

Ivane Javakhishvili Tbilisi State University

Khatuna Gogaladze

Research of some physical and chemical mechanisms of separation of chiral beta blockers using novel polysaccharide base columns

To achieve a degree of PhD in chemistry

Supervisor:

Professor for physical chemistry Head of

the departement of Physical and analytical chemistry,

Full Member of the Georgian National Academy of Sciences

Bezhan Chankvetadze



საქართველოს
აкадеმიის
გამოცემლობა

2005

Tbilisi

Summary

Biological activity of enantiomers of chiral chemical compounds frequently differ from each other. Based on this fact preparation of chiral compounds in enantiomerically pure form is very important goal in various fields of chemistry. High-performance liquid chromatography (HPLC) is the major method for analytical-scale separation of enantiomers. Among chiral stationary phases (CSPs) described in the literature currently polysaccharide-based CSPs are especially successful. Chiral recognition mechanism is quite different with different chiral selectors. In order of better understanding of chiral recognition mechanisms with polysaccharide-based CSPs the major focus of the present study was to investigate a separation of enantiomers of some beta-blocker drugs with novel polysaccharide-based chiral columns and normal-phase and polar-organic mobile phases containing small amounts of basic and acidic additives.

HPLC separation of enantiomers were performed in both normal-phase and polar-organic mode in the presence of both basic (diethylamine - DEA) and acidic (formic acid- FA) additives, as well as the combination of both.

The major goals of the present study were:

1. Separation of enantiomers of various β -blockers with various CSPs and mobile phases and comparison of separation parameters.
2. Study of the minor additives (DEA 0.1%; FA 0.036%; DEA 0.1% + FA 0.036%) to the mobile phase on the elution order of enantiomers in various separation systems.
3. Study of the effect of various CSP and mobile phases on the elution order of enantiomers.

ხათუნა გოგალაძე

ქირალური ბეტა ბლოკატორების ენანტიომერული ნარეგების დაყოფის
ფიზიკო-ქიმიური მექანიზმების ზოგიერთი საკითხის კვლევა ახალი ტიპის
პოლისაქარიდული ქირალური ფაზების გამოყენებით

ქიმიის დოქტორის აკადემიური ხარისხის მოსაპოვებლად

სამეცნიერო ხელმძღვანელი:

ქიმიის მეცნიერებათა დოქტორი,
პროფესორი, საქართველოს
მეცნიერებათა ეროვნული აკადემიის აკადემიკოსი

ბეჟან ჭანკვეტაძე

თბილისი

2015 წელი

ანოტაცია

ქირალური ქიმიური ნივთიერებების ენანტიომერული ფორმები ხშირ შემთხვევაში განსხვავდებიან ერთმანეთისგან ბიოლოგიური მოქმედებით. ქირალური ნივთიერებების ენანტიომერულად სუფთა სახით მიღება მნიშვნელოვანია ქიმიის სხვადასხვა

დარგისთვის. ენანტიომერების ანალიზური დაყოფის ძირითად მეთოდს წარმოადგენს მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფია (მესქ). დღეისათვის დასინთეზირებული ქირალური სტაციონალური ფაზებიდან (ქსფ) გამორჩეული თვისებებით ხასიათდება პოლისაქარიდული ქირალური სორბენტები (ქს). ქირალური გამოცნობის მექანიზმები ზემოთ აღნიშნულ ფაზებში ზოგჯერ განსხვავდება ერთმანეთისაგან. ამ საკითხის გარკვევის მიზნით ნაშრომში შესწავლილია პოლარული და ნორმალური ფაზის გავლენა მცირე დანამატებით ახალი ტიპის პოლისაქარიდული სტაციონალური ფაზების გამოყენებით ზოგიერთი ქირალური ტიპის ბეტა-ბლოკატორის ენანტიომერების დაყოფაზე.

ფუძე ბუნების ბეტა-ბლოკატორების დაყოფა კარგი სელექტიურობით ფუძე დანამატითაა შესაძლებელი. ამ მიზნით კვლევებში გამოყენებულია ფუძე ბუნების დანამატი, დიეთილამინი (დეა), ანალიზები მიმდინარეობდა, როგორც ნორმალურ ფაზაში, ასევე პოლარულ ორგანულ გამხსელებში, როგორც ფუძე ბუნების (დიეთილამინი - DEA; დეა) დანამატი და მჟავა ბუნების (ჭიანჭველამჟავა - FA; ჭმ.) დანამატით, ასევე დეა და ჭმ. ექვიპროცენტული ნარევის კომბინაციისას.

ნაშრომის ძირითად მიზანს წარმოადგენდა შეგვესწავლა:

- 1) ბეტა ბლოკატორების ენანტიომერების დაყოფის თავისებურებები და შეგვედარებინა დაყოფის პარამეტრები სხვადასხვა მოძრავი და სტაციონალური ფაზების გამოყენებით.
- 2) ენანტიომერების ელუირების რიგი მოძრავ ფაზაში სხვადასხვა დანამატის მცირე რაოდენობის გამოყენებით (დეა 0.1% (მოცულობითი) ; ჭმ. 0.036% (მოცულობითი); დეა 0.1%+ ჭმ. 0.036% (მოცულობითი).
- 3) ენანტიომერების ელუირების რიგი ახალი ტიპის პოლისაქარიდულ ქირალური სტაციონალური ფაზების გამოყენებით.

შინაარსი

გამოყენებული შემოკლებები.....	1
შესავალი	2

1. ლიტერატურის მიმოხილვა.....	3
1.1. ქირალობა.....	3
1.2 ენანტიომერები.....	4
1.3 ქირალური სამკურნალწამლო საშუალებები და მათი მონიტორინგი	6
1.4 β-ბლოკატორები და მათი ფარმაკოლოგიური აქტივობა	7
1.5 კაპილარული ელექტროფორეზი.....	8
1.6 ქრომატოგრაფია.....	10
1.7 ქრომატოგრაფიული მეთოდები	11
1.7.1 გაზური ქრომატოგრაფია.....	12
1.7.2 ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფია	13
1.7.3 მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფია	14
1.8 ქრომატოგრაფიული დაყოფის პარამეტრები.....	15
1.9. ქრომატოგრაფიის კინეტიკური თეორია	19
1.10 აპარატურა მაღალეფექტურ სითხურ ქრომატოგრაფიაში.....	20
1.11 უძრავი ფაზები სითხურ ქრომატოგრაფიაში.....	22
1.12 ბეტა-ბლოკატორების ენანტიომერების ანალიზი სითხურ ქრომატოგრაფიაში	25
2. ექსპერიმენტული ნაწილი	28
2.1 გამოყენებული აპარატურა.....	28
2.2. გამოყენებული მასალები.....	30
2.3. ექსპერიმენტის გეგმა.....	41
3. შედეგები და მათი განსჯა.....	43
3.1.ბეტა-ბლოკატორების ენანტიომერების დაყოფა ნორმალურფაზიან ქრომატოგრაფია... 43	
3.1.1 სკრინინგი სხვადასხვა ქირალური სელექტორებით და მოძრავი ფაზებით.....	43
3.1.2 ქირალური სელექტორის ბუნების გავლენა ენანტიომერების დაყოფაზე.....	54
3.1.ენანტიომერების ელუირების რიგი.....	62
3.2.1 სკრინინგი სხვადასხვა ქირალური სელექტორებით და მოძრავი ფაზებით.....	67

3.2.2. ენანტიომერული წარევის მონიშვნის ტექნიკა.....	69
3.2.3. ტემპერატურის გავლენა ენანტიომერების დაყოფაზე.....	70
3.2.4 ენანტიომერების ელუირების რიგი.....	71
დასკვნები.....	7
76	
გამოყენებული ლიტერატურა.....	80

გამოყენებული შემოკლებები

მესქ მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფია

ქს ქირალური სელექტორი

ქსფ ქირალური სტაციონალური ფაზა

აცნ აცეტონიტრილი

დეა დიეთილამინი

ჰმ ჰიანჰველმჟავა

შესავალი

ქირალობა დამახასიათებელია მრავალი სინთეზური და ბუნებრივი ნივთიერებისათვის, როგორც არის სამკურნალწამლო საშუალებები, საკვების დანამატები და სხვა ბიოლოგიურად აქტიური ნაერთები. სამკურნალწამლო საშუალებების ნახევარზე მეტი შეიცავს ერთ ქირალურ ცენტრს მაინც. ერთი ქირალური ცენტრის შემცველი ქირალური ნივთიერებები არსებობს ორი ენანტიომერის ნარევის სახით. ძალიან ხშირად ქირალური ნაერთის მხოლოდ ერთი ენანტიომერია პასუხისმგებელი გარკვეულ ქმედებაზე, ხოლო მეორე ენანტიომერს არ გააჩნია შესამჩნევი ფიზიოლოგიური აქტივობა და მხოლოდ უსარგებლო მინარევია. ცნობილია შემთხვევები, როდესაც ორივე ენანტიომერის განსაზღვრული თანაფარდობით არსებობა არის საჭირო ოპტიმალური შედეგის მისაღებად. თანამედროვე საკვები პროდუქტებისა და სამკურნალწამლო საშუალებების კონტროლი მოითხოვს მათი ენანტიომერული შედგენილობის მონიტორინგს, რამაც განაპირობა ენანტიომერული ნარევის ანალიზური და პრეპარატული დაყოფის მეთოდების დამუშავების აქტუალობა [1].

ენანტიომერების ანალიზური დაყოფის ძირითად მეთოდს წარმოადგენს მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფია. მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფია გამოიყენება ორგანული ნივთიერებების დაყოფისა და რაოდენობრივი განსაზღვრისათვის სხვადასხვა ნარევებში. მათ შორისაა პოლიმერების საკმაოდ რთული მაკრომოლეკულები, ცილები, ნუკლეინის მჟავები და სხვა რთული ნაერთები. ამასთანავე თითქმის ყველა დაყოფა შეიძლება ჩატარდეს ოთახის ტემპერატურასთან ახლოს, ჰაერთან კონტაქტის გარეშე, რაც ძალზე მნიშვნელოვანია ლაბილური ნაერთების, კერძოდ, ბიოლოგიურად აქტიური ნივთიერებების და ბიოპოლიმერების კვლევისას. დღეისათვის ქირალური უძრავი ფაზების დიდი არჩევანი არსებობს. ლიტერატურაში 200-მდე ასეთი ფაზაა აღწერილი, ამის მიუხედავად ოპტიმალური სტაციონალური ფაზა არ არსებობს და ამა თუ იმ ქირალური ნივთიერების ენანტიომერების ქრომატოგრაფიული დაყოფა მოითხოვს მოცემული ნივთიერებისათვის სელექტორისა და მოძრავი ფაზის ოპტიმიზაციას.

პოლისაქარიდების საფუძველზე მომზადებული ქირალური სორბენტები ფართოდ გამოიყენება ენანტიომერული ნარევის დასაყოფად მესქ-ში. დღეისათვის არსებობს მრავალი სხვადასხვა ტიპის ქირალური სელექტორი (ქს) ენანტიომერების თხევადფაზური დაყოფისათვის. ლიტერატურაში აღწერილი ქირალური სტაციონალური ფაზებიდან გამორჩეული თვისებებით ხასიათდება პოლისაქარიდული ქირალური სორბენტები, კერძოდ კი, ქირალური ბუნებრივი პოლიმერების, ცელულოზას და ამილოზას ნაწარმები. დღეისათვის ახალი ტიპის პოლისაქარიდული სტაციონალური ფაზები გამოიყენება სხვადასხვა სამკურნალწამლო საშუალებების ენანტიომერების ნარევის დასაყოფად მესქ-ში [2].

სამკურნალწამლო საშუალებების ერთ ჯგუფს წარმოადგენს ბეტა ბლოკატორები. მათი დახმარებით ხდება გულის არითმიების, გულის შეტევებისა და ჰიპერტენზიის რეგულირება. ისინი ძირითადად არიან ნორადრენალინისა და ადრენალინის ანტაგონისტები და შესაბამისად იწვევენ მათ ბლოკირებას ადამიანის ორგანიზმში.

წინამდებარე სადისერტაციო ნაშრომის მიზანს წარმოადგენდა მოგვეხდინა ზოგიერთი ქირალური ბეტა ბლოკატორის ენანტიომერების დაყოფის ოპტიმიზაცია პოლისაქარიდულ ქირალურ სტაციონალურ ფაზებზე სხვადასხვა მოძრავი ფაზების

გამოყენებით. გარდა ამისა, შესწავლილი იქნა ენანტიომერების ელუირების რიგი და მისი ცვლილების პირობები.

სადისერტაციო ნაშრომის თემაზე მომზადებულია და მიღებულია გამოსაქვეყნებლად სამეცნიერო ნაშრომი 2 რეფერირებულ ჟურნალში, ხოლო 1 სამეცნიერო ნაშრომი გამოქვეყნებულია იმპაქტ ფაქტორიან ჟურნალში. დისერტაციის მასალები წარმოდგენილია 5 საერთაშორისო სიმპოზიუმზე 3 ზეპირი მოხსენების, ხოლო 2 სტენდური მოხსენების სახით, სხვადასხვა ახალგაზრდა მეცნიერთა სამეცნიერო კონფერენციებზე 4 სტენდური მოხსენების სახით, მომზადებულია 4 თეზისი სხვადასხვა სამეცნიერო კონფერენციებისათვის.

ნაშრომი მოცემულია 90 გვერდზე, მოიცავს 11 განტოლებას, 3 ცხრილს, 40 ნახაზს, 2 სურათს, ნუმერაცია თავებში არის საერთო. გამოყენებულია 136 დასახელების სამეცნიერო ლიტერატურა.

1. ლიტერატურის მიმოხილვა

1.1. ქირალობა

ტერმინი ქირალობა ძველ ბერძნულად (*χημική*), ხელს ნიშნავს. ადამიანის მარჯვენა და მარცხენა ხელი ქირალობის თვალსაჩინო მაგალითია. ისინი ერთმანეთის სარკული გამოსახულებებია, რომელთა შეთავსება სივრცეში ვერ ხერხდება. მოლეკულის ქირალობა ხშირ შემთხვევაში განპირობებულია მასში ქირალური ცენტრის არსებობით. ამ როლს ასრულებს მაგალითად sp^3 ჰიბრიდიზებულ მდგომარეობაში მყოფი

ნახშირბადის ატომი, რომელიც დაკავშირებულია ოთხ სხვადასხვა ჩამნაცვლებელთან. ასეთ ატომს ასიმეტრიულს უწოდებენ, რადგან არ გააჩნია სიმეტრიის ელემენტები.

ბუნებაში ქირალური ნივთიერებები უმრავლეს შემთხვევაში არსებობს სუფთა ენანტიომერების სახით. ბევრი მათგანი შეიძლება გამოყენებულ იქნას სასურველი ენანტიომერული მოლეკულის მისაღებად, რაც მიიღწევა შესაბამისი ქიმიური გარდაქმნით. ასეთი გარდაქმნა ხშირ შემთხვევაში განსაზღვრულ პირობებში მიმდინარეობს. ისეთი ბუნებრივი ქირალური ნივთიერებები, როგორცაა ნახშირწყლები, ამინომჟავები, ალკალოიდები და ა.შ. ფართოდ გამოიყენება სუფთა ენანტიომერების მისაღებად ფარმაცევტულ მრეწველობასა და ნატიფ ქიმიურ სინთეზში [2].

1.2 ენანტიომერები

ერთი ქირალური ცენტრის შემცველი ქირალური ნივთიერებები არსებობს ორი ენანტიომერის ნარევის სახით. ენანტიომერები ერთმანეთისგან განსხვავდებიან ატომთა ჯგუფების განლაგებით სივრცეში. თუ მოლეკულაში არის რამდენიმე ქირალური ცენტრი, ასეთ შემთხვევაში გვექნება 2^n სტერეოიზომერი, სადაც n არის ქირალურ ცენტრთა რაოდენობა. ორი ქირალური ცენტრის შემთხვევაში ქირალური ნივთიერებები წარმოადგენენ დიასტერეომერების ნარევს, ხოლო თვითოეული დიასტერეომერი თავის მხრივ ორი ენანტიომერის ნარევს. ენანტიომერები და დიასტერეომერები წარმოადგენენ სტერეოიზომერების ოჯახს. სტერეოიზომერებს აქვთ ერთნაირი ქიმიური ფორმულა და შედგენილობა, მაგრამ განსხვავდებიან ჩამნაცვლებლების სივრცული ორიენტაციით.

ენანტიომერები ერთნაირი კუთხით, მაგრამ განსხვავებული მიმართულებით აბრუნებს სინათლის პლანარიაციის სიბრტყეს: ერთი მარცხნივ მბრუნავია, ხოლო მეორე მარჯვნივ მბრუნავი. ამიტომ მათ ოპტიკურ ანტიპოდებსაც უწოდებენ. მარჯვნივ ბრუნვას აღნიშნავენ (+) ნიშნით, ხოლო მარცხნივ ბრუნვას (-) ნიშნით. რაცემატი შედგება ორი ენანტიომერის თანაბარი რაოდენობისგან, რომელსაც ოპტიკური აქტივობა არ გააჩნია. ენანტიომერების ფიზიკურ-ქიმიური თვისებები იდენტურია აქირალურ გარემოში. მათი გარჩევა შეიძლება მხოლოდ კვლევის ქირალური მეთოდის გამოყენებით.

სხვადასხვა ნაერთის მიერ სინათლის პლანარიაციის სიბრტყის ბრუნვის ხარისხის აღსანიშნავად შემოღებულია ხვედრითი ბრუნვის ცნება:

$$[\alpha]_D = \frac{100a}{LC}$$

სადაც a - გაზომილი ბრუნვის კუთხეა (გრადუსებში)

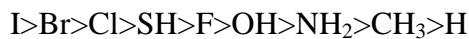
C - ნიმუშის კონცენტრაცია (ნივთიერების გრამების რაოდენობა 100 მლ გამხსნელში)

L - პლარიმეტრის კიუვეტის სიგრძე (დეციმეტრებში)

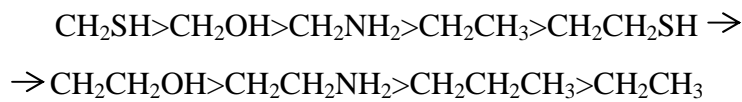
ქირალურ ცენტრთან არსებული ჩანაცვლების სივრცითი განლაგების განსაზღვრა შესაძლებელი გახდა მხოლოდ რენტგენოსტრუქტურული ანალიზის გამოყენებით. კონფიგურაციის სტანდარტად მიღებულ იქნა გლიცერინის ალდეჰიდი, რომლის

მაცხნივ და მარჯვნივ მბრუნავ ენანტიომერებს მიაწერეს განსაზღვრული კონფიგურაცია და აღნიშნეს, როგორც D-(+) და L-(-) გლიცერინის ალდეჰიდი. მიუხედავად იმისა, რომ D, L სისტემა გამოიყენება, განსაკუთრებით ამინომჟავებისა და ნახშირწყლების ქიმიაში, იგი გარკვეულ უხერხულობას ქმნის ისეთი ნაერთების განხილვისას, რომელთაც არ გააჩნიათ სტრუქტურული მსგავსება გლიცერინის ალდეჰიდთან. მეცნიერების მიერ შემოთავაზებულ იქნა ოპტიკურ იზომერთა კონფიგურაციის განსაზღვრის შედარებით ზოგადი მეთოდი, რომელიც დამყარებულია მოლეკულის უშუალო განხილვაზე ქირალურ ატომთან დაკავშირებული ჩამნაცვლებლების უფროსობის გათვალისწინებით, ამიტომ სტერეოქიმიურ ნომენკლატურაში D, L სისტემა სულ უფრო ხშირად იცვლება R, S სისტემით. ჩამნაცვლებლის უფროსობას შემდეგი კრიტერიუმით განსაზღვრავენ:

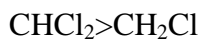
ორი ჩამნაცვლებლიდან ის არის უფროსი, რომელიც შეიცავს ქირალურ ცენტრთან უშუალოდ დაკავშირებულ ელემენტის ატომს უფრო მაღალი ატომური ნომრით. მაგალითად:



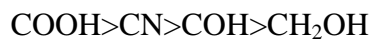
თუ უშუალოდ ქირალურ ცენტრთან ბმული ორი ან მეტი ატომი ერთნაირია, მაშინ ჩამნაცვლებლის უფროსობა განისაზღვრება უკვე მათთან დაკავშირებულ ატომთა ატომური ნომრით. მაგალითად:



თუ მეორე ან შემდგომი შრის ატომები ერთნაირია, მაშინ ასეთ ატომთა რიცხვი განსხვავებულია, მაშინ ის ჯგუფია უფროსი, რომელიც შეიცავს მეტ ჩამნაცვლებელს უფრო მაღალი ატომური ნომრით. მაგალითად:



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



ატომთა მეტი რიცხვის მქონე ჩამნაცვლებელი ჯგუფი წინ უძღვის ატომთა ნაკლები რიცხვის მქონე ჩამნაცვლებელ ჯგუფს. თუკი ყველაზე მაღალი პრიორიტეტის ჯგუფიდან ყველაზე დაბალი პრიორიტეტის ჯგუფისკენ ათვლა მიმდინარეობს საათის ისრის მიმართულებით, მაშინ ენანტიომერის კონფიგურაციაა R (ლათინურიდან rectus - მარჯვნივ), ხოლო თუ ათვლა მიმდინარეობს საათის ისრის საწინააღმდეგო მიმართულებით, მაშინ ენანტიომერის კონფიგურაციაა S (ლათინურიდან sinistra - მარცხენა), რაცემული ნარევი აღინიშნება როგორც R,S. პირდაპირი კავშირი ამ

ნომეკლატურასა და ბრტყლად პოლარიზებული სინათლის ბრუნვის ნიშანს შორის არ არსებობს. R, S სამგანზომილებიანი კონფიგურაცია საშუალებას გვაძლევს ავხსნათ ენანტიომერების ურთიერთქმედება მათ ბიოლოგიურ რეცეპტორებთან. ფერმენტს, რომელსაც გააჩნია რეცეპტორები რამდენიმე ჯგუფის მისაერთებლად ადვილად შეუძლია ენანტიომერების ერთმანეთისაგან გარჩევა. სამკურნალო პრეპარატების მოქმედება ვლინდება უჯრედის რეცეპტორებთან ამ პრეპარატის შემადგენელ კომპონენტთა ურთიერთქმედებაში. ამასთან, ნაერთს უნდა ჰქონდეს ისეთი კონფიგურაცია, რაც შეიძლება სრულად დაუკავშირდეს რეცეპტორს. კონფიგურაციის შეცვლა მისი ანტიპოდით, როგორც წესი, იწვევს ფარმაკოლოგიური აქტივობის მკვეთრ დაქვეითებას. მაგ., ფარმაკოლოგიური აქტივობით გამოირჩევა მხოლოდ D-(-) ადრენალინი. მისი ოპტიკური ანტიპოდის L-(+) ადრენალინის OH ჯგუფი სივრცეში განსხვავებულადაა ორიენტირებული, რაც იწვევს ფარმაკოლოგიური აქტივობის შემცირებას. ანალოგიურ მოვლენებს აქვს ადგილი ადრენალინის მსგავსი აღნაგობის მქონე სამკურნალო ნივთიერებების შემთხვევაში. მაგალითად, იზადრინის მარჯვნივ მბრუნავი სტერეოიზომერის ბრონქო-გამაფართოებელი მოქმედება თითქმის რვაასჯერ აღემატება მისი ოპტიკური ანტიპოდის აქტივობას. ხშირ შემთხვევაში მოლეკულის შემადგენლობაში უმნიშვნელო ცვლილებამაც კი შეიძლება გამოიწვიოს ნაერთში ბიოლოგიური აქტივობის მკვეთრი ცვლილება [3].

1.3 ქირალური სამკურნალწამლო საშუალებები და მათი მონიტორინგი

უკანასკნელ პერიოდში ფარმაცევტული კვლევების დროს სამკურნალო საშუალებების ქირალობას უდიდესი ყურადღება ექცევა. სამკურნალწამლო საშუალებების 50%-ზე მეტი ქირალურ ნივთიერებებს წარმოადგენენ. მე-20 საუკუნის ბოლოს (1992 წ.) ამერიკის შეერთებული შტატების წამლისა და საკვები პროდუქტების სააგენტომ - FDA და ევროპული მედიკამენტების შეფასების ცენტრმა - EMEA მოითხოვეს ქირალურ სამკურნალწამლო საშუალებების კონტროლი მათი ენანტიომერული შედგენილობის გამოსაკვლევად [4]. ამ დოკუმენტების თანახმად შესწავლილი უნდა იქნას ქირალური სამკურნალწამლო საშუალებების შემადგენელი თითოეული ენანტიომერის ფარმაკოლოგიური მოქმედება ცალ-ცალკე. მათ მიერ გამოქვეყნებულ იქნა მოთხოვნები ქირალური სამკურნალო საშუალებების რეგისტრაციისათვის. ამ მოთხოვნების შესაბამისად, ახალი ქირალური წამლის ორივე ენანტიომერი უნდა შემოწმდეს წამლის დამუშავების სხვადასხვა ეტაპზე პრეპარატის გამოყენებამდე [5].

1992 წელს გამოაქვეყნდა ისეთი წამლების სია, სადაც რაცემატის სხვადასხვა ენანტიომერებს ახასიათებს სხვადასხვა ფარმაკოლოგიური აქტივობა. მათ შორის ბეტა ბლოკატორის I-პროპრანოლოლი წარმოადგენს β-ადრენერგული რეცეპტორის ანტაგონისტს, მაგრამ d-პროპრანოლოლს არ გააჩნია ეს ფარმაკოლოგიური აქტივობა. მხოლოდ d-ლევაამიზოლი გამოიყენება გულისრევის საწინააღმდეგოდ. d-კარნიტინი გამოიყენება ნერვულ-კუნთოვანი დაავადების მიასთენიის სამკურნალოდ. ალბუტეროლის d-იზომერი შესაძლებელია გამოყენებულ იქნას სასუნთქი გზების

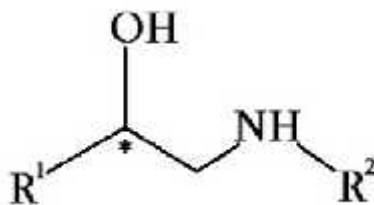
სამკურნალოდ, მაშინ როდესაც მის I-იზომერი იწვევს გვერდით მოვლენებს. ლევოდოპას I-ფორმას გამოიყენებენ პარკინსონის დაავადების სამკურნალოდ, ხოლო მისი d-ფორმა იწვევს გვერდით მოვლენებს, მათ შორის გრანულოციტოპენიას. პენიცილამინის S-ენანტიომერს გააჩნია ანტიართრიტული აქტივობა, მაშინ როდესაც მის R-ენანტიომერს ახასიათებს ტოქსიკური მოქმედება. პროპოქსიფენის α-1-იზომერი შეიძლება გამოყენებულ იქნას ძლიერი ხველის სამკურნალოდ, ხოლო მისი α-d-იზომერი ძლიერ ტკივილგამაყუჩებელი მოქმედებით ხასიათდება [6].

1.4 β-ბლოკატორები და მათი ფარმაკოლოგიური აქტივობა

ფუძე ბუნების ბეტა-ბლოკატორები წარმოადგენს სამკურნალწამლო საშუალებების საკმაოდ დიდ ჯგუფს. ისინი გამოიყენება გულის იშემიური დაავადებების სამკურნალოდ.

როგორც წესი, ქირალური ბეტა-ბლოკატორების ენანტიომერები განსხვავებული ფარმაკოლოგიური მოქმედებით ხასიათდება. ცნობილია, რომ ბეტა-ბლოკატორების უმრავლესობისათვის S-ენანტიომერი 10-500-ჯერ უფრო აქტიურია R-ენანტიომერთან შედარებით. აქედან გამომდინარე, აუცილებელია როგორც ამ ჯგუფის სამკურნალწამლო საშუალებათა ენანტიომერულად სუფთა ფორმით წარმოება, ასევე მათი ენანტიომერული სისუფთავის კონტროლი [7].

β-ბლოკატორებს აქვთ არილოქსი-ამინოსპირტების ჩონჩხი, რომელიც ძირითადად განაპირობებს მათ ფარმაკოლოგიურ მოქმედებას (ნახ. 1).



ნახ. 1 ბეტა ბლოკატორის ზოგადი სტრუქტურული ფორმულა

პირველი ცნობები β-ბლოკატორების შესახებ ვრცელდებოდა მე-XX საუკუნის შუახანებში. 1958 წელს სინთეზირებულ იქნა პირველი β-ბლოკატორი დიქლორ-იზოპროტერენოლი (ელაი-ლილის ლაბორატორიაში). β-ბლოკატორების კლინიკური თვალსაზრისით გამოყენებამ მნიშვნელოვანი წვლილი შეიტანა მე-XX საუკუნის კლინიკურ მედიცინასა და ფარმაკოლოგიაში.

1962 წელს ჯეიმს ბლექმა პირველად β-ბლოკატორები კლინიკური მნიშვნელობით გამოიყენა. მან შექმნა პრეპარატი პროპრანოლოლი და პრონეტალოლი, რამაც რევოლუცია მოახდინა სტენოკარდიის მკურნალობაში. სწორედ პროპრანოლოლის გამოგონებისთვის 1988 წელს ჯეიმს ბლექს მიენიჭა ნობელის პრემია [8].

ბეტა-ბლოკატორების ფარმაკოლოგიური ეფექტი უპირატესად ბეტა-რეცეპტორის დაკავებით და ბლოკადით არის განპირობებული. β -ბლოკატორები ცნობილია ასევე, როგორც ბეტა-ადრენერგული მახლოკირებელი აგენტები. ისინი არიან წამლები, რომლებიც ურთიერთქმედებენ ადრენალინისა და ნორადრენალინისადმი მგრძობიარე β -რეცეპტორებთან.

არსებობს სამი ტიპის β -რეცეპტორი:

1. β_1 -ადრენერგული რეცეპტორები განთავსებულია გულში, თირკმლებში, თვალში.
2. β_2 -ადრენერგული რეცეპტორები განთავსებულია ფილტვებში, ნაწლავის ტრაქტში, ღვიძლში, საშვილოსნოში, სისხლძარღვებში.
3. β_3 -ადრენერგული რეცეპტორები განთავსებულია ცხიმოვან უჯრედებში.

ბეტა-ბლოკატორები ძირითადად ბლოკავენ β_1 და β_2 -ადრენორეცეპტორებს. ადრენალინის და ნორადრენალინის ბლოკირებით, β -ბლოკატორები იწვევენ გულის ცემის სიჩქარის შემცირებას, ამცირებენ სისხლის წნევას სისხლძარღვების გაფართოებით [9].

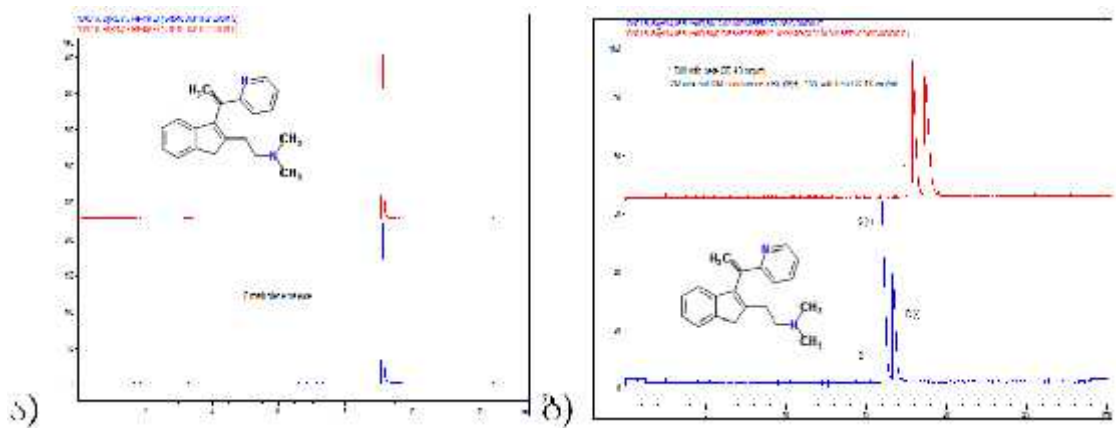
ბეტა-ბლოკატორების სელექტივობა ძალზე მნიშვნელოვანია კლინიკური თვალსაზრისით. კლინიკურად გამოყენებულ ბეტა-ბლოკატორებს შორის არცერთი მათგანი არ არის β_1 -რეცეპტორების აბსოლუტურად სპეციფიკური ანტაგონისტი, ამიტომ სელექტივობა პირობით მოვლენად განიხილება და პრეპარატის დოზაზე დამოკიდებული. პრეპარატების მაღალი დოზებით გამოყენებისას სელექტივობა მცირდება. ბეტა-ბლოკატორების სხვა განმასხვავებელი თვისებებიდან, აღსანიშნავია აგრეთვე მათი ფარმაკოკინეტიკური თავისებურებანი და ადგილობრივი საანესთეზიო უნარი. ამდენად პირველი ეტაპისათვის მნიშვნელოვანია პაციენტმა გამოიყენოს პრეპარატის მცირე დოზა [10]. ჰიპერტენზიის დროს, ქრონიკული გამოყენებისას ბეტა-ბლოკატორები აქვეითებენ წნევას. ამ ეფექტის მექანიზმები არ არის სრულად შესწავლილი, თუმცა, სავარაუდოდ იგი კომპლექსურია და მოიცავს სხვადასხვა სახის ეფექტებს გულსა და სისხლძარღვებზე. ნორმალური არტერიული წნევის მქონე ჯანმრთელ ადამიანში ბეტა-ბლოკატორების ჩვეულებრივი დოზები ჰიპოტენზიას იწვევს. ზოგიერთი ბეტა ბლოკატორი, როგორცაა პროპრანოლოლი, გამოიყენება ხანგრძლივი რეაბილიტაციის პერიოდში, ტრამვის შედეგად წამოქმნილი ემოციების სამკურნალოდ. იგი ამცირებს ნერვულ აშლილობებს [11].

1.5 კაპილარული ელექტროფორეზი

მინიატურიზაცია ერთ-ერთი ყველაზე მნიშვნელოვანი მიმართულებაა დაყოფის მეცნიერებაში. ბოლო წლებში ამ მიმართულებით შემოთავაზებულ იქნა მინიატურიზაციის სხვადასხვა ტექნოლოგიები. მათ შორის უმნიშვნელოვანესია კაპილარული ელექტროფორეზი. ის შედარებით ახალი დარგია, ამ მეთოდით ენანტიომერული ნარეგების (ამინომჟავების) დაყოფის პირველი მაგალითი 1985 წელს აღწერილ იქნა ზარეს ჯგუფის მიერ [21]. მიუხედავად ხანმოკლე ისტორიისა, დღეს ეს მეთოდი ენანტიომერების ანალიზური დაყოფის ერთ-ერთ ძირითად ხერხს წარმოადგენს. მის უპირატესობებს მიეკუთვნება დაყოფის მაღალი ეფექტურობა, ნიმუშის მცირე რაოდენობით გამოყენების შესაძლებლობა, მეთოდის მოქნილობა, ანალიზის შედარებით მცირე დრო და დაბალი ღირებულება. [18; 20; 23].

ძვირადღირებული სვეტების ნაცვლად შეგვიძლია გამოვიყენოთ კვარცის კაპილარები. ამ მეთოდის გამოყენებით შესაძლებელია, ისეთი ნივთიერებების დაყოფა, რომელთა დაყოფაც საერთოდ შეუძლებელია ან გართულებულია გაზური, ან სითხური ქრომატოგრაფიის გამოყენებით [15].

კაპილარული ელექტროფორეზი ეს არის დამუხტული ნაწილაკების გადაადგილება ელექტრონული ველის გავლით. მისი საშუალებით შეიძლება განისაზღვროს საკვლევი ნაწილაკის ზომა, გეომეტრიული ფორმა და მუხტი. ენანტიომერების დაყოფა ეფუძნება ენანტიოსელექტიურ არაკოვალენტურ მოლეკულათშორის ურთიერთქმედებას საანალიზო ნივთიერებასა და ქირალურ სელექტორს შორის (ნახ.2) [29; 131].

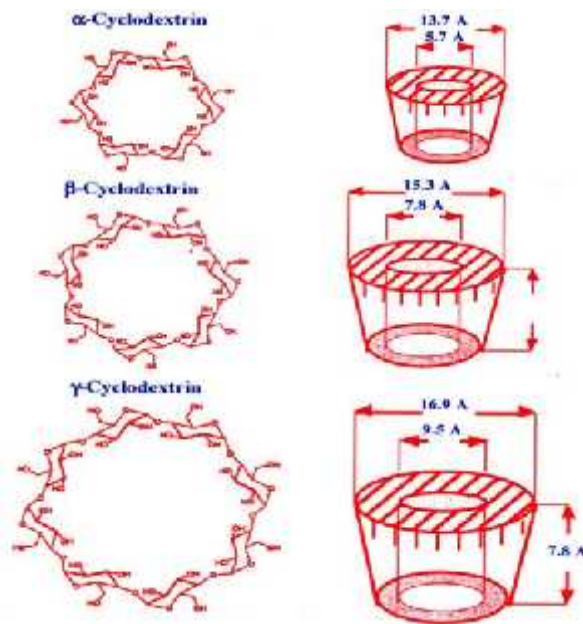


ნახ. 2 დიმეთინდენი- Dimethindene maleate აქირალური გარემო- (ბუფერი) (ა), ქირალური გარემო - ბუფერში გახსნილი ბეტა-ციკლოდექსტრინი (ბ)

კაპილარულ ელექტროფორეზში ქირალურ სელექტორად ყველაზე ფართოდ გამოიყენება ციკლოდექსტრინები და მათი ნაწარმები. პირველად ფრანგმა მეცნიერმა ვილიერსმა ციკლოდექსტრინები მიიღო კარტოფილის სახამებლისაგან, ხოლო ფროიდენბერგმა და ჯაკობმა სუფთა სახით გამოიყვეს და β ციკლოდექსტრინები. მათ მიერ იქნა ასევე შესწავლილი კრისტალური დექსტრინი, რომელსაც დექსტრინი უწოდეს. 1936 წელს ამავე ჯგუფის მიერ იქნა გამოთქმული ვარაუდი , β და დექსტრინების ციკლური სტრუქტურის შესახებ. ეს ჰიპოთეზა მოგვიანებით ექსპერიმენტულად შემოწმებულ იქნა ფროიდენბერგისა და მეიერ-დელიუსის მიერ. ციკლოდექსტრინის გამოყენება კაპილარულ ელექტროფორეზში პირველად აღწერილ იქნა ტერაბეს მიერ ორთო, მეტა და პარა-იზომერების დასაყოფად. მოგვიანებით კარგერის ჯგუფმა აღწერა ქირალური კაპილარული ელექტროფორეზული დაყოფები ციკლოდექსტრინის შემცველი პოლიაკრილამიდის გელით შევსებული კაპილარებით, ხოლო ფანალიმ მიიღო ქირალური დაყოფები კაპილარულ ელექტროფორეზში ბუფერში ციკლოდექსტრინის დამატებით. დღეისათვის ციკლოდექსტრინები და მათი ნაწარმები არის ფართოდ გამოყენებული ქირალური სელექტორები კაპილარულ ელექტროფორეზში [16].

