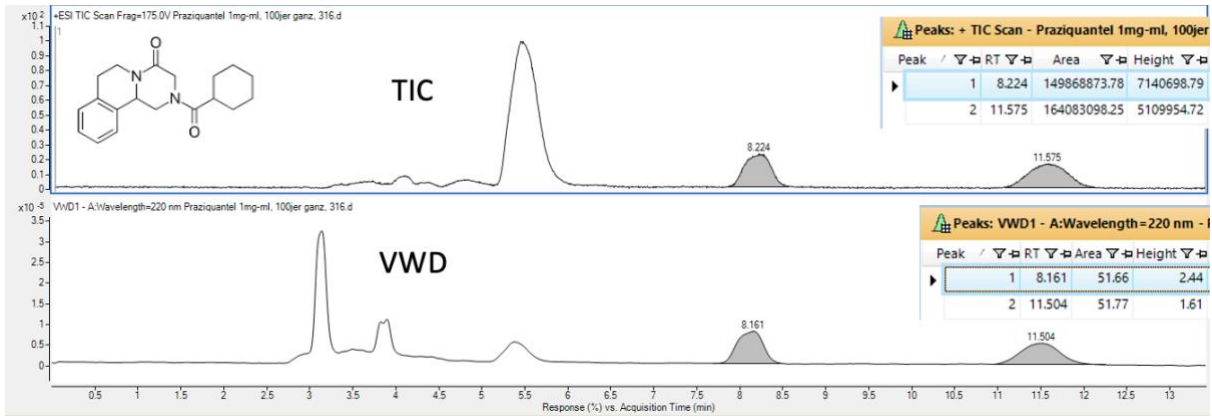
ნახ.10.1. 1მგ/მლ პრაზიქუანტელის ენანტიომერების დაყოფა სილიკაგელზე იმობილიზებული ცელულოზა ტრის(3-ქლორ-5-მეთილფენილკარბამატი)-ს გამოყენებით, მოძრავი ფაზა: მეთანოლი/წყალი - 97/3 (მოცულობითი თანაფარდობით), რომელსაც დამატებული აქვს 5 მილიმოლი ამონიუმის აცეტატი.

სელექტივობა 1.64-ის ტოლია, ხოლო ენანტიომერების პიკების ფართობებს შორის განსხვავება რაცემატში (TIC) –32.8%. პრაზიქუანტელის მოლეკულური მასაა 312.411გ/მოლი.



ნახ.10.2. 0.1მგ/მლ პრაზიქუანტელის ენანტიომერების დაყოფა სილიკაგელზე იმობილიზებული ცელულოზა ტრის(3-ქლორ-5-მეთილფენილკარბამატი)-ს გამოყენებით, მოძრავი ფაზა: მეთანოლი/წყალი - 97/3 (მოცულობითი თანაფარდობით), რომელსაც დამატებული აქვს 5 მილიმოლი ამონიუმის აცეტატი.

სელექტივობა 1.64-ის ტოლია, ხოლო ენანტიომერების პიკების ფართობებს შორის განსხვავება რაცემატში (TIC) –21.2%.



ნახ.10.3. 0.01მგ/მლ პრაზიკუანტელის ენანტიომერების დაყოფა სილიკაგელზე იმობილიზებული ცელულოზა ტრის(3-ქლორ-5-მეთილფენილკარბამატი)-ს გამოყენებით, მოძრავი ფაზა: მეთანოლი/წყალი - 97/3 (მოცულობითი თანაფარდობით), რომელსაც დამატებული აქვს 5 მილი მოლი ამონიუმის აცეტატი.

სელექტივობა 1.64-ის ტოლია, ხოლო ენანტიომერების პიკების ფართობებს შორის განსხვავება რაცემატში (TIC) –8.7%.

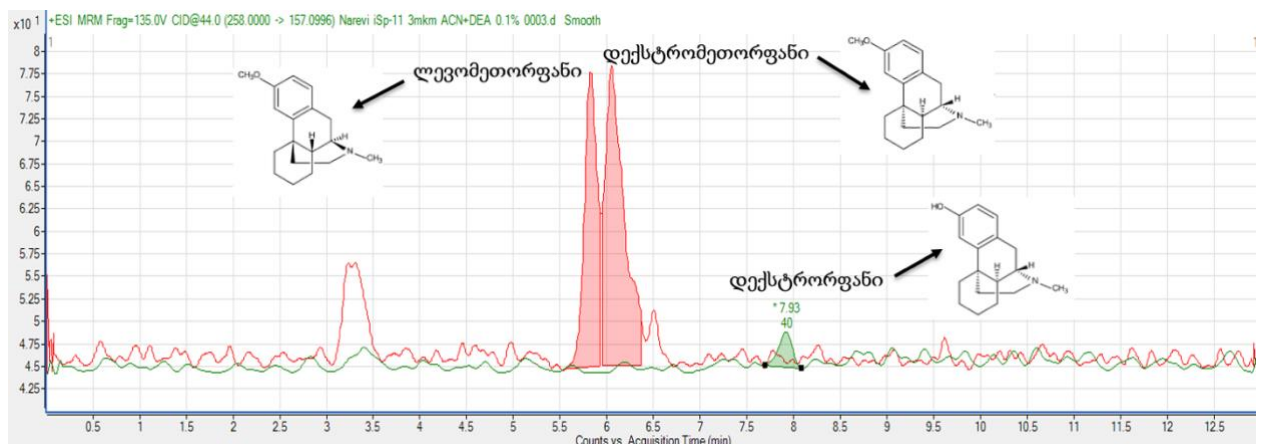
აღსანიშნავია, რომ მოცემულ შემთხვევებში ნიმუშის განზავებისას ენანტიომერების პიკების ფართობებს შორის განსხვავება რაცემატში (TIC)-ში მცირდება.

4.9. ოთხ კომპონენტანი ნარევის დაყოფა მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფია-მას-სპექტრომეტრის გამოყენებით

ოთხ კომპონენტანი ნარევის დასაყოფად შევიმუშავეთ იზოკრატიული, ენანტისელექტიური მეთოდი მაღალეფექტურ სითხურ ქრომატოგრაფია - მას-სპექტრომეტრიაში. ეს მეთოდი საშუალებას გვაძლევს დავყოთ და რაოდენობრივად განვსაზღვროთ დექსტრო- (DXM) და ლევო- მეთორფანი (LVM) და მათი ფარმაკოლოგიურად აქტიური მეტაბოლიტები, დექსტრორფანი და ლევორფანოლი ადამიანის სისხლის ნიმუშებში.

უნდა აღინიშნოს, რომ მეთორფანის ენანტიომერების ფსიქოტროპული ეფექტი და ლეგალური სტატუსი განსხვავებულია, ამიტომ სასიცოცხლოდ მნიშვნელოვანია მისი ენანტიომერების დაყოფა. დექსტრომეთორფანი არის უსაფრთხო პრეპარატი, რომელსაც იყენებენ ხველების საწინააღმდეგოდ (დაბალი დოზებით), მისი მაღალი დოზით მიღება კი იწვევს ჰალუცინაციებს. რაც შეეხება ლევომეთორფანს, ის მორფინზე ძლიერი ნარკოტიკული საშუალებაა.

ექსპერიმენტში საანალიზო ნიმუშს წარმოადგენს შემდეგი ნარევი: ლევომეთორფანი, დექსტრომეთორფანი, დექსტრორფანი და ლევორფანოლ - d₃. აღსანიშნავია, რომ ლევომეთორფანი და დექსტრომეთორფანი არიან ენანტიომერები; დექსტრორფანი და ლევორფანოლ - d₃ კი მათი მეტაბოლიტები. ლევორფანოლ - d₃ გამოვიყენეთ არადეიტერირებული ლევორფანოლის ნაცვლად.



ნახ.11.1. ლევომეთორფანის, დექსტრომეთორფანის, დექსტრორფანის და ლევორფანოლ-d₃-ის 25 ნგ/მლ კონცენტრაციის მქონე ნარევის ენანტიომერების დაყოფა სილიკაგელზე იმობილიზებული ცელულოზა ტრის(3-ქლორ-5-მეთილფენილკარბამატი)-ს და მოძრავ ფაზად აცეტონიტრილის გამოყენებით, რომელსაც დამატებული აქვს 0.1% დიეთილამინი (v/v); ნაკადის სიჩქარე 1 მლ/წთ.

ლევომეთორფანის და დექსტრომეთორფანის ენანტიომერები ნაწილობრივ იყოფა. ლევორფანოლ - d₃ -ს კი საერთოდ ვერ ვხედავთ. აღნიშნულ სვეტზე სასურველი დაყოფა არ გამოვლინდა, რის გამოც აღნიშნულ ექსპერიმენტში, ფუძისეული დაყოფის

მისაღებად, გამოვიყენეთ 10 სხვადასხვა ქირალური სვეტი და ორი სხვადასხვა მოძრავი ფაზა.

ქირალური სვეტი	დაყოფის შედეგები მეთანოლში + 0.1% დიეთილამინი, (v/v)	დაყოფის შედეგები აცეტონიტრილში + 0.1% დიეთილამინი, (v/v)
Lux Cellulose-1	ლევომეთორფანი და დექსტრომეთორფანი არ დაიყო, დექსტრორფანი და ლევორფანოლი ნაწილობრივ დაიყო	დაფიქსირდა ნარევის ოთხივე კომპონენტის თითქმის ფუძისეული დაყოფა
Lux Cellulose-2	ლევომეთორფანი და დექსტრომეთორფანი არ დაიყო, დექსტრორფანი და ლევორფანოლი ნაწილობრივ დაიყო	არ არის შესწავლილი
Lux Cellulose-3	ფუძისეულად დაიყო როგორც ლევომეთორფანი და დექსტრომეთორფანი, აგრეთვე დექსტრორფანი და ლევორფანოლი	ლევომეთორფანი და დექსტრომეთორფანი დაიყო, მაგრამ დექსტრორფანის და ლევორფანოლის დაყოფა არ შეიმჩნევა
Lux Cellulose-4	ელუირდა ორი პიკი, ერთი მეთორფანის, მეორე კი მეტაბოლიტების	არ დაიყო არც ლევომეთორფანი და დექსტრომეთორფანი და არც მეტაბოლიტები
Lux i-Cellulose-5	20 წუთის განმავლობაში არცერთი პიკი არ ელუირდა	დაყოფა არ შეიმჩნევა (მივიღეთ ერთი განიერი პიკი)
Experimental column-1*	ელუირდა ორი პიკი, ერთი მეთორფანის, მეორე კი მეტაბოლიტების	ნაწილობრივ დაიყო ლევომეთორფანი და დექსტრომეთორფანი, აგრეთვე ვხედავთ დექსტრორფანს

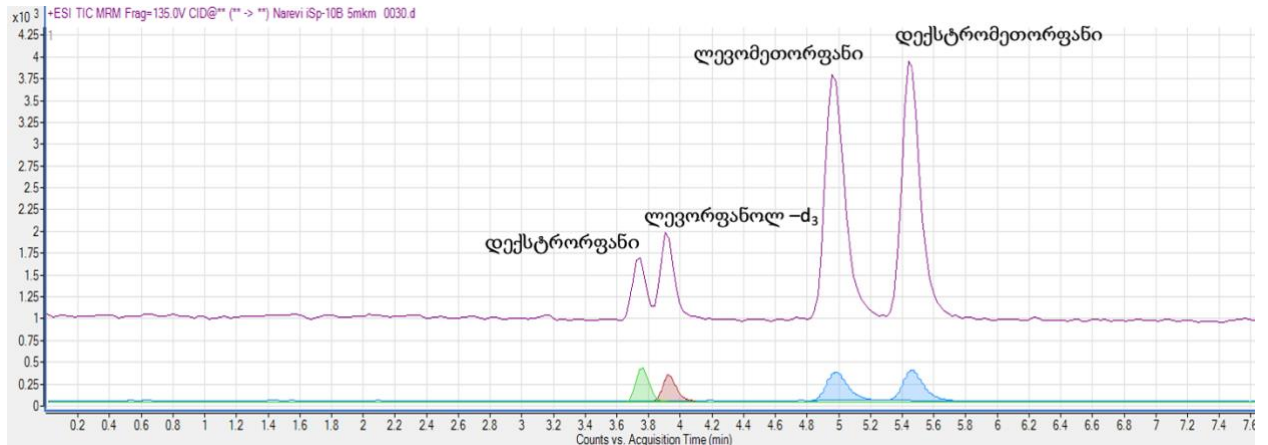
Lux Amylose-1	მოხდა ოთხივე ენანტიომერის ნაწილობრივი დაყოფა	ლევომეთორფანი და დექსტრომეთორფანი ფუძისეულად დაიყო. 15 წუთის განმავლობაში არ მოხდა არც ერთი მეტაბოლიტის დეტექტირება
Lux i-Amylose-1	მოხდა ოთხივე ენანტიომერის ნაწილობრივი დაყოფა	ლევომეთორფანი და დექსტრომეთორფანი ფუძისეულად დაიყო. 20 წუთის განმავლობაში არ მოხდა არც ერთი მეტაბოლიტის დეტექტირება
Lux Amylose-2	ელუირდა ორი პიკი, ერთი მეთორფანის, მეორე კი მეტაბოლიტების	ნაწილობრივ დაიყო როგორც ლევომეთორფანი და დექსტრომეთორფანი, აგრეთვე დექსტრორფანი და ლევორფანოლი (განიერი პიკები მივიღეთ)
Lux i-Amylose-3	ფუძისეულად დაიყო ლევომეთორფანი და დექსტრომეთორფანი, თითქმის ფუძისეულად დაიყო დექსტრორფანი და ლევორფანოლი	ფუძისეულად დაიყო როგორც ლევომეთორფანი და დექსტრომეთორფანი, აგრეთვე დექსტრორფანი და ლევორფანოლი (მეტაბოლიტებისთვის განიერი პიკები მივიღეთ)

* Experimental column-1 = იმობილიზებული ცელულოზა ტრის(3-ქლორ-5-მეთილფენილკარბამატი).