ციკლოდექსტრინები წარმოადგენს ქირალურ, ნეიტრალურ, ციკლურ ოლიგოსაქარიდებს, რომლებშიც -D-გლუკოპირანოზის ნაშთები შეკავშირებული -1,4-ბმებით. ქირალური ნივთიერების დაყოფისათვის გამოიყენება , β და

ციკლოდექსტრინები. მათ შორის განსხვავება ზომებშია, რომელიც განპირობებულია გლუკოპირანოზული ნაშთების რიცხვით (ნახ. 3) [17-18].



ნახ. 3 , 6 და ციკლოდექსტრინები

ციკლოდექსტრინები ენანტიომერულ ანალიზში წარმოადგენს საუკეთესო ქირალურ სელექტორებს მათი სტრუქტურული თავისებურებებიდან გამომდინარე. ციკლოდექსტრინებს გააჩნიათ მკვეთრად ჩამოყალიბებული ჰიდროფილური და ჰიდროფობური უბნები. მათ გარე ზედაპირზე არსებული შედარებით პოლარული ჰიდროქსილის ჯგუფები წარმოადგენს ხელსაყრელ ცენტრებს მოლეკულათშორისი წყალბადური ბმების წარმოქმნისათვის და გარდა ამისა, განაპირობებს ციკლოდექსტრინების ხსნადობას წყალში. ასევე მნიშვნელოვანია ციკლოდექსტრინების შიდა ღრუ გარშემორტყმული წყალბატომებითა და გლიკოზიდური ჟანგბატომებით, რომელიც ჰიდროფობურ გარემოს განაპირობებს. ციკლოდექსტრინის თითოეული D-გლუკოპირანოზის ნაშთი, რომლისგანაც მაკროციკლია აგებული, შეიცავს 5 ქირალურ ნახშირბადატომს. ეს განაპირობებს ციკლოდექსტრინში ქირალური ცენტრების მაღალ სიმკვირვეს და საფუძვლად უდევს ქირალურ მოლეკულებთან მოლეკულათშორისი კომპლექსების სტერეოსელექტიურ წარმოქმნას [22].

1.6 ქრომატოგრაფია

ქრომატოგრაფია - დინამიურ პირობებში ნივთიერებათა ნარევების დაყოფისა და ანალიზის ფიზიკურ-ქიმიური მეთოდია. ქრომატოგრაფიის მეთოდი დაფუძნებულია საანალიზო კომპონენტების მოძრაობის ფაზის ნაკადით უძრავი ფაზის გასწვრივ გადაადგილებასა და მასში სხვადასხვაგვარ განაწილებაზე. ქრომატოგრაფიის მეთოდით ხდება მოლეკულების დაყოფის პროცესი დიფერენციალური მიგრაციის გზით.

ქრომატოგრაფია გამოიყენება პრაქტიკულად ყველა ნივთიერების გამოკვლევისთვის აირად, თხევად თუ მყარ მდგომარეობაში.

დაყოფა გამოწვეულია სხვადასხვა ნივთიერებების განსხვავებული განაწილებით მოძრავ და უძრავ ფაზას შორის. უძრავი ფაზა წარმოადგენს მყარ ნივთიერებას განვითარებული ზედაპირით, ან სითხეს დაფენილს მყარ სარჩულზე, რომელიც მოთავსებულია სვეტში ან დაფენილია ჰორიზინტალურ ფირფიტაზე, ხოლო მოძრავი ფაზა შეიძლება იყოს აირის ან სითხის ნაკადი, რომელიც მოძრაობს უძრავი ფაზის ფენაში, ახდენს საანალიზო ნივთიერებების გადატანას მის გასწვრივ და უზრუნველყოფს მათ დაყოფას. მოძრავი ფაზის უწყვეტად გადაადგილების გამო, ქრომატოგრაფიული პროცესი ემყარება საანალიზო ნივთიერებების ზემოაღნიშნულ ორ ფაზას შორის წონასწორული განაწილების მუდმივ დარღვევასა და მის ხელახალ აღდგენას. ადგილი აქვს უძრავ ფაზაზე კომპონენტების მუდმივ ადსორბციას და დესორბციას. ადსორბციის და დესორბციის სიჩქარეებს შორის სხვაობა წარმოადგენს ქრომატოგრაფიული დაყოფის საფუძველს, რაც საბოლოოდ საანალიზო ნიმუშის ნარევის დაყოფას იწვევს.

ქრომატოგრაფია არსებობს 100 წელზე მეტია. კვლევის ქრომატოგრაფიულ მეთოდებს საფუძველი ჩაუყარა ბოტანიკოსმა მიხეილ ცვეტმა [12]. 1903 წელს მან გამოაქვეყნა ნაშრომი ვარშავის უნივერსიტეტში შესრულებული კვლევის შესახებ, რომელშიც აღწერილი იყო ფოთლის ექსტრაქტიდან გამოყოფილი პიგმენტების დაყოფა. პიგმენტების დასაყოფად მან გამოიყენა ცარცით შევსებული სვეტი. მის მიერ გასული საუკუნის დასაწყისში აღმოჩენილი ქრომატოგრაფიის მეთოდის ძირითად თავისებურებას წარმოადგენდა მისი მაღალი მგრძობიარობა, სელექტივობა და უნივერსალობა [12]. 1952 წელს არჩერ ჯ.პ. მარტინის და რიჩარდ ლ.მ. სინჯის შრომებს ქრომატოგრაფიაში მიენიჭათ ნობელის პრემია. მე-20 საუკუნის 60-იანი წლებიდან დაიწყო გაზური ქრომატოგრაფიის მეთოდის გამოყენება. გოლეიმ 1956 წელს გაზ-ქრომატოგრაფიაში გამოიყენა პირველად კაპილარული სვეტი. 1970-იანი წლებიდან გამოყენებული იქნა სითხური ქრომატოგრაფიის მეთოდებიც [13].

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

ქრომატოგრაფიული პროცესები ხორციელდება სპეციალური ხელსაწყოთა, ქრომატოგრაფის საშუალებით. ქრომატოგრაფიულ სვეტში ხდება საანალიზო ნარევის შემადგენელ კომპონენტებად დაყოფა. დაყოფილი კომპონენტები მოძრავი ფაზის საშუალებით შედის დეტექტორში. დეტექტორის ფუნქციაა მოახდინოს საანალიზო ნარევის თითოეული კომპონენტის რეგისტრაცია დროში მისი კონცენტრაციის (ან სხვა პარამეტრი) ცვლილების შესაბამისად. დეტექტორის სიგნალი ჩაიწერება თვითჩამწერზე ქრომატოგრამის სახით. ქრომატოგრამა წარმოადგენს ტალღოვან მრუდს, რომელზეც მიღებული პიკების რაოდენობა შეესაბამება დაყოფილი კომპონენტების რაოდენობას [13].

1.7 ქრომატოგრაფიული მეთოდები

დღეისათვის ცნობილია ქრომატოგრაფიული მეთოდები, რომლებიც გამოყენება ქირალური ნივთიერებების ანალიზისთვის. როგორცაა, გაზური ქრომატოგრაფია, ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფია, და მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფია.

ქრომატოგრაფიული მეთოდები განიხილება, როგორც ყველაზე მთავარი მეთოდები ქირალური ნივთიერებების ენანტიომერების დაყოფისათვის. არსებობს ენანტიომერული ანალიზის სხვადასხვა მეთოდები, მათ შორის პოლარიმეტრია, ბირთვულ-მაგნიტური რეზონანსი, კალორიმეტრია და სხვ. თუმცა, ყველა ამ ტექნიკის ნაკლოვანება არის ის, რომ საჭიროებენ სუფთა ქირალურ ნიმუშებს, რომელთა ღირებულება საკმაოდ მაღალია, ხოლო უპირატესობა - შესაძლებელია ზოგჯერ მარცხნივ მბრუნავი და მარჯვნივ მბრუნავი ენანტიომერის იდენტიფიკაცია.

1.7.1 გაზური ქრომატოგრაფია

1966 წელს პროფესორმა გილ-ავმა (Gil-Av) თანაავტორებთან ერთად პირველად განახორციელა ენანტიომერული ნარევის დაყოფა გაზური ქრომატოგრაფიის მეთოდის გამოყენებით. მაშინდელი ექსპერიმენტული ანალიზი მცირედ განსხვავდება დღევანდელისაგან [14].

გაზ ქრომატოგრაფია გამოიყენება ისეთი ნარევების დასაყოფად, რომლის კომპონენტებიც აირადია ან დაუშლელად გადადიან ორთქლის მდგომარეობაში. აირადი მოძრავი ფაზა დაყოფის პროცესში საანალიზო ნივთიერების უძრავი ფაზის გასწვრივ გადამტანის როლს ასრულებს და შედარებით ნაკლებად მონაწილეობს თვით დაყოფის პროცესში. საანალიზო ნიმუშის გადატანას ახდენს აირი, რომელიც წარმოადგენს მოძრავ ფაზას და ურთიერთქმედებაში არ შედის არც საანალიზო ნივთიერებასთან. საყურადღებოა, მოძრავი ფაზის სისუფთავე, ღირებულება და უსაფრთხოება. მოძრავ ფაზად გამოიყენება აზოტი, წყალბადი, ჰელიუმი, არგონი. აზოტი ხელმისაწვდომი და უსაფრთხო აირია. წყალბადი ძლიერ ფეთქებადია, ამიტომ იზღუდება მისი გამოყენება. ჰელიუმი მიუხედავად იმისა, რომ უსაფრთხოა, მისი გამოყენება შეზღუდულია შედარებით მაღალი ღირებულების გამო. არგონის გამოყენებისას საყურადღებოა მისი სისუფთავის ხარისხი [15].

გაზური ქრომატოგრაფია ძირითადად გამოიყენება დაბალი მოლეკულური მასის მქონე აქროლადი ნივთიერებებისთვის, ხოლო მაღალი მოლეკულური მასის მქონე არააქროლადი ნივთიერებებისთვის გამოიყენება იმ შემთხვევაში, თუ მოვახდენთ საკვლევი ნივთიერების დერივატიზაციას და აქროლად ფორმაში გადაყვანას [16].

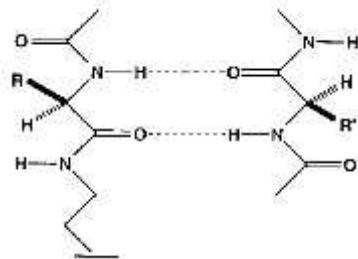
უძრავი ფაზის ბუნებიდან გამომდინარე გაზქრომატოგრაფია იყოფა: გაზ-ადსორბციულ და გაზ-თხევად ქრომატოგრაფიად. გაზ-ადსორბციულ ქრომატოგრაფიაში უძრავ ფაზად გამოყენებულია ადსორბენტი, ხოლო გაზ-თხევად ქრომატოგრაფიაში სითხე, დაფენილი მყარ სარჩულზე. გაზ-ადსორბციულ ქრომატოგრაფიას იყენებენ ძირითადად აირების დასაყოფად დაბალ ტემპერატურაზე და დაბალ მოლეკულური ნივთიერებების დასაყოფად მაღალ ტემპერატურაზე. მას ფართოდ გამოიყენებენ აირადი და აქროლადი ნივთიერებების რაოდენობითი და თვისებითი ანალიზისათვის, ასევე მყარი ნივთიერებების ზედაპირის თვისებების ფიზიკურ-ქიმიური გამოკვლევებისათვის [17].

გაზ ქრომატოგრაფიით ენანტიომერების დაყოფა ხორციელდება ორი გზით: არაპირდაპირი, როდესაც ხდება საანალიზო ენანტიომერების ნარევის დერივატიზაცია ქირალური დანამატით სტანდარტული არაქირალური სტაციონალური ფაზის საშუალებით და პირდაპირი გზით, ენანტიომერების დაყოფა ხდება ქირალური სტაციონალური ფაზების გამოყენებით.

გაზური ქრომატოგრაფიის მეთოდის უპირატესობას წარმოადგენს ის, რომ მისი საშუალებით შესაძლებელია ერთი ანალიზის მიმდინარეობისას განხორციელდეს როგორც ქირალური, ასევე აქირალური მინარევების დაყოფაც [15].

ქირალური ნივთიერებების ენანტიომერების დასაყოფად გაზურ ქრომატოგრაფიაში გამოიყენება სამი ტიპის ქირალური სტაციონალური ფაზა.

- ამინომჟავების საფუძველზე მომზადებული სტაციონალური ფაზებით (ნახ.4)
- ქირალური მეტალკომპლექსების საფუძველზე მომზადებული სტაციონალური ფაზებით
- ციკლოდექსტრინების საფუძველზე მომზადებული სტაციონალური ფაზებით.



ნახ. 4 ამინომჟავების საფუძველზე ქირალური სტაციონალური ფაზა

გაზ ქრომატოგრაფიის უპირატესობას წარმოადგენს მცირე რაოდენობის ნიმუშის საჭიროება, რთული ნარევის დაყოფის შესაძლებლობა და ანალიზის მცირე დრო. გაზქრომატოგრაფიის ნაკლოვანებას კი ის ფაქტი, რომ ეს მეთოდი მხოლოდ აქროლადი და თერმოსტაბილური ნივთიერებების ანალიზისათვის გამოიყენება [16].

1.7.2 ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფია

ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფია წარმოადგენს გაზურ და სითხურ ქრომატოგრაფიის ჰიბრიდს. ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფიაში ენანტიომერების დასაყოფად გამოიყენება ისეთი აირი ისეთ მდგომარეობაში, როდესაც მისი წნევა და ტემპერატურა თერმოდინამიკული კრიტიკული წერტილის ზევით არის.

(ცხრილი1)

აირი	კრიტიკული ტემპერატურა	კრიტიკული წნევა/ატმ
CO ₂	31.3	72.9

N ₂ O	36.5	71.7
NH ₃	132.5	112.5
ნ-ბუტანი	152.0	37.5

ცხრილი 1. ზეკრიტიკული ელუენტების ძირითადი მახასიათებლები

ყველაზე ფართოდ ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფიაში ელუენტად გამოიყენება ნახშირორჟანგი - CO₂, რომელიც არის ეკოლოგიურად უსაფრთხო აირი და ადვილია მისი ზეკრიტიკულ მდგომარეობაში გადაყვანა [18-19].

აღსანიშნავია, რომ ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფიაში გამოიყენება იგივე სვეტები, რომლებიც გამოიყენება მაღალეფექტურ სითხურ ქრომატოგრაფიაში. ძირითადად პოლისაქარიდული ქირალური სტაციონალური ფაზები, თუმცა გამოიყენება ასევე მაკროციკლური ანტიბიოტიკური ქირალური სტაციონალური ფაზებიც.

1.7.3 მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფია

სითხური ქრომატოგრაფია XX საუკუნის 60-იანი წლებიდან ვითარდება. მოკლე დროში იგი გახდა ორგანულ ნივთიერებათა დაყოფისა და ანალიზის საყოველთაოდ აღიარებული მეთოდი. უფრო მოგვიანებით, განვითარება დაიწყო მაღალეფექტურმა სითხურმა ქრომატოგრაფიამ, რომელმაც გამოყენების ტემპით არა მხოლოდ შეცვალა კლასიკური სვეტური, თხელფენოვანი და ქაღალდის ქრომატოგრაფია, არამედ საგრძნობლად ჩამოიტოვა უკან გაზური ქრომატოგრაფიაც. მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფიის სწრაფი განვითარება განაპირობა საკვლევი ნივთიერებების მოლეკულური მასების ფართო სპექტრმა. მესქ-ზე შესაძლებელია დაიყოს პოლიმერების საკმაოდ რთული მაკრომოლეკულები, ცილები, ნუკლეინის მჟავები და სხვა რთული ნაერთები. ამასთანავე თითქმის ყველა დაყოფა შეიძლება ჩატარდეს ოთახის ტემპერატურასთან ახლოს, ჰაერთან კონტაქტის გარეშე, რაც ძალზე მნიშვნელოვანია ლაბილური ნაერთების, კერძოდ, ბიოლოგიურად აქტიური ნივთიერებების და ბიოპოლიმერების კვლევისას [30].

1848 წელს ქირალობაზე ჩატარებულმა ექსპერიმენტებმა ფრანგ მიკრობიოლოგის ლუი პასტერის მიერ, ვინც ხელით დაყო ღვინის მჟავას ნატრიუმ-ამონიუმის მარილის კრისტალები, დასაბამი დაუდო მოლეკულური ქირალობის კვლევას. 1970-იან წლებში დავანკოვმა და როგოჟინმა მოახდინეს ამინომჟავების დაყოფა სითხური ქრომატოგრაფიის მეთოდით [26].

ამავე წლებში ბლანშემ და დონოვმა გამოიყენეს ქირალურ სტაციონალურ ფაზებად ქირალური სინთეზური პოლიაკრილამიდი. 1980-90-იანი წლებიდან კი

გამოიყენეს სხვა ქირალური სელექტორები, მათ შორის ციკლოდექსტრინები და ქირალური სინთეზური პოლიმერები [27-28].

დღეისათვის სითხურ ქრომატოგრაფიას გამოიყენებენ ანალიზური და პრეპარატიული დაყოფის მიზნით. მის უპირატესობას წარმოადგენს, ის რომ ეს მეთოდი არააქროლადი და თერმოლაბილური ნივთიერებების ანალიზის საშუალებას იძლევა [29].

1.8 ქრომატოგრაფიული დაყოფის პარამეტრები

ინსტრუმენტული ანალიზის მეთოდებიდან აღსანიშნავია ქრომატოგრაფიული დაყოფის მეთოდები, რომელიც დამყარებულია ნარევის შემადგენელი კომპონენტების განსხვავებული განაწილების უნარზე მოძრავ და უძრავ ფაზებს შორის. უძრავ ფაზას უწოდებენ სტაციონარულ ფაზას. ნიმუშის კომპონენტები მოძრაობენ ქრომატოგრაფიულ სისტემაში მხოლოდ მაშინ, როდესაც ისინი არიან მოძრავ ფაზაში [32].

ქრომატოგრაფიული ნიმუში ჯერ იხსნება მოძრავ ფაზაში, რომელიც შეიძლება იყოს აირი, სითხე ან ზეკრიტიკული წნევის მქონე სითხე. შემდეგ კი ხდება მოძრავი ფაზის გატარება უძრავ, შეურევად სტაციონალურ ფაზაზე. ფაზების შერჩევა ხდება ისე, რომ საანალიზო კომპონენტებს ჰქონდეთ განსხვავებული სწრაფვა სხვადასხვა ფაზის მიმართ. საანალიზო კომპონენტის ფაზებს შორის განაწილება, შეიძლება აღიწეროს საკმაოდ მარტივად. საანალიზო კომპონენტი წონასწორობაშია ორ ფაზას შორის:

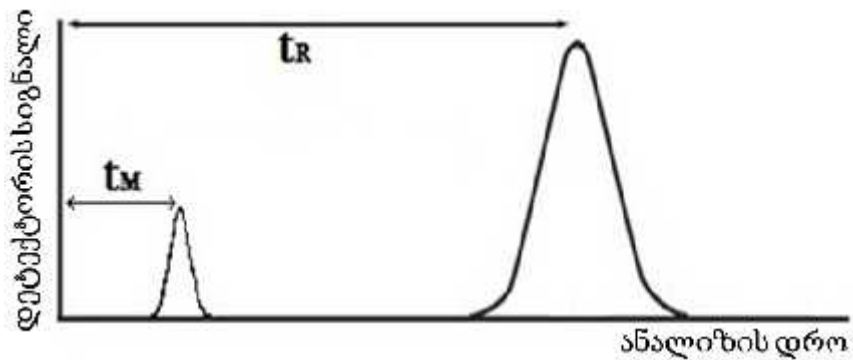
$$A_{\text{მოძრავი}} \rightleftharpoons A_{\text{სტაციონალური}}$$

წონასწორობის მუდმივა - K წარმოადგენს განაწილების კოეფიციენტს; ის იზომება სტაციონალურ ფაზაზე აღსორბირებული საანალიზო კომპონენტის მოლურ კონცენტრაციის ფარდობით მოძრავ ფაზაში არსებულ საანალიზო კომპონენტის მოლურ კონცენტრაციასთან. ამ პრინციპს წონასწორობის პრინციპი ეწოდება, მარტინისა და სინჯის მიერ მიღებული ფორმულა კი გამოისახება შემდეგნაირად:

$$K = \frac{C_s}{C_m} \quad \text{განტ. (1)}$$

სადაც C_s გახსნილი ნივთიერების კონცენტრაციაა მოძრავ ფაზაში, ხოლო C_m უძრავ ფაზაში.

დრო, რომელიც საჭიროა ნიმუშის ინიცირებიდან კომპონენტის დეტექტორამდე გადაადგილებისათვის, არის **შეკავების დრო (t_R)**. ნიმუშში შემავალ ყველა კომპონენტს მათი დაყოფის შემთხვევაში აქვს განსხვავებული შეკავების დრო. t_M წარმოადგენს მკვდარი მოცულობის შეკავების დროს, ანუ დროს როდესაც ნიმუში ელუირდება ქრომატოგრაფიულ სვეტზე შეკავების გარეშე (ნახ. 5).



ნახ. 5 ქრომატოგრაფიული პიკის მახასიათებელი

შეკავების ფაქტორი k' , A კომპონენტისთვის განისაზღვრება შემდეგი ფორმულით:

$$k'_A = t_R - t_M / t_M \quad (\text{განტ.2})$$

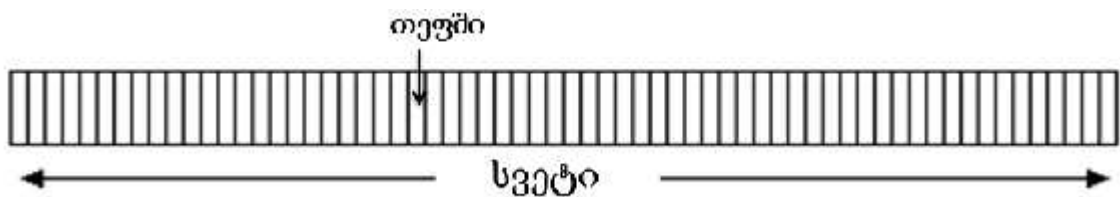
t_R და t_M ადვილად განისაზღვრება ქრომატოგრამიდან. იდეალურია, როდესაც k' , მნიშვნელობა 1-დან 5 მდეა [34].

სელექტივობა r , გვიჩვენებს, A და B კომპონენტების დაყოფას სვეტზე და გამოითვლება A და B კომპონენტის შეკავების ფაქტორების ფარდობით:

$$r = k'_B / k'_A \quad (\text{განტ.3})$$

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

თეფშების მოდელი გულისხმობს, რომ სვეტი შედგება დამყოფი შრეების დიდი რიცხვისაგან, ამ შრეებს თეორიული თეფშები ეწოდებათ. თეორიული თეფშების რიცხვი აღინიშნება N -ით. თეორიული თეფშების რაოდენობა, ქრომატოგრაფიული სვეტის ეფექტურობის მაჩვენებელია (ნახ. 6).



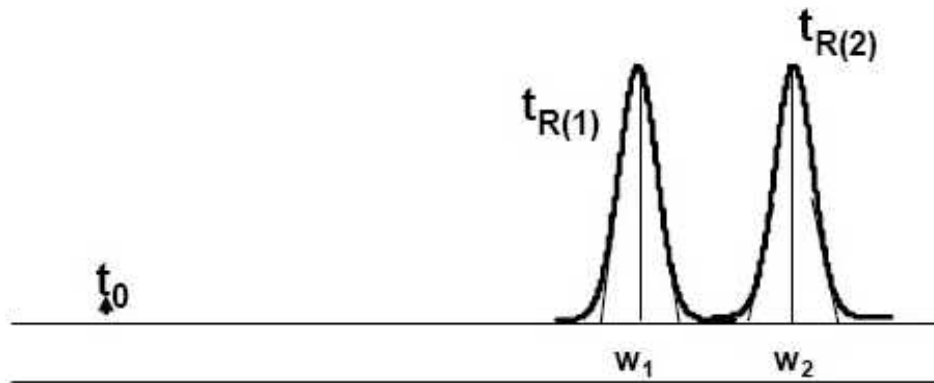
ნახ. 6 თეორიული თეფშების მოდელი

თეორიული თეფშების რიცხვი, გამოითვლება ფორმულით:

(განტ.4)

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

W - წარმოადგენს პიკის სიგანეს, იგი ასახავს პიკის დასაწყისის და ბოლოს გადაკვეთის შორის მანძილს, რომელიც ხშირად დროის ერთეულებში იზომება. (ნახ. 7) [35] .



ნახ. 7 ქრომატოგრაფიული პიკის მახასიათებლები

ზოგჯერ პიკის სიგანის ნაცვლად იყენებენ პიკის სიგანეს მის ნახევარ სიმაღლეზე - $W_{1/2}$, ამ შემთხვევაში, თეორიული თევშების რიცხვი გამოითვლება ფორმულით (განტ. 5) :

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

(განტ.5)

სვეტის ეფექტური მონაკვეთის სიგრძე (სმ, მმ), რომელზეც მეტად ხანმოკლედ დროით, მაგრამ მაინც მიიღწევა საკვლევი ნივთიერების კონცენტრაციის წონასწორობა მოძრავ და უძრავ ფაზებს შორის ეწოდება თეორიული თევშების ექვივალენტური სიმაღლე. თეორიული თევშების სიმაღლე გამოითვლება (განტ.6):

$$H = L/N \quad \text{(განტ.6)}$$

სადაც H - არის თეორიული თევშების ექვივალენტური სიმაღლე, L -ქრომატოგრაფიული სვეტის სიგრძე, N - თეორიული თევშების რიცხვი.

თეორიული თევშების რიცხვი დამოკიდებულია ძირითადად სვეტის სიგრძეზე, რაც მეტია სვეტის სიგრძე მით მეტია თეორიული თევშების რიცხვი. რაც მეტია

თეორიული თეფშების რიცხვი, მით ეფექტურია სვეტი, ასევე, რაც ნაკლებია თეორიული თეფშების სიმაღლე, მით მეტია ეფექტურობა. წონასწორული თეფშების მოდელი გამოიყენება ქრომატოგრაფიული სვეტების და ქრომატოგრაფიის აღსაწერად, თუმცა არ აჩვენებს პროცესის დროს მიმდინარე მოვლენებს. დაყოფის ხარისხი დამოკიდებულია სვეტის ეფექტურობაზე და გამოყენებული სორბენტის სელექტივობაზე. დაბალი სელექტივობა და ეფექტურობა იწვევს ნაწილობრივ დაყოფას. ექსპერიმენტის პირობების მიზანდასახული შეცვლა იწვევს დაყოფის ხარისხის გაუმჯობესებას [38].

გარჩევითობა (R_s) - წარმოადგენს ტევადობის ფაქტორის (k), სელექტივობის (α) და სვეტის ეფექტურობის (N) გაერთიანებულ გამოსახულებას (განტ. 7):

(განტ.7)

$$R_s = 1/4 \sqrt{N} \times \frac{\alpha - 1}{\alpha} \times \frac{k}{1+k}$$

თუ $\alpha = 1$ დაყოფა არ მოხდება, მაგრამ როდესაც $\alpha = 1.01$ უკვე შეიმჩნევა ნაწილობრივი დაყოფა. ასევე არ მოხდება დაყოფა როდესაც $k' = 0$ [39].

გარჩევითობა R_s გვიჩვენებს რამდენად ეფექტურადაა დაყოფილი კომპონენტები. ექსპერიმენტულად გარჩევითობა R_s -ის გამოთვლა შესაძლებელია შემდეგი ფორმულით (სურ.8) [45]:

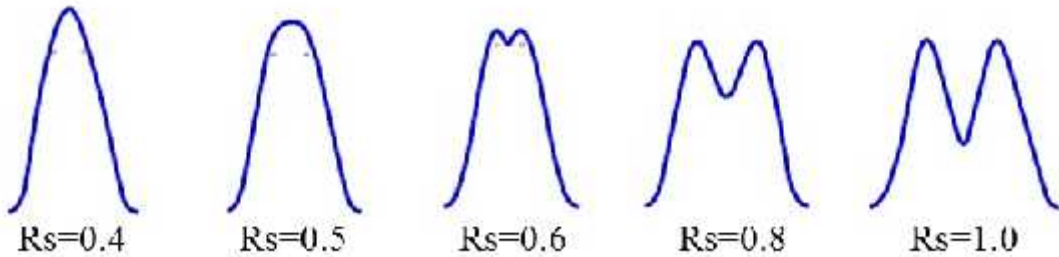
$$R_s = \frac{2(t_R)_B - (t_R)_A}{W_A + W_B} \quad (\text{განტ.9})$$

სადაც, W_A და W_B არის პიკის სიგანეები შესაბამისად.

ქრომატოგრაფიული დაყოფის ძირითადი თეორია აღწერილი იყო გაზური ქრომატოგრაფიისთვის. მოსალოდნელი იყო, რომ იგივე პრინციპები სწორი იქნებოდა მესქ -თვის. გარჩევითობა, R_s , აღწერილია პურნელის განტოლებით [41] თეორიული თეფშების რიცხვით - N , დაყოფის ფაქტორით - α , და შეკავების ფაქტორით k (განტ.10):

$$R_s = 0.25(N^{0.25})(\alpha - 1) \left(\frac{k}{k+1} \right) \quad (\text{განტ.10})$$

თუ $R \geq 1.5$, ადგილი აქვს სრულ დაყოფას, თუმცა შეიმჩნევა უმნიშვნელო გადაფარვა პიკების დაბოლოებებით. თუ $R < 1$, ადგილი აქვს არასრულ დაყოფას და საჭიროა მუშაობა წარიმართოს მისი გაუმჯობესების მიმართულებით (ნახ. 8) [38].



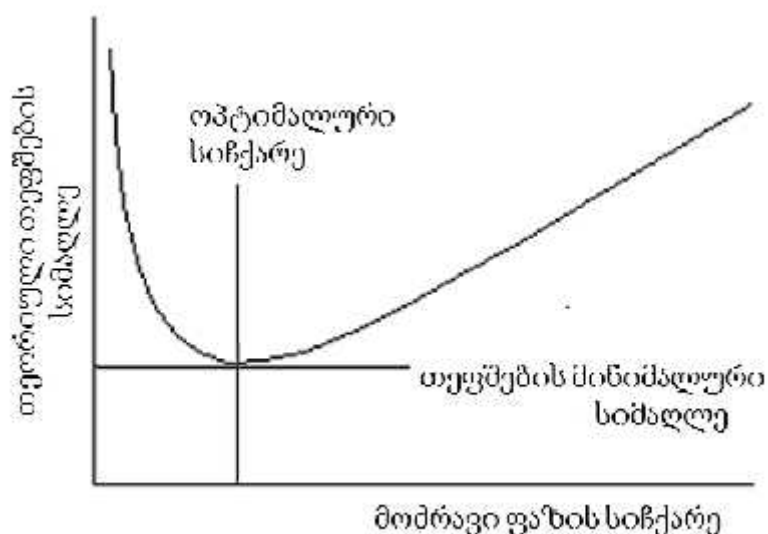
ნახ. 8 სხვადასხვა პიკის გარჩევითობა

ქრომატოგრაფიული ანალიზის მეთოდის დამუშავების პროცესში ძირითადად მნიშვნელოვანია გარჩევითობის მაქსიმალურად მაღალი მნიშვნელობის მიღწევა. ქრომატოგრაფიული გარჩევითობის გაზრდა შესაძლებელია მეთოდის ოპტიმიზაციის პროცესში, მაგალითისათვის შეგვიძლია გამოვიყენოთ უფრო გრძელ სვეტები, უფრო მცირე ნიმუშის მოცულობა, ასევე შევამციროთ ნაკადის სიჩქარე გარჩევითობის გაზრდის თვალსაზრისით [36].

1.9 ქრომატოგრაფიის კინეტიკური თეორია

ყოველ ნივთიერებას დამახასიათებელი სორბციული უნარი გააჩნია, რაც განაპირობებს მოცემულ სორბენტზე მათი გადაადგილების სიჩქარეებს შორის განსხვავებას. თუ ქრომატოგრაფიულ სვეტში შევიყვანთ საანალიზო ნივთიერების ნარევეს, თითოეული კომპონენტი გამოვა სვეტიდან სხვადასხვა დროს და მოხდება მათი დაყოფა შემადგენელ კომპონენტებად. ხშირად ქრომატოგრაფიულ სვეტში მოქმედებს უარყოფითი ფაქტორები, მათ შორის პიკის გაფართოება, რის გამოც ისინი ერთმანეთს მთლიანად ან ნაწილობრივ გადაფარავენ, რასაც მოსდევს დაყოფის გაუარესება. როდესაც მოძრავი ფაზის მიერ საანალიზო ნივთიერების მოლეკულები გადაიტანება სვეტის გასწვრივ, მათ თავისუფლად შეუძლიათ დიფუზია ნებისმიერი მიმართულებით. დიფუზიის სიჩქარე დამოკიდებულია ნივთიერების ქიმიურ თვისებებზე. გაზ ქრომატოგრაფიაში იგი დამოკიდებულია თვით აირად ფაზაზე და ტემპერატურაზე [38]. ქრომატოგრაფიის კინეტიკური ანუ სიჩქარის თეორიები ხსნიან სხვადასხვა ფაქტორების კინეტიკურ მონაწილეობას პიკის გაგანიერებაში. სვეტურ ქრომატოგრაფიაში პიკის გაფართოების დამოუკიდებელი შემადგენლებია გრიგალისებური დიფუზია, გასწვრივი დიფუზია და მასის გადატანა [40].

1956 წელს ვან დეემეტრმა ჩამოაყალიბა ქრომატოგრაფიული პროცესის კინეტიკური ანუ სიჩქარის თეორია. იგი წარმოადგენს თეორიული თეფშების სიმაღლისა და ელუენტის ხაზოვან სიჩქარეს შორის დამოკიდებულებას (ნახ. 9). ეს დამოკიდებულება განსაზღვრული იყო პირველად გაზური ქრომატოგრაფიისათვის, რადგან იგივე ფიზიკურ პროცესს აქვს ადგილი მესქ-ში, ამიტომ სიჩქარის თეორია გამოიყენება მესქ-შიც [37].



ნახ. 9 ვან დეემტერის ტიპური მრუდი

ვან-დეემტერის განტოლებას აქვს შემდეგი სახე:

$$H = A + B / u + C u \quad (\text{განტ.11})$$

სადაც A წევრი – გრიგალისებური დიფუზიაა. მოძრავი ფაზა გადაადგილდება სვეტში, რომელიც შევსებულია სტაციონალური ფაზით. ნიმუშის ზოგიერთი მოლეკულა სვეტს გაივლის სწორხაზოვნად, ზოგი კი სხვადასხვა გადახვევას განიცდის. სვეტში გასწვრივი დინების არაერთგვაროვნების გამო საკვლევი ნივთიერების მოლეკულები სხვადასხვა მანძილებს გადიან. გრიგალისებური დიფუზიის და დინების არაერთგვაროვნების ეფექტი მნიშვნელოვანია, როცა სვეტი არ არის თანაბრად შევსებული მცირე დიამეტრის მქონე ნაწილაკებით.

B წევრი - გასწვრივი დიფუზია. ნიმუშის კონცენტრაცია სვეტში გადანაწილებულია ისე, რომ მის ცენტრში უფრო მეტია, ვიდრე გვერდებზე. შესაბამისად, ეს იწვევს პიკის გაგანიერებას.

C წევრი - მასის გადატანის წინააღმდეგობა. ამ ეფექტის სიდიდე მნიშვნელოვნად არის დამოკიდებული მოცულობით სიჩქარეზე. მოცულობითი სიჩქარის შემცირება და ვიწრო ფორები (ღია ფოროვანი სტრუქტურა) ამცირებს მასის გადატანის მიმართ წინააღმდეგობას. u კი მოძრავი ფაზის სიჩქარეა [37].

1.10 აპარატურა მაღალეფექტურ სითხურ ქრომატოგრაფიაში

მაღალეფექტური სითხურ ქრომატოგრაფი შემდეგი ძირითადი მოდულებისაგან შედგება: გამხსნელების შემრჩევი მოწყობილობა, ტუმბო, ავტოსემპლერი-(ინჯექტორი),

სვეტების თერმოსტატი, დეტექტორი, მონაცემთა დამუშავების და ჩამწერი მოწყობილობა [46].

ინჯექტორის ფუნქციაა მოახდინოს ნიმუშის ინიცირება ქრომატოგრაფიულ სვეტში. ინიცირებისას ხდება მცირე მოცულობის საანალიზო ნიმუში გადატანა სვეტის საწყის წერტილში. არსებობს ხელის და ავტომატორი ინჯექტორი. ავტომატური ინჯექტორის უპირატესობას წარმოადგენს ნიმუშის შეყვანა რაოდენობის ფართო ზღვრებში (1-100 მკლ) მაღალი სიზუსტით, თუმცა ანალიზური დაყოფებისას სასურველია სვეტში ინიცირებული ნიმუშის მოცულობა იყოს მინიმალური [43].

ქრომატოგრაფიული სვეტი ითვლება ხელსაწყოს ძირითად ნაწილად. ნებისმიერი წარმატება თუ წარუმატებლობა თითქმის მათზეა დამოკიდებული. მესქ-ში ძირითადად გამოიყენება უჟანგავი ლითონისაგან დამზადებული სვეტები, რომლებიც შევსებულია ანალიზისთვის საჭირო შესაბამისი ფაზით. ქრომატოგრაფიული ადსორბენტის სვეტში შეკავების მიზნით სვეტის ორივე მხარე დახურულია 1-2მკმ ფორების დიამეტრის მქონე ფილტრით, რომლის დანიშნულებაა სვეტში შესასვლელად მოძრავი ფაზის და სინჯის თანაბარი განაწილება [50]. სვეტების სიგრძე ვარირებს 5 სმ-დან 25 სმ-მდე ანალიზური მეთოდებისათვის, ხოლო 2-ჯერ და მეტჯერ დიდი დიამეტრის სვეტები გამოიყენება ნახევრადპრაქტიკული და პრაქტიკული დაყოფებისათვის. პრაქტიკაში იყენებენ ასევე მიკროსვეტებს 5-10სმ სიგრძით. ზოგჯერ გამოიყენებენ კაპილარულ სვეტებსაც [44].