ცხრილი 2. ლევომეთორფანის, დექსტრომეთორფანის, დექსტრორფანის და ლევორფანოლ - d₃-ის 25 ნგ/მლ კონცენტრაციის მქონე ნარევის ენანტიომერების დაყოფის შედეგები.

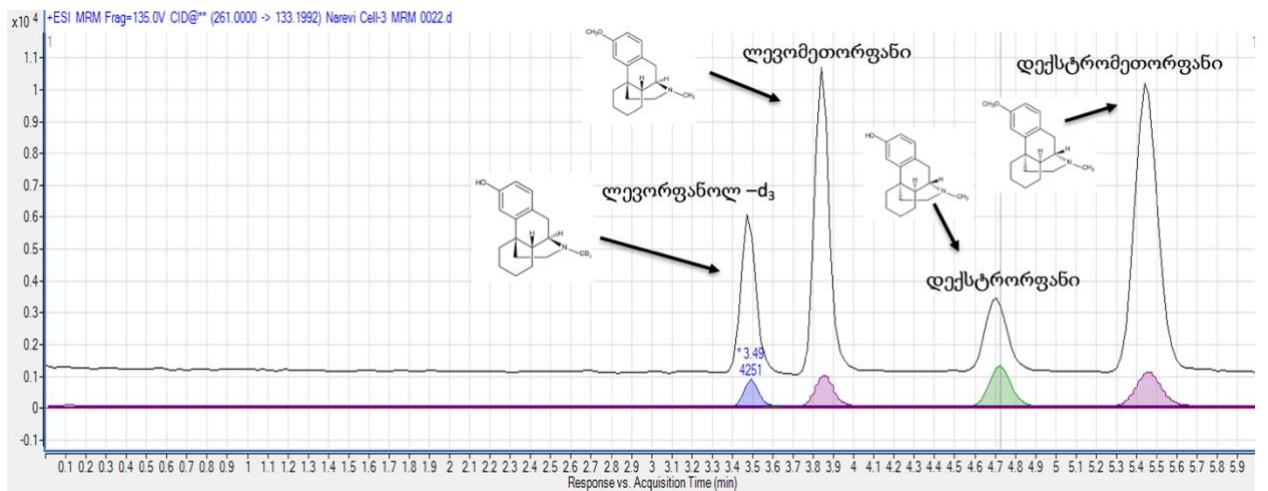
ძალიან კარგი შედეგი მივიღეთ ლუქს იმობილიზებული ამილოზა 3 სვეტის გამოყენებისას, სადაც ფუძისეულად დაიყო ლევომეთორფანი და

დექსტრომეთორფანი, თითქმის ფუძისეულად დაიყო დექსტრორფანი და ლევორფანოლი.



ნახ.11.2. ლევომეთორფანის, დექსტრომეთორფანის, დექსტრორფანის და ლევორფანოლ-d₃-ის 25 ნგ/მლ კონცენტრაციის მქონე ნარევის ენანტიომერების დაყოფა ამილოზა ტრის(3-ქლორ-5-მეთილფენილკარბამატი)-ს და მოძრავ ფაზად მეთანოლის გამოყენებით, რომელსაც დამატებული აქვს 0.1% დიეთილამინი (v/v); ნაკადის სიჩქარე 1 მლ/წთ.

საუკეთესო შედეგი მივიღეთ ლუქს ცელულოზა 3 სვეტის გამოყენებისას, სადაც ენანტიომერების ფუძისეული დაყოფა მიიღწევა 6 წუთში, როგორც მეთორფანის, ასევე მისი მეტაბოლიტებისთვის.



ნახ.11.3. ლევომეთორფანის, დექსტრომეთორფანის, დექსტრორფანის და ლევორფანოლ-d₃-ის 25 ნგ/მლ კონცენტრაციის მქონე ნარევის ენანტიომერების

დაყოფა ცელულოზა ტრის(4-მეთილბენზოატი)-ს და მოძრავ ფაზად მეთანოლის გამოყენებით, რომელსაც დამატებული აქვს 0.1% დიეთილამინი (v/v); ნაკადის სიჩქარე 1 მლ/წთ.

ეს მეთოდი გამოვიყენეთ სიკვდილის შემდგომ აღებული სისხლის ნიმუშების გასაანალიზებლად [110].

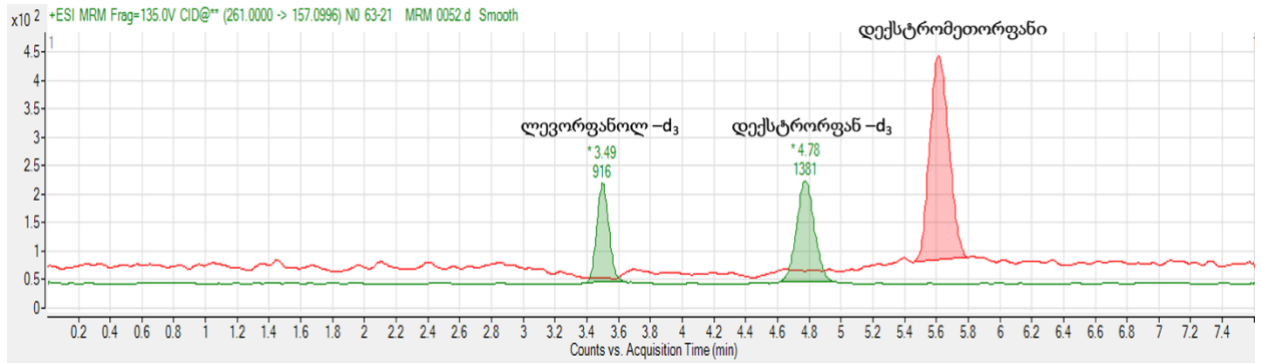
N	დექსტრომეთორფანი (ნგ/მლ)	ლევომეთორფანი (ნგ/მლ)	დექსტრორფანი (ნგ/მლ)	ლევორფანოლი (ნგ/მლ)
1	180	245	<LOD	<LOD
2	360	88	141	210
3	200	64	75	154
4	152	<LOD	<LOD	<LOD
5	1060	<LOD	<LOD	<LOD
6	332	104	<LOD	<LOD
7	176	<LOD	<LOD	<LOD
8	64	<LOD	<LOD	<LOD
9	144	190	75	324
10	224	76	50	241
11	910	288	275	592
12	72	<LOD	<LOD	<LOD
13	128	<LOD	<LOD	<LOD
14	144	<LOD	<LOD	<LOD
15	244	<LOD	<LOD	<LOD
16	132	<LOD	<LOD	<LOD
17	112	<LOD	<LOD	<LOD

ცხრილი 3. სიკვდილის შემდგომ აღებული სისხლის ნიმუშების რაოდენობრივი ანალიზის შედეგები.

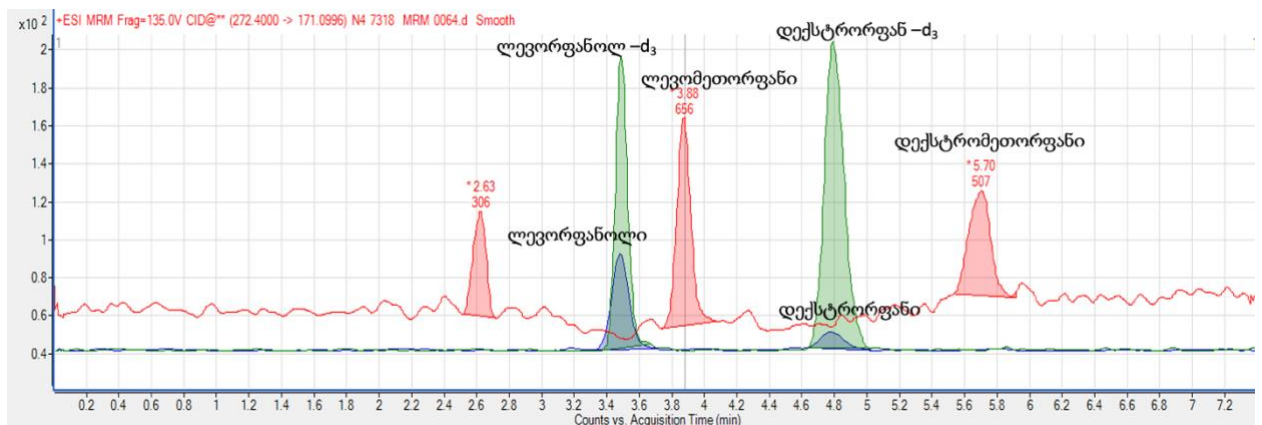
50 გაანალიზებული ნიმუშიდან დექსტრომეთორფანი აღმოჩნდა 17 ნიმუშში. ამ 17 ნიმუშიდან 7 ნიმუშში დექსტრომეთორფანთან ერთად აღმოვაჩინეთ ლევომეთორფანი. ხუთ ნიმუშში კი აღმოჩნდა როგორც, ლევომეთორფანი და დექსტრომეთორფანი, ასევე დექსტრორფანი და ლევორფანოლი. აღნიშნული მეთოდი

შეიძლება გამოყენებულ იქნას, როგორც სასამართლო, ისე კლინიკურ ტოქსიკოლოგიურ ლაბორატორიებში რუტინული ანალიზებისთვის.

ა)



ბ)



ნახ.11.4. სიკვდილის შემდგომი სისხლის ნიმუშების ქრომატოგრამები, რომლებიც შეიცავს ა) მხოლოდ დექსტრომეთორფანს, ბ) დექსტრომეთორფანს, ლევომეთორფანს, დექსტრორფანს და ლევორფანოლს. ანალიზები ჩატარებულია Lux Cellulose 3 ქირალური სვეტის და მოძრავ ფაზად მეთანოლის გამოყენებით, რომელსაც დამატებული აქვს 0.1% დიეთილამინი (v/v); ნაკადის სიჩქარე 1 მლ/წთ.

5. დასკვნები

1. დადგენილია, რომ სილიკაგელზე კოვალენტურად იმობილიზებულმა ქირალურმა სელექტორმა გამოავლინა უპირატესობა სილიკაგელზე დაფენილ ქირალური სელექტორთან შედარებით. ფუძისეულად დაიყო ენანტიომერების დიდი უმეტესობა მოძრავ ფაზად ჰექსანი/იზოპროპანოლის ნარევის და სილიკაგელზე კოვალენტურად იმობილიზებულ ქირალური სელექტორის კომბინაციის პირობებში.
2. შესწავლილია ენანტიომერების დაყოფის პროცესი სხვადასხვა ტემპერატურაზე და გამოთვლილია ენანტიომერების ადსორბციის და დაყოფის პროცესების თერმოდინამიკური პარამეტრები. აღმოჩნდა, რომ ჩატარებულ ექსპერიმენტებში ენთალპიური წევრი ხელს უწყობს დაყოფას, ხოლო ენტროპიული, პირიქით, უარყოფითად მოქმედებს მასზე. შედეგები მიუთითებს, რომ როგორც დაყოფის, ასევე ადსორბციული პროცესი ენთალპიური კონტროლით მიმდინარეობს.
3. დადგენილია, რომ სრული დენის ქრომატოგრამაში ენანტიომერების პიკების ფართობებს შორის განსხვავება რაცემატში სელექტივობის ზრდასთან ერთად იზრდება, ხოლო ნიმუშის განზავებასთან ერთად მცირდება.
4. შემუშავებულია დექსტრომეთორფანის, ლევომეთორფანის და მათი ფარმაკოლოგიურად აქტიური მეტაბოლიტების, დექსტრორფანის და ლევორფანოლის ენანტისელექტიური მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფია ტანდემური მას-სპექტრომეტრიის ანალიზის მეთოდი, რომელიც საშუალებას იძლევა დავყოთ და რაოდენობრივად განვსაზღვროთ ეს ნივთიერებები ადამიანის სისხლის ნიმუშებში.
5. შემუშავებული ახალი მეთოდით პირველად დავაფიქსირეთ და რაოდენობრივად განვსაზღვრეთ დექსტრომეთორფანთან ერთად ლევომეთორფანი სიკვდილის შემდგომ აღებულ სისხლის ნიმუშებში. ადრე, როდესაც მეთორფანის აღმოჩენა ხდებოდა, ყოველთვის ვარაუდობდნენ, რომ ეს იყო დექსტრომეთორფანი.

6. გამოყენებული ლიტერატურა

1. Beesley, T. E., & Scott, R. P. W. (1999). *Chiral Chromatography*. John Wiley & Sons, 506;
2. Eliel, E. L., & Wilen, S. H. (1994). *Stereochemistry of organic compounds*. John Wiley & Sons, 1296;
3. Stevenson, D., & Wilson, I. (2012). *Chiral separations*. Springer Science & Business Media, 219;
4. Nasipuri, D. (1991). *Stereochemistry of organic compounds: Principles and Applications*. John Wiley & Sons, 527;
5. Clayden, J., Greeves, N., & Warren, S. (2012). *Organic chemistry*. Oxford University Press, 1234;
6. Cotton, H. K., Elebring, T., Larsson, M., Li, L., Sørensen, H., & Von Unge, S. (2000). Asymmetric synthesis of esomeprazole. *Tetrahedron-asymmetry*, 11(18), 3819–3825. [https://doi.org/10.1016/s0957-4166\(00\)00352-9](https://doi.org/10.1016/s0957-4166(00)00352-9);
7. Hornback, J. M. (2006). *Organic chemistry*. Thomson, 1334;
8. Flügel, R. M. (2011). *Chirality and life: A Short Introduction to the Early Phases of Chemical Evolution*. Springer Science & Business Media, 99;
9. Sakai, K., Hirayama, N., & Tamura, R. (2007). *Novel Optical resolution Technologies*. Springer Science & Business Media, 327;
10. Jacques, J., Collet, A., & Wilen, S. H. (1981). *Enantiomers, racemates, and resolutions*. John Wiley & Sons, 447;
11. Reddy, I. K., & Mehvar, R. (2004). *Chirality in drug design and development*. CRC Press, 1200;

12. Toyo'oka, T. (2002). Resolution of chiral drugs by liquid chromatography based upon diastereomer formation with chiral derivatization reagents. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*, 54(1–3), 25–56. [https://doi.org/10.1016/s0165-022x\(02\)00127-6](https://doi.org/10.1016/s0165-022x(02)00127-6);
13. Stirling, D.I. (1993). Enzymatic synthesis and resolution of enantiomerically pure compounds. In: *Drug stereochemistry. Analytical methods and pharmacology*. 2nd ed., Wainer IW, editor. Marcel Dekker Publisher, 213-242;
14. McConathy, J. (2003). Stereochemistry in Drug Action, *Prim Care Companion J Clin Psychiatry*, 5(2): 70–73;
15. Ali, I., Gupta, V. K., Aboul-Enein, H. Y., Singh, P., & Sharma, B. K. (2007). Role of racemization in optically active drugs development. *Chirality*, 19(6), 453–463. <https://doi.org/10.1002/chir.20397>;
16. Flack, H. D. (2009). Louis Pasteur's discovery of molecular chirality and spontaneous resolution in 1848, together with a complete review of his crystallographic and chemical work. *Acta Crystallographica Section A: Foundations and Advances*, 65(5), 371–389. <https://doi.org/10.1107/s0108767309024088>;
17. Franks, M., MacPherson, G., & Figg, W. D. (2004). Thalidomide. *The Lancet*, 363(9423), 1802–1811. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(04\)16308-3](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(04)16308-3);
18. Heaton, C. A. (1993). *The chemical industry*. Springer Science & Business Media, 400;
19. Logan, B. K., Goldfogel, G. A., Hamilton, R. S., & Kuhlman, J. J. (2009). Five Deaths Resulting from Abuse of Dextromethorphan Sold Over the Internet. *Journal of Analytical Toxicology*, 33(2), 99–103. <https://doi.org/10.1093/jat/33.2.99>;
20. Rammer, L., Holmgren, P., & Sandler, H. (1988). Fatal intoxication by dextromethorphan: A report on two cases. *Forensic Science International*, 37(4), 233–236. [https://doi.org/10.1016/0379-0738\(88\)90230-7](https://doi.org/10.1016/0379-0738(88)90230-7);

21. Barbera, N., Busardò, F. P., Indorato, F., & Romano, G. (2013). The pathogenetic role of adulterants in 5 cases of drug addicts with a fatal outcome. *Forensic Science International*, 227(1–3), 74–76. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2012.08.041>;
22. Rodrigues, W., Wang, G., Moore, C., Agrawal, A., Vincent, M., & Soares, J. (2008). Development and Validation of ELISA and GC-MS Procedures for the Quantification of Dextromethorphan and its Main Metabolite Dextrorphan in Urine and Oral Fluid. *Journal of Analytical Toxicology*, 32(3), 220–226. <https://doi.org/10.1093/jat/32.3.220>;
23. Constanzer, M., Chavez-Eng, C., Fu, I., Woolf, E., & Matuszewski, B. (2005). Determination of dextromethorphan and its metabolite dextrorphan in human urine using high performance liquid chromatography with atmospheric pressure chemical ionization tandem mass spectrometry: a study of selectivity of a tandem mass spectrometric assay. *Journal of Chromatography B*, 816(1–2), 297–308. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2004.11.049>;
24. Kuhlenbeck, D. L., Eichold, T. H., Hoke, S. H., Baker, A., Mensen, R., & Wehmeyer, K. R. (2005). On-Line Solid Phase Extraction Using the Prospekt-2 Coupled with a Liquid Chromatography/Tandem Mass Spectrometer for the Determination of Dextromethorphan, Dextrorphan and Guaifenesin in Human Plasma. *European Journal of Mass Spectrometry*, 11(2), 199–208. <https://doi.org/10.1255/ejms.737>;
25. Hasegawa, C., Kumazawa, T., Uchigasaki, S., Lee, X., Sato, K., Terada, M., & Kurosaki, K. (2011). Determination of dextromethorphan in human plasma using pipette tip solid-phase extraction and gas chromatography–mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 401(7), 2215–2223. <https://doi.org/10.1007/s00216-011-5324-5>;
26. Aboul-Enein, H. Y., & Ali, I. (2003). *Chiral separations by liquid chromatography and related technologies*. CRC Press, 400;
27. Taylor, D.R., & Maher, K. (1992). Chiral separations by high-performance liquid-chromatography. *J.Chromatogr. Sci.* 30 (3), 67–85;
28. ანდრონიკაშვილი, თ., ამირხანაშვილი, კ., & ბურკიაშვილი ნ. (2009). ქრომატოგრაფიის საწყისები. ბეჭდვითი სიტყვის კომბინატი, 259;

29. Poole, C. F. (2002). *The essence of chromatography*. Elsevier, 936;
30. Meyer, V. R. (2004). *Practical High-Performance Liquid Chromatography*. John Wiley & Sons, 357;
31. Snyder, L. R., Kirkland, J. J., & Dolan J. W. (2010). *Introduction to Modern Liquid Chromatography*. Wiley, 957;
32. Snyder, L. R., Kirkland, J. J., & Glajch, J. L. (1997). *Practical HPLC Method Development*. Wiley-Interscience, 2nd ed., 800;
33. Fanali, S., Haddad, P. R., Poole, C., & Lloyd, D. K. (2013). *Liquid chromatography: Fundamentals and Instrumentation*. Elsevier, 520;
34. Rimmer, C. A. (2005). E. Heftmann: *Chromatography*, 6th edition. Fundamentals and applications of chromatography and related differential migration methods. Part A: Fundamentals and techniques. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 382(7), 1447–1448. <https://doi.org/10.1007/s00216-005-3347-5>;
35. Dolan, J. W., & Snyder L. R. (1989). *Troubleshooting LC Systems*. Humana Press, 515;
36. Ettre, L. S. (2003). M.S. Tswett and the invention of chromatography. *LCGC North America*. Volume 21 Issue 5. 458-467;
37. Ettre, L. S. (2003). M.S. Tswett and the Invention of Chromatography, *LC•GC Europe*, 21:498;
38. Fanali, S., Chankvetadze, B., Haddad, P. R., Poole, C., & Riekkola, M. (2023). *Liquid chromatography: Fundamentals and Instrumentation*. Elsevier, 884;
39. Zhang, Y., Yao, S., Zeng, H., & Song, H. (2010). Chiral separation of pharmaceuticals by high performance liquid chromatography. *Current Pharmaceutical Analysis*, 6(2), 114–130. <https://doi.org/10.2174/157341210791202636>;
40. Toda, F. (2007). *Enantiomer separation: Fundamentals and Practical Methods*. Springer Science & Business Media, 333;

41. Scriba, G. K. E. (2016). Chiral recognition in separation science – an update. *Journal of Chromatography A*, 1467, 56–78. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2016.05.061>;
42. Hanlan, J., Skoog, D. A., & West, D. M. (1973). Principles of instrumental analysis. *Studies in Conservation*, 18(1), 45. <https://doi.org/10.2307/1505543>;
43. Chankvetadze, L., Ghibradze, N., Karchkhadze, M. G., Peng, L., Farkas, T., & Chankvetadze, B. (2011). Enantiomer elution order reversal of fluorenylmethoxycarbonyl-isoleucine in high-performance liquid chromatography by changing the mobile phase temperature and composition. *Journal of Chromatography A*, 1218(37), 6554–6560. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2011.06.068>;
44. Chankvetadze, B. (2020). Recent trends in preparation, investigation and application of polysaccharide-based chiral stationary phases for separation of enantiomers in high-performance liquid chromatography. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 122, 115709. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.115709>;
45. Peluso, P., & Chankvetadze, B. (2022). Recognition in the domain of molecular chirality: from noncovalent interactions to separation of enantiomers. *Chemical Reviews*, 122(16), 13235–13400. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.1c00846>;
46. Peluso P., & Chankvetadze B. (2023) Fundamentals of enantioselective liquid chromatography. In: Fanali S, Chankvetadze B, Haddad PR, Poole CF, Riekkola M-L (editors), *Liquid Chromatography, volume 1: Fundamentals and Instrumentation*, 3rd edn. Elsevier, Chapter 16:383–440;
47. Okamoto, Y., Kawashima, M., & Hatada, K. (1984). 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*, 106(18), 5357–5359. <https://doi.org/10.1021/ja00330a057>;
48. Chankvetadze, B., Yashima, E., & Okamoto, Y. (1994). Chloromethylphenylcarbamate derivatives of cellulose as chiral stationary phases for high-performance liquid

chromatography. *Journal of Chromatography A*, 670(1–2), 39–49.
[https://doi.org/10.1016/0021-9673\(94\)80278-5](https://doi.org/10.1016/0021-9673(94)80278-5);

49. Chankvetadze, B., Yashima, E., & Okamoto, Y. (1995). Dimethyl-, dichloro- and chloromethylphenylcarbamates of amylose as chiral stationary phases for high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 694(1), 101–109.
[https://doi.org/10.1016/0021-9673\(94\)00729-s](https://doi.org/10.1016/0021-9673(94)00729-s);

50. Shen, J., & Okamoto, Y. (2015). Efficient separation of enantiomers using stereoregular chiral polymers. *Chemical Reviews*, 116(3), 1094–1138.
<https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.5b00317>;

51. Chankvetadze, B. (2012). Recent developments on polysaccharide-based chiral stationary phases for liquid-phase separation of enantiomers. *Journal of Chromatography A*, 1269, 26–51.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2012.10.033>;

52. Chankvetadze, B., Yashima, E., & Okamoto, Y. (1993). Tris(chloro- and methyl-disubstituted phenylcarbamate)s of Cellulose as Chiral Stationary Phases for Chromatographic Enantioseparation. *Chemistry Letters*, 22(4), 617–620. <https://doi.org/10.1246/cl.1993.617>;

53. Chankvetadze, B., Chankvetadze, L., Sidamonidze, S., Kasashima, E., Yashima, E., & Okamoto, Y. (1997). 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*, 787(1–2), 67–77.
[https://doi.org/10.1016/s0021-9673\(97\)00648-1](https://doi.org/10.1016/s0021-9673(97)00648-1);

54. Chankvetadze, B. (2022). Our research co-operation with Professor Yoshio Okamoto. *Chirality*, 34:630–645;

55. Yamamoto, C., & Okamoto, Y. (2004). Optically active polymers for chiral separation. *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, 77(2), 227–257. <https://doi.org/10.1246/bcsj.77.227>;

56. Ma, S., Tsui, H., Spinelli, E., Busacca, C. A., Franses, E. I., Wang, N. L., Wu, L., Lee, H., Senanayake, C. H., Yee, N. K., Gonella, N., Fandrick, K. R., & Grinberg, N. (2014). Insights into chromatographic enantiomeric separation of allenes on cellulose carbamate stationary

- phase. *Journal of Chromatography A*, 1362, 119–128.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2014.08.032>;
57. Evertsson, E., Rönnberg, J., Stålring, J., & Thunberg, L. (2017). A hierarchical screening approach to enantiomeric separation. *Chirality*, 29(5), 202–212.
<https://doi.org/10.1002/chir.22694>;
58. De Klerck, K., Heyden, Y. V., & Mangelings, D. (2014). Exploratory data analysis as a tool for similarity assessment and clustering of chiral polysaccharide-based systems used to separate pharmaceuticals in supercritical fluid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1326, 110–124. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2013.12.052>;
59. Okamoto, Y., Kawashima, M., & Hatada, K. (1986). Controlled chiral recognition of cellulose triphenylcarbamate derivatives as stationary phases for HPLC, *J. Chromatogr.* 363, 173-186;
60. Chankvetadze, B., Yashima, E., & Okamoto, Y. (1994). Chloromethylphenylcarbamate derivatives of cellulose as chiral stationary phases for high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 670(1–2), 39–49.
[https://doi.org/10.1016/0021-9673\(94\)80278-5](https://doi.org/10.1016/0021-9673(94)80278-5);
61. Chankvetadze, B., Yashima, E., & Okamoto, Y. (1995). Dimethyl-, dichloro- and chloromethylphenylcarbamates of amylose as chiral stationary phases for high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 694(1), 101–109.
[https://doi.org/10.1016/0021-9673\(94\)00729-s](https://doi.org/10.1016/0021-9673(94)00729-s);
62. Chankvetadze, B., Chankvetadze, L., Sidamonidze, S., Kasashima, E., Yashima, E., & Okamoto, Y. (1997). 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*, 787(1–2), 67–77.
[https://doi.org/10.1016/s0021-9673\(97\)00648-1](https://doi.org/10.1016/s0021-9673(97)00648-1);
63. Atkins, P., & De Paula, J. (2010). *Atkins' physical chemistry*. Oxford University Press, 1053;