მესქ-ში გამოიყენება ულტრაისფერი, რეფრაქტომეტრული, ფლუორესცენტული, ელექტროქიმიური, მასს-სპექტრომეტრული, სინათლის განზნევის და სხვ. დეტექტორები. ყველაზე ფართო გამოყენება მესქ-ში აქვს ულტრაისფერ-ხილულ დეტექტორებს, რომელიც კიუვეტაში გამავალი ხსნარის მიერ სინათლის აბსორბციას აფიქსირებენ [50]. ეს დეტექტორები გამოდგება მხოლოდ ისეთი ნივთიერებებისათვის, რომელთაც შეუძლიათ სინათლის შთანთქმა 190-390 ნმ ტალღის სიგრძის უბანში [47]. არსებობს ულტრაისფერი ერთტალღიანი, მრავალტალღიანი, დიოდური დეტექტორები. მესქ-ში აგრეთვე გამოიყენება რეფრაქტომეტრული დეტექტორები. რეფრაქტომეტრული დეტექტორი არის უნივერსალური, რადგან დეტექტირება ხდება გარდატეხის მაჩვენებლის მიხედვით. მათი მუშაობის პრინციპი დაფუძნებულია მოძრავი ფაზის და მასში შერეულ საანალიზო ნივთიერებას შორის გარდატეხის მაჩვენებლის სხვაობაზე. როდესაც სინათლის ნაკადი გადის რეფრაქტომეტრის მგრძნობიარე უჯრედში, რომელშიც მოთავსებულია მუშა და შესადარებელი კიუვეტები, შევსებული ორი სხვადასხვა გარდატეხის მაჩვენებლის მქონე სითხით, სინათლის სხივის გარდატეხა ხდება ამ სითხეების გარდატეხის მაჩვენებლებს შორის სხვაობის შესაბამისად. სპეციალური მგრძნობიარე ფოტოდეტექტორი სინათლის ნაკადის პროპორციულად გამოსცემს ელექტრულ სიგნალს, რომელიც ძლიერდება და გადაეცემა თვითჩამწერს. სითხის გარდატეხის მაჩვენებელი მეტად მგრძნობიარეა ტემპერატურის ცვლილების მიმართ, და ამიტომ მუშა და შესადარებელ კიუვეტაში გამავალ ნაკადებს ერთნაირი ტემპერატურა უნდა ჰქონდეთ. წინააღმდეგ შემთხვევაში ადგილი აქვს ხმაურის მაღალ დონეს და ნულოვან ხაზის დრეიფს [52]. ფლუორესცენტული დეტექტორი გამოიყენება ისეთი ნივთიერებების დეტექტირება, რომელსაც გააჩნია ფლუორესცენციის უნარი. მესქ-ში გამოიყენებენ მას-სპექტრომეტრულ დეტექტორებს, რომელთაც მაღალი მგრძნობიარობა გააჩნიათ [48].

დამატებითი მოდულებიდან აღსანიშნავია სვეტების თერმოსტატი, რომელშიც შეიძლება მოთავსდეს ორი, ან მეტი სვეტი და მოხდეს მათი შორის ავტომატური გადართვა. სვეტის ტემპერატურა მნიშვნელოვანია გაზურ ქრომატოგრაფიაში, ხოლო მესქ-ში ძირითადად გამოიყენება ანალიზების სტაბილურობის და განმეორებადობის გასაზრდელად. უკანასკნელი წლების გამოკვლევები მიუთითებს, რომ ტემპერატურა, მნიშვნელოვან გავლენას ახდენს ენანტიომერების დაყოფაზე [49-62].

თავდაპირველად, დეტექტორის სიგნალების ჩასაწერად გამოიყენებოდა თვითჩამწერები, შემდეგ ინტეგრატორები, რომლებიც გარდა ქრომატოგრამის ჩაწერისა, ახდენდნენ პიკების ინტეგრაციასაც. დღეისათვის უკვე მონაცემთა ჩაწერა, ხელსაწყო მართვა და მონაცემების დამუშავება ხდება სპეციალიზირებული კომპიუტერული პროგრამული უზრუნველყოფის საშუალებით. გამოყენებული პროგრამები შეიძლება დავყოთ ორ ჯგუფად: 1. „off-line” სისტემები, რომლებიც ავტომატურია და ძირითადად დამოუკიდებლად მუშაობენ. 2. „on-line” სისტემები, რომლებიც ავტომატურია და მუშაობენ ძირითად ხელსაწყოთან ერთად. „on-line” სისტემები, ინფორმაციას იღებენ უშუალოდ დეტექტორიდან და შუალედური ეტაპის გავლის გარეშე, რეალურ დროში გადასცემენ მართვის სისტემას. ანალიზის შედეგების მიღება და გამოთვლა ხორციელდება ძალიან სწრაფად, პრაქტიკულად ანალიზის დამთავრებისთანავე [47].

ტუმბო უზრუნველყოფს მოძრავი ფაზის მუდმივ დინებას ქრომატოგრაფიულ სვეტსა და დეტექტორში. მას ახასიათებს მოძრავი ფაზის მიმართ მაღალი ინერტიულობა, მაღალი წნევა, ნაკადის სიჩქარის მაღალი სტაბილურობა [48]. მესქ-ში გამოიყენება გრადიენტული და იზოკრატული ტუმბოები. იზოკრატული ტუმბოები იდეალურია ისეთ შემთხვევებში, სადაც არაა საჭირო მოძრავი ფაზის შემადგენლობის გრადიენტული ცვლილება ანალიზის მიმდინარეობისას. თანამედროვე სისტემებში გამოიყენება დეგაზატორები, რომელის ბლოკი ჩამონტაჟებულია უშუალოდ ტუმბოში.

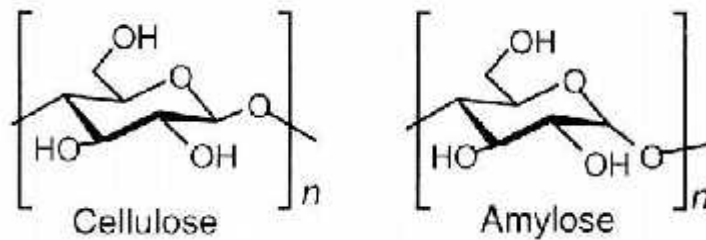
1.11 უძრავი ფაზები სითხურ ქრომატოგრაფიაში

უძრავი ფაზები სითხურ ქრომატოგრაფიაში წარმოადგენენ მყარ ნივთიერებებს ან სითხეებს, დაფენილს მყარ სარჩულზე, რომელზეც აღსორბირდება საკვლევი ნივთიერების მოლეკულები [67]. ენანტიომერების თხევადფაზური დაყოფებისათვის შეძლება გამოყენებულ იყოს ნებისმიერი დაბალი ან მაღალი მოლეკულური მასის მქონე ქირალური ნივთიერება, რომელსაც აქვს უნარი წარმოქმნას არაკოვალენტური მოლეკულათაშორისი ენანტიოსელექტიური კომპლექსი. უძრავი ფაზების მთავარ თვისებას უნდა წარმოადგენდეს, ის რომ შეგვეძლოს გამოყენება სხვადასხვა მოძრავი ფაზების მესქ-ში [68], როგორცაა პირდაპირი და შებრუნებული ფაზები, პოლარულ-ორგანული ფაზები და ზეკრიტიკული სითხეები. მნიშვნელოვანია აგრეთვე, რომ ქირალურ სტაციონალურ ფაზებს გააჩნდეს მრავალრიცხოვანი განსხვავებული სტრუქტურის მქონე ქირალური ნივთიერებების ენანტიოსელექტიური გამოცნობის უნარი [69]. დღეისათვის არსებობს პოლისაქარიდების საფუძველზე მომზადებული მრავალი ქირალური სორბენტები ენანტიომერების თხევადფაზური დაყოფისათვის [70].

ბუნებრივი პოლისაქარიდების ქირალური გამოცნობის უნარი დიდად არის დამოკიდებული მის წარმომავლობაზე. ბუნებრივი პოლისაქარიდები შეიძლება იყოს

კარტოფილის, სიმინდის, ბრინჯის, სხვადასხვა სახის ლობიოს ან სხვა მცენარიდან მიღებული სახამებლით წარმოებული. დღეისათვის ქირალური უძრავი ფაზების დიდი არჩევანი არსებობს. ლიტერატურაში 200-მდე ასეთი ფაზაა აღწერილი [71].

დასინთეზირებული ქირალური სტაციონალური ფაზებიდან გამორჩეული თვისებებით ხასიათდება პოლისაქარიდული ქირალური სტაციონალური ფაზები, ოპტიკურად აქტიური ბიოპოლიმერები, როგორცაა ცელულოზა და ამილოზას სურ. 10 ნაწარმები [70]. ცელულოზის შემთხვევაში ქირალურ სელექტორის მისაღებად გამოიყენება მიკროკრისტალური ცელულოზა, ხოლო ამილოზას შემთხვევაში ნატურალური ან ნახევრად-სინთეზური ამილოზა [79].

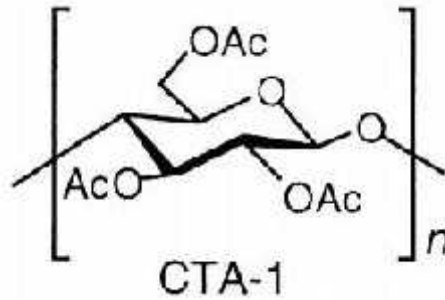


ნახ. 10 ცელულოზას და ამილოზას სტრუქტურული ფორმულები

პოლისაქარიდის ქირალურ სელექტორად გამოყენების პირველი მაგალითი აღწერილია 1951 წელს. იაპონელმა მეცნიერმა კოტაკემ გამოაქვეყნა შრომა ენანტიომერების დაყოფის შესახებ ქირალურ სელექტორად ცელულოზის გამოყენებით ქაღალდის ქრომატოგრაფიაში [72]. ათი წლის შემდეგ, აღწერილი იქნა ცელულოზის გამოყენება ქირალური კატეხინების დასაყოფად სვეტურ ქრომატოგრაფიაში [73].

მე-20 საუკუნის 60-იან წლებიდან ცელულოზას მრავალი ნაწარმი იქნა გამოყენებული ენანტიომერების დასაყოფად ქრომატოგრაფიაში [79]. შესწავლილი იქნა აგრეთვე ცელულოზას და ამილოზას ალკილ-, ციკლოალკილ- და არილ ნაწარმები [88].

პოლისაქარიდების როგორც ადსორბენტად გამოყენება ყველაზე კარგია სილიკაგელზე დაფენის შემთხვევაში. სილიკაგელი წარმოადგენს ერთ-ერთ ფართოდ გამოყენებულ სორბენტს სითხურ ქრომატოგრაფიაში. სილიკაგელს სხვადასხვა მეთოდებით დებულობენ, რის გამოც სხვადასხვაა მისი ზედაპირის pH, ფორების განაწილება ზომების მიხედვით და ხვედრითი ზედაპირი. სილიკაგელის ზედაპირი ხასიათდება სუსტი მჟავური თვისებებით, რის გამოც მასზე უპირატესად ადსორბირდება ფუძე თვისების მქონე ნივთიერებები. ადვილად ხორციელდება დაყოფა ფუნქციონალური ჯგუფების ტიპის და რაოდენობის მიხედვით. სუფთა სილიკაგელის გამოყენება თანდათან შემცირდა დღეს და უკვე გამოიყენება მოდიფიცირებული სორბენტები [74]. პრაქტიკული ღირებულების მქონე პოლისაქარიდული ქირალური ფაზები პირველად სინთეზირებული იყო ჰესესა და ჰაგელის მიერ 1973 წელს, მიკროკრისტალური ცელულოზის ტრიაცეტატის სახით (ცელულოზის ტრიაცეტატი) სურ. 11. [75; 95].



ნახ. 11 ცელულოზა ტრიაცეტატის სტრუქტურული ფორმულა

აღნიშნულმა ქირალურმა სტაციონალურმა ფაზამ აჩვენა ენანტიომერების დაყოფის საინტერესო თვისებები, რის გამოც ბევრი არომატული და ალიფატური ქირალური ნივთიერების ენანტიომერების დაყოფა გახდა შესაძლებელი [77]. ამ ნაშრომის გამოქვეყნების შემდეგ, ბლაშკემ და მისმა თანამშრომლებმა დაიწყეს ცელულოზას ტრიაცეტატის ინტენსიური შესწავლა ქირალური სამკურნალწამლო საშუალებების ენანტიომერების დასაყოფად, რომელთა მიღება სხვა გზით გართულებული იყო [78].

ენანტიომერების დასაყოფად პოლისაქარიდებზე დაფუძნებული ქირალური სელექტორების ოპტიმიზაცია, მაღალეფექტურ სითხურ ქრომატოგრაფიაში პირველად ჩატარდა 1980-იან წლებში. ძირითადი კვლევები მიმდინარეობდა იაპონიაში, ოკამოტოს ჯგუფის მიერ ოსაკას უნივერსიტეტში [76].

პოლისაქარიდული ფაზების მნიშვნელოვანი უპირატესობა, გარდა იმისა, რომ მათ მოსამზადებლად საჭირო პოლისაქარიდები, ხელმისაწვდომი არიან ბუნებაში, არის ის თვისება, რომ ადვილად შესაძლებელი გლუკოზის ბირთვში ჰიდროქსილის ჯგუფების სხვა ფუნქციური ჯგუფებით შეცვლა და ასევე შესაძლებლობა იმისა, რომ პოლისაქარიდული ფაზები გამოყენებულ იქნას ენანტიომერთა ფართო სპექტრის დასაყოფად [80]. 1980-1990-იან წლებში კვლევები ინტენსიურად მიმდინარეობდა, რომ მიეღოთ ახალი ტიპის ქირალურ სტაციონალურ ფაზები (ქსფ) [96-109].

დღეისათვის მუშაობა მიმდინარეობს, როგორც თვითონ ქირალური სელექტორის ოპტიმიზაციის, ასევე ინერტული სარჩულების, დაფენის და იმობილიზაციის მეთოდების გასაუმჯობესებლად [79]. სხვადასხვა პოლისაქარიდების, განსაკუთრებით ცელულოზის ნაწარმების ინტენსიურმა შესწავლამ, გამოავლინა კორელაცია მათ ქირალური გამოცნობის უნარსა და ელექტრონულ და სტრუქტურულ თვისებებს შორის. პოლისაქარიდების სხვადასხვა ნაწარმებიდან ძირითადად შესწავლილი იქნა ეთერული და ფენილკარბამატების ნაწარმები. აღმოჩნდა, რომ ორივე მათგანს გააჩნია უპირატესობა ნატივურ პოლისაქარიდებთან შედარებით, როგორც ქირალურ სელექტორები მესქ-ში [81-87].

ცელულოზის ბენზოატებისა და ფენილკარბამატებისათვის დადგენილ იქნა, რომ ბენზოატები, რომლებსაც გააჩნიათ ელექტრონდონორული ჩამნაცვლებლები, როგორცაა მეთილის ჯგუფი, მეტა ან პარა მდგომარეობაში აჩვენებენ უკეთეს ქირალური დაყოფის უნარს, ვიდრე ის ნაწარმები, რომელთაც გააჩნიათ ელექტრონაქცეპტორული ჩამნაცვლებლები, როგორცაა ქლორის ჯგუფი [81].

სინთეზირებული იქნა აგრეთვე ცელულოზის ფენილ-კარბონატული და ბენზოილფორმატული ნაწარმები, მაგრამ მათი ქირალური გამოცნობის უნარი ნაკლებია აღმოჩნდა ვიდრე ეთერული და ფენილკარბამატული ნაწარმების [89].

პოლისაქარიდების ფენილკარბამატების მიერ ენანტიომერების დაყოფის უნივერსალობის გაზრდის მიზნით ჭანკვეტადისა და თანამშრომლების მიერ შემუშავებული იქნა პოლისაქარიდების ისეთი ფენილკარბამატები, რომლებიც ერთდროულად შეიცავს როგორც ელექტროდონორულ, ასევე ელექტროაქცეპტორულ ჩამნაცვლებლებს [90].

კვლევები მიმდინარეობდა ასევე ამილოზის ფენილკარბამატებში მეთილისა და ქლორის ჩანაცვლებით მიღებული ქირალური სელექტორების სინთეზის მიმართულებით. აღმოჩნდა, რომ ეს ფაზები გამოირჩევა ქირალური გარჩევის მაღალი უნარით [92-93]. ამ კვლევებში დადგინდა, რომ პოლისაქარიდების ნაწარმების ქირალური გამოცნობის უნარისთვის მნიშვნელოვანია ცელულოზას და ამილოზას ფენილკარბამატებში ჩანაცვლებული ჯგუფების ბუნება და პოზიცია. ასევე შემჩნეული იქნა გარკვეული განსხვავება ცელულოზას და ამილოზას ფენილკარბამატების ნაწარმებს შორის ჩამნაცვლებლების ბუნების და მდებარეობის თვალსაზრისით. ყველაზე სასარგებლო ქირალური სელექტორები ორივე შემთხვევაში იყო ტრი(3,5-დიმეთილფენილკარბამატი)-ს ნაწარმები [2; 94]. ცელულოზა ტრი(3,5-დიმეთილფენილკარბამატი) დააფინეს სილიკაგელზე. პოლისაქარიდების ასეთ ახალ ნაწარმებს ენანტიომერული ნარევების დაყოფის განსაკუთრებით მაღალი უნარი გააჩნიათ და ისინი დღეისათვის იწარმოება ამერიკული კომპანია Phenomenex-ისა და იაპონური კომპანია Daicel-ის მიერ [91].

ცელულოზას და ამილოზას ფენილკარბამატების ნაწარმებში არსებობს შიგამოლეკულური წყალბადური ბმები მეზობელ გლუკოპირანოზის ბირთვების მე-2 და მე-3 პოზიციაში ჩანაცვლებულ კარბამატის ნაშთებს შორის. ამდენად ფენილის ჯგუფში სხვადასხვა ჩამნაცვლებლები გავლენას ახდენს არა მხოლოდ ქირალურ ნივთიერებასა და სელექტორს შორის ურთიერთქმედებაზე, არამედ ქირალური სელექტორის ხსნადობაზე სხვადასხვა ორგანულ გამხსნელებში, ასევე პოლისაქარიდის მაღალმოწესრიგებულ მეორეულ სტრუქტურაზე. პოლისაქარიდული ქირალური სელექტორები თავიდანვე გამოყენებული იქნა მესქ-ში სილიკაგელზე მათი ფიზიკური დაფენის შემდეგ [96-117].

1.12 ქირალური ბეტა ბლოკატორების ენანტიომერების დაყოფის შესახებ სითხურ ქრომატოგრაფიაში

ბეტა ბლოკატორები წარმოადგენს სამკურნალწამლოს საშუალებათა საკმაოდ დიდ ჯგუფს. რამდენიმე მათგანზე არის ჩატარებული ანალიზები მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფიის გამოყენებით.

ჟ. იანგსა და თანაავტორების მიერ შესწავლილ იქნა ხუთი ბეტა ბლოკატორის პროპრანოლოლის, მეტოპროლოლის, ბისოპროლოლის, ესმოლოლის და სოტალოლის ენანტიომერების დაყოფა შებრუნებულ ფაზაში მაღალეფექტურის სითხური ქრომატოგრაფიის მეთოდის გამოყენებით. მოძრავ ფაზის დანამატად იყენებდნენ დი-ნ-ჰექსილ L-ტარტრატ ბორის მჟავას. სტაციონალურ ფაზად გამოყენებული იყო Venusil MP-C18 სვეტი (250mm×4.6mm, 5.0µm). ნაკადის სიჩქარე: 0.5მლ/წთ, ხოლო დეტექტირება

ხდებოდა 214 ნმ ტალღის სიგრძეზე. ამ მეთოდის გამოყენებით ხუთივე ბეტა ბლოკატორი დაიყო [118].

ჰიუნგის, ჯინისა და ლის მიერ აღწერილია მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფიაში ქირალური ბეტა ბლოკატორების, მეტოპროლოლისა და პროპრანოლოლის ენანტიომერების დაყოფა პოლისაქარიდული ქირალური ტიპის სტაციონალური ფაზებისა და მოძრავ ფაზაზე მჟავა და ფუძე დანამატების გამოყენებით. გამოიყენებოდა რამდენიმე სხვადასხვა ტიპის ქირალური სვეტი (Chiralpak AD, Chiralcel OD, Chiralpak IA და Chiralpak IB). მოძრავ ფაზად კი ჰექსან-ეთანოლის ნარევი. ნარევეზე ხდებოდა 0.1% ტრიფტორმმარმჟავასა და ტრიეთილამინის დამატება. ნაკადის სიჩქარე 1მლ/წთ-ში, ხოლო დეტექტირება მიმდინარეობდა 254 ნმ ტალღის სიგრძეზე. მეტოპროლოლისა და პროპრანოლოლის ანალიზისას ენანტიოსელექტიურობა ყველაზე დაბალი და შეკავების მცირე დრო დაფიქსირდა Chiralpak AD და Chiralpak IA ქირალური სვეტებზე მჟავა დანატის გამოყენებისას, ხოლო შეკავების დიდი დრო მოხდა Chiralpak AD ქირალურ სვეტზე, როდესაც მოძრავ ფაზაში ამატებდნენ ფუძე დანამატს. მაღალი ენანტიოსელექტიურობით და შეკავების მცირე დროით გამოირჩეოდა Chiralcel OD et Chiralpak IB ქირალური სვეტები, მოძრავ ფაზაში მჟავა დანამატის გამოყენებისას. მიმდინარე კვლევებში მაღალი ენანტიოსელექტიურობა ყველაზე მეტად გამოირჩეოდა Chiralcel OD ქირალური სვეტი [119].

პოეჰირ ჰსიუ და კეტლინ გაკომინის მიერ შესწავლილ იქნა ქირალური ბეტა ბლოკატორის - პინდოლოლის ენანტიომერების ნარევეების დაყოფა მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფიის ფლურესენციულ დეტექტორის გამოყენებით. რაცემატი პინდოლოლის ექსტრაქტის გამოყოფა მიმდინარეობდა ადამიანის სისხლის ალკანირებული პლაზმიდან, ხოლო შარდიდან ეთერით. მათი მეთოდის უპირატესობა იყო ის რომ, მიღებული შედეგები სანდო, სელექტიური და განმეორებადი აღმოჩნდა და ასევე ამ მეთოდით შესაძლებელი იქნა ატენოლოლისა და აცებუტოლოლის ენანტიომერების დაყოფაც [120].

ვანგის, ჯიანგის, იუს და გუოს მათ მიერ ჩატარებული კვლევების შედეგად აღწერილია ოთხი ბეტა ბლოკატორის, მეტოპროლოლის, ბისოპროლოლის, პროპრანოლოლის და ატენოლოლის ენანტიომერების დაყოფა ამილოზა ტრი (3,5-დიმეთილფენილკარბამატი) ქირალურ სვეტზე მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფიის მეთოდის გამოყენებით. მოძრავ ფაზად გამოიყენეს ნ-ჰექსანისა და ეთანოლის ნარევი დიეთილამინის დანამატის გამოყენებით. ენანტიომერის დაყოფის ოპტიმალურ ტემპერატურად შეირჩა 20 °C და ოპტიმალურ ნაკადის სიჩქარედ კი 0.600 მლ/წთ. დეტექტირება ხდებოდა 270 ნმ ტალღის სიგრძეზე. ოთხივე ნივთიერება დაიყო. შედარებით დაბალი გარჩევითობითა და ხანგრძლივი ანალიზით (30 წთ) გამოირჩეოდა ქირალური ბეტა ბლოკატორი ატენოლოლი [121].

ლიტერატურაში აღწერილია (R)-1-ნაფტილგლიცინი და 3,5-დინიტრობენზოინის მჟავას საფუძველზე მომზადებული ქირალური სტაციონარული ფაზა ზოგიერთი ბეტა-ბლოკატორის (მეტოპროლოლი და ბისოპროლოლი) ენანტიომერების დაყოფისათვის

მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფიის მეთოდის გამოყენებით. ოპტიმალური მოძრავი ფაზა მეტოპროლოლის ენანტიომერის დაყოფისათვის შეირჩა ჰექსანი/1,2-დიქლოროეთანი/მეთანოლი 65/25/10, ხოლო ბისოპროლოლის ენანტიომერებისათვის კი - ჰექსანი/1,2-დიქლოროეთანი/მეთანოლი 60/30/10. სვეტის ტემპერატურა და ნაკადის სიჩქარე გარკვეულ გავლენას ახდენს ენანტიომერების დაყოფაზე. სკრინინგი მიმდინარეობდა 10°C-50 °C ტემპერატურის ფარგლებში. ენანტიომერის დაყოფის ოპტიმალურ ტემპერატურად შეირჩა 15 °C და ოპტიმალურ ნაკადის სიჩქარედ კი 0.600 მლ/წთ. წარმოდგენილ მეთოდში შემოთავაზებული პროცედურა საკმაოდ მარტივია [122].

ი. ალისა და თანაავტორების მიერ შესწავლილი იყო ათი ბეტა-ბლოკატორის (აცეპუტოლოლი, ალპრენოლოლი, ბუფურალოლი, ბისოპროლოლი, ცელიპროლოლი, კარაზოლოლი, ინდენოლოლი, მეტოპროლოლი, ოქსპრენოლოლი და პროპრანოლოლი) ენანტიომერების დაყოფა CelluCoat - ის (250mm×4.6mm, 5.0µm) ტიპის სვეტზე მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფიის გამოყენებით. CelluCoat ქირალური სვეტი იდეალური აღმოჩნდა ყველა ბეტა-ბლოკატორისთვის. დეტექტირება ხდებოდა 225 ნმ ტალღის სიგრძეზე. მოძრავ ფაზად გამოიყენეს ნ-ჰექსანი/ეთანოლი/დეა, როგორც 90/10/0.2, v/v/v, ასევე 95/5/0.2 v/v/v თანაფარდობით. კომერციულად ხელმისაწვდომ აბებზე მიღებული შედეგები სანდო, სელექტიური და განმეორებადი აღმოჩნდა. მიღებული ანალიზებისას k , α , R_s მონაცემები მერყეობდა 0.44–12.91, 1.12–2.19 და 1.00–9.50 ფარგლებში, შესაბამისად [123].

ლიტერატურაში აღწერილი აგრეთვე ბეტა-ბლოკატორების (ატენოლოლი, მეტოპროლოლი, პინდოლოლი და პროპრანოლოლი) ენანტიომერების დაყოფა ქირალური სტაციონარული ფაზების ოთხ სხვადასხვა ტიპზე: Chiralpak AD-H, Lux Cellulose-1, Chirobiotic T და Sumichiral OA-4900. მოძრავი ფაზის ოპტიმიზაცია განხორციელდა იქნა ეთანოლის, 2-პროპანოლის და აცეტონიტრილის და დანამატებად ტრიეთილამინის, დიეთალიმინის, ეთანოლამინისა და ბუთილამინის გამოყენებით. ოპტიმალური დაყოფისათვის შეირჩა მოძრავი ფაზა, რომელიც შედგებოდა ნ-ჰექსანი/ეთანოლი/დეა(70/30/0.3, v/v/v). ენანტიომერის დაყოფის ოპტიმალურ ტემპერატურად კი - 25 °C და ოპტიმალურ ნაკადის სიჩქარედ - 1.000 მლ/წთ. დეტექტირება ხდებოდა 230 ნმ ტალღის სიგრძეზე. ოთხივე ნივთიერების ენანტიომერები დაიყო Cellulose-1 სვეტზე. გარდა ენანტიომერების დაყოფისას გამოიკვეთა ელუირების რიგის შებრუნება პროპრანოლოლის შემთხვევაში, როდესაც მოძრავ ფაზად გამოიყენეს მეთანოლი/ეთანოლი/ეთანოლამინი 90/10/0.3, v/v/v, Chiralpak AD-H ტიპის სვეტზე ჯერ ელუირდა R-(+) ენანტიომერი, ხოლო მეთანოლი/აცეტონიტრილი/ეთანოლამინი 90/10/0.1, v/v/v მოძრავ ფაზად გამოიყენებისას Chirobiotic T ტიპის სვეტზე ჯერ ელუირდა S-(-) ენანტიომერი [124].

2. ექსპერიმენტული ნაწილი

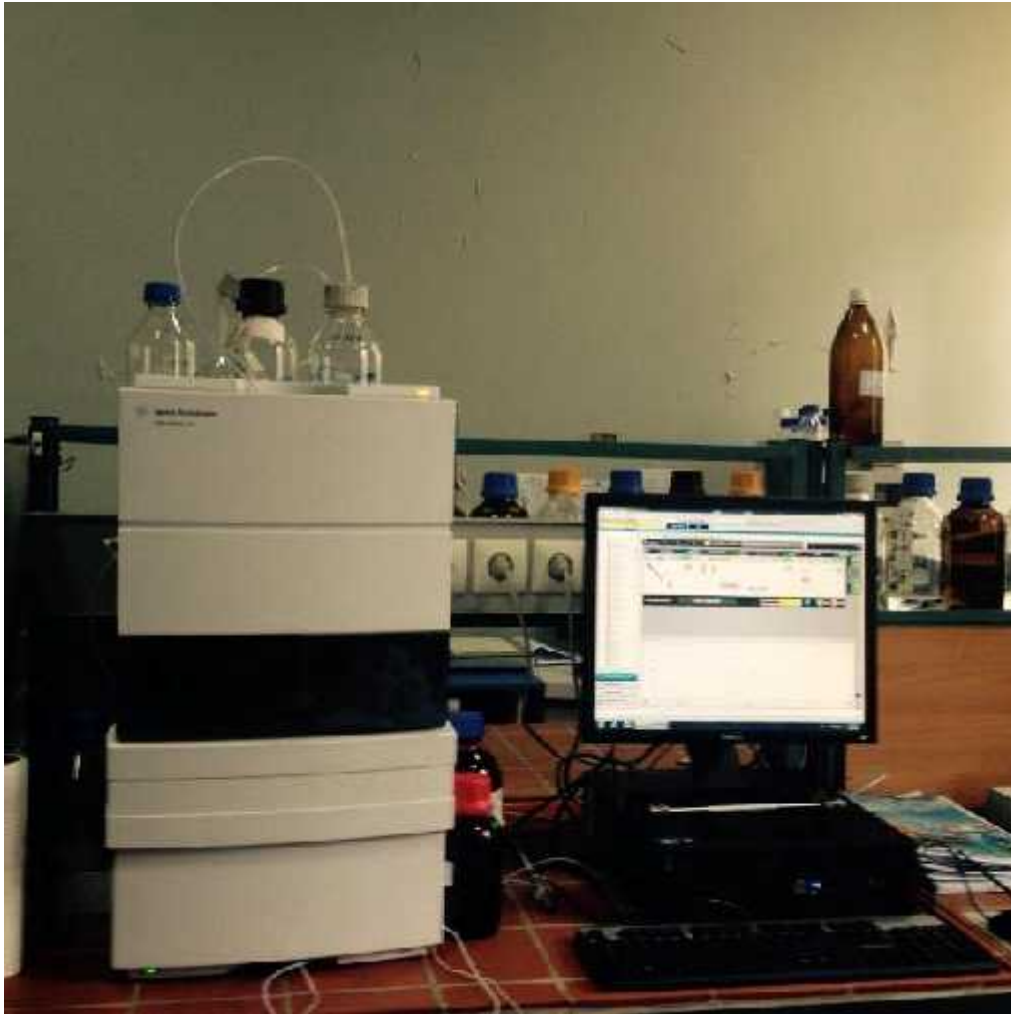
2.1 გამოყენებული აპარატურა

სითხურ-ქრომატოგრაფიული კვლევებისთვის გამოყენებული იქნა Agilent Technologies წარმოების მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფები, რომლებიც ნაჩვენებია სურათებზე 1-2. ქრომატოგრაფები ერთმანეთისგან განსხვავდებოდა სხვადასხვა ტექნიკური პარამეტრებით, როგორებიცაა მაქსიმალური წნევა და დეტექტორის სიხშირე.



სურათი 1. Agilent 1200 სერიის ქრომატოგრაფი

Agilent 1200 სერიის მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფი შედგება G1312A ბინარული ტუმბოს, G1367B ნიმუშების ავტომატური მიმწოდებლის, G1316B სვეტების თერმოსტატის, G1314D ერთტალღიანი დეტექტორის, ხელსაწყოს მართვის და მონაცემთა დამუშავების პროგრამა Agilent Chemstation-საგან. მაქსიმალური წნევა 400 ბარი, ტალღის სიგრძე 110-900 ნმ, დეტექტორის სიხშირე 20 ჰერცი.

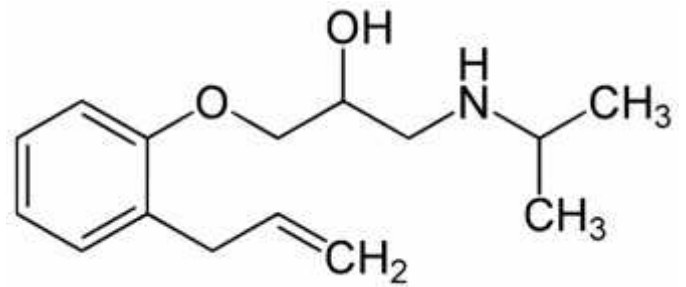


სურათი 2. Agilent 1220 სერიის სითხური ქრომატოგრაფი

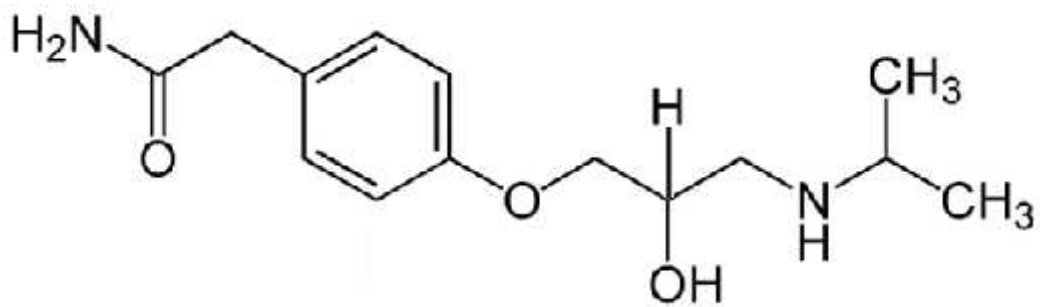
Agilent 1220 სერიის სითხური ქრომატოგრაფი შედგება G4290B მონობლოკი, რომელიც შეიცავს ბინარულ ტუმბოს, ნიმუშების ავტომატურ მიმწოდებელს, სვეტის ლუმენს, ერთტალღიან ულტრაიისფერ-ხილულ დეტექტორს. ხელსაწყოს მართვის და მონაცემთა დამუშავების პროგრამა Agilent Chemstation. მაქსიმალური წნევა 600 ბარი, დეტექტორის სიხშირე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

2.2. გამოყენებული მასალები

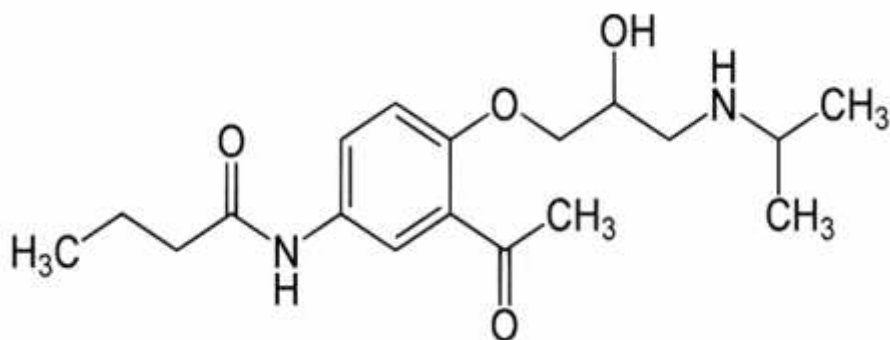
საანალიზოდ გამოყენებული იყო 26 ქირალური ბეტა-ბლოკატორი, რომლებიც წარმოდგენილია ნახ. 12-ზე. მათი უმრავლესობა შეძენილ იქნა Sigma-Aldrich-დან (Taufkirchen, Germany).