64. Koppenhoefer, B., & Bayer, E. (1984). Chiral recognition in the resolution of enantiomers by GLC. *Chromatographia*, 19(1), 123–130. <https://doi.org/10.1007/bf02687727>;
65. Watabe, K., Charles, R., & Gil-Av, E. (1989). Temperature dependent inversion of elution sequence in the resolution of α -amino acid enantiomers on chiral diamide selectors. *Angewandte Chemie International Edition*, 28(2), 192–194. <https://doi.org/10.1002/anie.198901921>;
66. Schurig, V., Ossig, J., & Link, R. (1989). Evidence for a temperature dependent reversal of the enantioselectivity in complexation gas chromatography on chiral phases. *Angewandte Chemie*, 28(2), 194–196. <https://doi.org/10.1002/anie.198901941>;
67. König, W. A., Icheln, D., Runge, T. M., Pfaffenberger, B., Ludwig, P., & Hühnerfuß, H. (1991). Gas chromatographic enantiomer separation of agrochemicals using modified cyclodextrins. *Hrc-journal of High Resolution Chromatography*, 14(8), 530–536. <https://doi.org/10.1002/jhrc.1240140804>;
68. Fulde, K., & Frahm, A. W. (1999). Temperature-induced inversion of elution order in the enantioseparation of sotalol on a cellobiohydrolase I-based stationary phase. *Journal of Chromatography A*, 858(1), 33–43. [https://doi.org/10.1016/s0021-9673\(99\)00798-0](https://doi.org/10.1016/s0021-9673(99)00798-0);
69. Balmér, K., Lagerström, P., Persson, B., & Schill, G. (1992). Reversed retention order and other stereoselective effects in the separation of amino alcohols on Chiralcel OD. *Journal of Chromatography A*, 592(1–2), 331–337. [https://doi.org/10.1016/0021-9673\(92\)85104-2](https://doi.org/10.1016/0021-9673(92)85104-2);
70. Pirkle, W. H., & Murray, P. G. (1993). An instance of temperature-dependent elution order of enantiomers from a chiral brush-type HPLC column. *Hrc-journal of High Resolution Chromatography*, 16(5), 285–288. <https://doi.org/10.1002/jhrc.1240160505>;
71. Fornstedt, T., Sajonz, P., & Guiochon, G. (1997). Thermodynamic study of an unusual chiral separation. propranolol enantiomers on an immobilized cellulase. *Journal of the American Chemical Society*, 119(6), 1254–1264. <https://doi.org/10.1021/ja9631458>;
72. Chankvetadze, L., Ghibradze, N., Karchkhadze, M. G., Peng, L., Farkas, T., & Chankvetadze, B. (2011). Enantiomer elution order reversal of fluorenylmethoxycarbonyl-

isoleucine in high-performance liquid chromatography by changing the mobile phase temperature and composition. *Journal of Chromatography A*, 1218(37), 6554–6560. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2011.06.068>;

73. Aranyi, A., Ilisz, I., Pataj, Z., Szatmári, I., Fülöp, F., & Péter, A. (2011). High-performance liquid chromatographic enantioseparation of 1-(phenylethylamino)- or 1-(naphthylethylamino)methyl-2-naphthol analogs and a temperature-induced inversion of the elution sequence on polysaccharide-based chiral stationary phases. *Journal of Chromatography A*, 1218(30), 4869–4876. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2011.01.027>;

74. Asnin, L. D., & Stepanova, M. V. (2018). Van't Hoff analysis in chiral chromatography. *Journal of Separation Science*, 41(6), 1319–1337. <https://doi.org/10.1002/jssc.201701264>;

75. Maisuradze, M., Sheklashvili, G., Chokheli, A., Matarashvili, I., Gogatishvili, T., Farkas, T., & Chankvetadze, B. (2019). Chromatographic and thermodynamic comparison of amylose tris(3-chloro-5-methylphenylcarbamate) coated or covalently immobilized on silica in high-performance liquid chromatographic separation of the enantiomers of select chiral weak acids. *Journal of Chromatography A*, 1602, 228–236. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2019.05.026>;

76. Matarashvili, I., Kobidze, G., Chelidze, A., Dolidze, G., Beridze, N., Jibuti, G., Farkas, T., & Chankvetadze, B. (2019). The effect of temperature on the separation of enantiomers with coated and covalently immobilized polysaccharide-based chiral stationary phases. *Journal of Chromatography A*, 1599, 172–179. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2019.04.024>;

77. Peluso, P., & Chankvetadze, B. (2022). Recognition in the domain of molecular chirality: from noncovalent interactions to separation of enantiomers. *Chemical Reviews*, 122(16), 13235–13400. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.1c00846>;

78. Sepsey, A., Horváth, É., Catani, M., & Felinger, A. (2020). The correctness of van 't Hoff plots in chiral and achiral chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1611, 460594. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2019.460594>;

79. ლომსაძე, ქ. (2015). მას-სპექტრომეტრია. თსუ გამ-ბა, 448;

80. Cole, R. B. (1997). Electrospray ionization mass spectrometry: fundamentals, instrumentation, and applications, Issue 1, 577. <https://ci.nii.ac.jp/ncid/BA31662069>;
81. Williams, D. H., & Fleming, I. (2007). Spectroscopic methods in organic chemistry. McGraw-Hill, 304;
82. Kraj, A., Desiderio, D. M., & Nibbering, N. M. (2008). Mass spectrometry: Instrumentation, Interpretation, and Applications. John Wiley & Sons, 400;
83. Dass, C. (2006). Fundamentals of Contemporary Mass Spectrometry. John Wiley & Sons, 585;
84. Domin, M., & Cody, R. (2014). Ambient ionization mass spectrometry. Royal Society of Chemistry, 508;
85. Thomson, B. A. (1998). Atmospheric pressure ionization and liquid chromatography/mass spectrometry—together at last. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, 9(3), 187–193. [https://doi.org/10.1016/s1044-0305\(97\)00285-7](https://doi.org/10.1016/s1044-0305(97)00285-7);
86. De Hoffman, E., Charette, J., & Stroobant, V. (1997). Mass spectrometry principles and applications. John Wiley, 352;
87. Hoja, H., Marquet, P., Verneuil, B., Lotfi, H., Pénicaut, B., & Lachâtre, G. (1997). Applications of Liquid Chromatography-Mass Spectrometry in Analytical Toxicology: A review. *Journal of Analytical Toxicology*, 21(2), 116–126. <https://doi.org/10.1093/jat/21.2.116>;
88. Lo Faro, A. F., Berardinelli, D., Sprega, G., Tini, A., Carlier, J., Farkas, T., Busardò, F. P., & Chankvetadze, B. (2023). Development of an enantioselective high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for the quantitative determination of methorphan and its O-demethylated metabolite in human blood and its application to post-mortem samples. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 230, 115384. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2023.115384>;

89. Amaratunga, P., Clothier, M. M., Lemberg, B. L., & Lemberg, D. (2016). Determination of dextromethorphan in oral fluid by LC–MS-MS. *Journal of Analytical Toxicology*, 40(5), 360–366. <https://doi.org/10.1093/jat/bkw033>;
90. Seba, K. S., Cattani, V. B., Gonçalves, J. C. S., Vianna-Jorge, R., & De Cássia Elias Estrela, R. (2019). A novel and simple LC–MS/MS quantitative method for dextromethorphan and dextrorphan in oral fluid. *Bioanalysis*, 11(10), 913–922. <https://doi.org/10.4155/bio-2018-0323>;
91. Lo Faro, A. F., Sprega, G., Berardinelli, D., Tini, A., Poyatos, L., Pichini, S., Farré, M., Farkas, T., Busardò, F. P., Giunashvili, L., & Chankvetadze, B. (2023). Development of enantioselective high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for quantitative determination of methylone and some of its metabolites in oral fluid. *Journal of Chromatography B*, 1228, 123824. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2023.123824>;
92. Dextromethorphan hydrobromide, *The European Pharmacopoeia- Ninth Edition*, 2016, 2233;
93. Kyriakou, C., Pellegrini, M., García-Algar, Ó., Marinelli, E., & Zaami, S. (2017). Recent trends in analytical methods to determine new psychoactive substances in hair. *Current Neuropharmacology*, 15(5). <https://doi.org/10.2174/1570159x15666161111112545>
94. Tedesco, D., Di Pietra, A. M., Rossi, F., Garagnani, M., Del Borrello, E., Bertucci, C., & Andrisano, V. (2013). Determination of dextromethorphan and levomethorphan in seized heroin samples by enantioselective HPLC and electronic CD. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 81–82, 76–79. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2013.03.024>;
95. Kikura-Hanajiri, R., Kawamura, M., Miyajima, A., Sunouchi, M., & Goda, Y. (2011). Chiral analyses of dextromethorphan/levomethorphan and their metabolites in rat and human samples using LC-MS/MS. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 400(1), 165–174. <https://doi.org/10.1007/s00216-011-4707-y>;
96. Lin, S. Y., Chen, C. H., Ho, H. O., Chen, H. H., & Sheu, M. T. (2007). Simultaneous analysis of dextromethorphan and its three metabolites in human plasma using an improved HPLC

method with fluorometric detection. *Journal of Chromatography B*, 859(1), 141–146. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2007.09.017>;

97. Pihlainen, K., & Kostianen, R. (2004). Effect of the eluent on enantiomer separation of controlled drugs by liquid chromatography–ultraviolet absorbance detection–electrospray ionisation tandem mass spectrometry using vancomycin and native β -cyclodextrin chiral stationary phases. *Journal of Chromatography A*, 1033(1), 91–99. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2003.12.073>;

98. Kim, S. C., Chung, H., Lee, S. K., Park, Y. H., Yoo, Y. C., & Yun, Y. (2006). Simultaneous analysis of d-3-methoxy-17-methylmorphinan and l-3-methoxy-17-methylmorphinan by high pressure liquid chromatography equipped with PDA. *Forensic Science International*, 161(2–3), 185–188. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2006.05.045>;

99. Krait, S., Heuermann, M., & Scriba, G. K. E. (2018). Development of a capillary electrophoresis method for the determination of the chiral purity of dextromethorphan by a dual selector system using quality by design methodology. *Journal of Separation Science*, 41(6), 1405–1413. <https://doi.org/10.1002/jssc.201701166>;

100. Koo, C., Cox, M., Klass, G., & Johnston, M. R. (2012). Stereochemical analysis of methorphan using (–)-Menthyl chloroformate. *Journal of Forensic Sciences*, 57(6), 1549–1555. <https://doi.org/10.1111/j.1556-4029.2012.02162.x>;

101. Aumatell, A., & Wells, R. J. (1993). Chiral differentiation of the optical isomers of racemethorphan and racemorphan in urine by capillary zone electrophoresis. *Journal of Chromatographic Science*, 31(12), 502–508. <https://doi.org/10.1093/chromsci/31.12.502>;

102. Ban, E., Choi, S., Lee, J. A., Lho, D., & Yoo, Y. S. (1999). Cyclodextrin-mediated micellar electrokinetic chromatography and matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry for the enantiomer separation of racemorphan in human urine. *Journal of Chromatography A*, 853(1–2), 439–447. [https://doi.org/10.1016/s0021-9673\(99\)00551-8](https://doi.org/10.1016/s0021-9673(99)00551-8);

103. Snow, L., & Afaq, W. (2019). Chiral separation of Dextromethorphan and Levomethorphan using a Lux® _AMP Chiral LC Column, <www.phenomenex.com> ;

104. Ji, J., Zhao, J., Xiang, P., Yan, H., & Shen, M. (2022). Chiral analysis of dextromethorphan and levomethorphan in human hair by liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Forensic Toxicology*, 40(2), 312–321. <https://doi.org/10.1007/s11419-022-00620-2>;
105. Nelander, H., Andersson, S., & Öhlén, K. (2011). Evaluation of the chiral recognition properties as well as the column performance of four chiral stationary phases based on cellulose (3,5-dimethylphenylcarbamate) by parallel HPLC and SFC. *Journal of Chromatography A*, 1218(52), 9397–9405. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2011.10.082>;
106. Masiá, A. R., Suárez-Varela, M. M., Llopis-González, A., & Picó, Y. (2016). Determination of pesticides and veterinary drug residues in food by liquid chromatography-mass spectrometry: A review. *Analytica Chimica Acta*, 936, 40–61. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2016.07.023>;
107. Krueve, A., Künnapas, A., Herodes, K., & Leito, I. (2008). Matrix effects in pesticide multi-residue analysis by liquid chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1187(1–2), 58–66. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2008.01.077>;

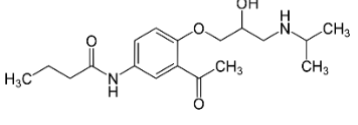
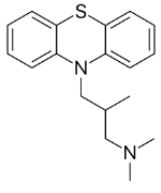
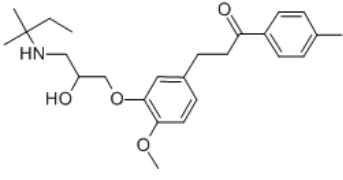
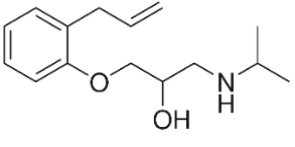
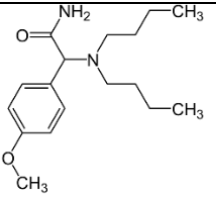
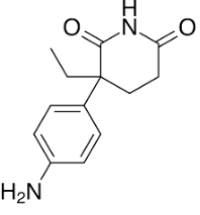
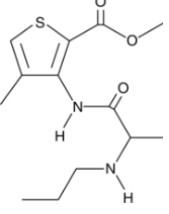
სადისერტაციო ნაშრომის ფარგლებში გამოქვეყნებული პუბლიკაციები:

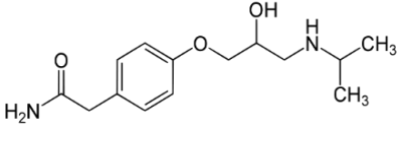
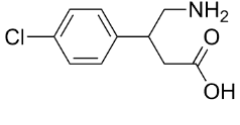
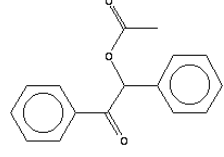
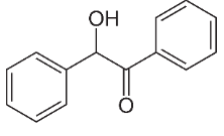
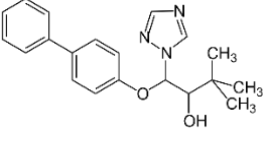
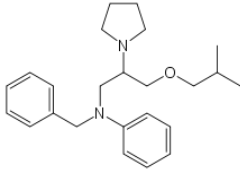
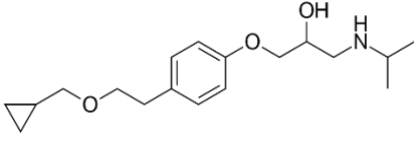
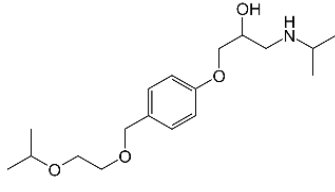
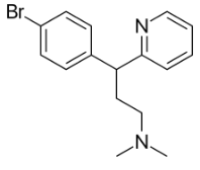
108. Khatiashvili, T., Matarashvili, I., Karchkhadze, M. G., Farkas, T., & Chankvetadze, B. (2023). Comparative study of cellulose tris(3-chloro-5-methylphenylcarbamate) coated or covalently immobilized on silica for the separation of enantiomers in High-Performance Liquid Chromatography. *Chromatographia*. <https://doi.org/10.1007/s10337-023-04295-8>;
109. Khatiashvili, T., & Chankvetadze, B. (2023). The Effect of Temperature on the High-Performance Liquid Chromatographic Separation of Enantiomers on Covalently Immobilized Polysaccharide-Based Chiral Stationary Phase, *Bull. Georg. Natl. Acad. Sci.*, vol. 17, no. 3, 38-43;
110. Jorbenadze, S., Khatiashvili, T., Chelidze, A., Lo Faro, A. F., Farkas, T., Tini, A., Sprega, G., Berardinelli, D., Busardò, F. P., & Chankvetadze, B. (2024). Development of a novel enantioselective high-performance liquid chromatography-mass spectrometry method for the differentiation of dextro- and levo-methorphan and their O-demethylated metabolites in human blood and its application to post-mortem samples. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 237, 115769. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2023.115769>.

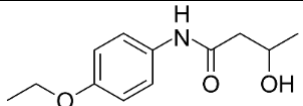
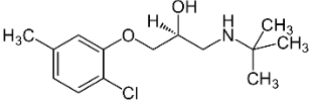
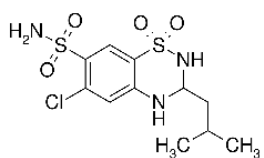
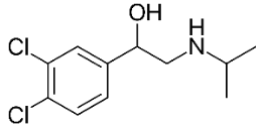
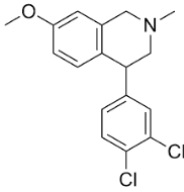
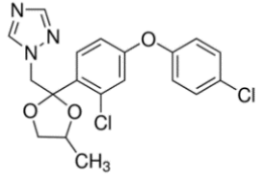
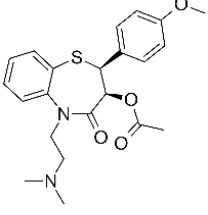
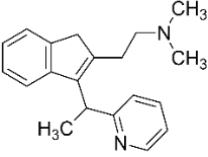
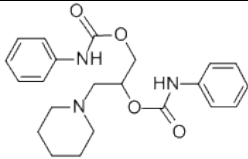
დანართი 1.

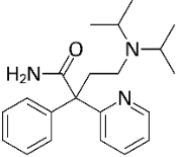
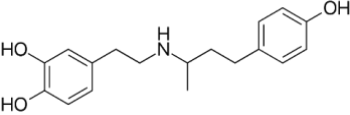
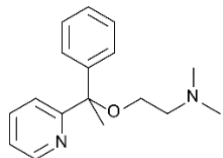
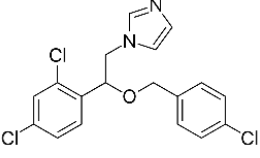
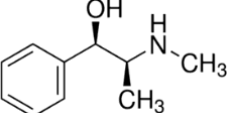
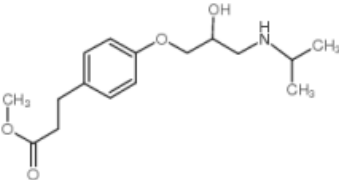
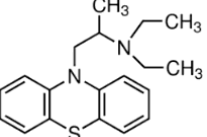
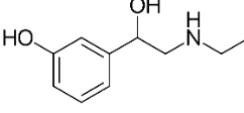
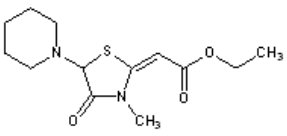
საკვლევი ნივთიერებების სტრუქტურული ფორმულები

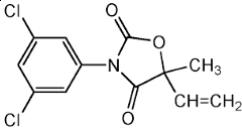
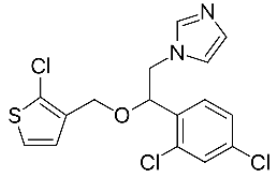
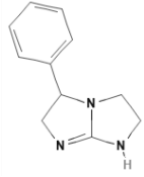
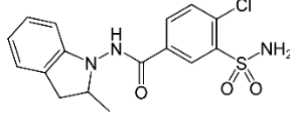
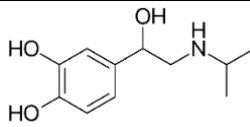
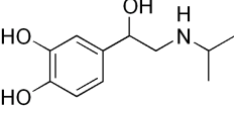
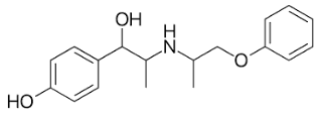
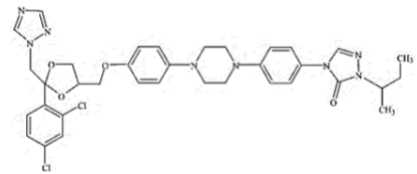
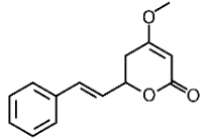
ფუძე ბუნების ნივთიერებები

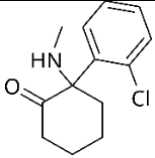
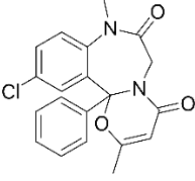
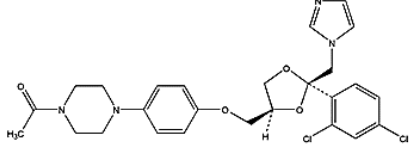
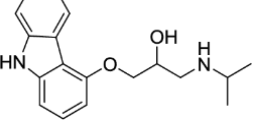
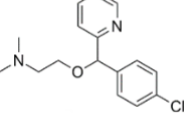
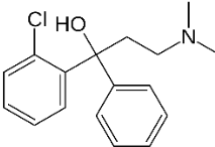
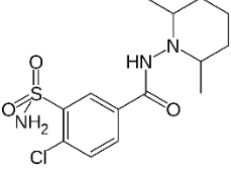
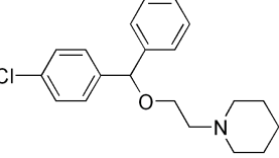
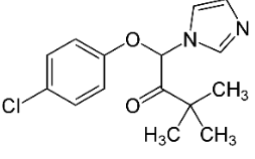
N	ნივთიერების დასახელება	სტრუქტურული ფორმულა
1	აცებუტოლოლი	
2	ალიმემაზინი	
3	ალპრაფენონი	
4	ალპრენოლოლი	
5	ამბუცეტამიდი	
6	ამინოგლუთეთიმიდი	
7	არტიკანი	

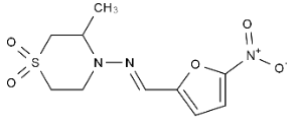
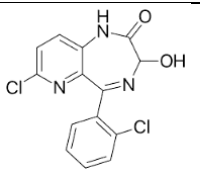
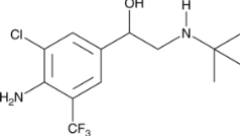
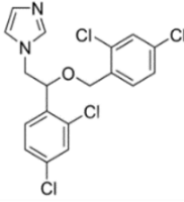
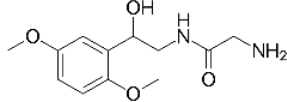
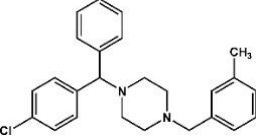
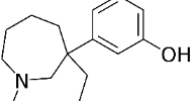
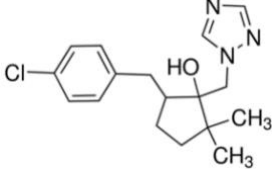
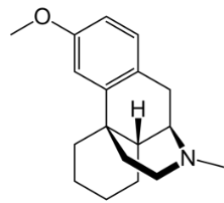
8	ატენოლოლი	
9	ბაკლოფენი	
10	ბენზონის აცეტატი	
11	ბენზონი	
12	ბიტერტანოლი	
13	ბეპრიდილი	
14	ბეტაქსოლოლი	
15	ბისოპროლოლი	
16	ბრომფენირამინი	

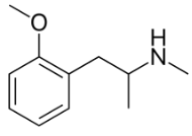
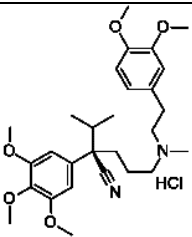
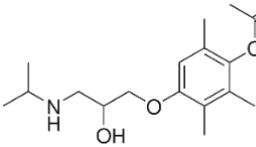
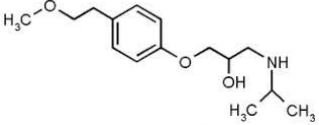
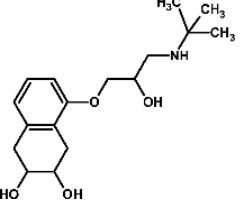
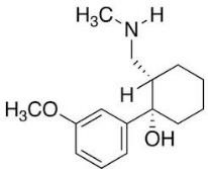
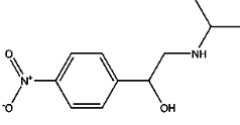
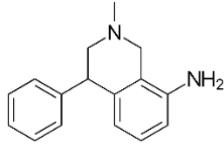
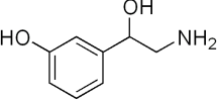
17	ბუცეტინი	
18	ბუპრანოლოლი	
19	ბუთიზიდი	
20	დიქლორიზოპრენალინი	
21	დიკლოფენსინი	
22	დიფენოკონაზოლი	
23	დილთიაზემი	
24	დიმეთინდენი	
25	დიპეროდონი	

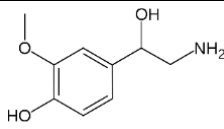
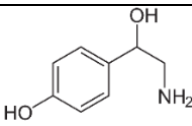
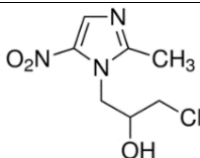
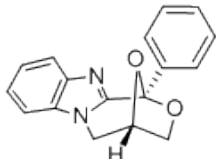
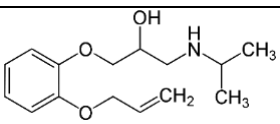
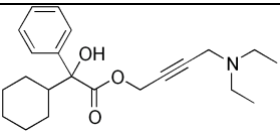
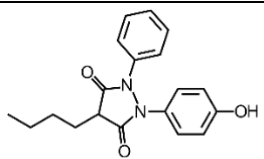
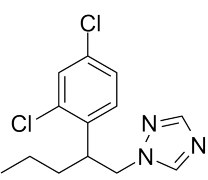
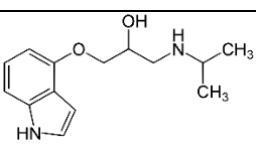
26	დიზოპირამიდი	
27	დობუტამინი	
28	დოქსილამინი	
29	ეკონაზოლი	
30	ეფედრინი	
31	ესმოლოლი	
32	ეთოპრომაზინი	
33	ეთილეფრინი	
34	ეთოზოლინი	

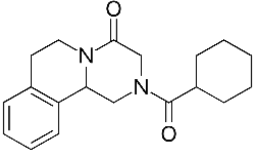
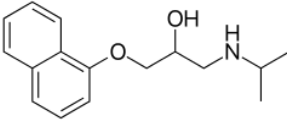
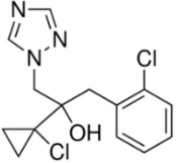
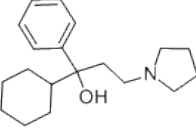
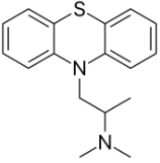
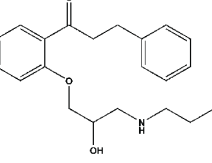
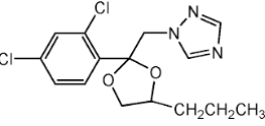
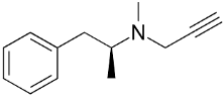
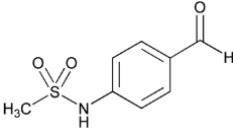
35	ვინკლოზოლინი	
36	თიოკონაზოლი	
37	იმაფენი	
38	ინდაპამიდი	
39	იზოპრენალინი	
40	იზოპროტერენოლი	
41	იზოქსუპრინი	
42	იტრაკონაზოლი	
43	კავაინი	

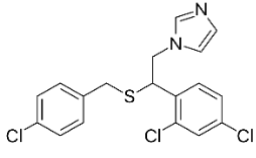
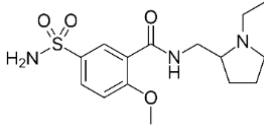
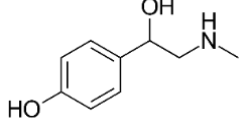
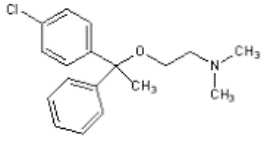
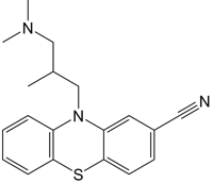
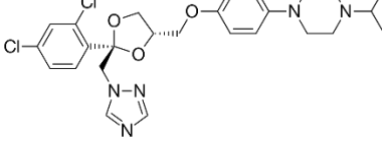
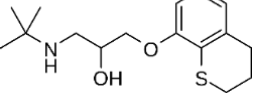
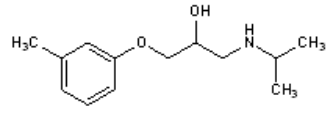
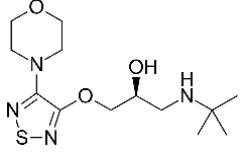
44	კეტამინი	
45	კეტაზოლამი	
46	კეტოკონაზოლი	
47	კარაზოლოლი	
48	კარბინოქსამინი	
49	კლოფედანოლი	
50	კლოპამიდი	
51	კლოპერასტინი	
52	კლიმბაზოლი	