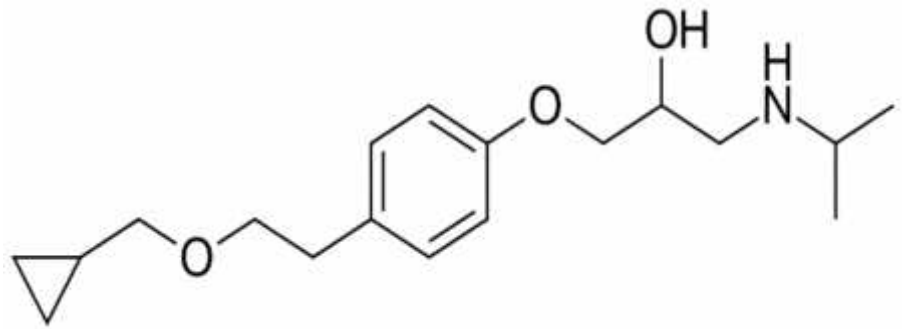
ალბუტეროლოლი



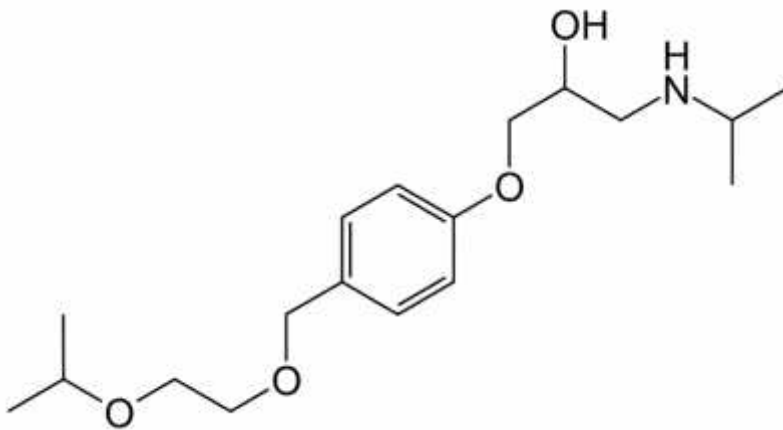
ატენოლოლი



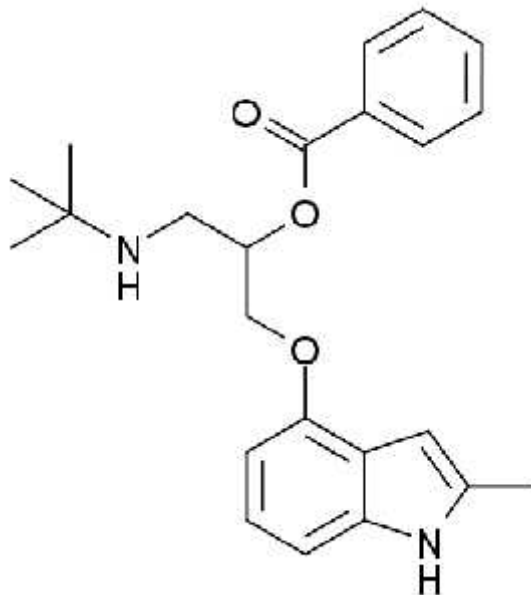
აცებუტოლოლი



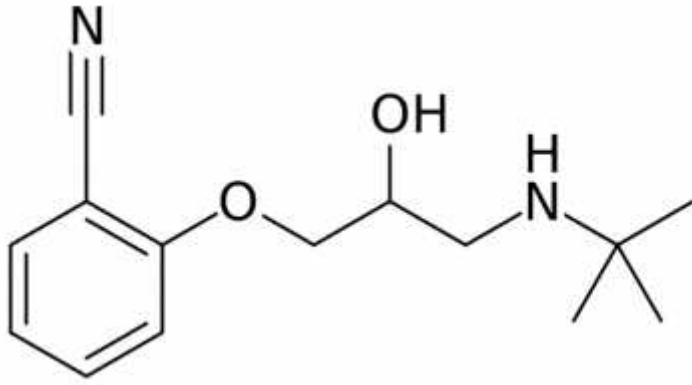
ბეტაქსოლოლი



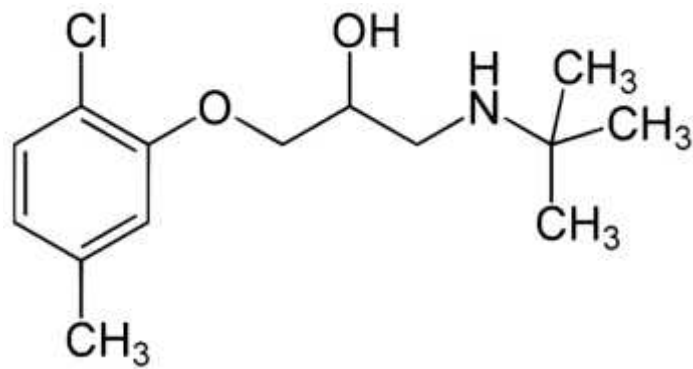
ბისოპროლოლი



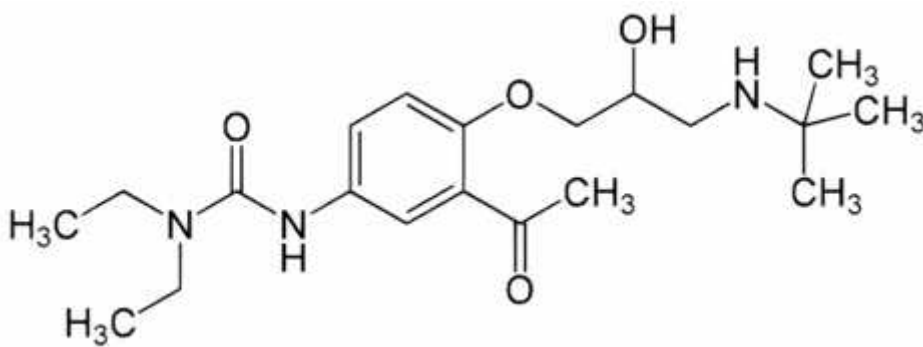
ბოპინდოლოლი



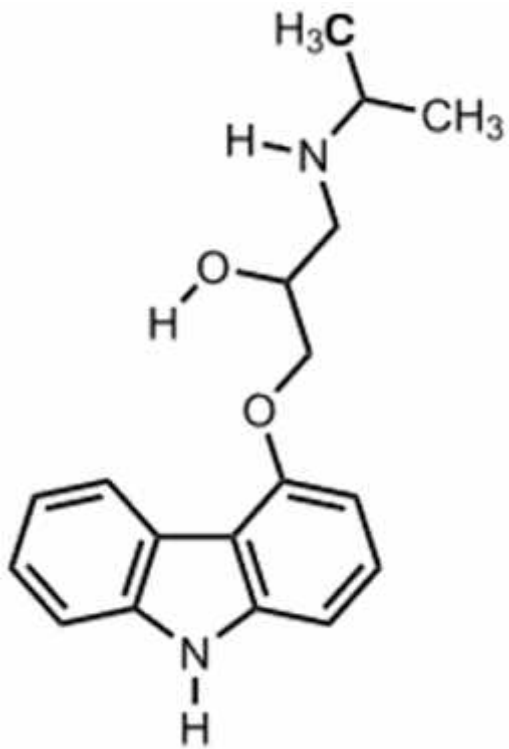
ბენიტროლოლი



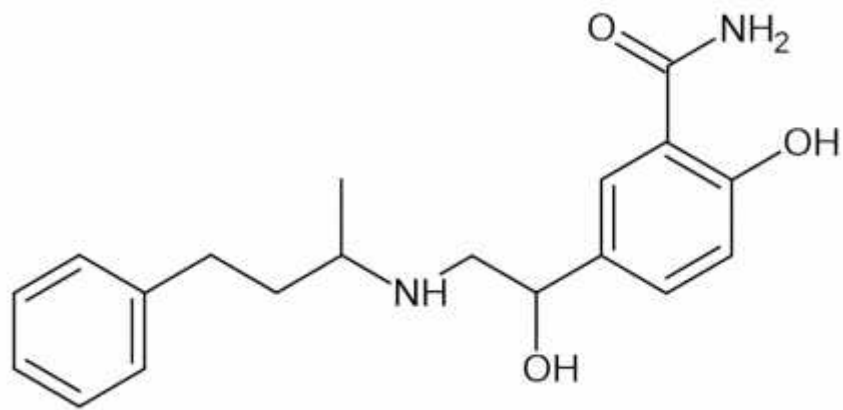
ბუპროპიონი



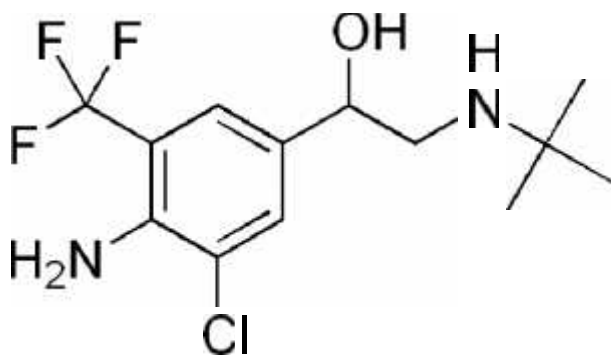
ესმოლოლი



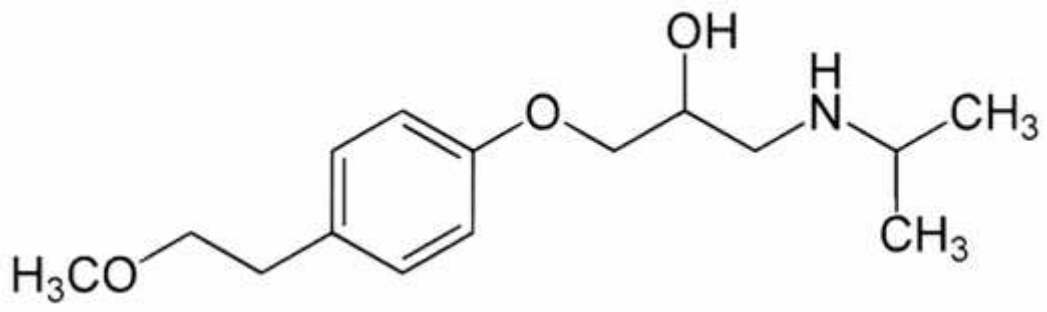
კარაზოლოლი



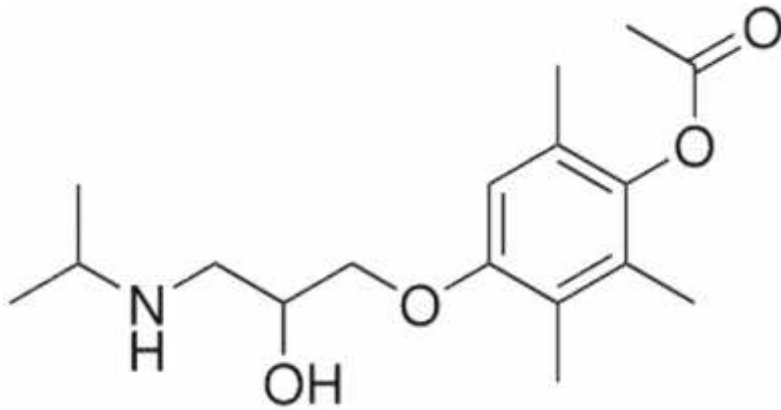
ლაზეტალოლი



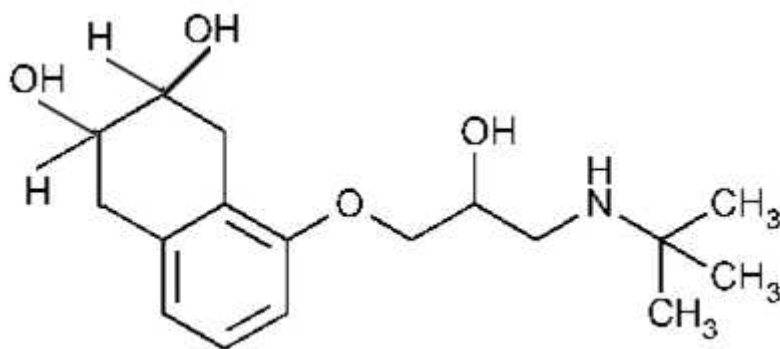
მაბუტეროლი



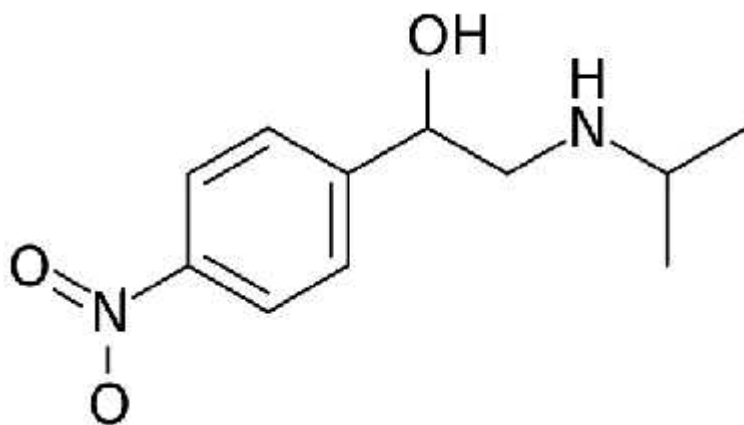
მეტოპროლოლი



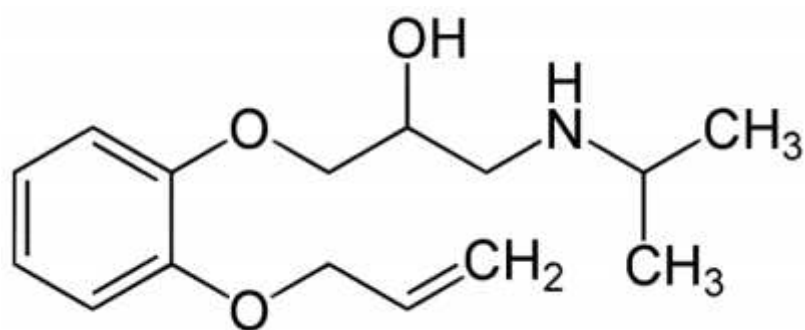
მეტოპროანოლოლი



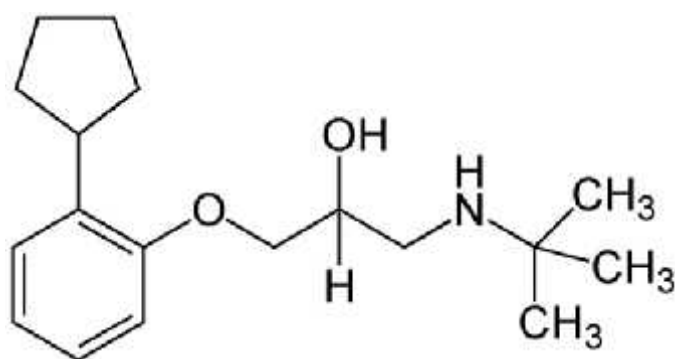
ნადოლოლი



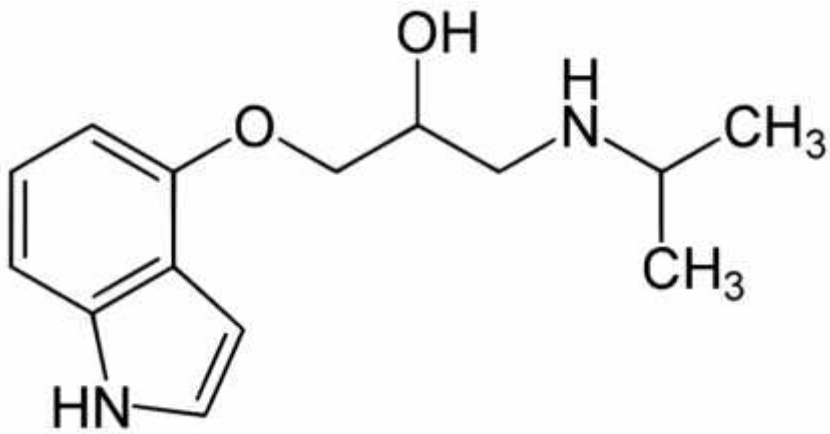
ნიფედინოლი



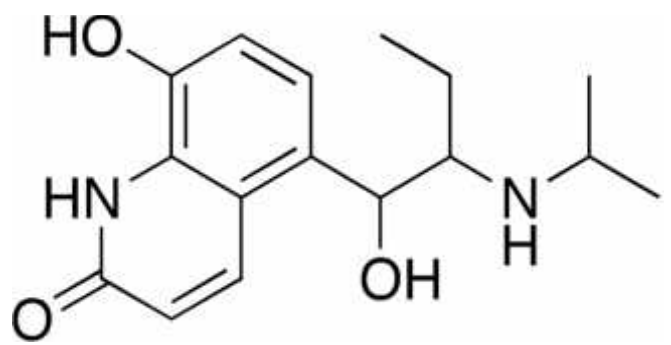
ოქსპრენოლოლი



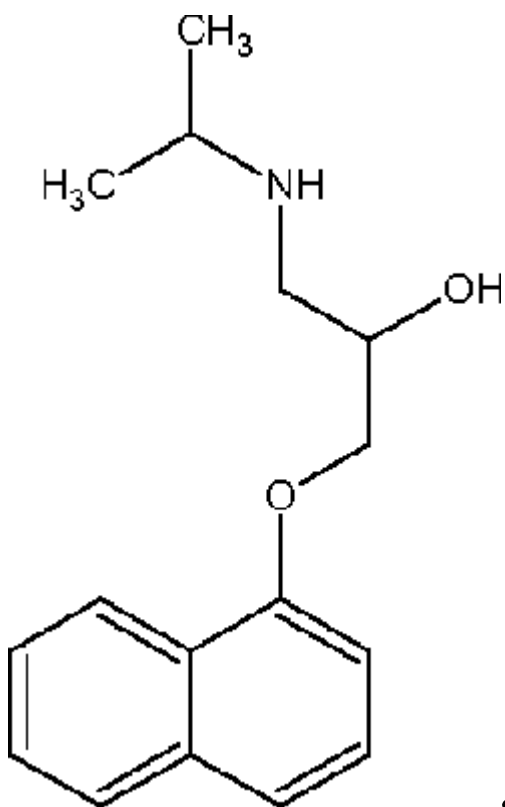
პენბუტოლოლი



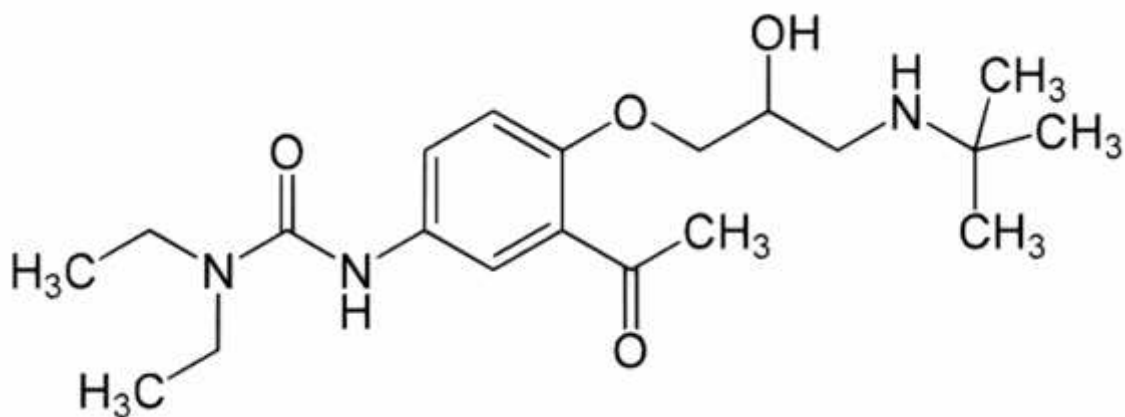
პენტოლოლი



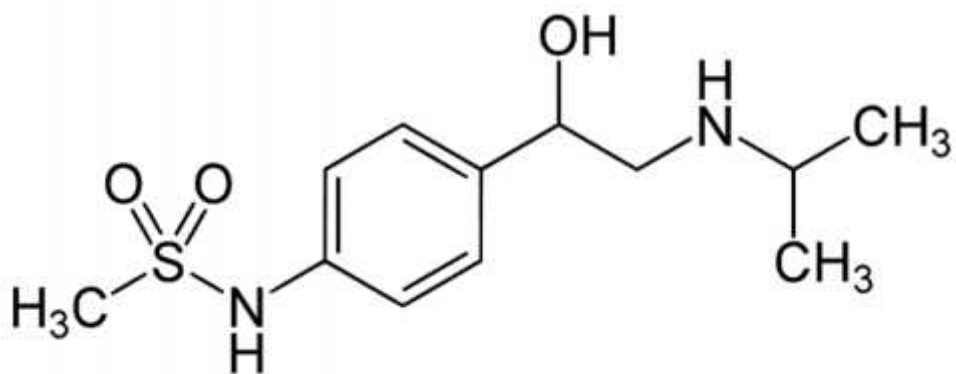
პროკატეროლი



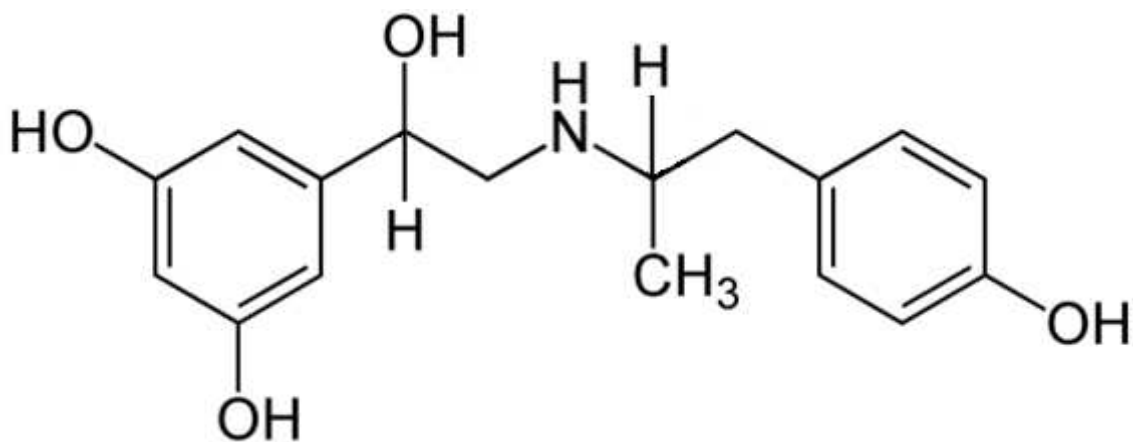
პროპრანოლოლი



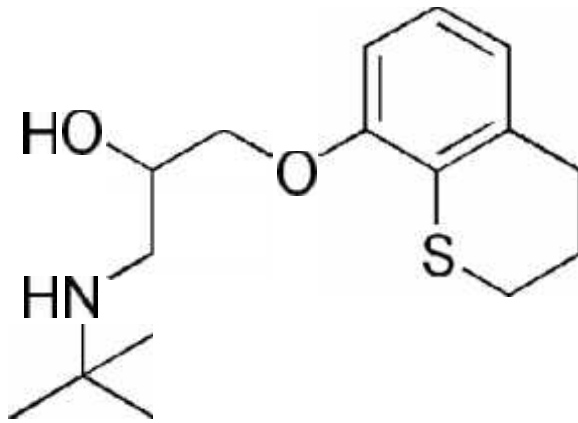
გლიბენკლოლი



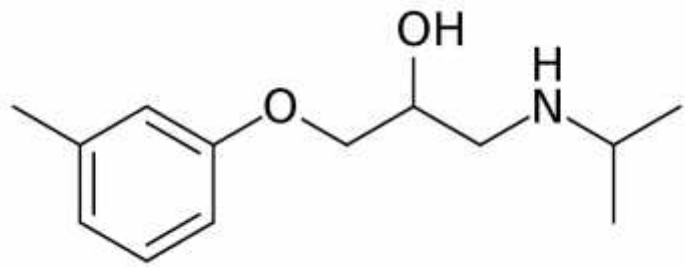
სოტამოლოლი



ფენბუტეროლი



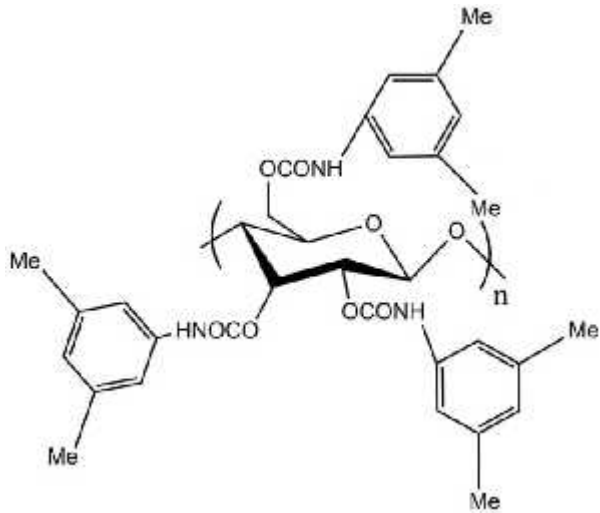
ტერტატოლოლი



ტოლიპროლოლი

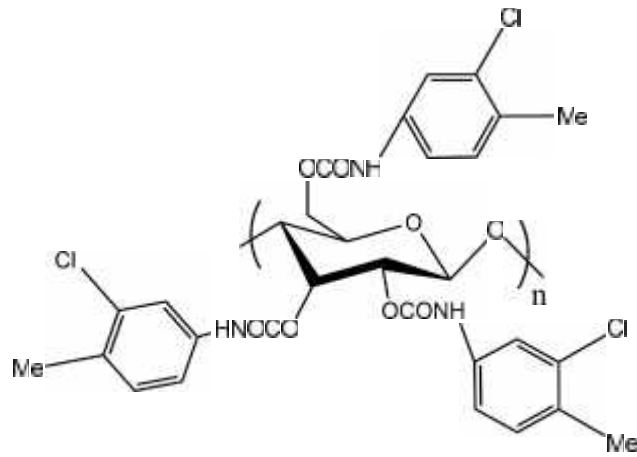
ნახ. 12 ნაშრომში გამოყენებული ქირალური ბეტა-ბლოკატორების სტრუქტურები

წინამდებარე ნაშრომში გამოიყენებოდა 6 ქირალური სელექტორის შემცველი სვეტი, რომლებიც მოცემულია ნახ. 13-ზე. კვლევებში გამოყენებული ხუთი ქირალური სვეტი პოლისაქარიდული ქირალური სელექტორებით Lux Cellulose-1, Lux Cellulose-2, Lux Cellulose-3, Lux Cellulose-4 და Lux Amylose-2, მოწოდებულია კომპანია Phenomenex-ის მიერ (ტორანსი, კალიფორნია, აშშ) და ამილოზას ტრის (3,5-დიმეთილფენილკარბამატი)-ის საფუძველზე მომზადებული ექსპერიმენტული სვეტი ADMPC, რომელიც მოწოდებულია კომპანია Enantiosep-ის მიერ (მიუნსტერი, გერმანია). ქირალური სელექტორების სტრუქტურები ნაჩვენებია ნახ.2-ზე.



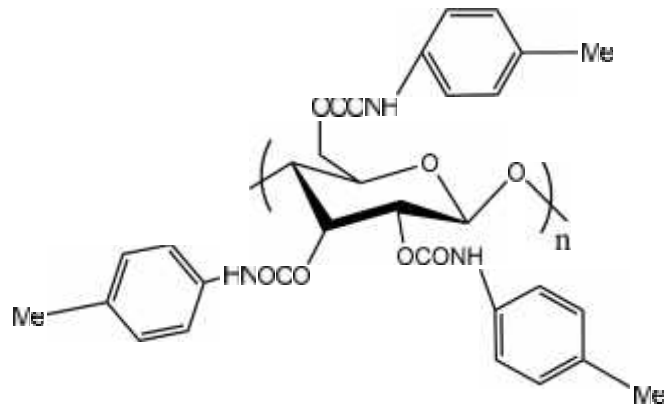
ცელულოზა ტრის(3,5- დიმეთილფენილკარბამატი)

Lux Cellulose-1



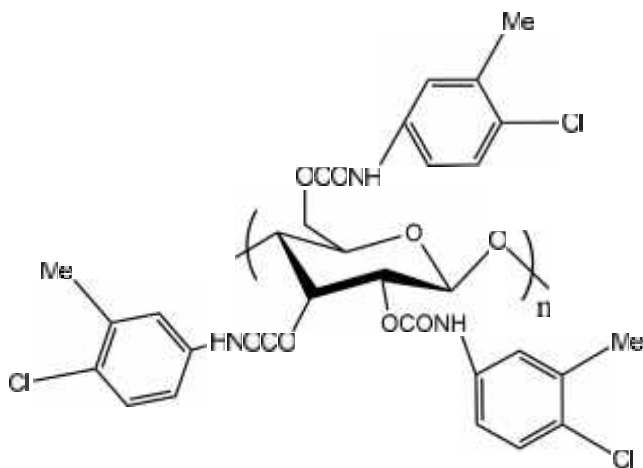
ცელულოზა ტრის(3-ქლორ-4-მეთილფენილკარბამატი)

Lux Cellulose-2



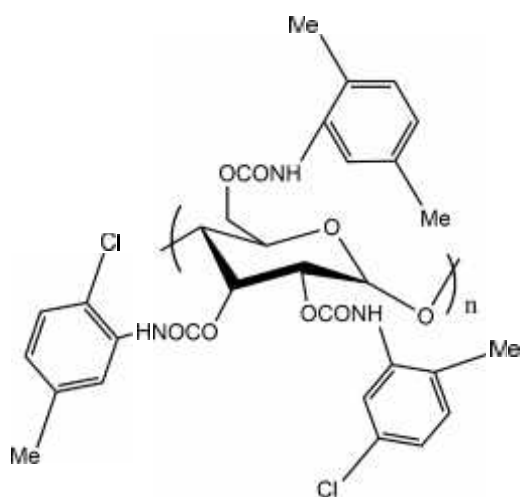
ცელულოზა ტრის(4-მეთილბენზოატი)

Lux Cellulose-3



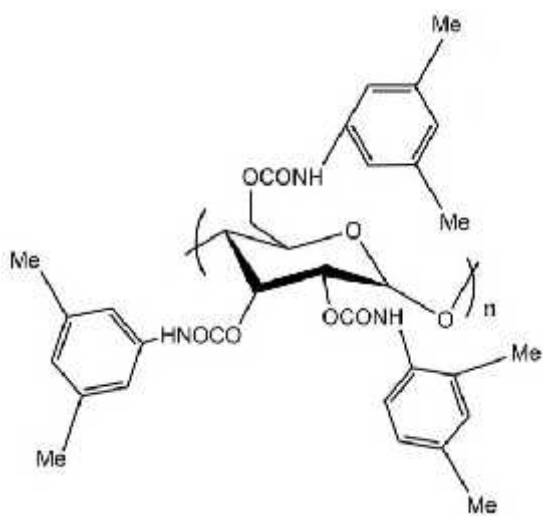
ცელულოზა ტრის(4-ქლორ-3-მეთილფენილკარბამატი)

Lux Cellulose-4



ამილოზა ტრის (5-ქლორ - 2-მეთილფენილკარბამატი)

Lux Amylose-2



ამილოზა ტრის(3,5-დიმეთილფენილკარბამატი)

ADMPC

ნახ. 13 ნაშრომში გამოყენებული ქირალური სელექტორების სტრუქტურები

კვლევები მიმდინარეობდა როგორც პოლარულ-ორგანულ, ასევე ნორმალურ ფაზაში. პოლარულ ორგანულ გამხსნელად გამოვიყენეთ აცეტონიტრილი. ამ მოძრავმა ფაზამ მნიშვნელოვანი უპირატესობა გამოამჟღავნა ნიმუშების მაღალი ხსნადობისა და ანალიზის მცირე დროის თვალსაზრისით. მოძრავ ფაზას ემატებოდა როგორც ფუძე (დიეთილამინი), ასევე მჟავა ბუნების (ჭიანჭველმჟავა) დანამატი, ცალ-ცალკე ან ერთდროულად.

მოძრავ ფაზებად ასევე გამოყენებული იყო ნორმალური ფაზა ჰექსანი-იზოპროპანოლი, ჰექსანი-ეთანოლი მცირე რაოდენობის მჟავური დანამატით - ჭიანჭველმჟავა, ასევე ფუძე ბუნების დანამატით - დიეთილამინი.

კვლევები მიმდინარეობდა ნორმალურ ფაზაში ნ-ჰექსანისა და იზოპროპანოლის ოთხი კომბინაციისა (ნ-ჰექსანი/იზოპროპანოლი/დეა 50/50/0.1; (ნ-ჰექსანი/იზოპროპანოლი/დეა 60/40/0.1; ნ-ჰექსანი/იზოპროპანოლი/დეა 50/50/0.1; (ნ-ჰექსანი/იზოპროპანოლი/დეა 80/20/0.1; ნ-ჰექსანი/იზოპროპანოლი/დეა 90/10/0.1;) და ნ-ჰექსანისა და ეთანოლის ხუთი კომბინაციის (ნ-ჰექსანი/ეთანოლი/დეა 50/50/0.1; (ნ-ჰექსანი/ეთანოლი/დეა 60/40/0.1; (ნ-ჰექსანი/ეთანოლი/დეა 80/20/0.1; (ნ-ჰექსანი/ეთანოლი/დეა 90/10/0.1; (ნ-ჰექსანი/ეთანოლი/ჭიანჭველმჟავა 80/20/0.036) გამოყენებით.

ნიმუშები მომზადდა დაახლოებით 1 მგ/მლ კონცენტრაციით, ელუენტის მოცულობითი სიჩქარე იყო: 1 მლ/წთ. როდესაც ექსპერიმენტებში გამოვიყენეთ Agilent 1200 სერიის მაღალეფექტურ სითხურ ქრომატოგრაფი, დეტექტირება ხდებოდა 220 ნმ ტალღის სიგრძეზე, ხოლო Agilent 1220 სერიის მაღალეფექტურ სითხურ ქრომატოგრაფი - დეტექტირება ხდებოდა 254 ნმ ტალღის სიგრძეზე.

პოლარულ-ორგანულ მოძრავ ფაზაში ენანტიომერების ქრომატოგრაფიული შეკავებისა და დაყოფის სელექტიურობის ტემპერატურული დამოკიდებულების შესწავლის მიზნით ანალიზები მიმდინარეობდა 25°C-სა და 65°C ტემპერატურაზე.

2.3. ექსპერიმენტის გეგმა

ზოგიერთი ქირალური ბეტა-ბლოკატორის ენანტიომერების ნარეგების დაყოფის და ამ პროცესზე მოძრავი ფაზისა და ქირალური სელექტორის ბუნების გავლენის, ენანტიომერების ელუირების რიგისა და მისი ცვლილების პირობების გავლენის დასადგენად ექსპერიმენტები დაგეგმილი იქნა შემდეგი მიმართულებით:

1. ზოგიერთი ქირალური ბეტა-ბლოკატორების სკრინინგი მათი ენანტიომერების დაყოფის თვალსაზრისით პოლარულ და ნორმალურ ფაზაში პოლისაქარიდული ქირალური სვეტების გამოყენებით.
2. მოძრავი ფაზების ოპტიმიზაცია არსებულ კომერციულ ქირალურ სვეტებზე ნორმალური და პოლარულ-ორგანული მოძრავი ფაზებით, მცირე რაოდენობა

დიეთილამინისა და ჭიანჭველმჟავას დანამატებით. ხდებოდა ასევე სტაციონალური ფაზების შერჩევა.

3. კვლევების შემდეგ ეტაპზე ხდებოდა ენანტიომერების ელუირების რიგის დადგენა. ამ მიზნით გამოყენებული იყო არარცემული ნიმუშები ენანტიომერების 2/1-თან თანაფარდობით.

3. შედეგები და მათი განსჯა

3.1. ბეტა-ბლოკატორების დაყოფა ნორმალურ-ფაზიან ქრომატოგრაფიაში

26 ბეტა ბლოკატორის სკრინინგი განხორციელდა ექვს კომერციულ პოლისაქარიდულ ქირალურ სვეტზე ნორმალურ (ჰექსან/იზოპროპანოლი და ჰექსან/ეთანოლი) ფაზაში. ნიმუშების ანალიზისას გამოვიყენეთ ნ-ჰექსანისა და იზოპროპანოლის ოთხი კომბინაცია და (ნ-ჰექსანი/იზოპროპანოლი/დეა 50/50/0.1; ნ-ჰექსანი/იზოპროპანოლი/დეა 60/40/0.1; ნ-ჰექსანი/იზოპროპანოლი/დეა 80/20/0.1; ნ-ჰექსანი/იზოპროპანოლი/დეა 90/10/0.1;) და ნ-ჰექსანისა და ეთანოლის ხუთი კომბინაცია (ნ-ჰექსანი/ეთანოლი/დეა 50/50/0.1; ნ-ჰექსანი/ეთანოლი/დეა 60/40/0.1; ნ-ჰექსანი/ეთანოლი/დეა 80/20/0.1; ნ-ჰექსანი/ეთანოლი/დეა 90/10/0.1; ნ-ჰექსანი/ეთანოლი/ჟიანჰველამჟავა 80/20/0.036).

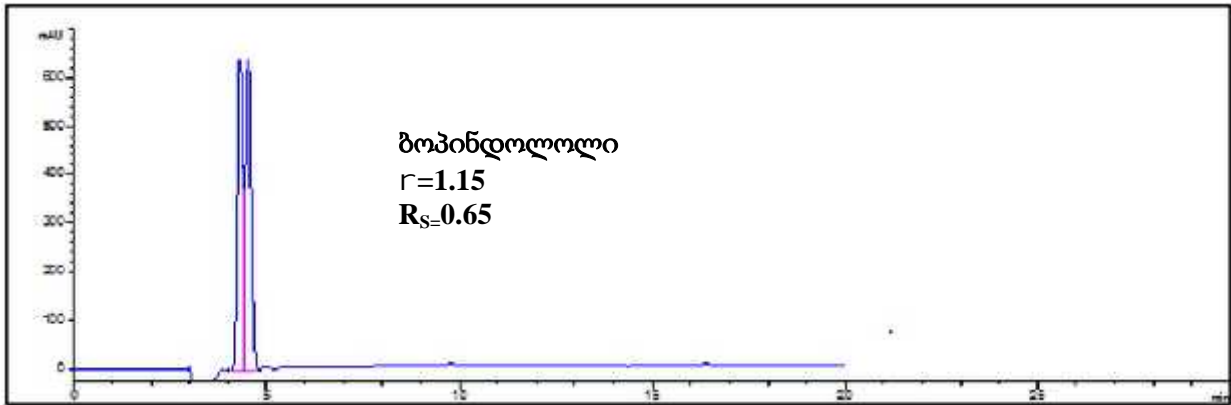
3.1.1 სკრინინგი სხვადასხვა ქირალური სელექტორებით და მოძრავი ფაზებით

26 ქირალური ბეტა-ბლოკატორის სკრინინგი თავდაპირველად მიმდინარეობდა მოძრავი ფაზით ნ-ჰექსანი/იზოპროპანოლი/დეა 50/50/0.1, ხოლო შემდეგ თანდათანობით ხდებოდა მოძრავ ფაზაში იზოპროპანოლის შემცველობის შემცირება. ნორმალურ ფაზაში სკრინინგისას ნ-ჰექსანის გაზრდამ როგორც იზოპროპანოლთან, ასევე ეთანოლთან კომბინაციაში გააუმჯობესა ენანტიომერების დაყოფები, მაგრამ უმრავლეს შემთხვევაში გაიზარდა ანალიზის დრო.