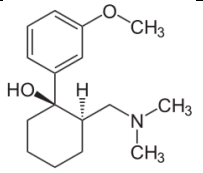
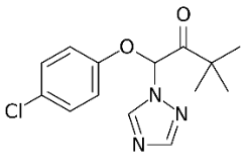
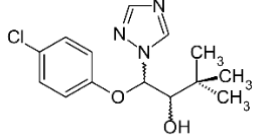
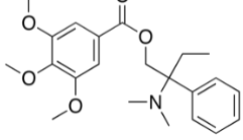
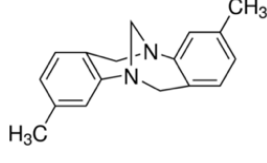
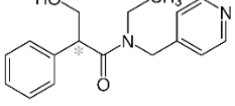
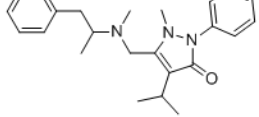
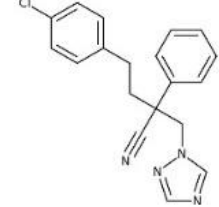
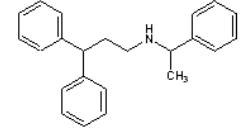
53	ლამპიტი	
54	ლოპირაზეპამი	
55	მაბუტეროლი	
56	მიკონაზოლი	
57	მიდოდრინი	
58	მეკლიზინი	
59	მეპტაზინოლი	
60	მეტკონაზოლი	
61	მეთორფანი	

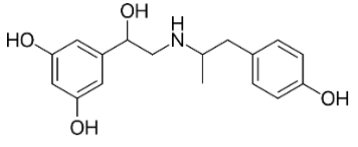
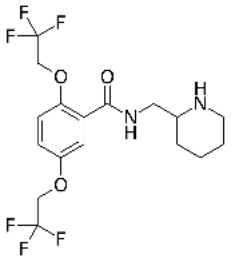
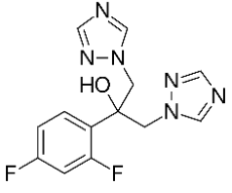
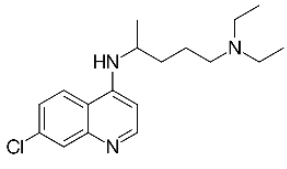
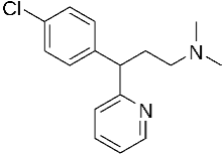
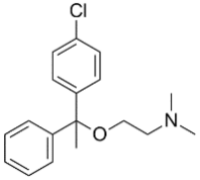
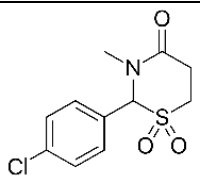
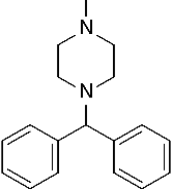
62	მეთოქსიფენამინი	
63	მეთოქსივერაპამილი	
64	მეთიპრანოლოლი	
65	მეტოპროლოლი	
66	ნადოლოლი	
67	ნ-დესმეთილ ტრამადოლი	
68	ნიფენალოლი	
69	ნომიფენსინი	
70	ნორფენეფრინი	

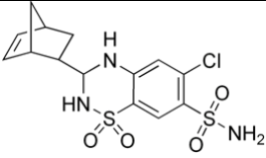
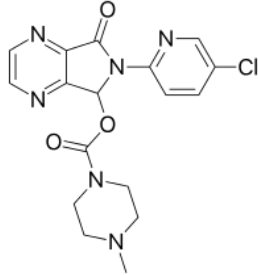
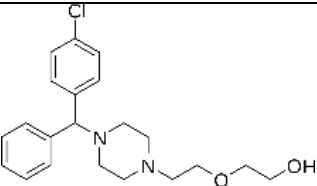
71	ნორმეტანეფრინი	
72	ოქტოპამინი	
73	ორნიდაზოლი	
74	ოქსაპადოლი	
75	ოქსპრენოლოლი	
76	ოქსიბუტინი	
77	ოქსიფენბუტანოლი	
78	პენკონაზოლი	
79	პროპრანოლოლი	

80	პროთიკონაზოლი	
81	პინდოლოლი	
82	პრაზიქუანტელი	
83	პროციკლიდინი	
84	პრომეტაზინი	
85	პროპაფენონი	
86	პროპიკონაზოლი	
87	სელიგილინი	
88	სოტალოლი	

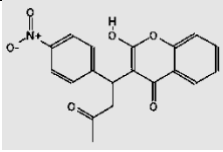
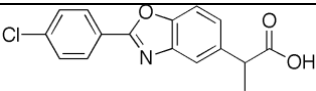
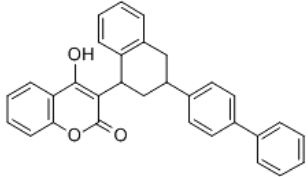
89	სულკონაზოლი	
90	სულპირიდი	
91	სინეფრინი	
92	სისტრალი	
93	ცამემაზინი	
94	ტერკონაზოლი	
95	ტერტატოლოლი	
96	ტოლიპროლოლი	
97	თიმოლოლი	

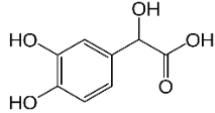
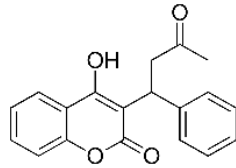
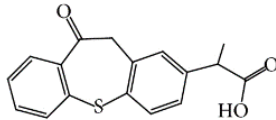
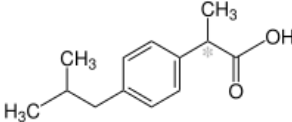
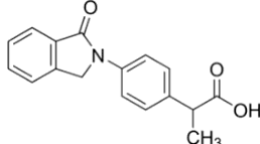
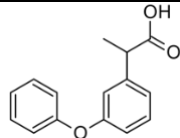
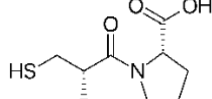
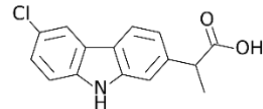
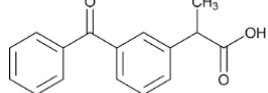
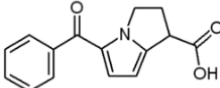
98	ტრამადოლი	
99	ტრიადიმეფონი	
100	ტრიადიმენოლი	
101	ტრიმეზუტინი	
102	ტროგერის ფუძე	
103	ტროპიკამიდი	
104	ფამპროფაზონი	
105	ფენბუნკონაზოლი	
106	ფენდილინი	

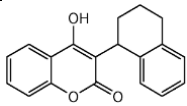
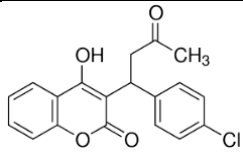
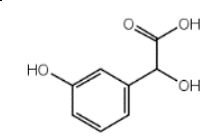
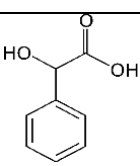
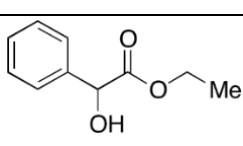
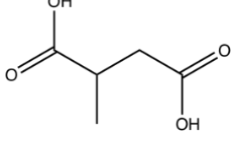
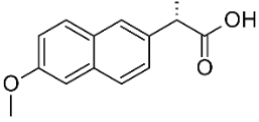
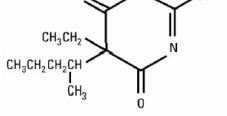
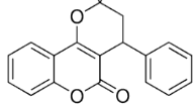
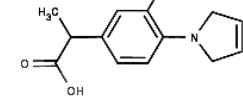
107	ფენოტეროლი	
108	ფლეკანიდი	
109	ფლუკონაზოლი	
110	ქლოროქვინი	
111	ქლორფენირამინი	
112	ქლორფენოქსამინი	
113	ქლორმეზაზონი	
114	ციკლიზინი	

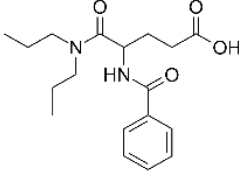
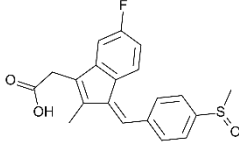
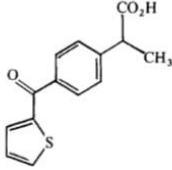
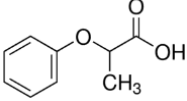
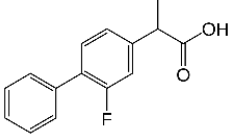
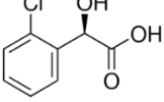
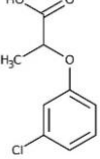
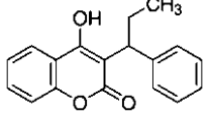
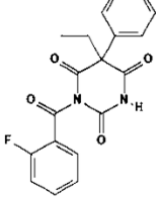
115	ციკლოთიაზიდი	
116	ცოპიკლონი	
117	ჰიდროქსიცინი	

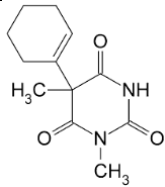
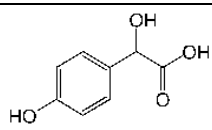
მჟავა ბუნების ნივთიერებები

N	ნივთიერების დასახელება	სტრუქტურული ფორმულა
1	აცენოკუმარინი	
2	ბენოქსაპროფენი	
3	დიფენაკომი	

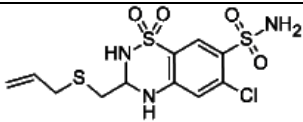
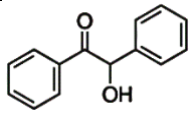
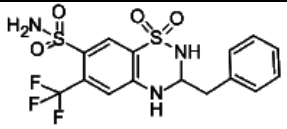
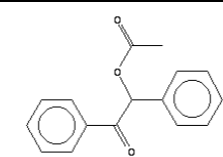
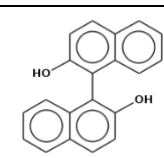
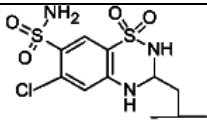
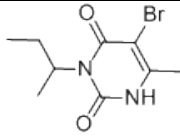
4	3,4-დიჰიდრონუმის მჟავა	
5	ვარფარინი	
6	ზალტოპროფენი	
7	იბუპროფენი	
8	ინდოპროფენი	
9	ფენოპროფენი	
10	კაპტოპრილი	
11	კარპროფენი	
12	კეტოპროფენი	
13	კეტოროლაკი	

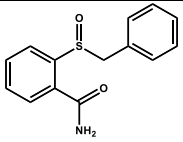
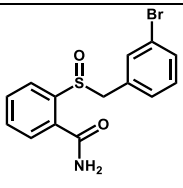
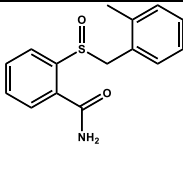
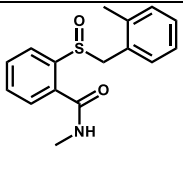
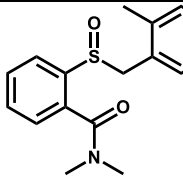
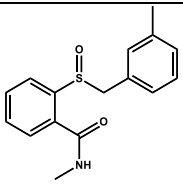
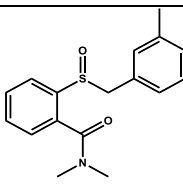
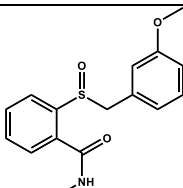
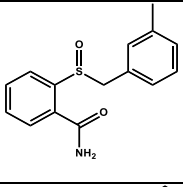
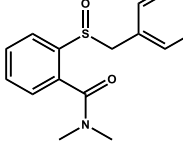
14	კუმატეტრალი	
15	კუმექლორი	
16	მ-ჰიდროქსინუმის მჟავა	
17	ნუმის მჟავა	
18	ნუმის მჟავის ეთილის ესტერი	
19	მეთილქარვის მჟავა	
20	ნაპროქსენი	
21	ნემბუტალი	
22	პინაკუმარინი	
23	პირპროფენი	

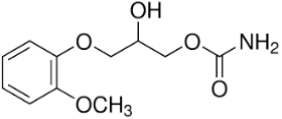
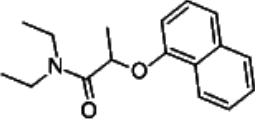
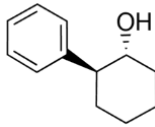
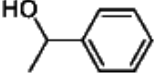
24	პროგლუმიდი	
25	სულინდაკი	
26	სულპროფენი	
27	2-ფენოქსიპროპიონის მჟავა	
28	ფლურბიპროფენი	
29	2-ქლორნუმის მჟავა	
30	2 (3-ქლორფენოქსი)პროპიონის მჟავა	
31	3-ქლორ ფენპროკოუმონი	
32	ჰალონალი	