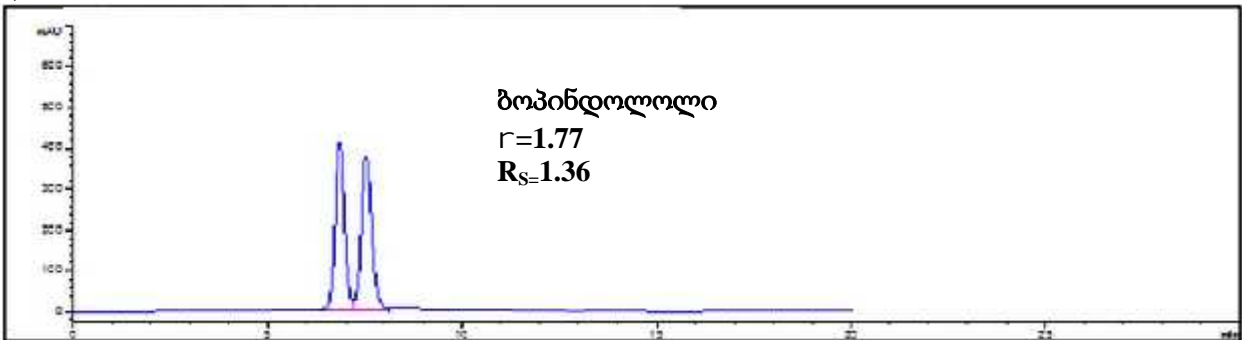
ქვემოთ წარმოდგენილია ცალკეულ სვეტებზე მიღებული შედეგები მოძრავ ფაზაში იზოპროპანოლის შემცველობის შემცირებისას [128].

Lux Cellulose-1 ქირალურ სვეტზე ფუძისეულად დაიყო შვიდი ბეტა-ბლოკატორი: ატენოლოლი, ბეტაქსოლოლი, კარაზოლოლი, ესმოლოლი, პენბუტოლოლი, პროპრანოლოლი, ტერტატოლოლი, ხოლო ნაწილობრივ ერთი - ბოპინდოლოლი. სკრინინგის დროს ნ-ჰექსანი/იზოპროპანოლი/დეა 50/50/0.1 ფაზიდან ნ-ჰექსანი/იზოპროპანოლი/დეა 80/20/0.1 ფაზაზე გადასვლისას დაყოფის სელექტივობა და გარჩევითობა გაუმჯობესდა. ნახ. 14 ნაჩვენებია ბოპინდოლოლისა და კარაზოლოლის ენანტიომერების დაყოფების ქრომატოგრამები. უნდა აღინიშნოს, რომ ამ დროს იზრდება ანალიზის დრო და ზოგჯერ უარესდება აგრეთვე პიკის ფორმა.

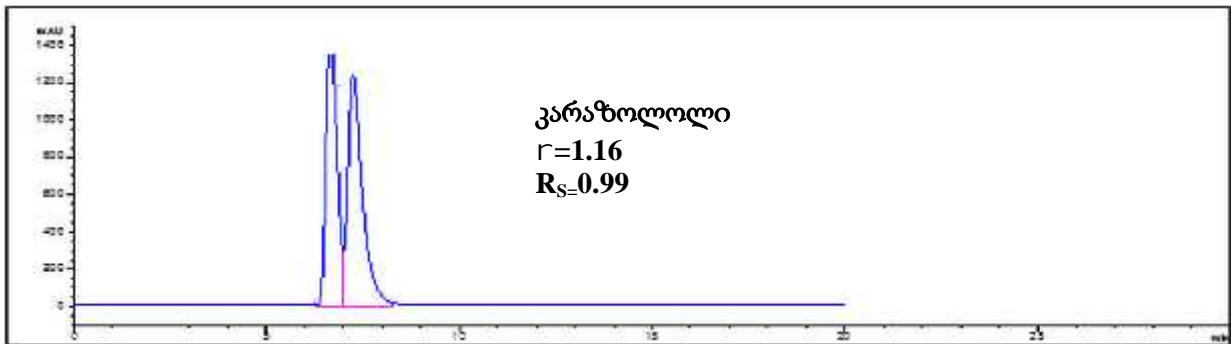
Lux Cellulose-2 ქირალურ სვეტზე ფუძისეულად დაიყო ატენოლოლი, კარაზოლოლი და პროპრანოლოლი, ხოლო ნაწილობრივად დაიყო ბეტაქსოლოლი, ბოპინდოლოლი, ესმოლოლი, სოტალოლი და ტერტატოლოლი. ნორმალურ ფაზაში იზოპროპანოლის ნ-ჰექსანთან თანაფარდობის შემცირებამ გააუმჯობესა ენანტიომერების დაყოფის სელექტივობა. მაგალითისათვის აცებუტოლოლის ენანტიომერების დაყოფების ქრომატოგრამები Lux Cellulose-2 სვეტზე წარმოდგენილია ნახ. 15-ზე, ხოლო ნიფენალოლის ენანტიომერების დაყოფების ქრომატოგრამები ნახ. 16-ზე.



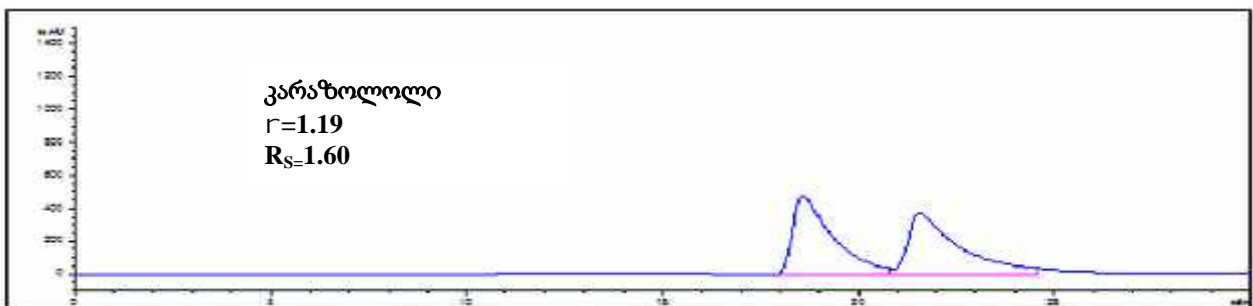
ა)



ბ)

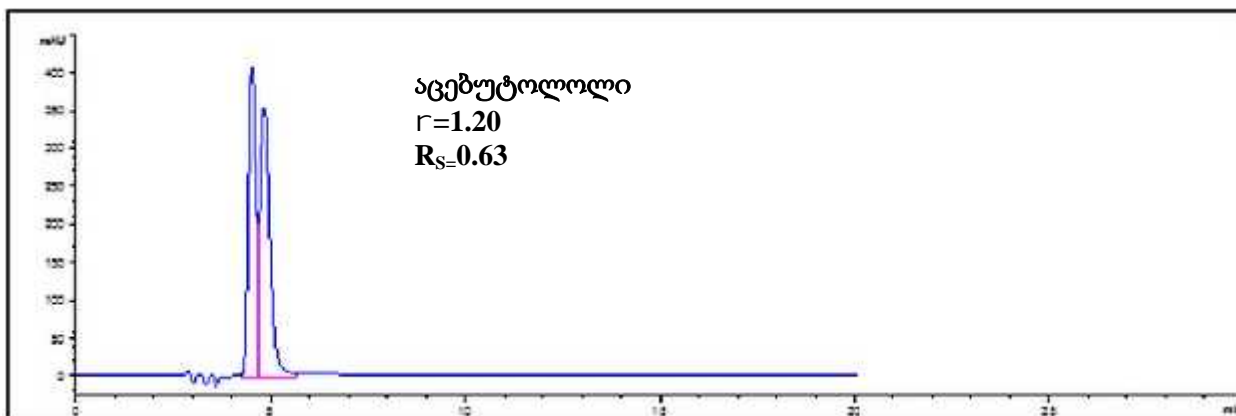


გ)

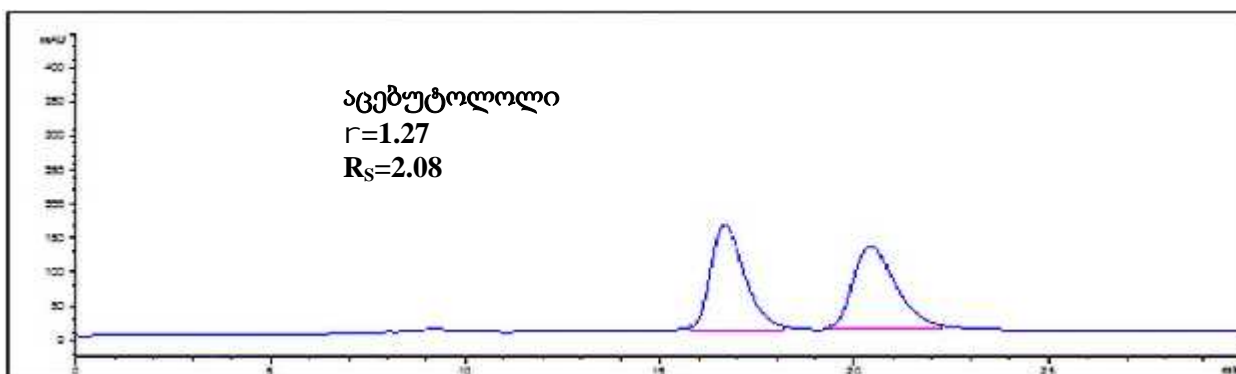


დ)

ნახ. 14 ბოპინდოლოლისა (ა და ბ) და კარაზოლოლის (გ და დ) ენანტიომერების დაყოფა Lux Cellulose-1 სვეტზე. მოძრავ ფაზად ნ-ჰექსანი/იზოპროპანოლი/დეა 50/50/0.1 (ა და გ) და ნ-ჰექსანი/იზოპროპანოლი/დეა 80/20/0.1 (ბ და დ) გამოყენებით.

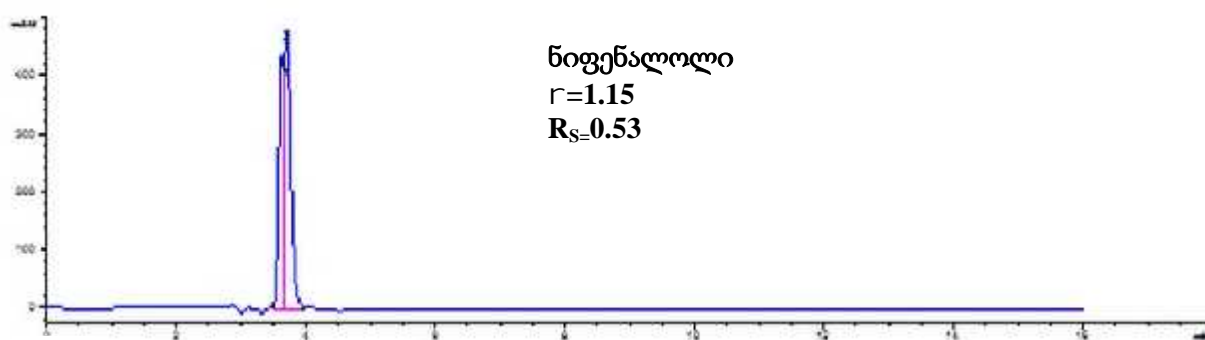


ა)

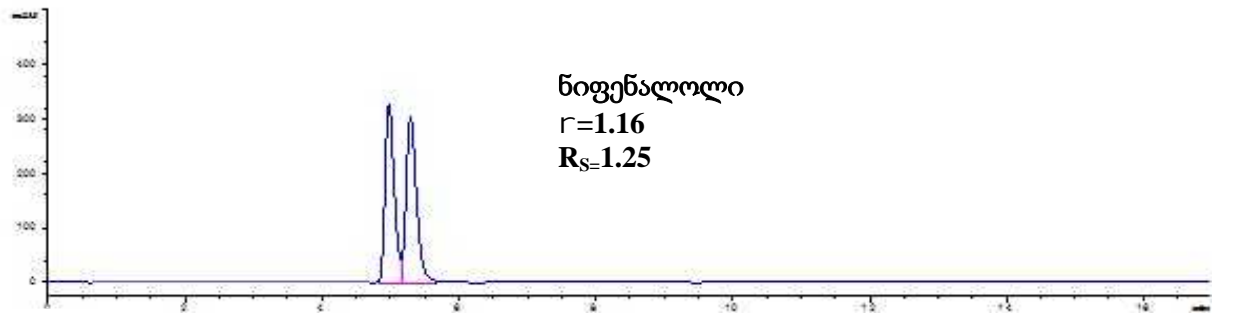


ბ)

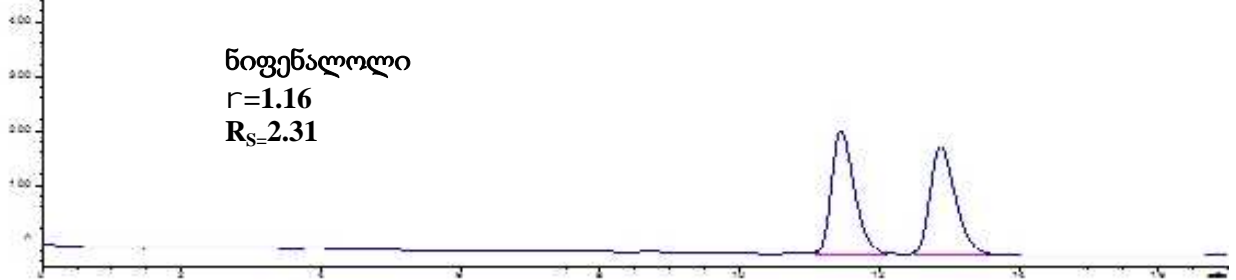
ნახ. 15 აცებუტოლოლის ენანტიომერების დაყოფა Lux Cellulose-2 სვეტზე. მოძრავ ფაზად ნ-ჰექსანი/იზოპროპანოლი/დეა 50/50/0.1 (ა); ნ-ჰექსანი/იზოპროპანოლი/დეა 80/20/0.1 (ბ) გამოყენებით



ა)



ბ)



გ)

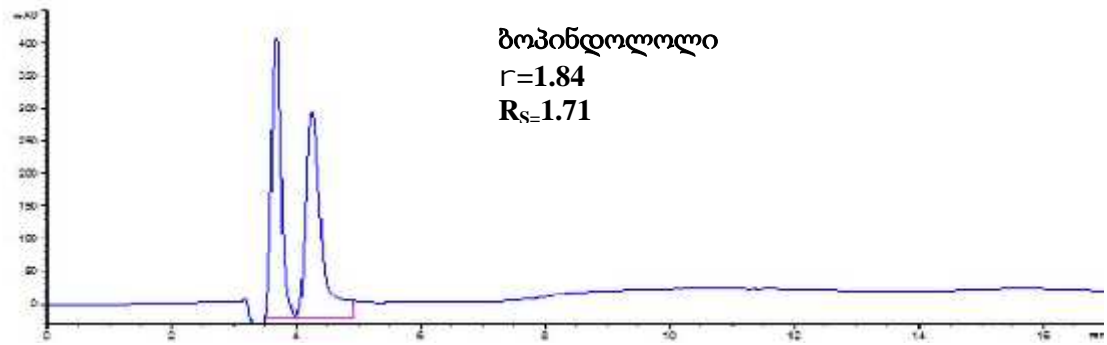
ნახ. 16 ნიფენალოლის ენანტიომერების დაყოფა Lux Cellulose-2 სვეტზე. მოძრავ ფაზად ნ-ჰექსანი/იზოპროპანოლი/დეა 50/50/0.1 (ა); ნ-ჰექსანი/იზოპროპანოლი/დეა 80/20/0.1 (ბ); ნ-ჰექსანი/იზოპროპანოლი/დეა 90/10/0.1 (გ) გამოყენებით.

Lux Cellulose-3 ქირალურ სვეტზე 26 საანალიზო ბეტა-ბლოკატორიდან ჩვენს მიერ გამოყენებულ მოძრავ ფაზებში არცერთი არ დაიყო.

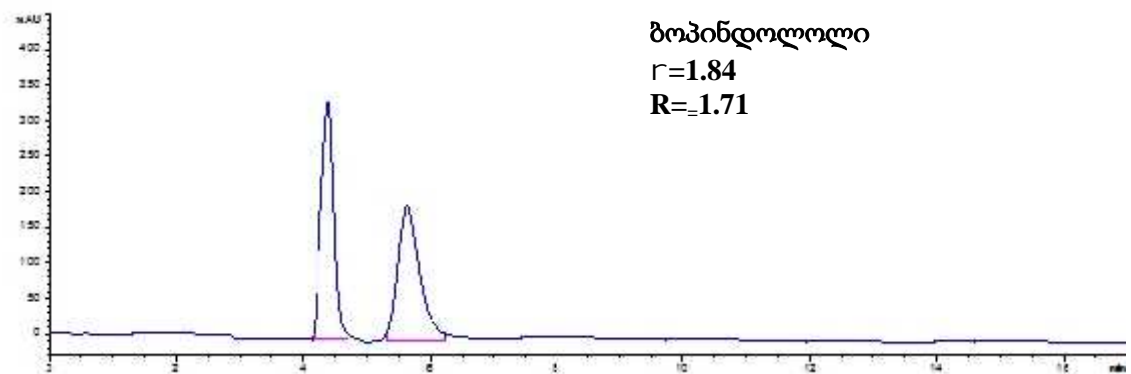
Lux Cellulose-4 ქირალურ სვეტზე მხოლოდ ორი საანალიზო ნიმუში, აცებუტოლოლი და პენბუტოლოლი დაიყო ფუძისეულად.

Lux Amylose-2 ქირალურ სვეტზე ფუძისეულად დაიყო აცებუტოლოლი, ატენოლოლი, ბოპინდოლოლი და სოტალოლი, ხოლო ნაწილობრივ ესმოლოლი. ნორმალურ ფაზაში იზოპროპანოლის ნ-ჰექსანთან თანაფარდობითმა შემცირებამ გააუმჯობესა ენანტიომერების დაყოფის სელექტივობა. მაგალითისათვის ბოპინდოლოლის ენანტიომერების დაყოფის ქრომატოგრამები წარმოდგენილია ნახ. 17-ზე, ხოლო აცებუტოლოლის ენანტიომერების დაყოფის ქრომატოგრამები წარმოდგენილია ნახ. 18-ზე.

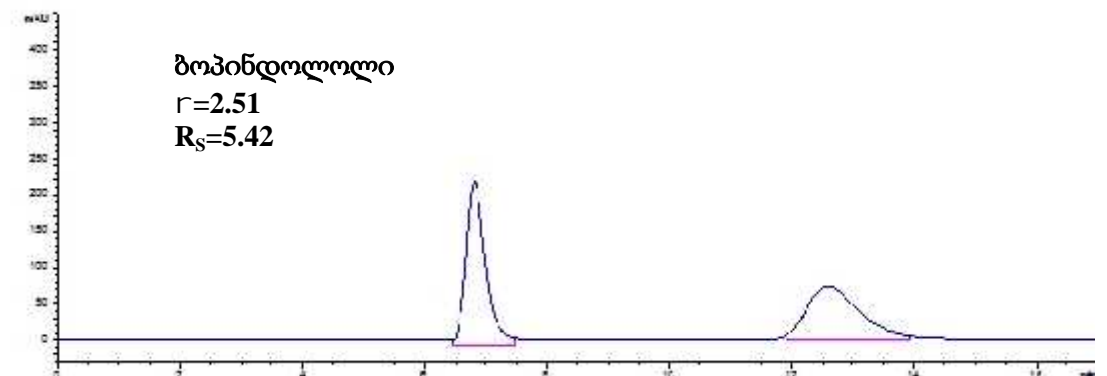
AMPDC ქირალურ სვეტზე ნაწილობრივ დაიყო ესმოლოლი, ხოლო ფუძისეულად ატენოლოლი და ბეტაქსოლოლი.



ა)

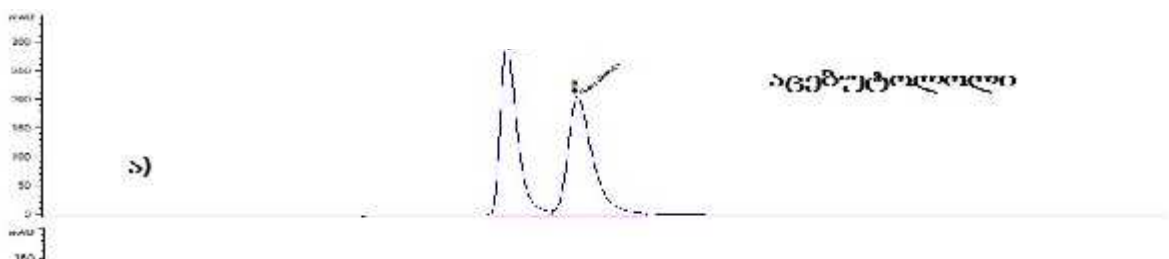


ბ)



გ)

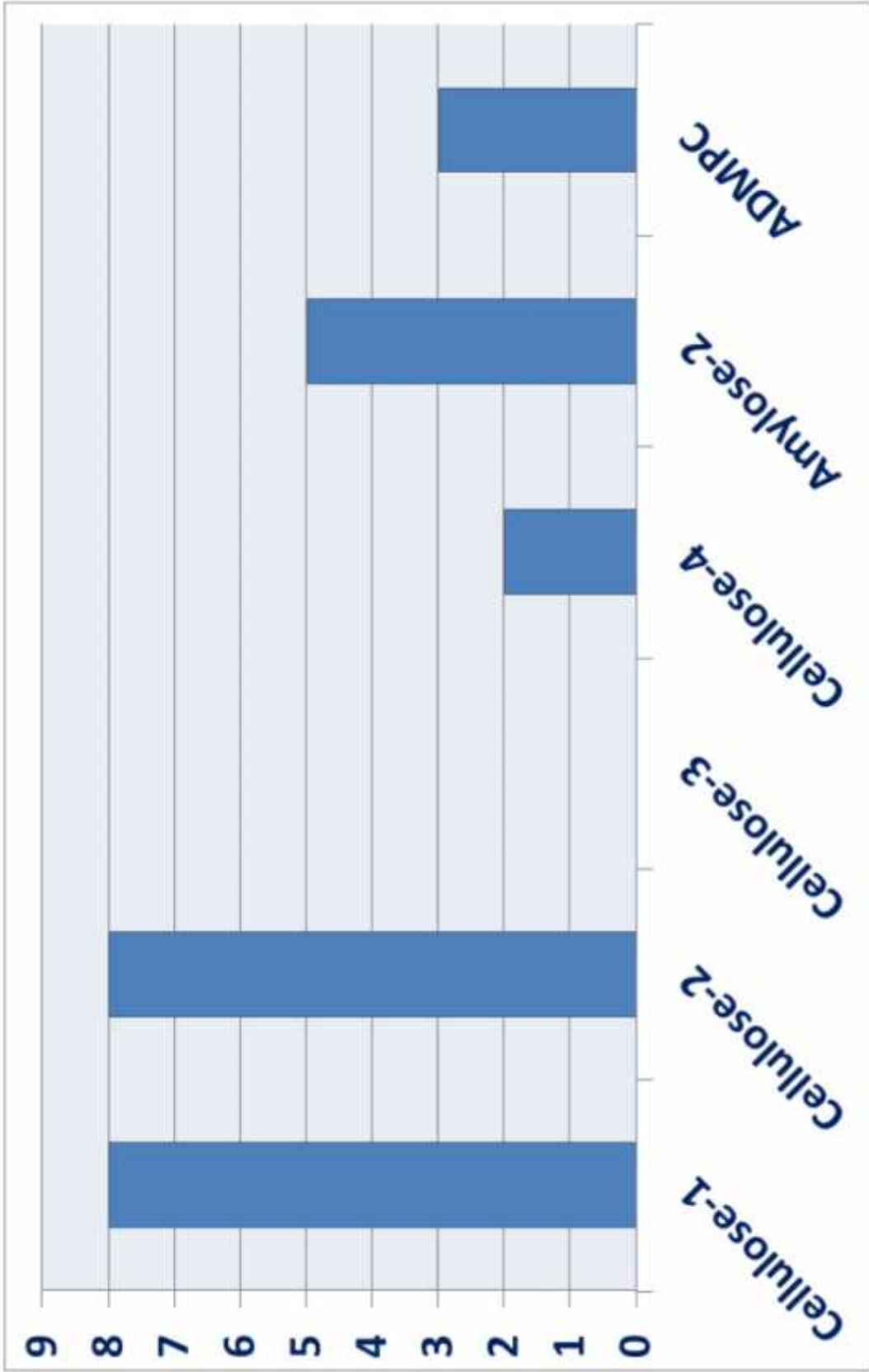
ნახ. 17 ბოპინდოლოლის ენანტიომერების დაყოფა Lux Amylose-2 სვეტზე. მოძრავ ფაზად ნ-ჰექსანი/იზოპროპანოლი/დეა 50/50/0.1 (ა); ნ-ჰექსანი/იზოპროპანოლი/დეა 80/20/0.1 (ბ); ნ-ჰექსანი/იზოპროპანოლი/დეა 90/10/0.1 (გ) გამოყენებით.



ნახ. 18 აცელებულობის ენანტიომერების დაყოფა Lux Amylose-2 სვეტზე მოძრავ ფაზად ნ-ჰექსანი/იზოპროპანოლი/დეა 50/50/0.1 (ა); ნ-ჰექსანი/იზოპროპანოლი/დეა 80/20/0.1 (ბ); ნ-ჰექსანი/იზოპროპანოლი/დეა 90/10/0.1 (გ) გამოყენებით.

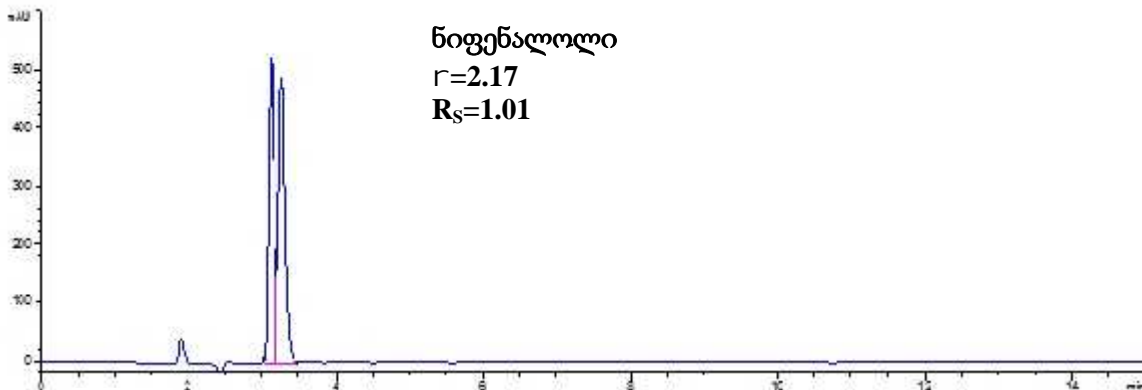
26 ქირალური ბეტა-ბლოკატორიდან ენანტიომერების მიმართ ყველაზე მაღალი სელექტივობით გამოირჩეოდა სვეტები Lux Cellulose-1 და Lux Cellulose-2. არცერთი ნივთიერება არ დაიყო Lux Cellulose-3 სვეტზე. ექვს ქირალურ პოლისაქარიდულ სვეტზე 26 ქირალური ბეტა ბლოკატორის ენანტიომერების ნაწილობრივი და ფუძისეული დაყოფის შედეგები, როდესაც მოძრავ ფაზად გამოყენებულ იყო ნ-ჰექსანი/იზოპროპანოლი/დეა 80/20/0.1 წარმოდგენილია ნახ. 19-ზე [128; 133] .

ნახ.19

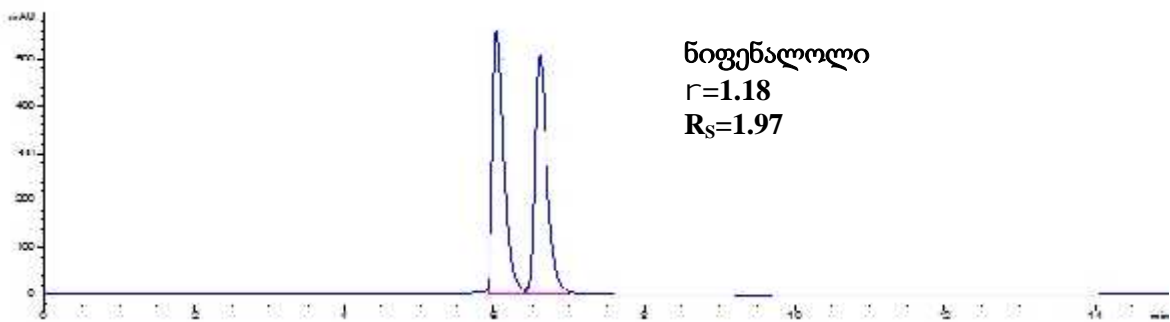


26 ბეტა ბლოკატორის ფუნქციონალი და ნაწილობრივი დაყოფის კუმულატური მაჩვენებელი მოძრავ ვაზად ნ-ჰექსანი/იზოპროპანოლი/დეა 80/20/0.1 გამოყენებისას

კვლევების შემდგომ ეტაპზე ნორმალურ ფაზაში ნ-ჰექსანი/იზოპროპანოლი/დეა, იზოპროპანოლი ჩავანაცვლეთ ეთანოლით და განხორციელდა 26 ქირალური ბეტა-ბლოკატორის სკრინინგი ექვსივე ქირალურ პოლისაქარიდულ სვეტზე. ნორმალურ ფაზაში ნ-ჰექსანის გაზრდამ ეთანოლთან კომბინაციაში გააუმჯობესა ენანტიომერების დაყოფები. მაგალითისათვის, ნიფენალოლის ენანტიომერების დაყოფები წარმოდგენილია ნახ. 20-ზე, როდესაც გამოვიყენეთ ქირალური სვეტი Lux Cellulose-4. (ნახ. 20), ხოლო მოძრავ ფაზად ნ-ჰექსანი/ეთანოლი/დეა 80/20/0.1 და ნ-ჰექსანი/ეთანოლი/დეა 90/10/0.1. ADMPC სვეტზე არ დაიყო მახუტეროლი, როდესაც მოძრავ ფაზად ვიყენებდით ნ-ჰექსანი/ეთანოლი/დეა 80/20/0.1, ნაწილობრივი დაყოფა მივიღეთ ნ-ჰექსანი/ეთანოლი/დეა 90/10/0.1 ფაზის გამოყენებისას (იხილეთ ნახ. 21). ამდენად, მოძრავი ფაზის ოპტიმიზაცია საშუალებას გვაძლევდა მიგველო რამდენიმე ბეტა-ბლოკატორისათვის ენანტიომერების ნაწილობრივი და ფუძისეული დაყოფა.

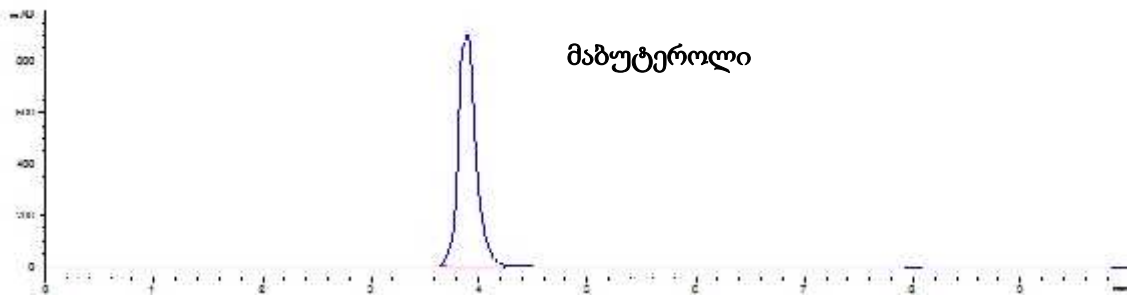


ა)

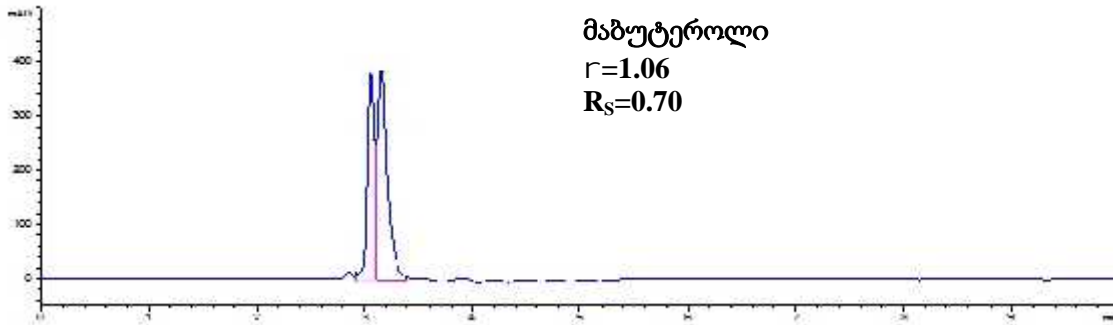


ბ)

ნახ. 20 ნიფენალოლის ენანტიომერების დაყოფა Lux Cellulose-4 სვეტზე. მოძრავ ფაზად ნ-ჰექსანი/ეთანოლი/დეა 80/20/0.1 (ა); ნ-ჰექსანი/ეთანოლი/დეა 90/10/0.1 (ბ) გამოყენებით.



ა)



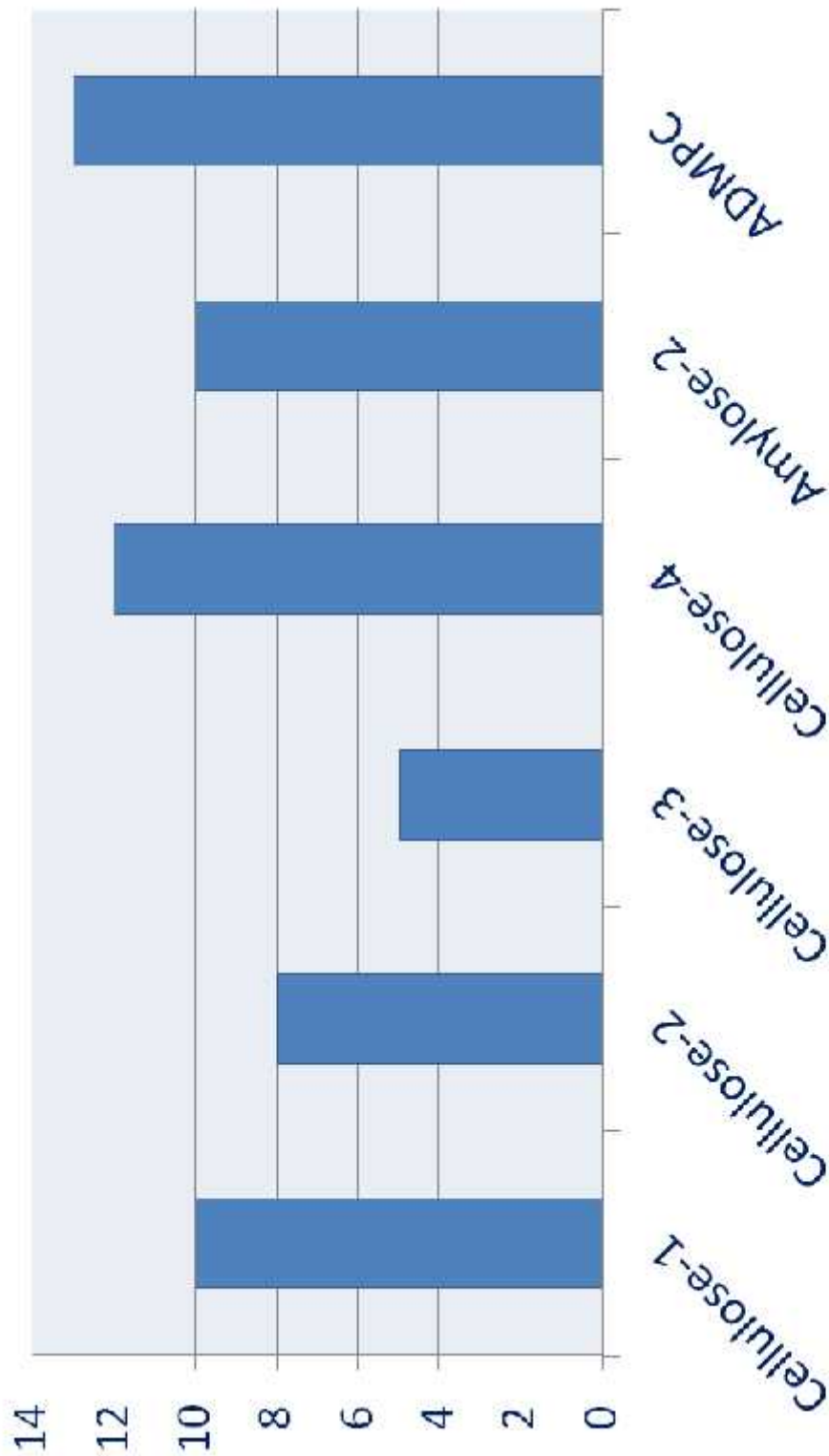
ბ)

ნახ.21 მამბუტეროლის ენანტიომერების დაყოფა ADMPC სვეტზე. მოძრავ ფაზად ნ-ჰექსანი/ეთანოლი/დეა 80/20/0.1 (ა); ნ-ჰექსანი/ეთანოლი/დეა 90/10/0.1 (ბ) გამოყენებით.

ამ ფაზაში გამოირჩეოდა ამილოზას ნაწარმი სვეტები Lux Amylose-2 და ADMPC. Lux Cellulose-3 სვეტზე ნ-ჰექსანი/ეთანოლი/დეა 80/20/0.1 ნორმალურ ფაზაში განსხვავებით ნ-ჰექსანი/იზოპროპანოლი/დეა 80/20/0.1, ოთხი რაცემატის, კერძოდ ატენოლოლის, ბოპინდოლოლის, პინდოლოლის და პროპრანოლოლის ენანტიომერები ნაწილობრივ დაიყო, ხოლო ერთი რაცემატის ენანტიომერები (ფენეტეროლი) ფუძისეულად. ექვს ქირალურ პოლისაქარიდულ სვეტზე 26 ქირალური ბეტა ბლოკატორის ენანტიომერების ნაწილობრივი და ფუძისეული დაყოფის შედეგები, როდესაც მოძრავ ფაზად გამოყენებულ იქნა ნ-ჰექსანი/ეთანოლი/დეა 80/20/0.1, წარმოდგენილია ცხრილ 2-ში, ხოლო ფუძისეული და ნაწილობრივი დაყოფის კუმულატიური მაჩვენებელი მოძრავ ფაზად ნ-ჰექსანი/ეთანოლი/დეა 80/20/0.1 გამოყენებისას ნახ. 22-ზე.

ცხრილი 2. 26 ქირალური ბეტა ბლოკატორის სკრინინგის შედეგები ექვს ქირალურ პოლისაქარიდულ სვეტზე, მოძრავ ფაზად გამოყენებულ იქნა ნ-ჰექსანი/ეთანოლი/დეა 80/20/0.1 გამოყენებისას

N	ბეტა ბლოკატორი	Cellulose-1	Cellulose-2	Cellulose-3	Cellulose-4	Amylose-2	ADMPC
1	აცეპტოლოლი	არ დაიყო	ფუძისეული	არ დაიყო	ფუძისეული	ფუძისეული	ფუძისეული
2	ალპრენოლოლი	ნაწილობრივი	არ დაიყო	არ დაიყო	ფუძისეული	არ დაიყო	ფუძისეული
3	ატენოლოლი	არ დაიყო	არ დაიყო	ნაწილობრივი	არ დაიყო	არ დაიყო	არ დაიყო
4	ბეტაქსოლოლი	არ დაიყო	არ დაიყო	არ დაიყო	არ დაიყო	არ დაიყო	არ დაიყო
5	ბისოპროლოლი	არ დაიყო	არ დაიყო	არ დაიყო	ფუძისეული	ნაწილობრივი	ფუძისეული
6	ბუპრანოლოლი	არ დაიყო	არ დაიყო	არ დაიყო	ფუძისეული	არ დაიყო	არ დაიყო
7	ბუნიტროლოლი	არ დაიყო	ნაწილობრივი	არ დაიყო	არ დაიყო	არ დაიყო	არ დაიყო
8	ცელიპროლოლი	ნაწილობრივი	ფუძისეული	არ დაიყო	ნაწილობრივი	ნაწილობრივი	ფუძისეული
9	მეზუტეროლი	არ დაიყო	არ დაიყო	არ დაიყო	არ დაიყო	არ დაიყო	არ დაიყო
10	მეტოპროლოლი	ნაწილობრივი	არ დაიყო	არ დაიყო	არ დაიყო	არ დაიყო	ფუძისეული
11	მეტიპრანოლოლი	არ დაიყო	არ დაიყო	არ დაიყო	ნაწილობრივი	არ დაიყო	ნაწილობრივი
12	ნიფენალოლი	არ დაიყო	ნაწილობრივი	არ დაიყო	ნაწილობრივი	არ დაიყო	ნაწილობრივი
13	ოქსპრენალოლი	ფუძისეული	არ დაიყო	არ დაიყო	არ დაიყო	ნაწილობრივი	ფუძისეული
14	სოტალოლი	არ დაიყო	არ დაიყო	არ დაიყო	არ დაიყო	არ დაიყო	არ დაიყო
15	ზოპინდოლოლი	არ დაიყო	ფუძისეული	ნაწილობრივი	არ დაიყო	ფუძისეული	არ დაიყო
16	კარაზოლოლი	ფუძისეული	ნაწილობრივი	არ დაიყო	ნაწილობრივი	ნაწილობრივი	ფუძისეული
17	ესმოლოლი	ნაწილობრივი	არ დაიყო	არ დაიყო	არ დაიყო	არ დაიყო	არ დაიყო
18	ფენეტეროლი	არ დაიყო	არ დაიყო	ფუძისეული	ნაწილობრივი	არ დაიყო	არ დაიყო
19	ლაბეტალოლი	არ დაიყო	არ დაიყო	არ დაიყო	ნაწილობრივი	არ დაიყო	არ დაიყო
20	ნადოლოლი	ფუძისეული	არ დაიყო	არ დაიყო	არ დაიყო	ნაწილობრივი	არ დაიყო
21	პროკატეროლი	არ დაიყო	ფუძისეული	არ დაიყო	ნაწილობრივი	არ დაიყო	არ დაიყო
22	პენბუტოლოლი	არ დაიყო	არ დაიყო	არ დაიყო	არ დაიყო	არ დაიყო	ნაწილობრივი
23	პინდოლოლი	ფუძისეული	ფუძისეული	ნაწილობრივი	ფუძისეული	ნაწილობრივი	ფუძისეული
24	პროპრანოლოლი	ფუძისეული	არ დაიყო	ნაწილობრივი	არ დაიყო	ნაწილობრივი	ფუძისეული
25	ტიმოლოლი	არ დაიყო	არ დაიყო	არ დაიყო	არ დაიყო	არ დაიყო	არ დაიყო
26	ტერტატოლოლი	ფუძისეული	არ დაიყო	არ დაიყო	არ დაიყო	ფუძისეული	ნაწილობრივი



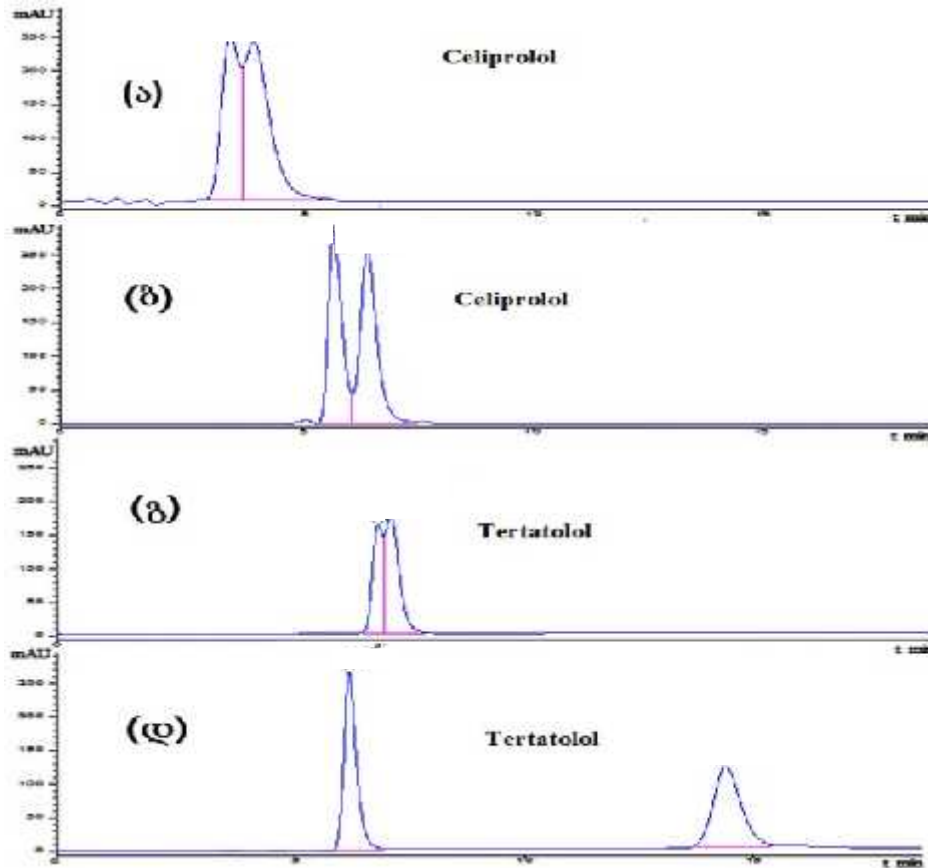
26 ბეტა-ბლოკატორის ფუძისეული და ნაწილობრივი დაყოფის კუმულატური მახვევებელი მოძრავ ფაზად 5-ჰექსანი/ეთანოლი/დეა 80/20/0.1 გამოყენებისას

ნახ.22

ამდენად, სკრინინგის მსველობისას ხდებოდა ნორმალური ფაზის ოპტიმიზაცია, რათა მოგვეხდინა უფრო მეტი ქირალური ბეტა-ბლოკატორის ენანტიომერების დაყოფა პოლისაქარიდული ტიპის ქირალური სტაციონალური ფაზების გამოყენებით.

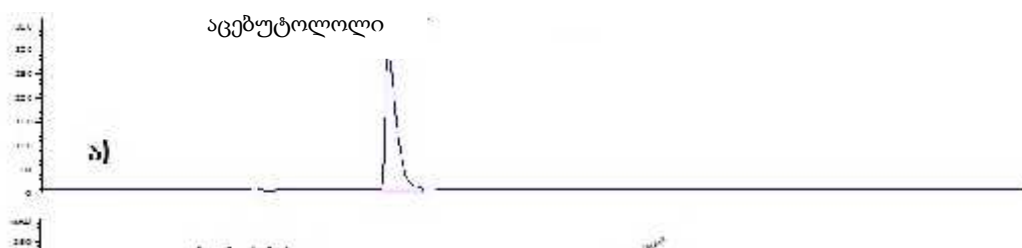
3.1.2 ქირალური სელექტორის ბუნების გავლენა ენანტიომერების დაყოფაზე

ენანტიომერების დაყოფის სელექტიულობა მნიშვნელოვნად არის დამოკიდებული ქირალური სელექტორის ბუნებაზე. ნახ.23-ზე წარმოდგენილია ცელიპროლოლისა და ტერტატოლოლის ენანტიომერების დაყოფის ქრომატოგრამები Lux Cellulose-1 და Lux Cellulose-2 ქირალურ სვეტზე.



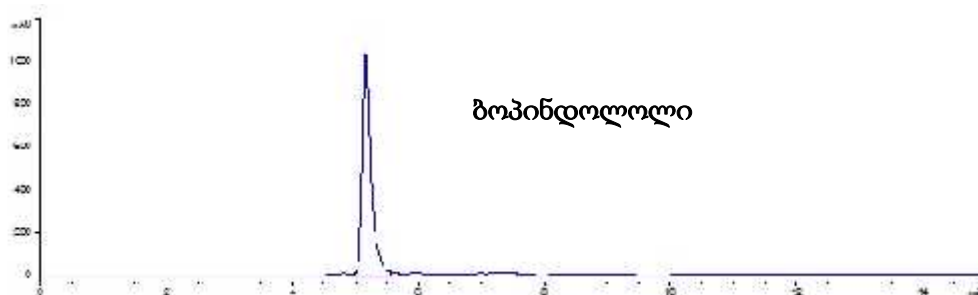
ნახ. 23 ცელიპროლოლის (ა და ბ) და ტერტატოლოლის (გ და დ) ენანტიომერების დაყოფა ცელულოზა-2 (ა და ბ) და ცელულოზა-1 სვეტებზე (გ და დ) მოძრავ ფაზად ნ-ჰექსანი/იზოპროპანოლი/დეა 50/50/0.1 გამოყენებისას.

ერთი ქირალური პოლისაქარიდული სტაციონალური ფაზიდან მეორე სტაციონალურ ფაზაზე გადასვლისას, როდესაც მოძრავ ფაზად გამოყენებული იქნა ნ-ჰექსანი/ეთანოლი/დეა, ხდებოდა ზოგიერთ ქირალურ ბეტა-ბლოკატორის ენანტიომერების დაყოფის სელექტიულობისა და გარჩევითობის გაუმჯობესება. მაგალითისათვის ნახ. 24-ზე წარმოდგენილია აცებუტოლოლის ენანტიომერების დაყოფის ქრომატოგრამები. Lux Cellulose-3 სვეტზე აცებუტოლოლი არ დაიყო, ხოლო Lux Cellulose-2 სვეტზე გადასვლისას ნაწილობრივ დაიყო, ხოლო შემდეგ გადასვლისას ჯერ Lux Cellulose-4-ზე, ხოლო შემდეგ ADMPC სვეტზე ენანტიომერების დაყოფის სელექტიულობა და გარჩევითობა გაუმჯობესდა.

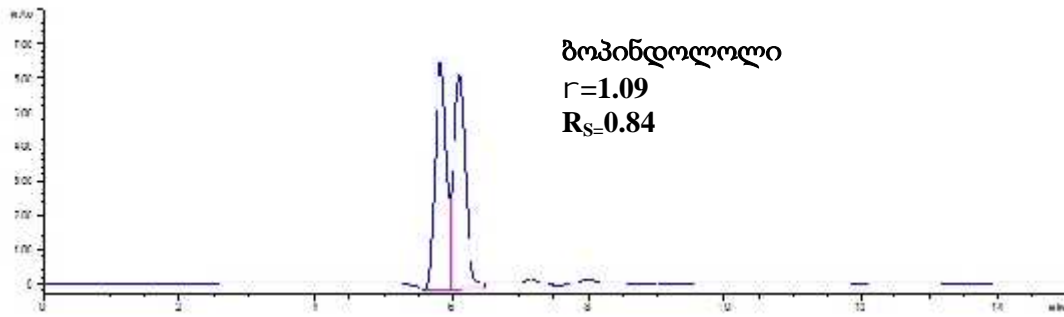


ნახ. 24 აცებუტოლოლის ენანტიომერების დაყოფა მოძრავ ფაზად *n*-ჰექსანი/ეთანოლი/დეა 80/20/0.1 გამოყენებისას, Lux Cellulose-3 (ა), Lux Cellulose-3 (ბ), Lux Cellulose-3 (გ) და ADMPC (დ).

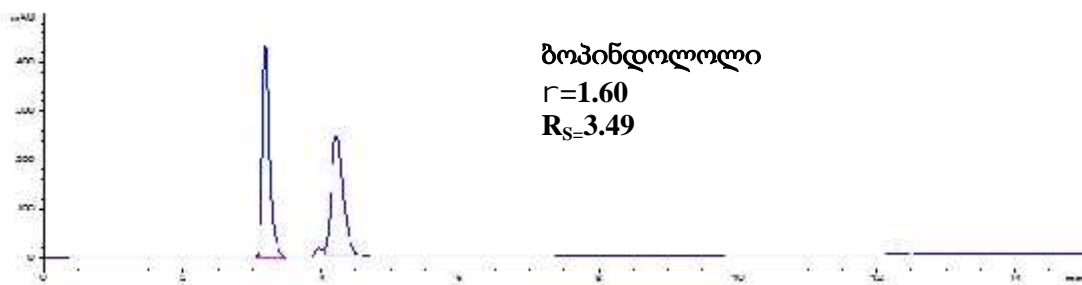
ADMCP სვეტზე ბოპინდოლოლი არ დაყოფა, ხოლო Lux Cellulose-3 სვეტზე გადასვლისას მოხდა მისი ენანტიომერების ნაწილობრივი დაყოფა, ხოლო შემდეგ Lux Amylose-2 გადასვლისას დაყოფების სელექტიურობა და გარჩევითობა გაუმჯობესდა (ნახ. 25)



ა)

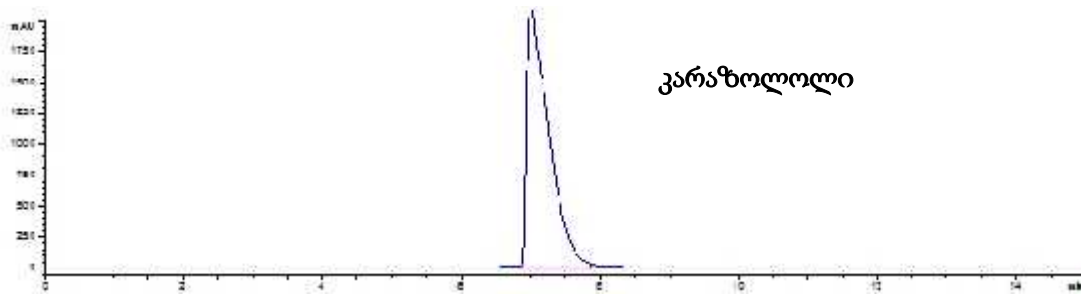


ბ)

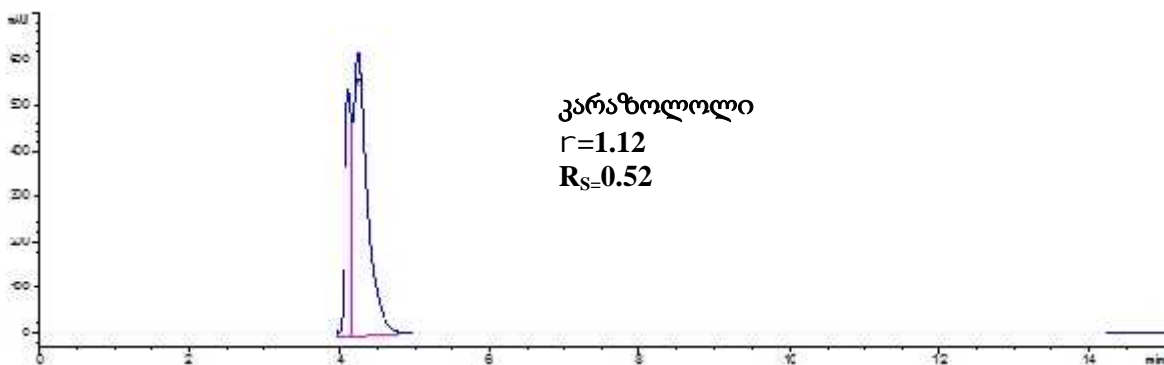


ბ)

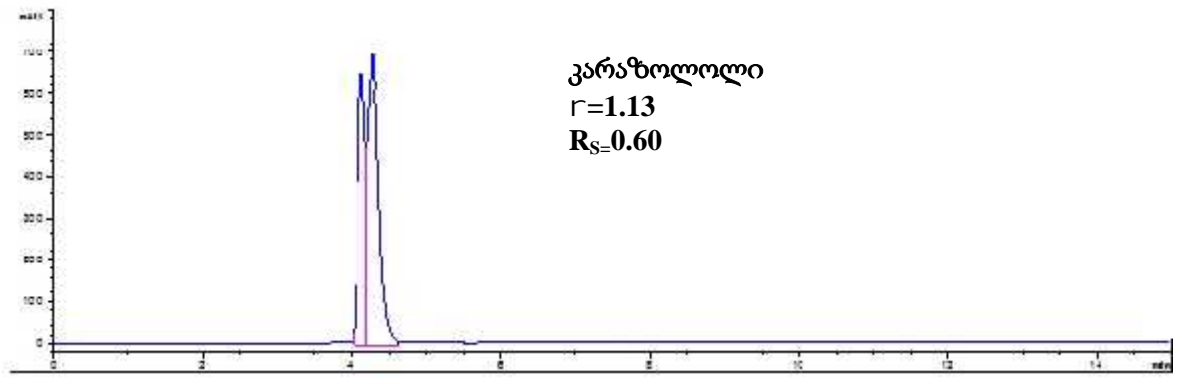
ნახ. 25 ბოპინდოლოლის ენანტიომერების დაყოფა მოძრავ ფაზად ნ-ჰექსანი/ეთანოლი/დეა 80/20/0.1 გამოყენებისას, ADMPC (ა), Lux Cellulose-3 (ბ), Lux Amylose-2 (გ).



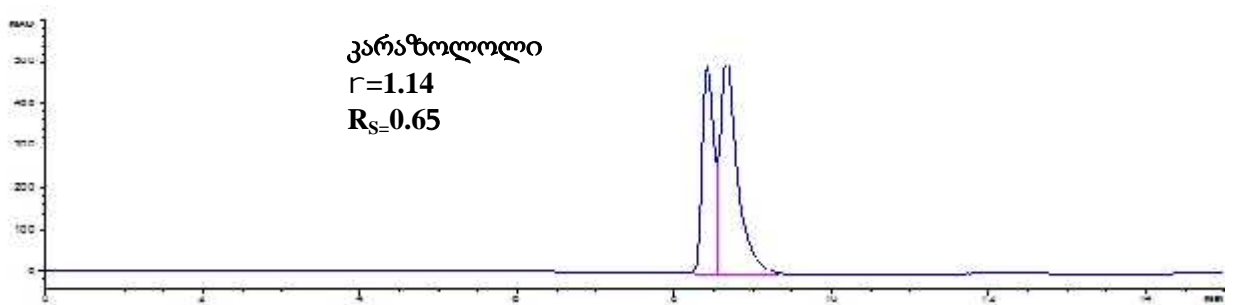
ა)



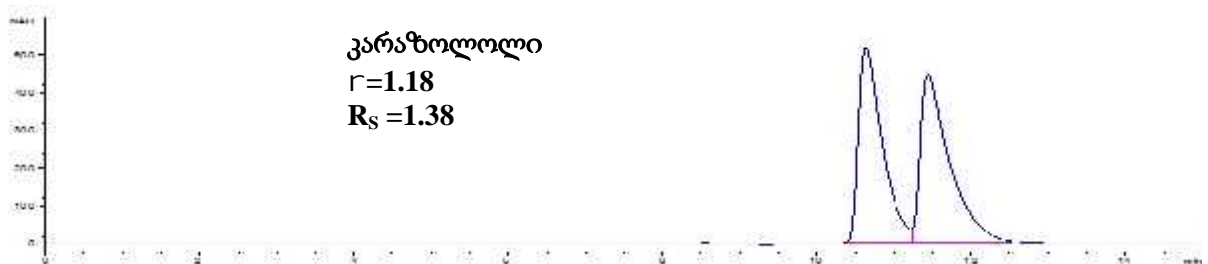
ბ)



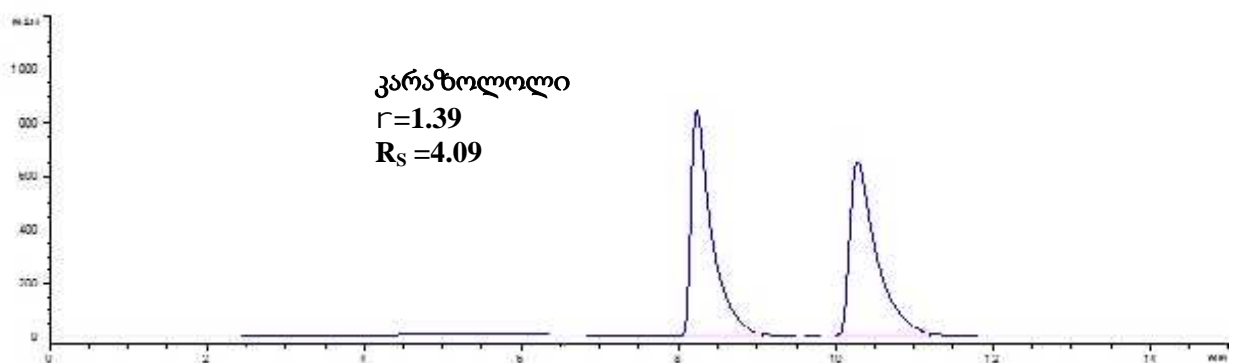
ბ)



გ)



დ)

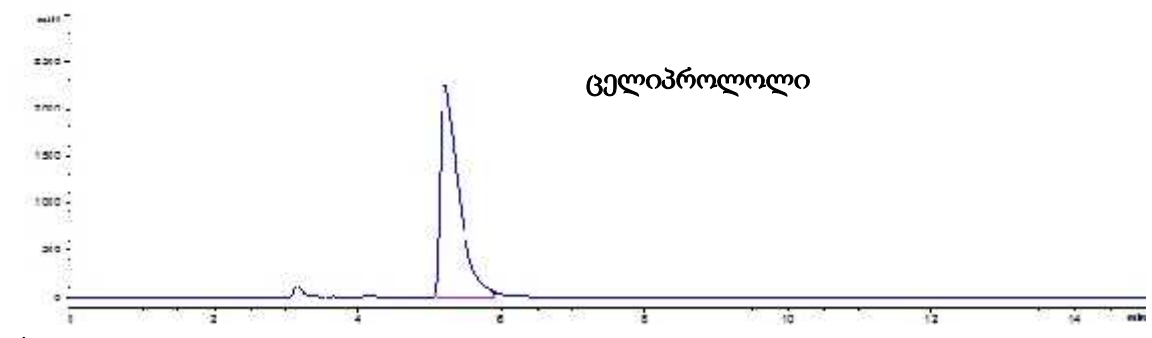


ვ)

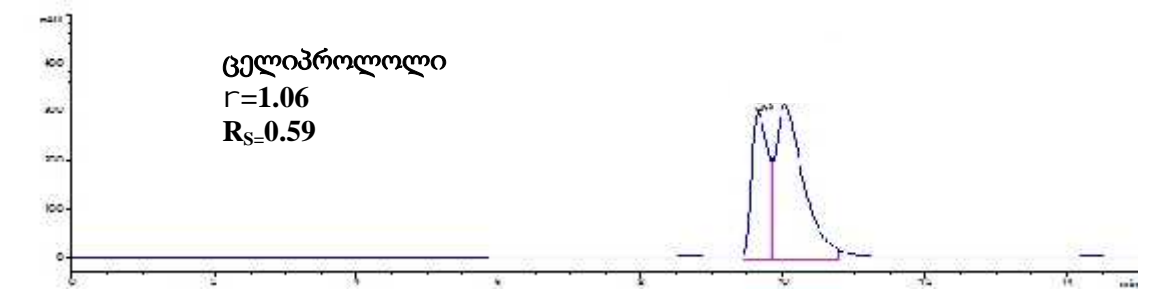
ნახ. 26 კარაზოლოლის ენანტიომერების დაყოფა მოძრავ ფაზად *n*-ჰექსანი/ეთანოლი/დეა 80/20/0.1 გამოყენებისას, სვეტები : Lux Cellulose-3 (ა); Lux Amylose-2 (ბ); Lux Cellulose-4 (გ); Lux Cellulose-2 (დ); Lux Cellulose-1 (ე); ADMPC (ვ).

ნახ 26-ის ქრომატოგრამები კარაზოლოლის ენანტიომერების მაგალითზე აჩვენებს, თუ როგორ ხდებოდა ოპტიმალური ქირალური სელექტორის შერჩევა ექვსივე სვეტის გამოყენებისას. კარაზოლოლი არ დაიყო Lux Cellulose-3 სვეტზე, ხოლო ფუძისეულად დაიყო ADMPC სვეტზე.

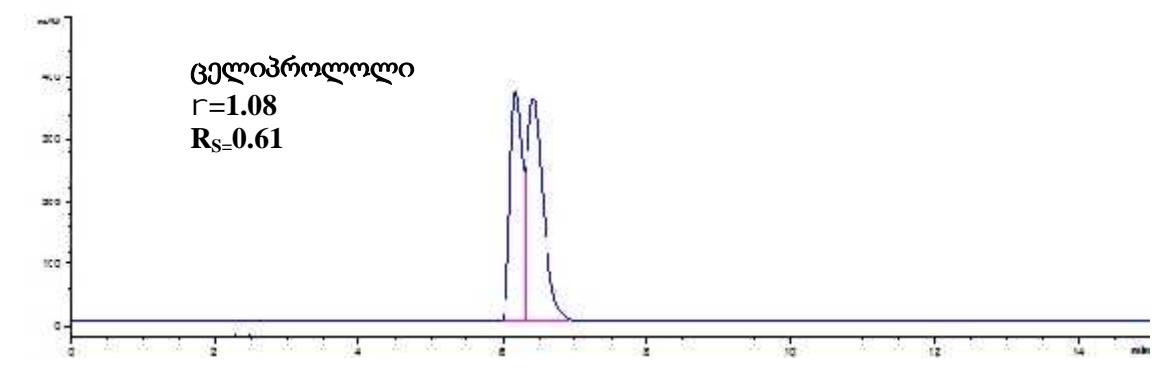
ნახ. 27-ზე წარმოდგენილია ანალოგიური შედეგი, როდესაც ოპტიმალური ქირალური სელექტორის შერჩევას ვახდენთ ცელიპროლოლის ენანტიომერების მაგალითზე. ცელიპროლოლი არ დაიყო Lux Cellulose-3 - ზე, ნაწილობრივად დაიყო Lux Cellulose-4, Lux Cellulose-1 და Lux Amylose-2-ზე, ხოლო ფუძისეულად - ADMPC სვეტზე.



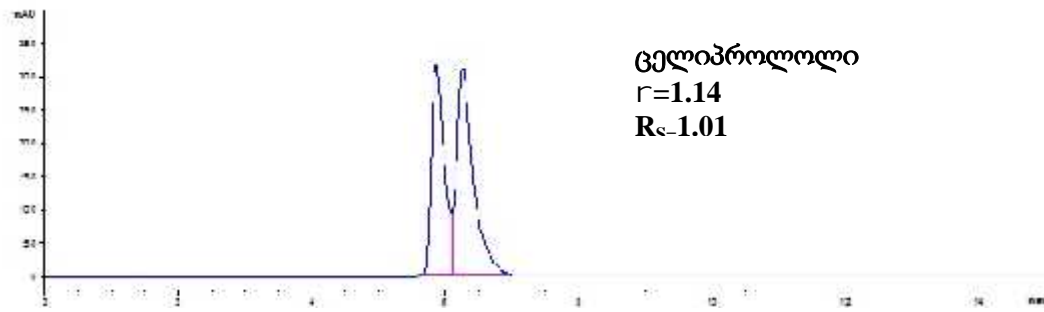
ა)



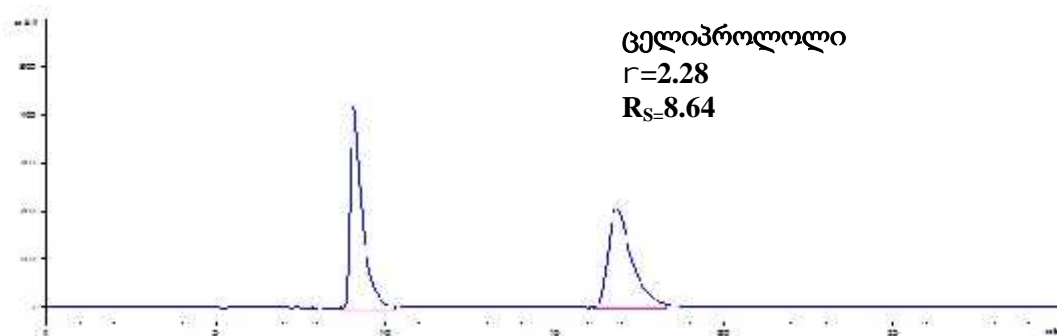
ბ)



გ)



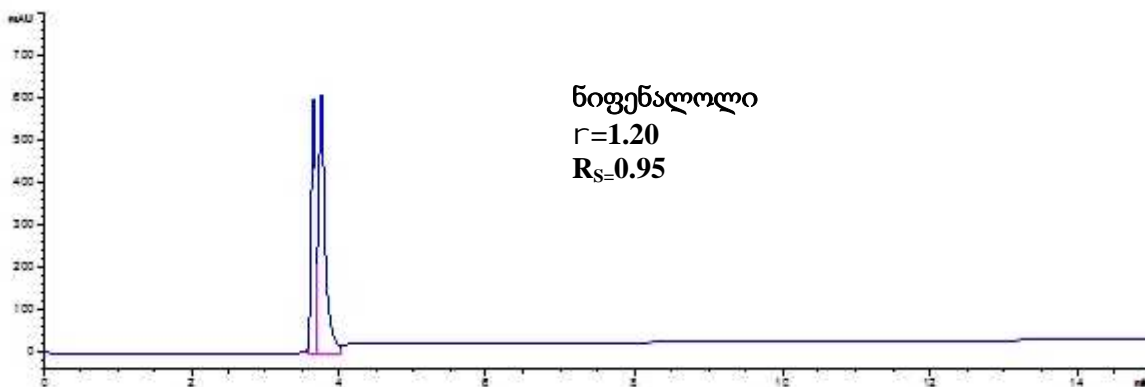
ბ)



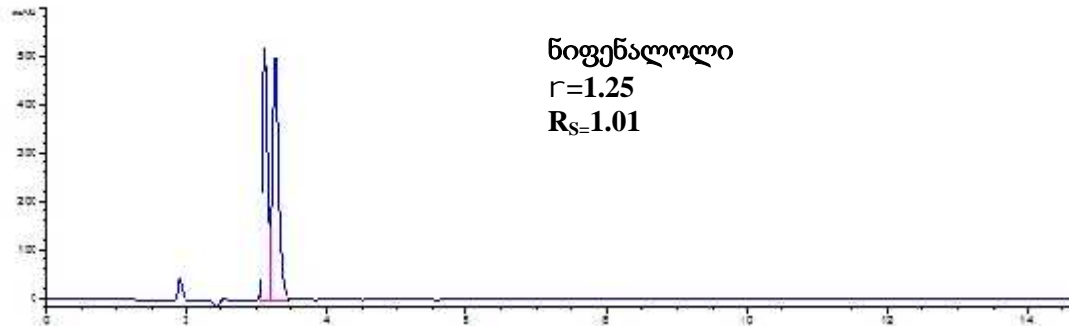
ე)

ნახ.27 ცელიპროლოლის ენანტიომერების დაყოფა მოძრავ ფაზად ნ-ჰექსანი/ეთანოლი/დეა 80/20/0.1 გამოყენებისას, სვეტები : Lux Cellulose-3 (ა); Lux Cellulose-1 (ბ); Lux Cellulose-4 (გ); Lux Amylose-2 (დ); ADMPC (ე)

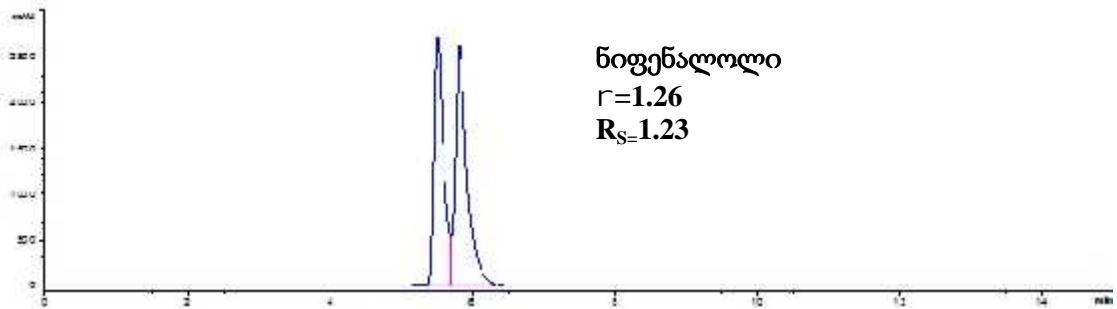
ქირალური სტაციონალური ფაზის შერჩევის კიდევ ერთ საინტერესო მაგალითს წარმოადგენს ნიფენალოლის ენანტიომერების დაყოფა. აღსანიშნავია, რომ ნიფენალოლის ADMPC სვეტზე ანალიზის ჩატარებისას უკეთესი ნაწილობრივი დაყოფა იქნა მიღებული, ვიდრე Lux Cellulose-2-სა და Lux Cellulose-4 სვეტებზე (ნახ. 28).



ა)



ბ)



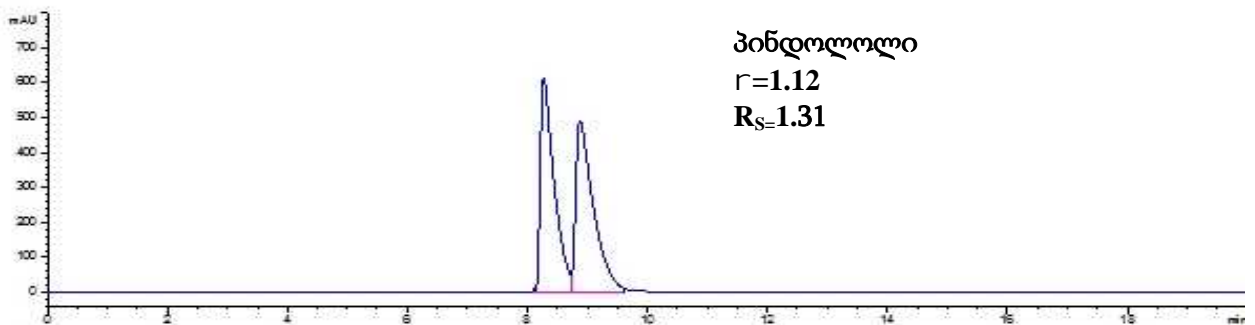
გ)

ნახ.28 ნიფენალოლის ენანტიომერების დაყოფა მოძრავ ფაზად ნ-ჰექსანი/ეთანოლი/დეა 80/20/0.1 გამოყენებისას. სვეტები: Lux Cellulose-2 (ა); Lux Cellulose-4 (ბ); ADMPC (გ).

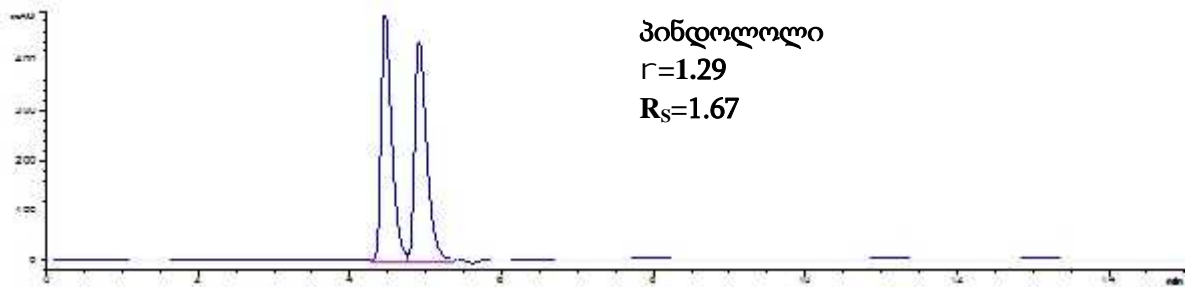
კვლევებში გამოიკვეთა ენანტიომერების დაყოფის რამდენიმე საინტერესო შემთხვევა ერთი ქირალური სტაციონალური ფაზის მეორე სტაციონალური ფაზით შეცვლისას. როდესაც მოძრავ ფაზად გამოვიყენეთ ნ-ჰექსანი/ეთანოლი/დეა 80/20/0.1, საგრძნობლად გაიზარდა ენანტიომერების დაყოფის სელექტივობა და გარჩევითობა.

ოქსპრენალოლი ნაწილობრივ დაიყო Lux Amylose-2-ზე, ხოლო ფუძისეულად Lux Cellulose-1-სა ADMPC სვეტებზე.

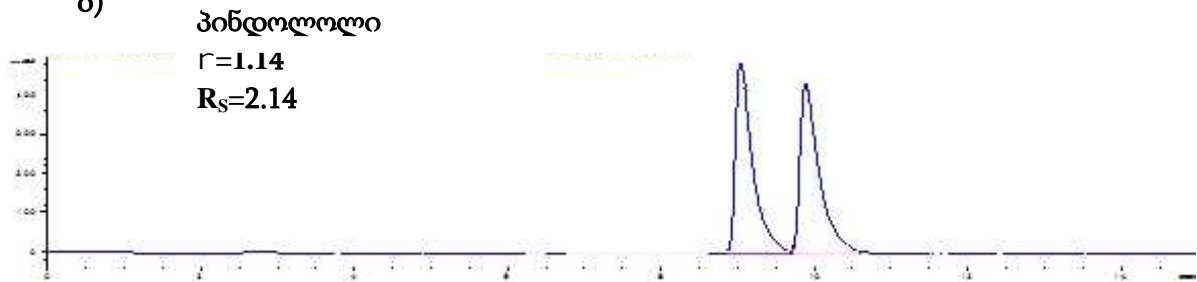
პინდოლოლი ნაწილობრივ დაიყო Lux Cellulose-3 სვეტზე, ხოლო ფუძისეულად Lux Cellulose-2, Lux Cellulose-4 და ADMPC სვეტებზე იხილეთ ნახ. 29-ზე.