33	ჰექსობარბიტალი	
34	3-ჰიდროქსი ნუმის მჟავა	

ნეიტრალური ბუნების ნივთიერებები

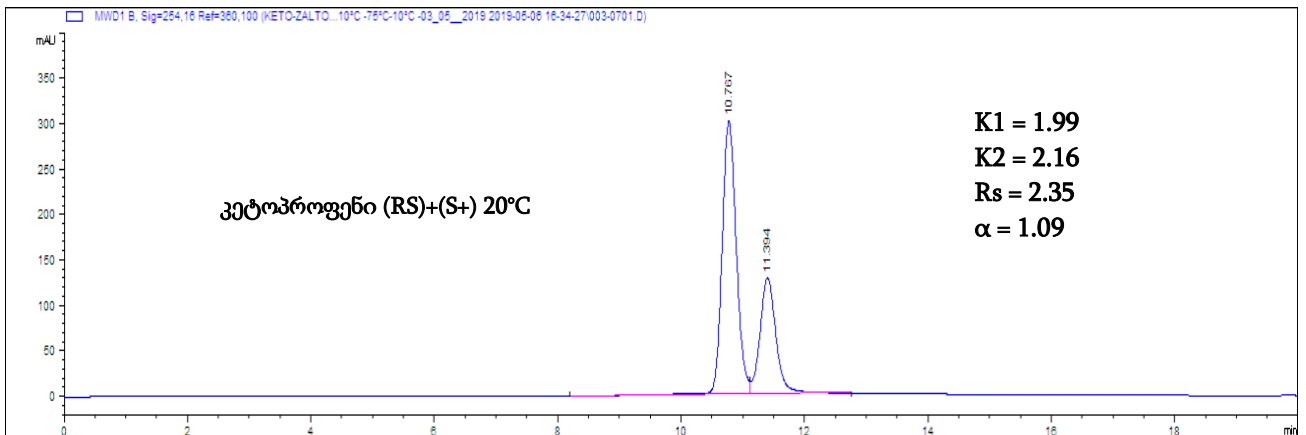
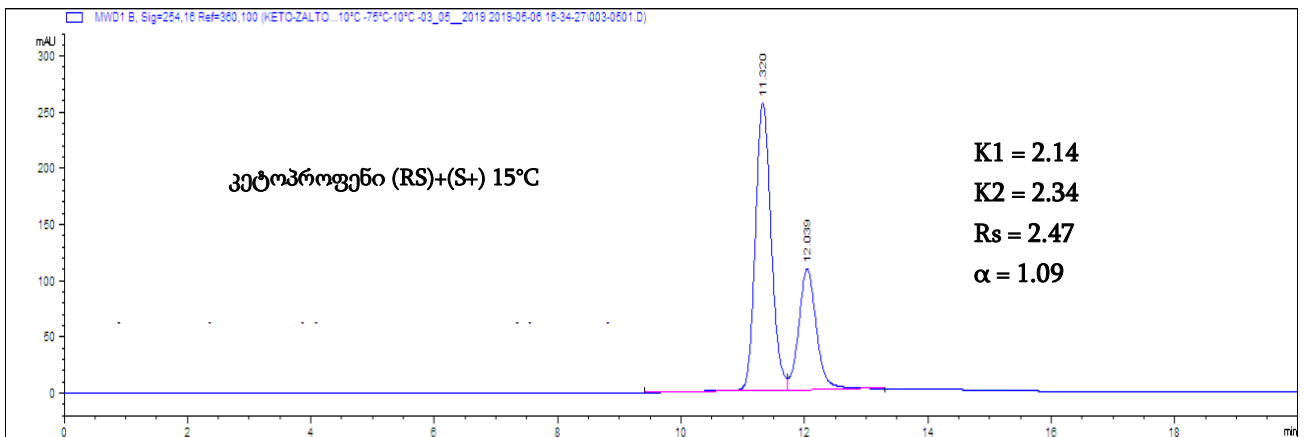
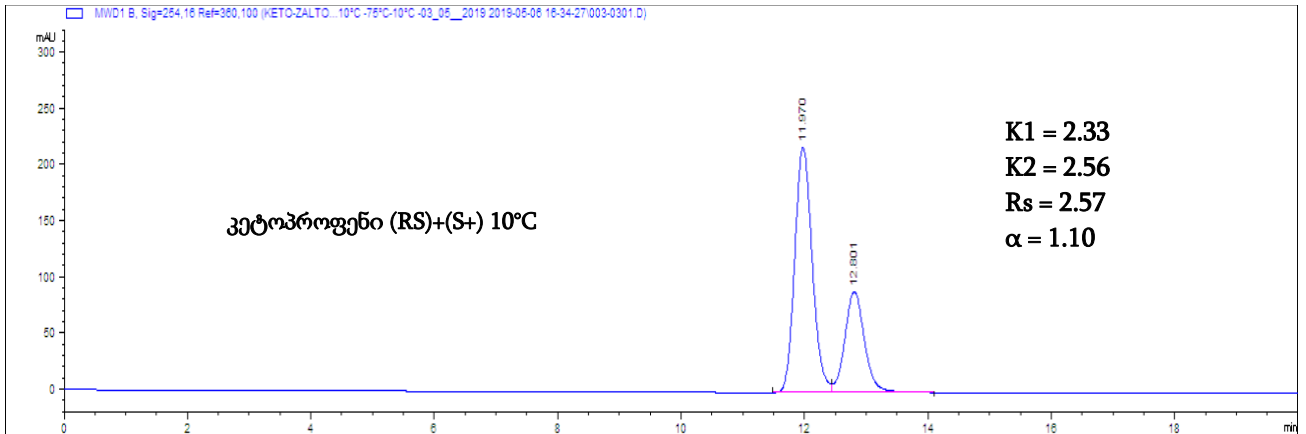
N	ნივთიერების დასახელება	სტრუქტურული ფორმულა
1	ალთიაზიდი	
2	ბენზოინი	
3	ბენდროფლუმეთიაზიდი	
4	ბენზოინის აცეტატი	
5	ბინაფტოლი	
6	ბუთიზიდი	
7	ბრომაცილი	

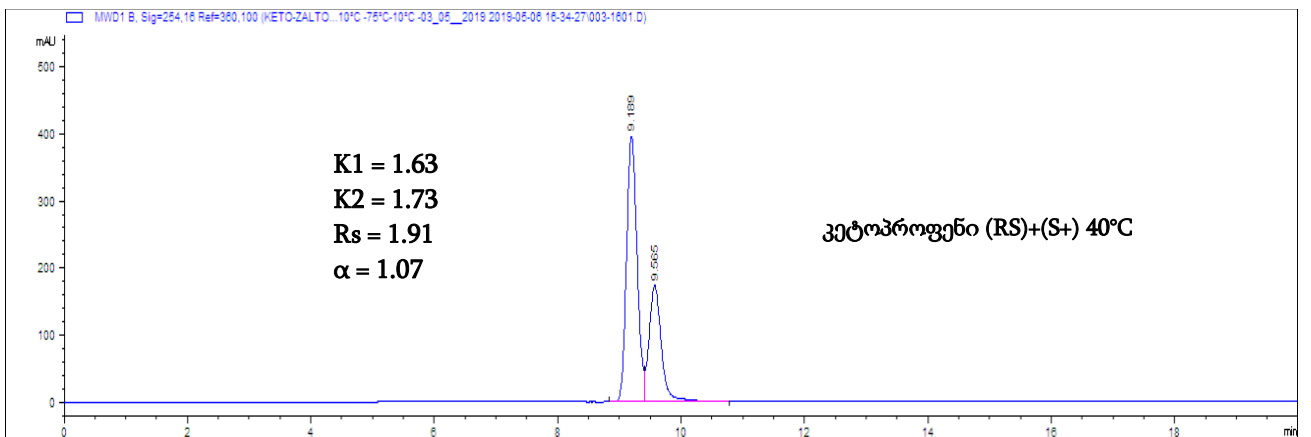
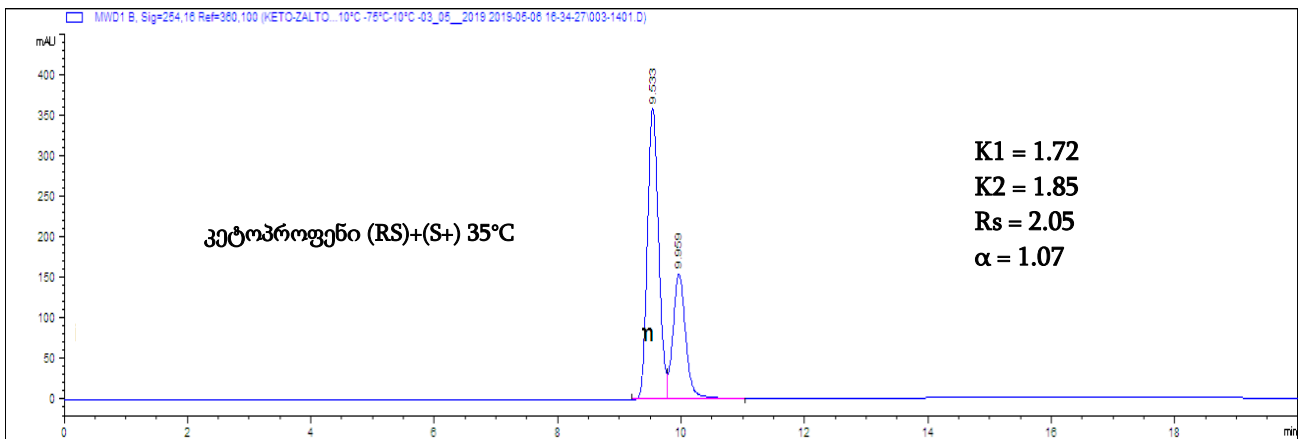
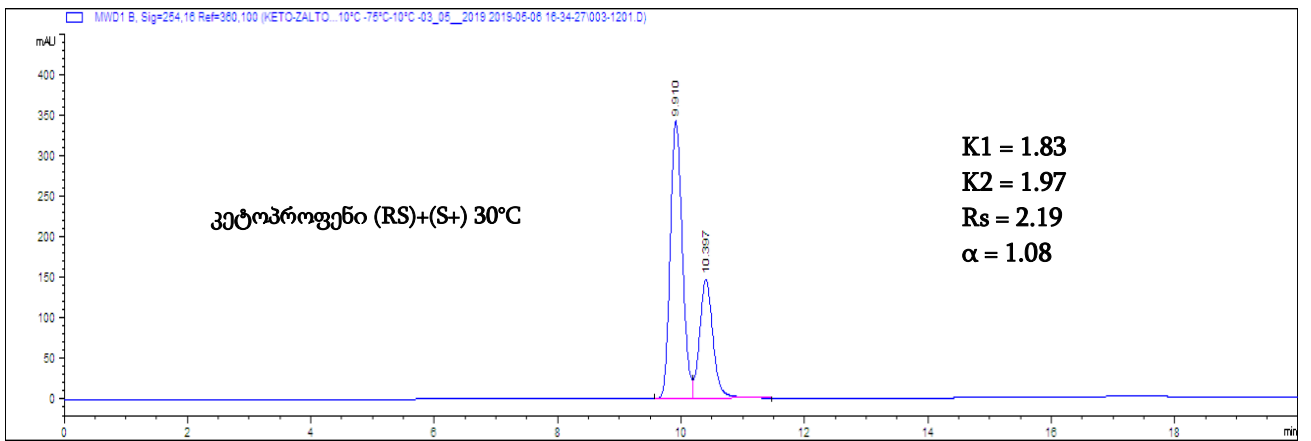
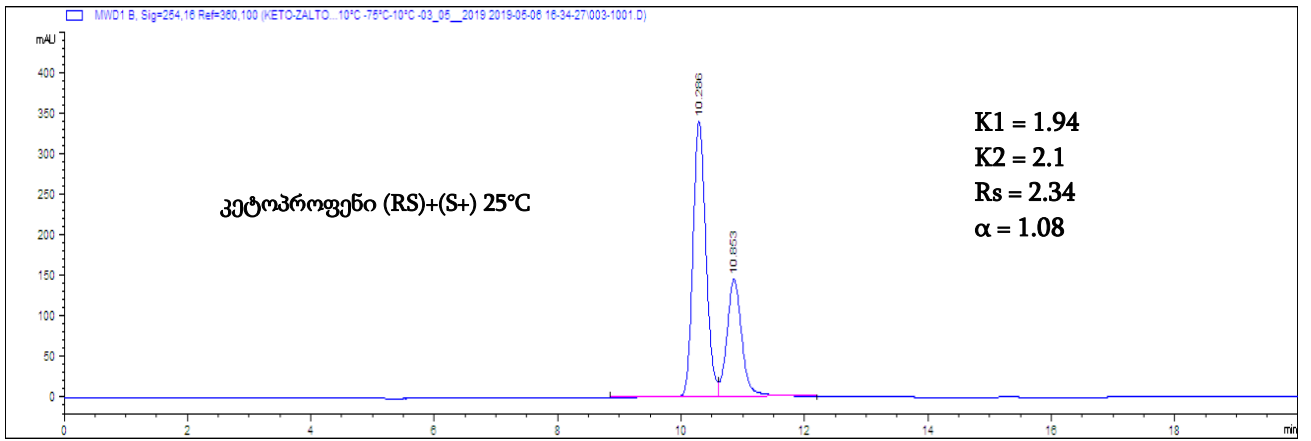
8	2-(ბენზილსულფინილ)ბენზამიდი	
9	2-(3-ბრომბენზილსულფინილ)ბენზამიდი	
10	2-(2-მეთილბენზილსულფინილ)ბენზამიდი	
11	2-(2-მეთილბენზილსულფინილ)-N-მეთილბენზამიდი	
12	2-(2-მეთილბენზილსულფინილ)-N,N-დიმეთილბენზამიდი	
13	2-(3-მეთილბენზილსულფინილ)-N-მეთილბენზამიდი	
14	2-(3-მეთილბენზილსულფინილ)-N,N-დიმეთილბენზამიდი	
15	2-(3-მეთოქსილბენზილსულფინილ)-N-მეთილბენზამიდი	
16	2-(3-მეთილბენზილსულფინილ)ბენზამიდი	
17	2-(4-მეთილბენზილსულფინილ) N,N-დიმეთილბენზამიდი	