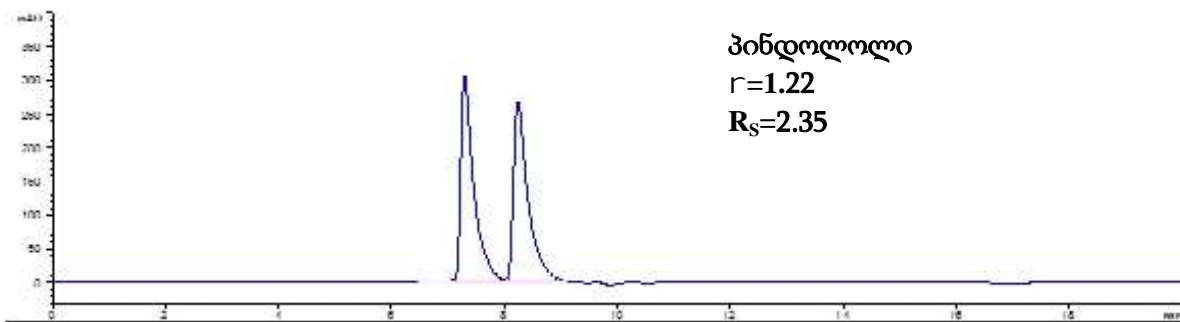
ა)



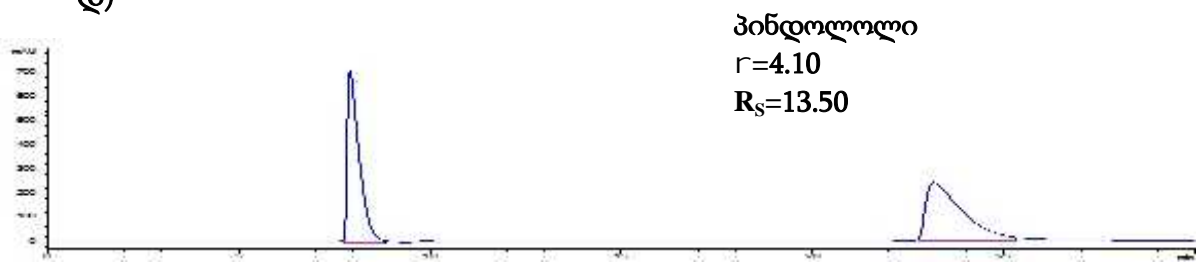
ბ)



გ)



დ)



ე)

ნახ.29 პინდოლოლის ენანტიომერების დაყოფა მოძრავ ფაზად 5-ჰექსანი/ეთანოლი/დეა 80/20/0.1 გამოყენებისას, სვეტები : Lux Cellulose-3 (ა); Lux Cellulose-4 (ბ); Lux Cellulose-2 (გ); ADMPC (დ); Lux Cellulose-1 (ე).

პროკატეროლი არ დაიყო Lux Cellulose-3 სვეტსა და ADMPC სვეტებზე, ხოლო ნაწილობრივ დაიყო Cellulose-2-სა და Lux Cellulose-4 სვეტებზე.

პროპრანოლოლი ნაწილობრივ დაიყო Cellulose-3, Lux amylose-2 სვეტებზე, ხოლო ფუძისეულად დაიყო Lux Cellulose-1-სა და ADMPC სვეტებზე.

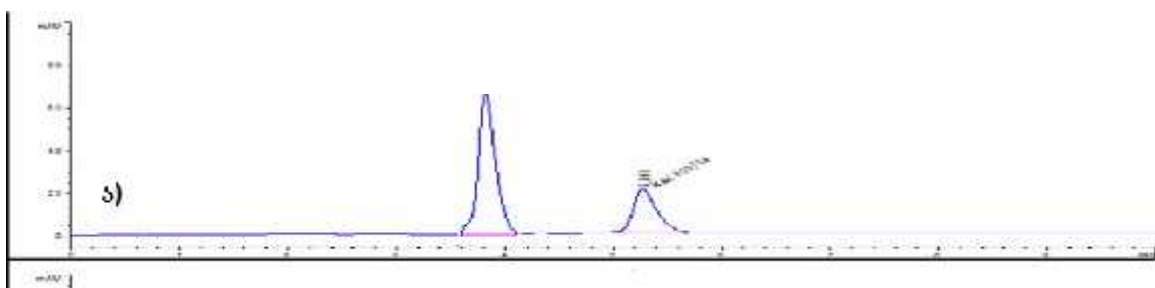
ტერტატოლოლი ნაწილობრივ დაიყო ADMPC სვეტზე, ხოლო ფუძისეულად Lux Amylose-2 სვეტზე.

3.1 ენანტიომერების ელუირების რიგი

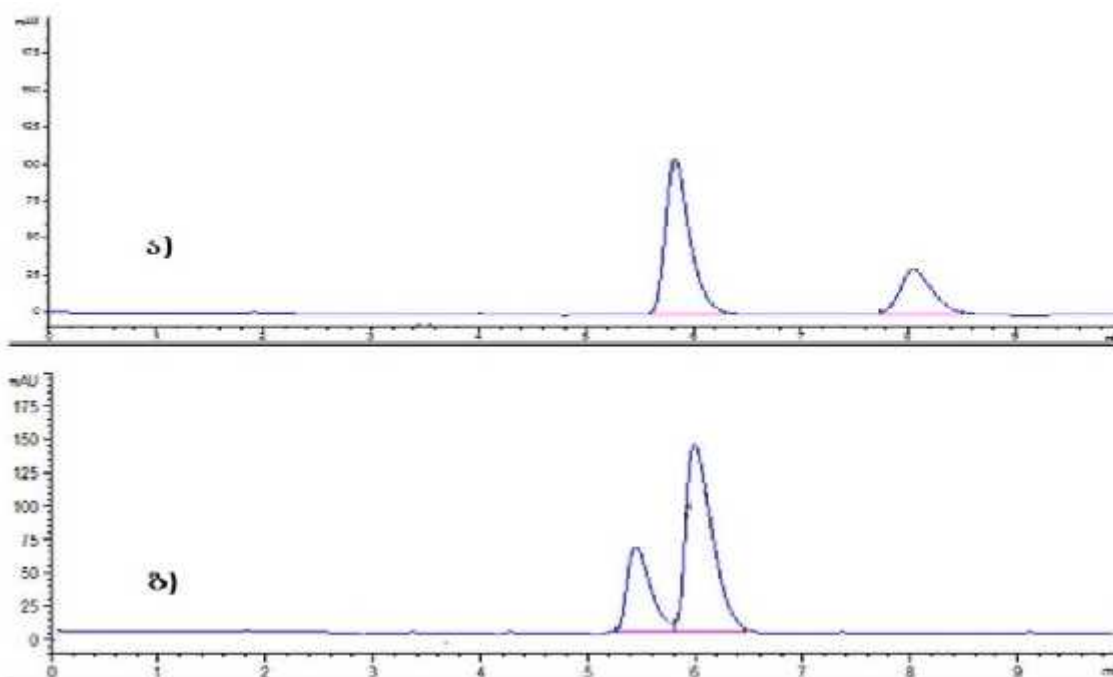
ენანტიომერების ელუირების თანმიმდევრობა საინტერესოა არა მარტო ქირალური დაყოფების მექანიზმების კვლევის მიზნით, არამედ როგორც ანალიზური, ისე პრეპარატიული და საწარმოო მასშტაბების სითხურ-ქრომატოგრაფიული დაყოფებისთვის. როდესაც მინარევის სახით არსებული ერთ-ერთი ენანტიომერი გამოდის მთავარი ენანტიომერის პიკის შემდეგ, დაბალი გარჩევადობის შემთხვევაში, რთულია ფუძისეული დაყოფის მიღება, რადგან, მცირე ზომის პიკი შეიძლება გადაიფაროს დიდი ზომის პიკით. ხოლო თუკი მოხერხდება ენანტიომერების ელუირების თანმიმდევრობას შეზღუდვა, მინარევის სახით არსებული ენანტიომერის პიკი გამოვა მთავარი ენანტიომერის პიკამდე და ფუძისეული დაყოფის მიღება უფრო ადვილია. ამასთან, უმჯობესდება ქრომატოგრაფიული დაყოფის სურათი და შესაბამისად უფრო ზუსტია რაოდენობრივი ანალიზი, ასევე იზრდება ენანტიომერული სისუფთავის ხარისხი პრეპარატიული თუ საწარმოო მასშტაბების დაყოფების დროს.

ენანტიომერების ელუირების რიგის დადგენის მიზნით გამოყენებული იყო ნიმუშები ენანტიომერების 2/1-თან თანაფარდობით. დადგენილ იქნა ენანტიომერების ელუირების რიგის შეზღუდვის რამდენიმე შემთხვევა. მაგალითად, როდესაც მოძრავ ფაზად გამოყენებული იყო ნ-ჰექსანი/იზოპროპანოლი/დეა 80/20/0.1 ქირალური სელექტორის ბუნების მიხედვით ელუირების რიგი შეზღუდდა აცეპტოლოლის, ბეტაქსოლოლის, ესმოლოლის, კარაზოლოლის, ნიფენალოლის, პენბუტოლოლის, სოტალოლის და ტერტატოლოლის ენანტიომერებისათვის. მაგალითის სახით მოტანილია პროპრანოლოლის ენანტიომერების ელუირების რიგის შეზღუდვა ცელულოზა-1 და ცელულოზა-4 სვეტის ალტერნატიული გამოყენებისას და აგრეთვე ბეტაქსოლოლის ენანტიომერების ელუირების რიგის შეზღუდვა ცელულოზა-1 და ცელულოზა-2 სვეტზე. (იხილეთ ნახ. 30 და ნახ. 31). ელუირების რიგის შეზღუდვა დაფიქსირდა ასევე ამილოზას ნაწარმ სვეტიდან ცელულოზას ნაწარმ სვეტზე გადასვლისას. მაგალითის სახით მოტანილია აცეპტოლოლის ენანტიომერების ელუირების რიგის შეზღუდვა Lux Amylose-2 და Lux Cellulose-4 სვეტის ალტერნატიული გამოყენებისას. ქრომატოგრამები წარმოდგენილია ნახ. 32-ზე.

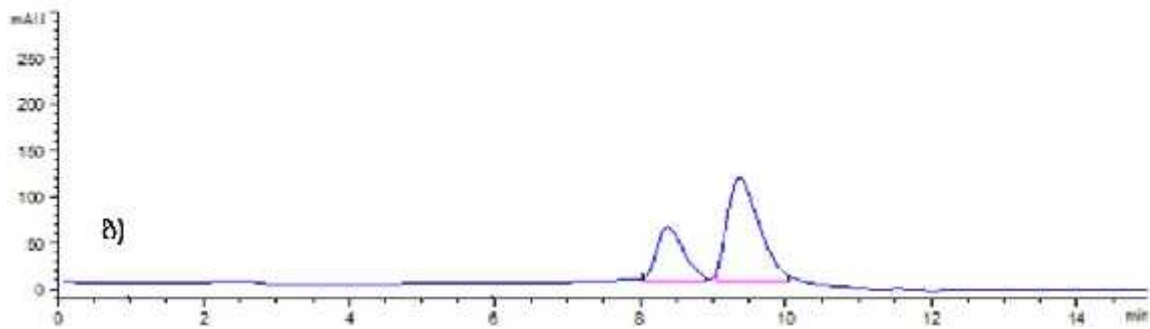
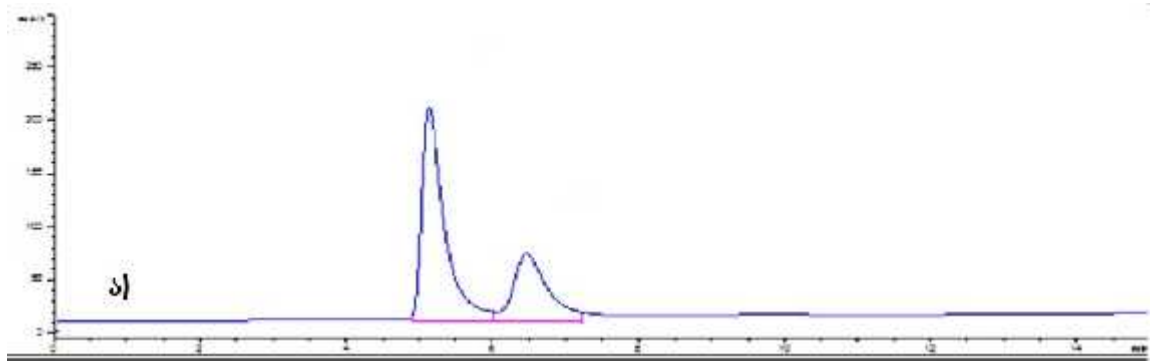
როდესაც მოძრავ ფაზად გამოვიყენეთ ნ-ჰექსანი/ეთანოლი/დეა 90/10/0.1 ქირალური სელექტორის ბუნების მიხედვით ელუირების რიგი შეზღუდდა კარაზოლოლის, ნიფენალოლისა და ტერტატოლოლის ენანტიომერებისათვის. ნიფენალოლის ენანტიომერების დაყოფა Lux Cellulose-2, Lux Cellulose-4 და ADMPC ქრომატოგრაფიულ სვეტების ალტერნატიული გამოყენებისას (ნახ. 33), ხოლო ტერტატოლოლის ენანტიომერების დაყოფა მოხდა Lux Cellulose-1, Lux Cellulose-4, Lux Amylose-2 და ADMPC ქრომატოგრაფიული სვეტების ალტერნატიული გამოყენებისას ნახაზი (34).



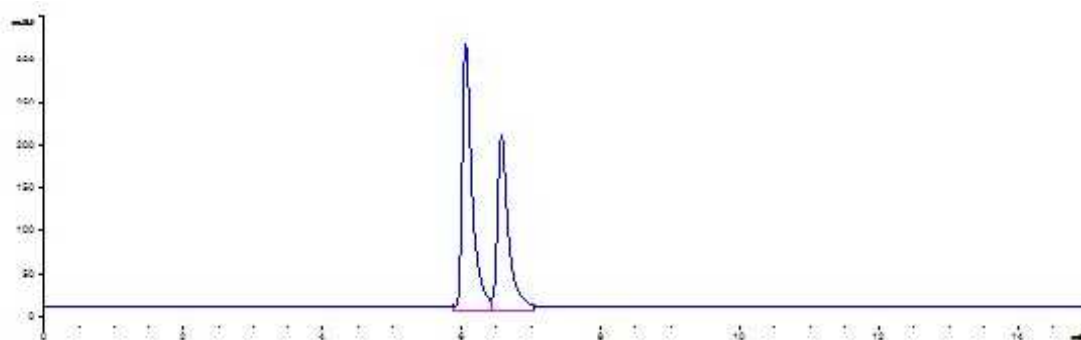
ნახ. 30 პროპრანოლოლის ენანტიომერების დაყოფა Lux Cellulose-1 და Lux Cellulose-4 სვეტებზე მოძრავ ფაზად ნ-ჰექსანი/იზოპროპანოლი/დეა 80/20/0.1 გამოყენებით.



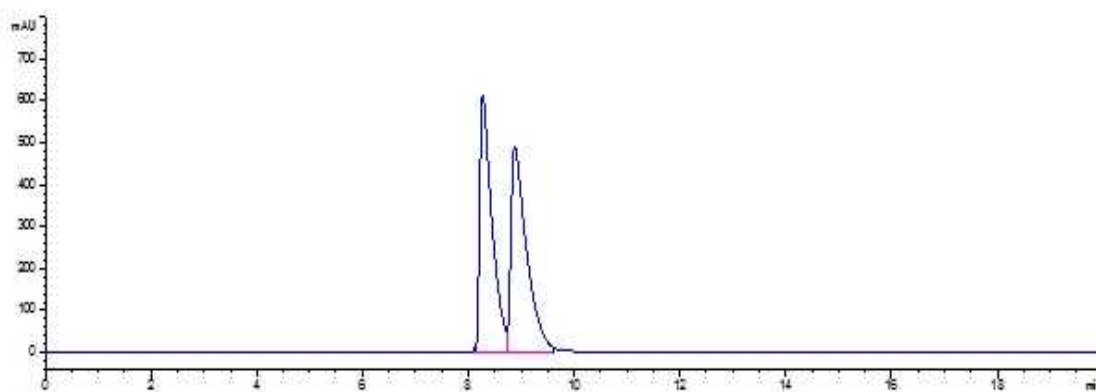
ნახ. 31 ბეტაქსოლოლის ენანტიომერების დაყოფა ა) Lux Cellulose-1 და Lux Cellulose-2 (ბ) სვეტებზე მოძრავ ფაზად ნ-ჰექსანი/იზოპროპანოლი//დეა 80/20/0.1 გამოყენებით.



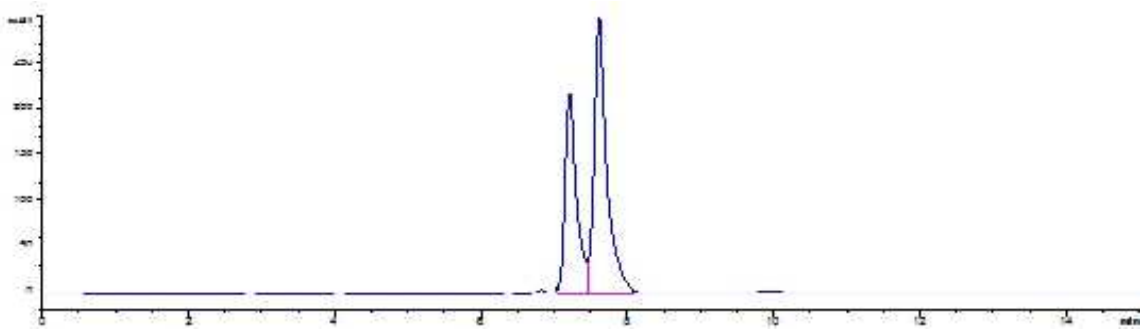
ნახ. 32 აცებუტოლოლის ენანტიომერების დაყოფა Lux Amylose-2 (ა) და Lux Cellulose-4 (ბ) სვეტებზე მოძრავ ფაზად ნ-ჰექსანი/იზოპროპანოლი/დეა 80/20/0.1 გამოყენებით.



ა)

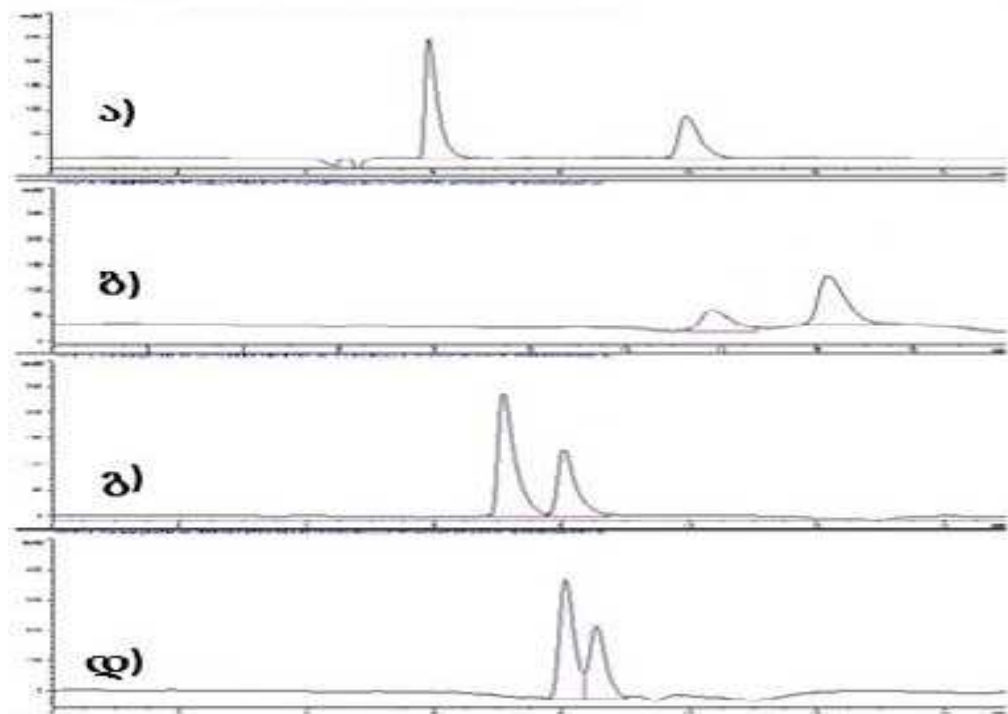


ბ)



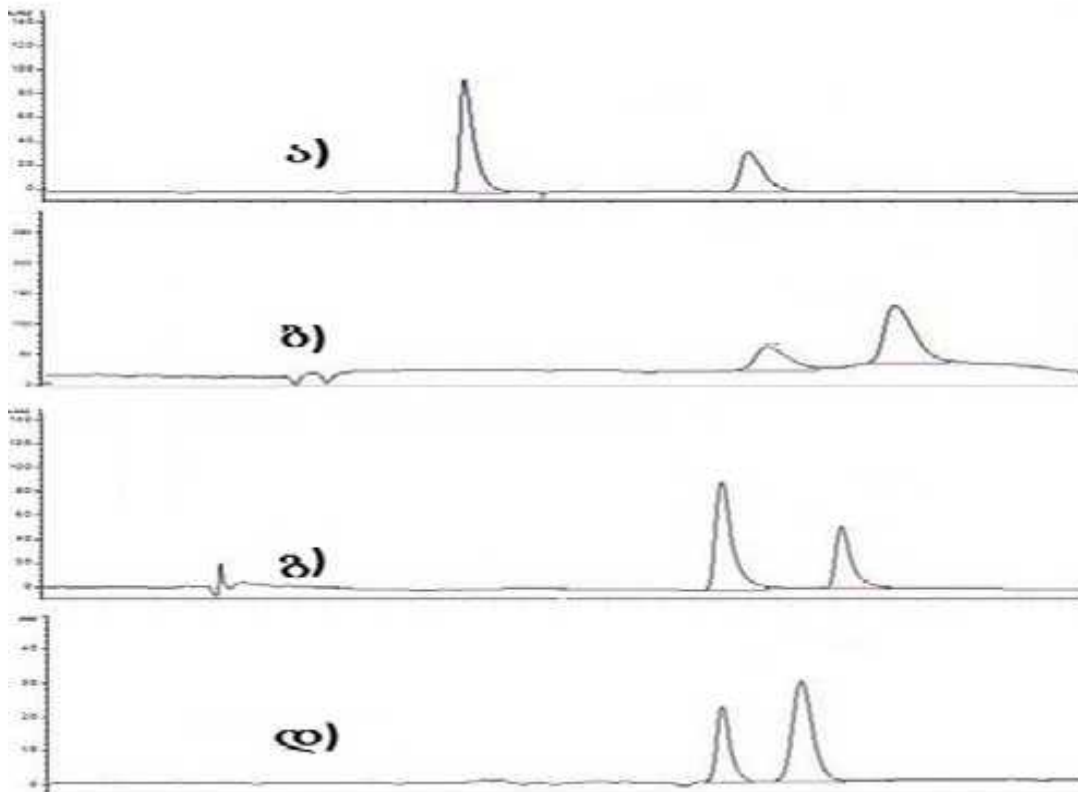
ბ)

ნახ. 33 ნიფენალოლის ენანტიომერების დაყოფა Lux Cellulose-2 (ა), Lux Cellulose-4 (ბ), ADMPC (გ) სვეტებზე მოძრავ ფაზად ნ-ჰექსანი/ეთანოლი/დეა 90/10/0.1 გამოყენებით.



ნახ. 34 ტერტატოლოლის ენანტიომერების დაყოფა Lux Cellulose-1 (ა), Lux Cellulose-4 (ბ), Lux Amylose-2 (გ) და ADMPC (დ) სვეტებზე მოძრავ ფაზად ნ-ჰექსანი/ეთანოლი/დეა 90/10/0.1 გამოყენებით.

ელუირების რიგის შებრუნება Lux Cellulose-4 სვეტზე ზემოთხსენებულ ყველა სხვა სვეტთან შედარებით მოხდა როდესაც მოძრავ ფაზაში გვექონდა ფუძე ბუნების დანამატი (ნ-ჰექსანი/ეთანოლი/დეა 80/20/0.1). ამ უკანასკნელის ანალოგიური შემთხვევა დაფიქსირდა ტერტატოლოლის ენანტიომერების დაყოფისას მოძრავ ფაზაში მჟავა დანამატის დროს (ნ-ჰექსანი/ეთანოლი/ჰიანჭველაჟავა 80/20/0.036) Lux Cellulose-1 სვეტიდან Lux Cellulose-4 სვეტზე გადასვლისას (ნახ. 35).



ნახ. 35 ტერტატოლოლის ენანტიომერების დაყოფა სვეტებზე Lux Cellulose-1 (ა), Lux Cellulose-4 (ბ), Lux Amylose-2 (გ) და ADMPC (დ) და მოძრავ ფაზად ნ-ჰექსანი/ეთანოლი/დეა 80/20/0.1 (ა და ბ) და ნ-ჰექსანი/ეთანოლი/ჭიანჭველამჟავა 80/20/0.036 (გ და დ) გამოყენებისას.

ამდენად, კვლევებში დადგინდა ზოგიერთ ქირალური ბეტა-ბლოკატორისათვის ენანტიომერების ელუირების რიგი და მისი შეზღუდვის რამდენიმე საინტერესო შემთხვევა [136].

3.2. ბეტა-ბლოკატორების დაყოფა პოლარულ ორგანულფაზიან ქრომატოგრაფიაში

როგორც ცნობილია, პოლარულ ორგანულ გამხსნელებს ენანტიომერულ დაყოფებში აქვს ის უპირატესობა, რომ საანალიზო ნიმუშები ადვილად იხსნება ამ ფაზაში, მიიღება ვიწრო ქრომატოგრაფიული პიკები და ანალიზიც მიმდინარეობს მცირე დროში. ბეტა-ბლოკატორები ფუძე ბუნების ნივთიერებები არიან. ქირალურ ქრომატოგრაფიაში არსებული გამოცდილებიდან გამომდინარე, მათი დაყოფა უმჯობესია მოძრავ ფაზაში ფუძე დანამატის გამოყენებით, ამიტომ ელუენტის ძირითად დანამატად გამოვიყენეთ დიეთილამინი-დეა. როგორც მოსალოდნელი იყო ელუენტზე ფუძე დანამატმა-დიეთილამინმა გააუმჯობესა დაყოფები. სკრინინგი მიმდინარეობდა ელუენტ აცეტონიტრილზე 0.1% (მოცულობით) დამატებულ დიეთილამინით. 16 ქირალური ბეტა-ბლოკატორის სკრინინგის დროს ცელულოზას ნაწარმ ოთხ და ამილოზას ნაწარმ ორ ქირალურ სვეტზე.

3.2.1 ენანტიომერების დაყოფა სხვადასხვა ქირალური სელექტორებით და მოძრავი ფაზებით

რამდენადაც ზოგიერთი ქირალური ბეტა/ბლოკატორის ენანტიომერების დაყოფა არ იყო შესწავლილი პოლარულ-ორგანულ ფაზაში, ჩავატარეთ 16 ქირალურ ბეტა ბლოკატორზე სკრინინგი ექვს ქირალურ სვეტზე მოძრავ ფაზად აცეტონიტრილის გამოყენებით [127].

Lux Cellulose 1 ქირალურ სვეტზე ნაწილობრივად დაიყო 3 ნივთიერება - ბეტაქსოლოლი, ბისოპროლოლი და მეტოპროლოლი.

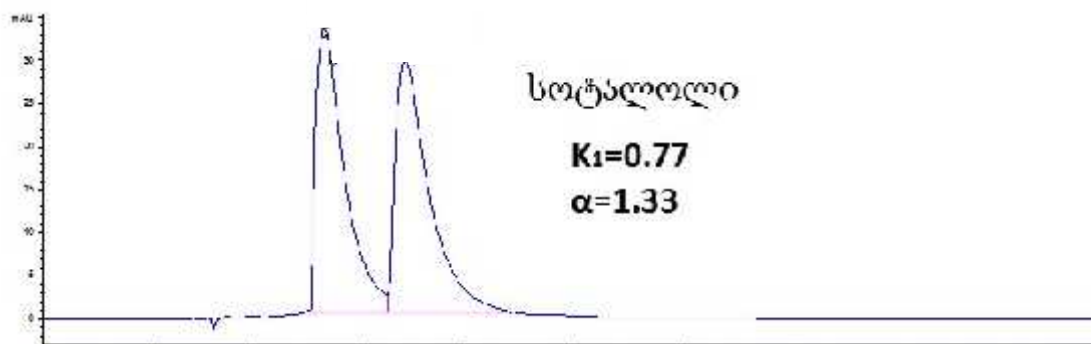
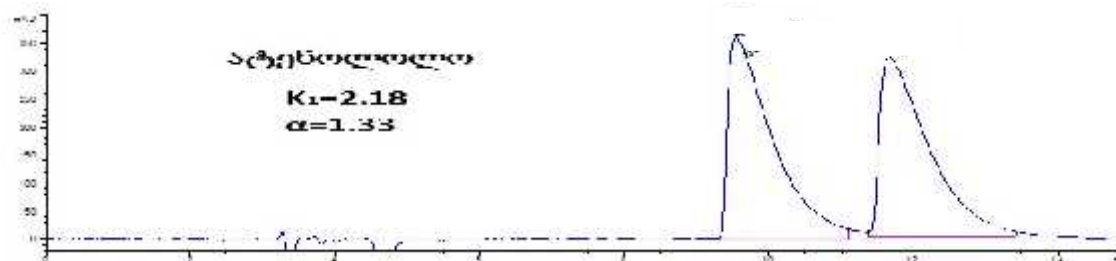
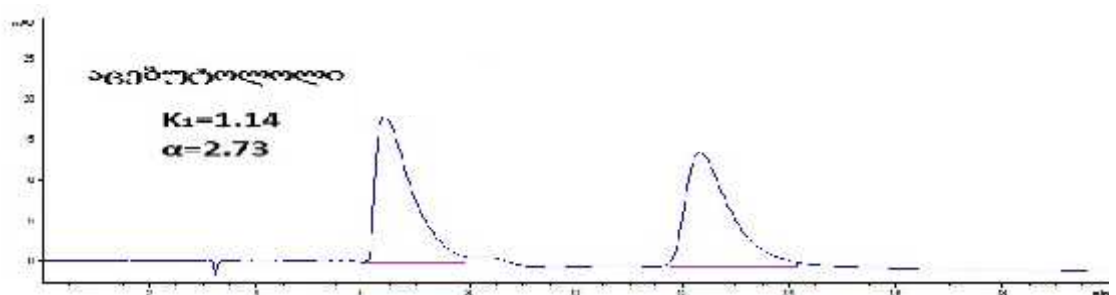
Lux Cellulose 2 ქირალურ სვეტზე ფუძისეულად მოხდა სოტალოლისა და ტოლიპროლოლის ენანტიომერების დაყოფა.

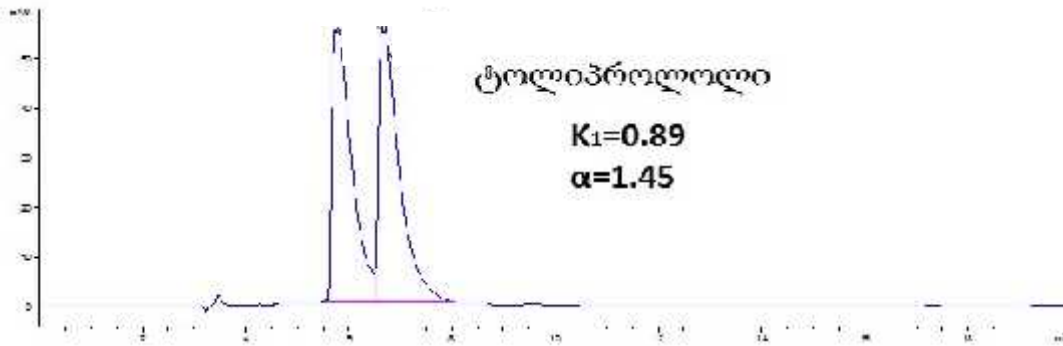
Lux Cellulose 3 ქირალურ სვეტზე არცერთი ბეტა-ბლოკატორი არ დაიყო.

Lux Cellulose 4 ქირალურ სვეტზე ნაწილობრივ დაიყო მეტიპრანოლოლი, ოქსპერნოლოლი, ხოლო ფუძისეულად ცელიპროლოლი.

Lux Amylose 2 ქირალურ სვეტზე თითქმის ფუძისეულად დაიყო სოტალოლი და ტოლიპროლოლი, ხოლო ფუძისეულად აცეზუტოლოლი და ატენოლოლი. დაყოფები წარმოდგენილია ნახ. 36-ზე.

Lux AMPDC ქირალურ სვეტზე ნაწილობრივ დაიყო ატენოლოლი, ხოლო ფუძისეულად აცეზუტოლოლი, სოტალოლი და ტოლიპროლოლი.





ნახ.36 აცებუტოლოლის, ატენოლოლის, სოტალოლისა და ტოლიპროლოლის ენანტიომერების დაყოფა Lux Amylose-2 სვეტზე მოძრავ ფაზად ACN/DEA 100/0.1 გამოყენებისას.

ცხრილი 3

Cellulose-3			Cellulose-4			Amylose-2			ADMPC					
ACN	ACN+DEA	α	ACN	ACN+DEA	α	ACN	ACN+DEA	α	ACN	ACN+DEA	α			
1.00	0.21	1.00	1.92	1.00	2.31	1.16	0.89	1.00	1.73	2.37	2.15	1.00	1.67	1.39
1.00	0.23	1.00	2.67	1.00	2.72	1.00	0.78	1.00	0.79	1.33	2.09	1.00	2.11	1.00
1.00	0.23	1.00	2.81	1.00	2.83	1.00	4.81	1.12	1.51	1.33	2.62	1.00	3.80	1.23
1.00	0.24	1.00	2.55	1.00	1.46	1.69	0.91	1.00	1.04	1.39	2.10	1.00	2.63	1.00
1.00	0.27	1.00	2.45	1.00	3.06	1.00	0.86	1.00	0.94	1.60	1.89	1.00	1.78	1.00
1.00	0.28	1.00	2.55	1.00	3.05	1.00	0.67	1.00	0.72	1.00	1.02	1.91	2.04	1.79
1.00	0.23	1.00	2.56	1.00	3.32	1.00	0.71	1.00	0.73	1.00	2.12	1.00	2.24	1.00
1.00	0.21	1.00	3.01	1.00	1.63	1.11	0.82	1.00	0.85	1.00	2.13	1.00	2.28	1.00
1.00	0.23	1.00	2.74	1.00	2.81	1.00	0.84	1.00	0.91	1.00	1.44	1.00	1.55	1.00
1.00	0.22	1.00	2.54	1.00	1.73	1.00	0.81	1.00	1.12	1.60	1.79	1.00	1.77	1.00
1.00	0.24	1.00	2.56	1.00	2.72	1.00	0.86	1.00	0.98	1.60	1.51	1.00	1.55	1.00
1.00	0.23	1.00	2.63	1.00	2.08	1.00	0.91	1.00	0.83	1.00	1.53	1.00	1.55	1.00
1.00	0.21	1.00	2.63	1.00	1.66	1.00	0.96	1.00	0.69	1.00	1.56	1.00	1.52	1.00
1.00	0.22	1.00	2.78	1.00	2.87	1.00	0.96	1.00	0.67	1.00	1.33	1.00	1.65	1.00
1.00	0.21	1.00	2.63	1.00	2.85	1.00	0.98	1.37	1.05	1.45	0.89	1.00	1.08	1.47
1.00	0.21	1.00	2.79	1.00	2.83	1.00	0.97	1.00	1.05	1.37	0.92	1.00	1.11	1.51

სკრინინგის შედეგები მოცემულია ცხრილ 3-ში, როდესაც მოძრავ ფაზად ვიყენებდით, როგორც აცეტონიტრილს, ასევე აცეტონიტრილზე მცირე დანამატ დიეთილამინს [126]. კვლევების შემდგომ ეტაპზე ვახდენდით დაყოფილი რაცემატების ენანტიომერების შეგროვებას და მონიშვნას 2/1-თან თანაფარდობით.

3.2.2. ენანტიომერული ნარევის მონიშვნის ტექნიკა

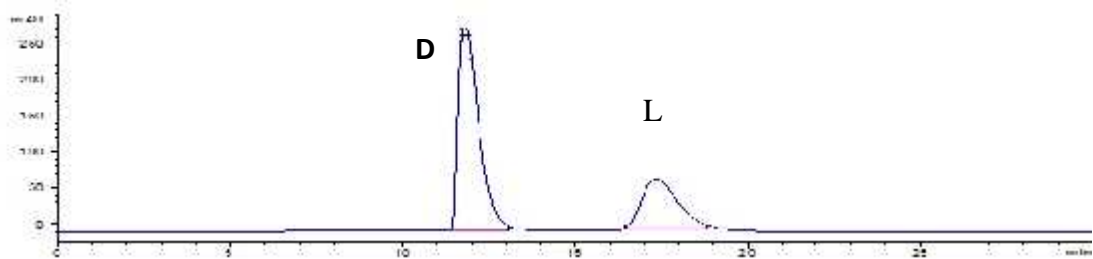
ენანტიომერების ელუირების რიგის დადგენის მიზნით, ხდება ენანტიომერების მონიშვნა 2/1-თან თანაფარდობით. ამ მიზნით ენანტიომერული ნარევის მონიშნული ნიმუშის დასამზადებლად, ვიყენებდით რაცემატზე ერთ-ერთი ცნობილი სუფთა ენანტიომერის დამატებას. მაგალითად, თუ გვაქვს რაცემატი და მისი R ენანტიომერი, 1 მგ რაცემატზე ვამატებთ 0.5 მგ R ენანტიომერს, სადაც მიღებული ენანტიომერული ნარევი R/S იქნება 2/1 -თან თანაფარდობით. ამის გამო მიღებულ ქრომატოგრამებზე ერთი ენანტიომერი მეორესთან შედარებით, პიკის ფართობით ორჯერ მეტია. ექსპერიმენტში ყოველთვის არ არის საშუალება გამოყენებულ იქნას ზემოთ აღნიშნული ენანტიომერების მონიშვნის მეთოდი, რამდენადაც რაცემატთან შედარებით, სუფთა ენანტიომერი ძვირია და ყოველთვის არ არის ხელმისაწვდომი. ამ მიზეზის გათვალისწინებით ხდება ენანტიომერების ცალ-ცალკე მიკროპრეპარატული შეგროვება სითხურ ქრომატოგრაფზე. თითოეული ენანტიომერის გარკვეული რაოდენობით

შეგროვების შემდგომ კი თითოეული კომპონენტის ანალიზი. ანალიზის შემდეგ ეტაპზე კი მათი კონცენტრაციების განსაზღვრა. კონკრეტულ ტოლ მოცულობებში მიღებული კონცენტრაციების გათვალისწინებით ვახდენთ ნიმუშის მონიშვნას, სადაც ენანტიომერების თანაფარდობა იქნება 2/1 -თან. ამის შემდგომ უკვე გამოქვეყნებულ შრომებში, სადაც მიღებულია ზემოთ აღნიშნულ პოლისაქარიდებზე, ამ ენანტიომერების მონიშნული ნიმუშით დაყოფა, ვახდენთ ჩვენი მიკროპრეპარატული მეთოდით შეგროვებულ და მონიშნულ ნიმუშთან შედარებით, ენანტიომერების იდენტიფიკაციას.