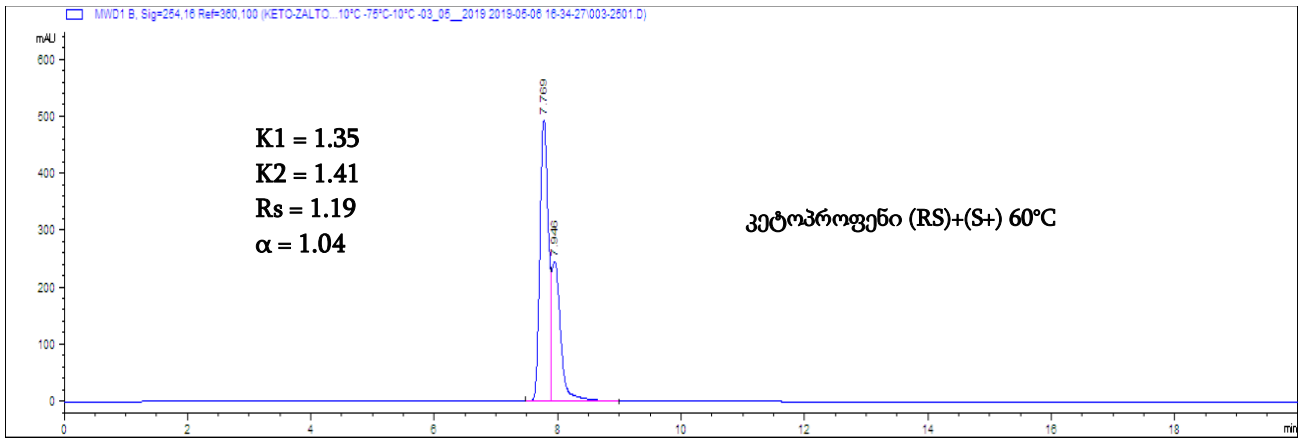
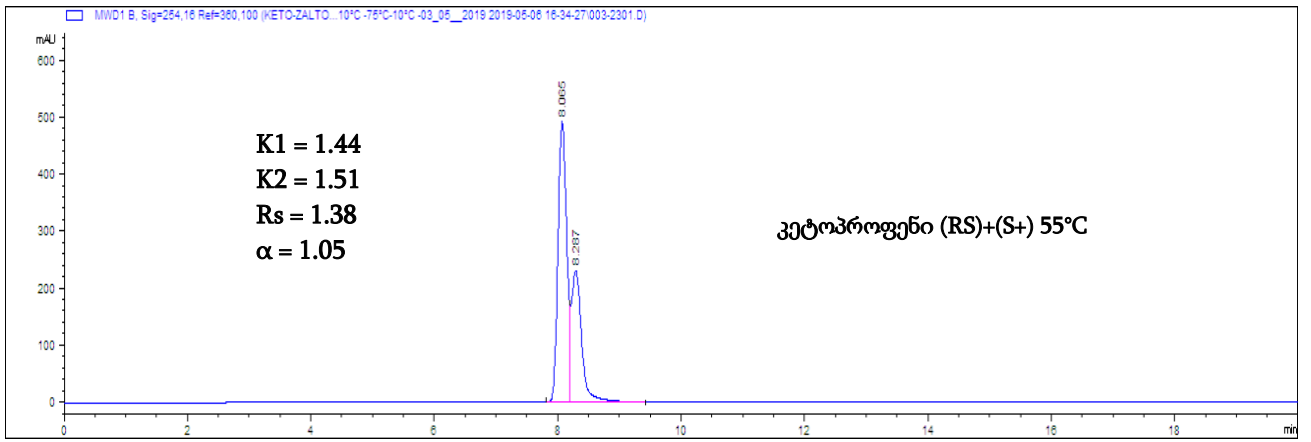
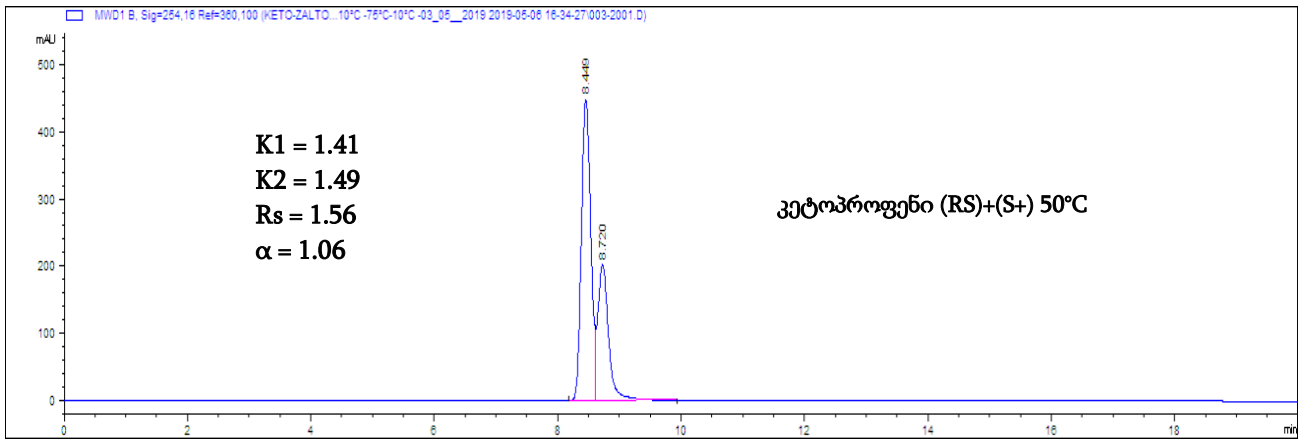
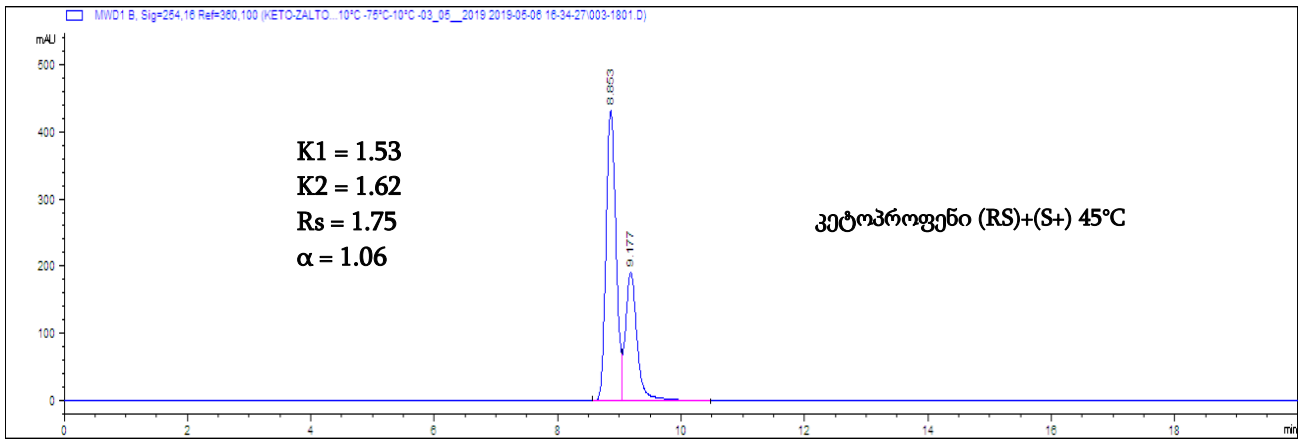
18	მეთოკარბამოლი	
19	ნაპროპამიდი	
20	ტრანს-2-ფენილციკლო ჰექსანოლი	
21	1-ფენილეთანოლი	

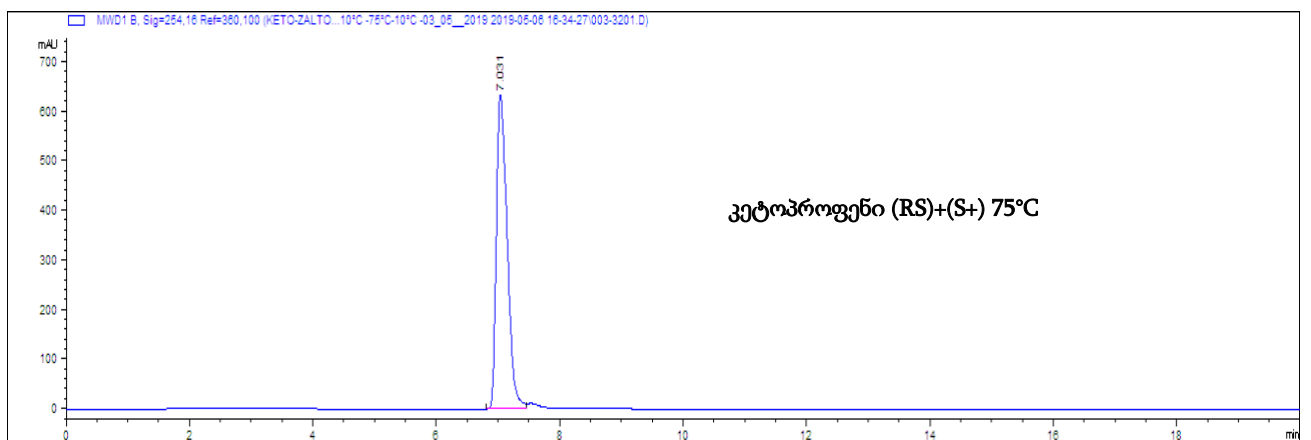
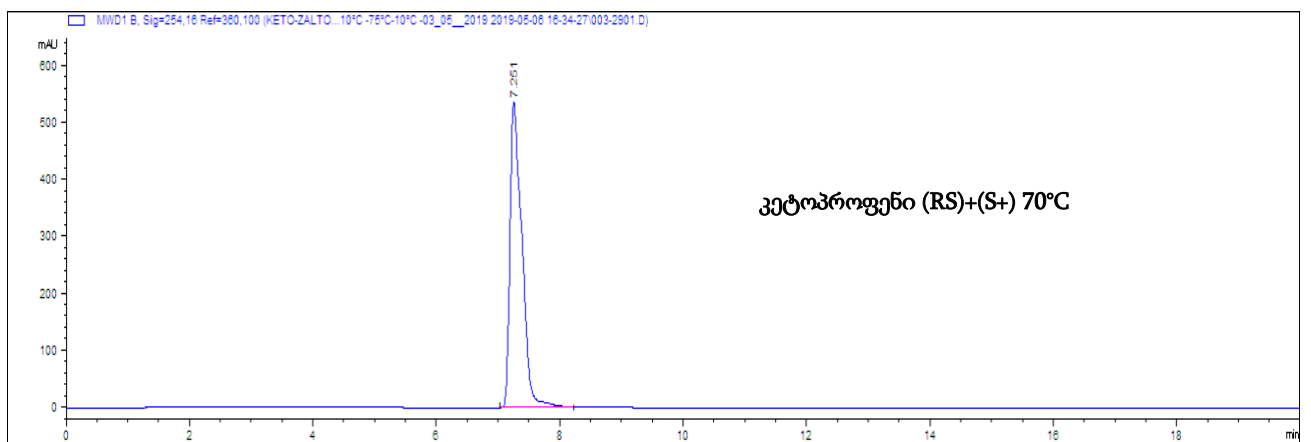
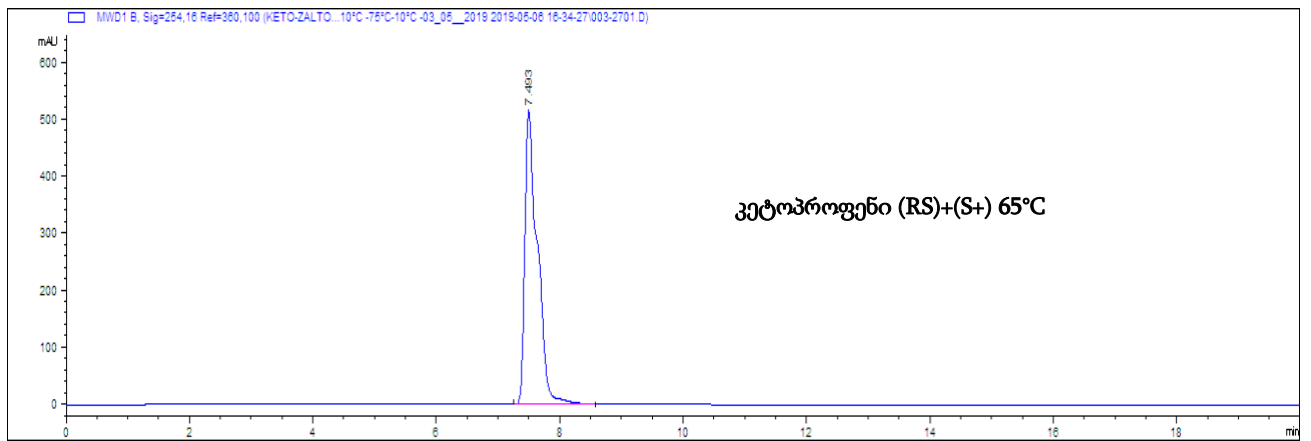
დანართი 2.

ა) კეტოპროფენის ენანტიომერების დაყოფა სხვადასხვა ტემპერატურებზე (10°C-დან 75°C-მდე) მოძრავ ფაზად ჰექსანი/იზოპროპანოლი-90/10+0.1%FA-ს (v/v) და სილიკაგელზე კოვალენტურად იმობილიზებული ქირალური სელექტორის გამოყენებით.









ბ) ზალტოპროფენის ენანტიომერების დაყოფა სხვადასხვა ტემპერატურებზე (10°C-დან 75°C-მდე) მოძრავ ფაზად ჰექსანი/იზოპროპანოლი-90/10+0.1%FA-ს (v/v) და სილიკაგელზე კოვალენტურად იმობილიზებული ქირალური სელექტორის გამოყენებით.