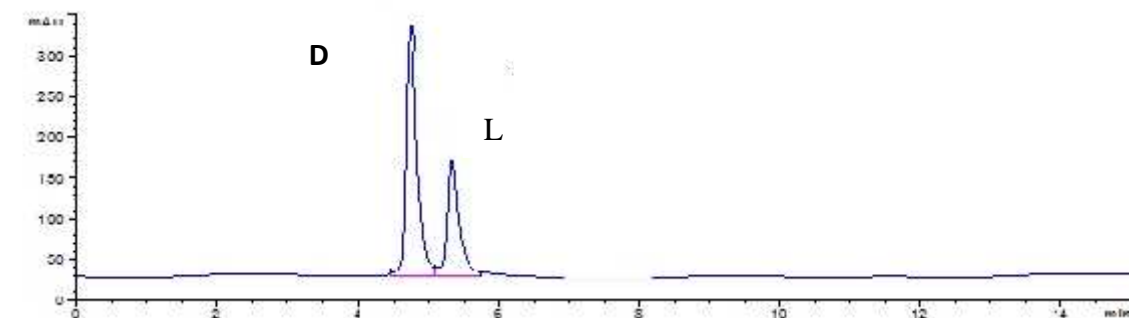
3.2.3. ტემპერატურის გავლენა ენანტიომერების დაყოფაზე

ანალიზები ჩატარდა ატენოლოლის, აცეპუტოლოლის, ტოლიპროლოლისა და სოტალოლის ენანტიომერების დაყოფაზე ტემპერატურის გავლენის შესასწავლად 25°C -სა და 65°C ტემპერატურაზე. საანალიზოდ გამოვიყენეთ მონიშნული ნიმუშები 2/1 თანაფარდობით. მოძრავ ფაზად აღებული იყო აცეტონიტრილი-დიეთილამინი 100/0.1 (მოცულობით) ფარდობით, აცეტონიტრილი-ჭიანჭველმჟავა 100/0.036 (მოცულობით) ფარდობით, ასევე აცეტონიტრილი-დიეთილამინი-ექვიმოლური ჭიანჭველმჟავა 100/0.1/0.036 (მოცულობით) ფარდობით, ქირალურ სელექტორად **Lux Amylose-2** და **AMPDC**.

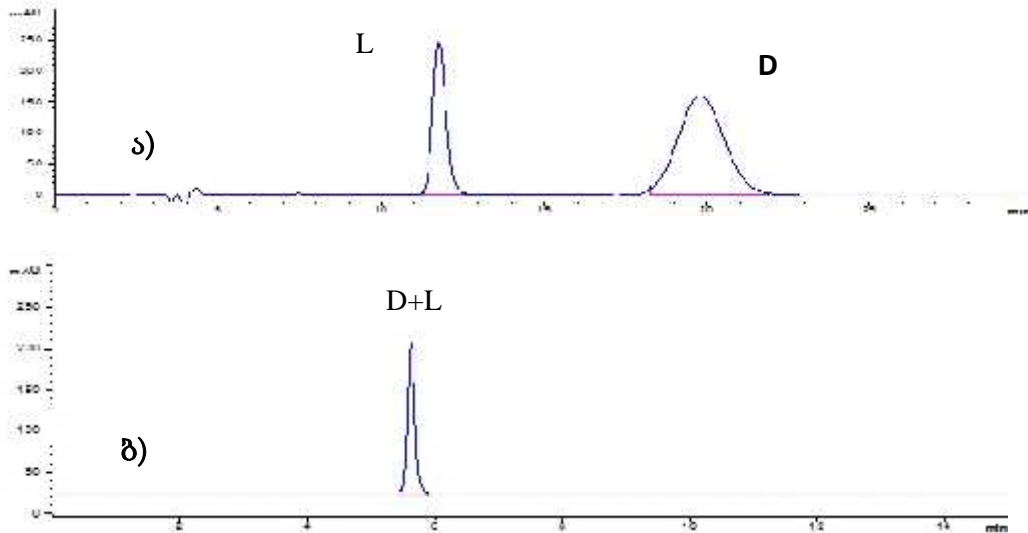
65°C მივიღეთ შედეგებით ვიწრო პიკები, ვიდრე 25°C-ზე, სელექტივობა შემცირდა. აცეპუტოლოლი და ტოლიპროლოლი 65°C ტემპერატურაზე არ დაიყო. ატენოლოლისა და სოტალოლის შემთხვევაში ADMPC სვეტზე ენანტიომერების ელუირების თანმიმდევრობა არ შეცვლილა არცერთ გამოყენებულ ფაზაში ტემპერატურის ცვლილებისას, თუმცა ანალიზის ხანგრძლივობა შემცირდა, იხილეთ ნახაზი 37-38. **Lux Amylose-2** სვეტზე კი ამ ორივე ნივთიერებისათვის არ მოხდა ენანტიომერების დაყოფა 65°C ტემპერატურაზე, როცა მოძრავ ფაზად გამოვიყენეთ აცეტონიტრილი-დიეთილამინი-ექვიმოლური ჭიანჭველმჟავა 100/0.1/0.036 (მოცულობით) ფარდობით.



ა)



ბ) ნახ. 37 სოტალოლის ენანტიომერების დაყოფა 25°C -სა და 65°C ტემპერატურაზე მოძრავ ფაზად აცეტონიტრილი-დიეთილამინი-ექვიმოლური ჭიანჭველმჟავა 100/0.1/0.036 (მოცულობით) ფარდობით გამოყენებისას. ანალიზი მიმდინარეობდა ქირალურ სვეტზე ADMC-ზე. ანალიზი მიმდინარეობდა 25°C (ა) ტემპერატურაზე; ანალიზი მიმდინარეობდა 65°C ტემპერატურაზე (ბ).



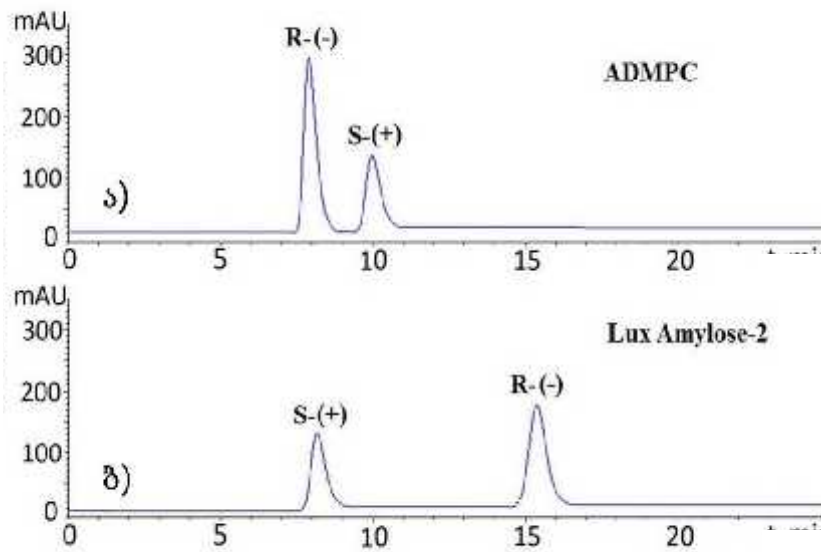
ნახ. 38 სოტალოლის ანალიზი 25°C -სა და 65°C ტემპერატურაზე მოძრავ ფაზად აცეტონიტრილი-დიეთილამინი-ექვიმოლური ჭიანჭველმჟავა 100/0.1/0.036 (მოცულობით) ფარდობით გამოყენებისას. ანალიზი მიმდინარეობდა ქირალურ სვეტზე Amylose-2-ზე. ანალიზი მიმდინარეობდა 25°C ტემპერატურა (ა); ანალიზი მიმდინარეობდა 65°C ტემპერატურაზე (ბ).

3.2.4 ენანტიომერების ელუირების რიგი

იმის გამო, რომ ზოგიერთი ქირალური ბეტა-ბლოკატორი ენანტიომერულად სუფთა სახით არ წარმოადგენს კომერციულ პროდუქტს, ვახდენდით ენანტიომერულად სუფთა ფრაქციების შეგროვებას სითხური ქრომატოგრაფიის გამოყენებით. ეს ეტაპი აუცილებელია ქირალური ნივთიერებების ნიმუშების არარაცემული მონიშვნის მიზნით, რადგანაც ჩვენს კვლევებში არ გამოიყენებოდა ქიროოპტიკური (წრიული დიქროიზმის ან პოლარიმეტრული) დეტექტორი. ამ გამოკვლევების შედეგად დადგინდა ენანტიომერების ელუირების რიგის შებრუნების რამდენიმე საინტერესო შემთხვევა, რომლებიც მიმოხილულია ქვემოთ:

სოტალოლის ენანტიომერების ელუირების რიგის შებრუნება მოხდა Lux Amylose-2-დან ADMPC ქრომატოგრაფიულ სვეტზე გადასვლისას 4 სხვადასხვა მოძრავ ფაზაში: აცეტონიტრილი, აცეტონიტრილი 0.1% (მოცულობით) დიეთილამინის ან მისი ექვიმოლური ჭიანჭველმჟავას დამატებისას, ისევე როგორც აცეტონიტრილზე ორივე ამ ნივთიერების ერთდროული დამატებისას [129].

ანალოგიურ შემთხვევა დაფიქსირდა აცებუტოლოლის შემთხვევაში, როდესაც მოძრავ ფაზად გამოყენებულ იქნა აცეტონიტრილი ფუძე ბუნების დანამატით (0.1 % დეა), ხოლო ქირალურ სტაციონალურ ფაზად Lux Amylose-2 და ADMPC [135]. (ნახ. 39).



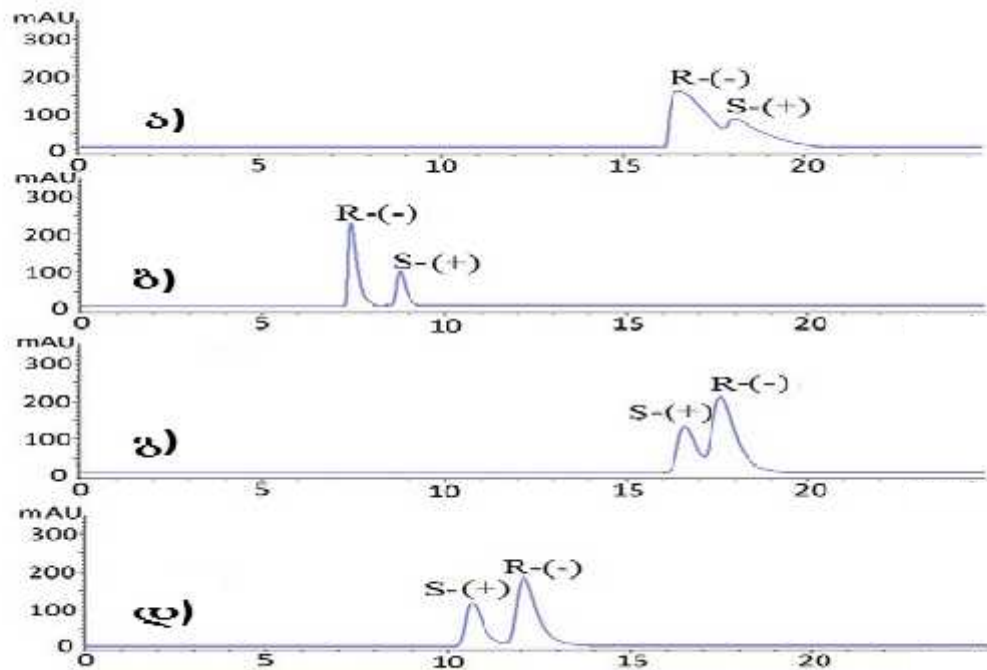
ნახ. 39 აცეტოლოლის ელუირების რიგის ცვლილება ა) ADMPC და ბ) Lux Amylose-2 ქირალური სვეტების ალტერნატიული გამოყენებისას. მოძრავი ფაზა: აცეტონიტრილი 0.1% დიეთილამინის დანამატით.

ენანტიომერების ელუირების რიგის ცვლილების ზემოთ ხსენებული მაგალითები ქირალური სელექტორის ცვლილებით საინტერესოა, მაგრამ ის საჭიროებს მინიმუმ 2 ქირალური სვეტის გამოყენებას. ამ თვალსაწრისით უფრო მიმზიდველია ენანტიომერების ელუირების რიგის შებრუნება ერთი ქირალური სვეტისა და სხვადასხვა მოძრავი ფაზების გამოყენებით [127].

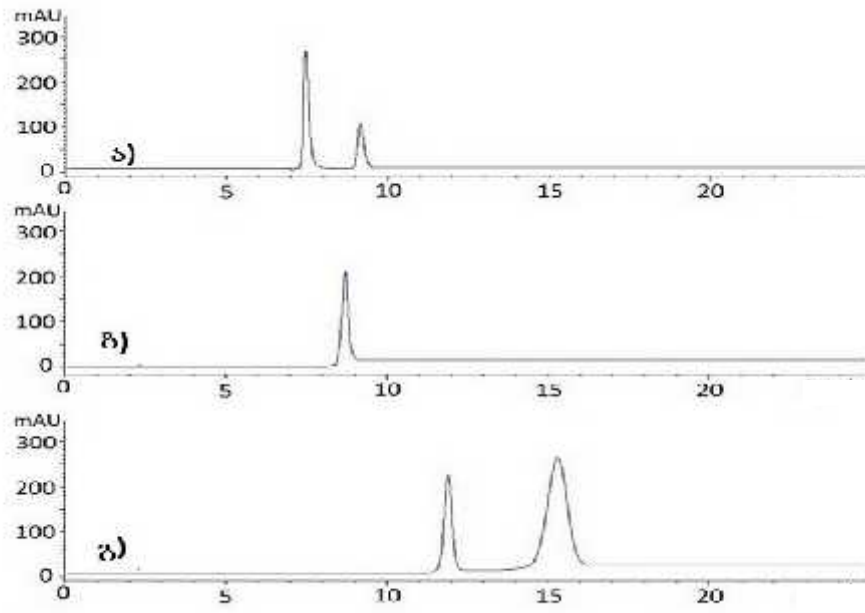
ენანტიომერების ელუირების რიგის შებრუნების შემთხვევები მოძრავი ფაზის ფუძე და მჟავა დანამატების ალტერნატიული გამოყენებით ქირალურ დაყოფებში იშვიათ შემთხვევას წარმოადგენს და მისი პირველი მაგალითი აღწერილი იქნა ჩვენი ჯგუფის მიერ 2013 წელს [125]. საინტერესო იყო, ადგილი ექნებოდა თუ არა იგივე ეფექტებს სხვა მოძრავი ფაზის, ასევე მოხდებოდა თუ არა სხვა ქირალური ბეტა ბლოკატორის ენანტიომერების ელუირების თანმიმდევრობის ცვლილება, როგორც მოძრავ ფაზაზე ფუძე - დეა, ასევე მჟავა ბუნების - ჭიანჭველმჟავა ცალკეულ და ერთდროული დანამატებისას, ამიტომ კვლევების შემდგომ ეტაპზე გამოვიყენეთ მოძრავ ფაზაზე როგორც ცალკეული, ფუძე (დიეთილამინი) და მჟავა ბუნების (ჭიანჭველმჟავა) დანამატები, ასევე მათი კომბინაცია. ყოველ 100 მლ ფაზაზე ვამატებთ 100 მკლ დეა, ან მის ექვიმოლურ 36 მკლ ჭიანჭველამჟავას.

ატენოლოლის შემთხვევაში მოძრავ ფაზად აცეტონიტრილის გამოყენებისას ადგილი ჰქონდა ენანტიომერების მხოლოდ ნაწილობრივ დაყოფას, მაშინ როდესაც აცეტონიტროლზე 0.1% (მოცულობით) დიეთილამინის დამატების შედეგად მიღწეული იქნა ენანტიომერების ფუძისეული დაყოფა. აცეტონიტრილის დანამატად დიეთილამინის ექვივალენტური რაოდენობით ჭიანჭველმჟავას გამოყენებისას მიღწეული იქნა ენანტიომერების თითქმის ფუძისეული დაყოფა და ენანტიომერების

ელუირების რიგი შებრუნდა წინა 2 შემთხვევასთან შედარებით, ხოლო ორივე დანამატის ერთდროული გამოყენებისას ენანტიომერების ელუირების რიგი შენარჩუნდა უკანასკნელი შემთხვევის მსგავსად, ხოლო დაყოფის ხარისხი გაუმჯობესდა (ნახ.40). ფუძე და მჟავა დანამატის ალტერნატიული გამოყენებისას ენანტიომერების ელუირების რიგი შებრუნდა აგრეთვე ტოლიპროლოლის შემთხვევაში ამილოზა-2 სვეტზე (ნახ. 41) [130; 132].

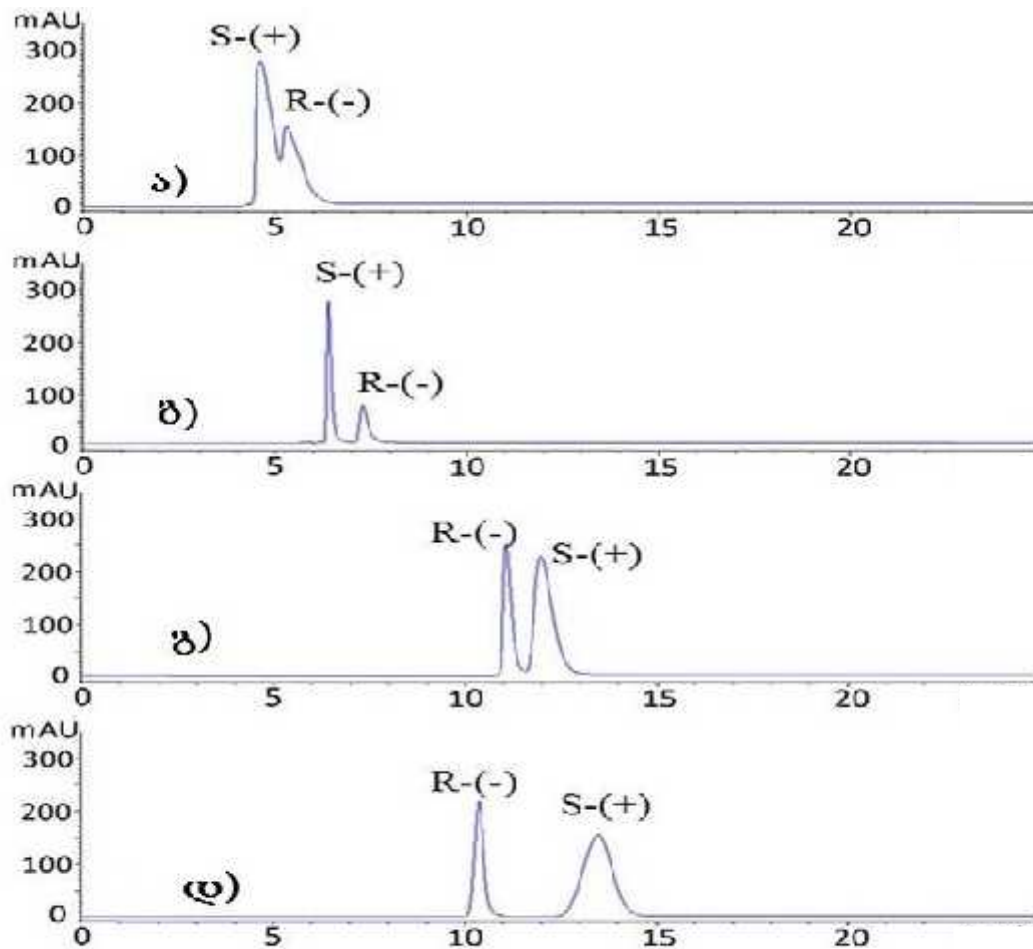


ნახ. 40 ატენოლოლის ენანტიომერების ელუირების რიგის ცვლილება Lux Amylose-2 სვეტზე. მოძრავი ფაზა აცეტონიტრილი (ა); აცეტონიტრილი:0.1% დიეთილამინი; აცეტონიტრილი:0.036% ჭიანჭველმჟავა (ბ) აცეტონიტრილი:0.1% დიეთილამინი:0.036% ჭიანჭველმჟავა (დ).



ნახ. ტოლიპროლოლის ენანტიომერების ელუირების რიგის ცვლილება Lux Amylose-2 სვეტზე. მოძრავი ფაზა: ა) აცეტონიტრილი:0.1% დიეთილამინი; ბ) აცეტონიტრილი:0.1% დიეთილამინი:0.036% ჭიანჭველმჟავა გ) აცეტონიტრილი:0.036% ჭიანჭველმჟავა

ზემოთ ხსენებულის მსგავსი შედეგები დადგინდა აგრეთვე Lux Amylose-2 სვეტზე სოტალოლის ენანტიომერებისათვის. მოძრავ ფაზად აცეტონიტრილის გამოყენებისას ადგილი ჰქონდა ენანტიომერების მხოლოდ ნაწილობრივ დაყოფას, მაშინ როდესაც აცეტონიტროლზე 0.1% (მოცულობით) დიეთილამინის დამატების შედეგად მიღწეული იქნა ენანტიომერების ფუძისეული დაყოფა. აცეტონიტრილის დანამატად დიეთილამინის ექვივალენტური რაოდენობით ჭიანჭველმჟავას გამოყენებისას კი ენანტიომერების თითქმის ფუძისეული დაყოფა და ენანტიომერების ელუირების რიგი შებრუნდა წინა 2 შემთხვევასთან შედარებით, ხოლო ორივე დანამატის ერთდროული გამოყენებისას ენანტიომერების ელუირების რიგი შენარჩუნდა უკანასკნელი შემთხვევის მსგავსად, ხოლო დაყოფის ხარისხი გაუმჯობესდა (ნახ. 40) [134].



ნახ. 40 სოტალოლის ენანტიომერების ელუირების ოსგის ცვლილება Lux Amylose-2 სვეტზე. მოძრავი ფაზა: ა) აცეტონიტრილი; ბ) აცეტონიტრილი:0.1% დიეთილამინი; გ) აცეტონიტრილი:0.036% ჭიანჭველამჟავა; დ) აცეტონიტრილი:0.1% დიეთილამინი:0.036% ჭიანჭველამჟავა.

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

დასკვნები

1. პირველად ჩატარდა სკრინინგი ზოგიერთი ქირალური ფუძე ბუნების მქონე ნივთიერების (ძირითადად ბეტა-ბლოკატორების) ენანტიომერების არატიპიური მოძრავი (როგორც პოლარული, ასევე ნორმალური) ფაზებისა და უძრავი ფაზების, კლასიკურ და ახალი თაობის ექვს კომერციულ პოლისაქარიდულ ქირალურ სვეტებზე (Lux Cellulose-1, Lux Cellulose-2, Lux Cellulose-3, Lux Cellulose-4, Lux Amylose-2, ADMPC) გამოყენებით მაღალეფექტურ სითხურ ქრომატოგრაფიაში.
2. შესწავლილ ექვს ქირალურ სვეტიდან პოლარულ-ორგანულ მოძრავ ფაზებში ენანტიომერების დაყოფის უფრო მაღალი უნარით გამოირჩეოდა ამილოზას საფუძველზე მომზადებული სვეტები, კერძოდ ამილოზა ტრის(5-ქლორ-2-მეთილფენილკარბამატი) კომერციული სახელწოდებით Lux Amylose-2 და ამილოზა ტრის(3,5-დიმეთილფენილკარბამატის საფუძველზე მომზადებული ექსპერიმენტული სვეტი (ADMPC),

ბოლო ნორმალურ ფაზაში საუკეთესო ქირალური სელექტორები აღმოჩნდა ცელულოზა ტრის(3,5-დიმეტილფენილკარბამატი) კომერციული სახელწოდებით Lux Cellulose-1 და ცელულოზა ტრის(3-ქლორ-4-მეთილფენილკარბამატი) კომერციული სახელწოდებით Lux Cellulose-4. არცერთი ქირალური ბეტა ბლოკატორი არ დაიყო Lux Cellulose-3 ქირალურ სვეტზე როგორც პოლარულ-ორგანული ფაზების, ასევე ნორმალური ფაზის (ნ-ჰექსანი/იზოპროპანოლი/დეა) გამოყენებისას. პირველად იქნა შესწავლილი ენანტიომერების ელუირების რიგი ქირალური სელექტორების გამოყენებით. დადგენილ იქნა აცეპტოლოლისა და სოტალოლის ენანტიომერების ელუირების რიგის ცვლილება სვეტიდან Lux ADMPC – დან Lux Amylose-2 სვეტზე, მოძრავ ფაზად აცეტონიტრილის გამოყენებისას.

4. პოლარული მოძრავი ფაზის ანალოგიურად, ნორმალურ ფაზაშიც დადგინდა ენანტიომერების ელუირების რიგის შებრუნების შემთხვევა სვეტიდან სვეტზე გადასვლისას. ნორმალურ ფაზაში (ჰექსან/იზოპროპანოლი) დეას დანამატით მოხდა აცეპტოლოლის, ბეტაქსოლოლის, ბოპინდოლოლის, ესმოლოლის, კარაზოლოლის, პენბუტოლოლის, სოტალოლის და ტერტატოლოლის ელუირების რიგის შებრუნება ალტერნატიული სვეტების გამოყენებისას.
5. პირველად იქნა დადგენილი, ასევე კარაზოლოლის, ნიფენალოლისა და ტერტატოლოლის ენანტიომერების ელუირების რიგის ცვლილება სვეტიდან სვეტზე გადასვლისას ნორმალურ ფაზაში (ჰექსან/ეთანოლის) დეას დანამატით. დადგინდა, ტერტატოლოლის ენანტიომერების ელუირების რიგის ცვლილება მოძრავ ფაზაში მჟავა დანამატის დროსაც (ნ-ჰექსანი/ეთანოლი/ჰიანჰველაჟავა 80/20/0.036) Lux Cellulose-1 სვეტიდან Lux Cellulose-4 სვეტზე გადასვლისას.
6. პირველად იქნა განხორციელებული ენანტიომერების ელუირების რიგის სისტემატური მონიტორინგი ამ ჯგუფის ნივთიერებებისათვის. მოხდა ენანტიომერების რიგის ცვლილება აცეტონიტრილში მცირე მოდიფიკატორების დამატებისას, როგორც ცალკეული, ფუძე (დიეთილამინი) და მჟავა ბუნების (ჰიანჰველმჟავა) დანამატები, ასევე მათი ნარევის კომბინაციის შემთხვევაში. პირველად დაფიქსირდა ენანტიომერების რიგის შებრუნება ფუძე ბუნების დანამატის მჟავა ბუნების დანამატით შეცვლისას ატენოლოლის, სოტალოლისა და ტოლიპროლოლის Lux Amylose-2 სვეტზე, რომელიც არის უნიკალური ეფექტი, როგორც ქირალური გამოცნობის მექანიზმების კვლევის, ასევე პრაქტიკული თვალსაზრისით. ქირალურ დაყოფებში ეს იშვიათ შემთხვევას წარმოადგენს და მისი პირველი მაგალითი აღწერილი იქნა ჩვენი ჯგუფის გამოკვლევებში.
7. წინამდებარე ნაშრომში მიღებული ექსპერიმენტული შედეგები მნიშვნელოვანია როგორც ენანტიომერული ნარევის დაყოფის მოლეკულური მექანიზმების კვლევის თვალსაზრისით, ასევე ენანტიომერული ნარევის ანალიზური და პრეპარატიული მასშტაბით დაყოფებისათვის.

გამოყენებული ლიტერატურა:

- [1] Blaschke G. Chromatographic resolution of racemates. New analytical methods. *Angewandte Chemie. International Edition in English*. Issue 19. 1980. 13-24.
- [2] Chankvetadze B. Recent developments on polysaccharide-based chiral stationary phases for liquid-phase separation of enantiomers. *J Chromatogr A*. 2012. Volume 1269. 26-51.
- [3] Crosseley R. *Chirality and Biological Activity of Drugs*. CRC Press, Boca Raton, USA. 1995. 4-15.
- [4] De Camp WH. Chiral drugs: the FDA perspective on manufacturing and control. *J Pharm. Biomed Anal*. 1993. Volume 11 Issues 11–12. 1167–1172.
- [5] Webster G.K. Comparison of Chiral Chromatography Columns for Pharmaceutical Method Development. *Chiral separation methods for pharmaceutical and biotechnological products*. Ahuja S. (Editor). New Jersey, USA. Wiley & Sons Inc. 2011. 193-208.
- [6] Li B. Haynie D.T. Chiral Drug Separation. *Encyclopedia of Chemical*. 2006. 449-458.

- [7] Agustiana. J. Kamaruddina A. H. Bhatiaa S. Single enantiomeric beta-blockers – The existing technologies. *Proc. Biochem.* 2010. Volume 45 Issue 10. 1587–1604.
- [8] Dissanayake V. Wahl M. Beta-Blockers. Reference Module in Biomedical Sciences from *Encyclopedia of Toxicology (Third Edition)*. 2014. 438-441.
- [9] Baker J. The selectivity of beta-adrenoceptor antagonists at the human beta-1, beta-2 and beta-3 adrenoceptors. *Br. J. Pharmacol.* 2005. Volume 144 Issue 3. 317–322.
- [10] Basci N.E. Temizer A. Isimer A. Bozkurt A. Optimization of mobile phase in the separation of beta-blockers by HPLC. *J Pharm. Biomed Anal.* 1998. Volume 18 Issues 4–5. 745–750.
- [11] Morante-Zarcero S. Sierra I. Comparative HPLC methods for β -blockers separation using different types of chiral stationary phases in normal phase and polar organic phase elution modes. Analysis of propranolol enantiomers in natural waters. *J Pharm. Biomed Anal.* 2012. Volume 62. 33-41.
- [12] Ettre L.S. M.S. Tswett and the invention of chromatography. *LCGC North America*. 2003. Volume 21 Issue 5. 458-467
- [13] Fanali S. Haddad P.R. Poole C. Schoenmakers P. Lloyd D. *Liquid Chromatography Fundamentals and Instrumentation*. Waltham USA. Elsevier. 2013. 520.
- [14] Gil-Av. E. Freibusch B. Charles-Sigler R. Separation of enantiomers by gas liquid chromatography with an optically active stationary phase. *Tetraheron Letters*. Volume 7 Issue 10. 1966. 1009-1015.
- [15] Liu R. H. Warren W. K. Chiral stationary phases for the gas-liquid chromatographic separation of enantiomers. *J Chromat.* 1983. Volume 271 Issue 2. 309-323.
- [16] Allenmark S. Schuring V. Chromatography on chiral stationary phases, *J.Mater. Chem.* 1997. Volume 7 Issue 10. 1955-1963.
- [17] Schurig V. Separation of Enantiomers by Gas Chromatography on Chiral Stationary Phases . Chiral separation methods for pharmaceutical and biotechnological products. Ahuja S. (Editor). New Jersey USA. Wiley & Sons Inc. 2011. 251-297.
- [18] Juvancz Z. Alexander G. Szejtli J. Permethylated β -cyclodextrin as stationary phase in capillary gas chromatography, *Journal of High Resolution Chromatography*. 1987. Volume 10. Issue 2. 105-107.
- [19] Franz P. Gemmel S. and Gemmel B. Possibilities for optimization oligomer separation with supercritical fluid chromatography. *J. Chromatogr.* 1987. Volume 395. 111–123.
- [20] Chankvetadze B. *Capillary Electrophoresis in Chiral Analysis*. West Sussex, England. Wiley & Sons L.T.D. 1997. 555-561.
- [21] Manuel J. Gordon X. H. et al. *Capillary Electrophoresis. Science. new Series*. 1988. Vol 242. Issue 4876. 224-228

- [22] Fanali S. Enantioselective determination by capillary electrophoresis with cyclodextrins as chiral selectors. *Chromatogr. A.* 2000. Vol.875. 89-122.
- [23] Gubitz G. Schmid MG. Chiral separation principles in capillary electrophoresis. *Journal of Chromatography A.* 1997. Volume 792. 179–225.
- [24] Depta A. Giese T. Johannsen M. Brunner G. Separation of stereoisomers in a simulated moving bed-supercritical fluid chromatography plant. *Chromatogr. A.* 1999. Volume 865. 175-186.
- [25] Johannsen M. Peper S. Depta A. Simulated moving bed chromatography with supercritical fluids for the resolution of bi-naphthol enantiomers and phytol isomers. *J Biochem. Biophys. Methods.* 2002. Volume 54 Issue 1-3. 85-102.
- [26] Henderson G.M. Rule H.G. A new method of resolving a racemic compound. *Nature.* 1938. Volume 141. 917-918.
- [27] Blaschke G. Donow F. Untersuchung chromatographischer Racemattrennungen, IV. Trennwirkung optisch aktiven poly [N-((S)-1-phenyläthyl)acryl-amids] in abh ngigkeit vom polymerisationsverfahren. *Chem Ber.* 1975. Volume 108. 1188-1197.
- [28] Chankvetadze B. Liquid Chromatographic Separation of Enantiomers. *Liquid chromatography applications.* (Editors) Salvatore Fanali, Paul R. Haddad, Colin Poole, Peter Schoenmakers and David K. Lloyd . 2013. 75-91.
- [29] Gasmann E. Cuo J.E. Zare R.N. Separation of enantiomeric amino acids in ligand exchange capillary electrophoresis. *Science* 230. 1985. 13-24.
- [30] Xiaoming Ch. Yamamoto Ch. and Okamoto Y. Polysaccharide derivatives as useful chiral stationary phases in high-performance liquid chromatography. *Pure Appl. Chem.* 2007. Volume 79. 1561–1573.
- [31] Willst tter R.  ber einen Versuch zur Theorie des F rbens. *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft.* 1904. Volume 37. Issue 3. 375-3760.
- [32] Fanali S. Haddad P.R. Poole C. Schoenmakers P. Lloyd D.K. *Liquid Chromatography: Fundamentals and Instrumentation.* Elsevier. Waltham. MA. USA. 2013. 3-4.
- [33] Martin A.J.P. Synge R.L.M. A new form of chromatogram employing two liquid phases 1. A theory of chromatography 2. Application to the micro-determination of the higher monoamino acids in proteins. *Wool Industries Research Association.* 1941. 151-153.
- [34] DeVault. D. The theory of chromatography. *Journal of the American Chemical Society.* 1943. Volume 65. 532-540.
- [35] Meyer V.R. *Practical High-Performance Liquid Chromatography.* John Wiley and Sons. (Fifth Edition). 2010. 10-25.
- [36] Taylor D.R. Maher K. *Chiral Separations by High-Performance Liquid Chromatography.* *J. Chromatogr. Sci.* 1992. Volume 30. 67-85.

- [37] Van Deemter J.J. Zuiderweg F.J Klinkenberg A. Longitudinal diffusion and resistance to mass transfer as causes of nonideality in chromatography. *Chemical Engineering Science*. 1956. Volume 5. 271-289.
- [38] Tijssen. R. Billiet H.A.H. Schoenmakers P.J. Use of the solubility parameter for predicting selectivity and retention in chromatography *J Chromatogra*. 1976. A Volume 122. 185–203.
- [39] Rathore A.S. Horváth Cs. Separation parameters via virtual migration distances in high-performance liquid chromatography, capillary zone electrophoresis and electrokinetic chromatography. *Journal of Chromatography A*.1996. Volume 743. Issue 2. 231–246.
- [40] Felinger A. Cavazzini A. *Kinetic Theories of Liquid Chromatography. Liquid Chromatography. 1st Edition Applications.* (Editor) Salvatore Fanali, Paul R. Haddad, Colin Poole, Peter Schoenmakers and David K. Lloyd . 2013. 19-40.
- [41] Purnell J.H. The correlation of separating power and efficiency of gas-chromatographic columns. *Journal of the Chemical Society*. 1960. 1268-1274.
- [43] Ishihama Y. J. Proteomic LC–MS systems using nanoscale liquid chromatography with tandem mass spectrometry *Chromatogr. A*. 2005. Volume 1067. 73 – 83.
- [44] Vissers J. P. C. Claessens H. A. Cramers C. A. Microcolumn liquid chromatography: instrumentation, detection and applications. *J. Chromatogr. A*. 1997. Volume 779. 1–28.
- [45] Lenhoff A.M. Significance and estimation of chromatographic parameters. *Journal of Chromatography A*. 1987. Volume 384. 285-299.
- [46] Hernandez-Borges J. Aturki Z. Rocco A. Fanali S. Recent applications in nanoliquid chromatography *J. Sep. Sci*. 2007. Volume 30. 1589 – 1610.
- [47] Zhan Y. Shun Y. Zeng H. Song H. Chiral separation of pharmaceuticals by performance liquid chromatography. *Current Pharmaceutical Analysis* 2010. Volume 6. 114-130.
- [48] Zhai Z.D. Shi Y.P. Wang T. Development and validation of HPLC methods for enantioseparation of mirtazapine enantiomers at analytical and semipreparative scale using polysaccharide chiral stationary phases. *Anal. Chim. Acta*. 2005. Volume 550. 123-129.
- [49] Chankvetadze L. Ghibradze N. Karchkhadze M. Peng L. Farkas T. Chankvetadze B. Enantiomer elution order reversal of fluorenylmethoxycarbonyl-isoleucine in high-performance liquid chromatography by changing the mobile phase temperature and composition. *Journal of Chromatography A*. 2011. Volume 1218I. ssue 37. 6554–6560.
- [50] Kanazawa H. Yamamoto K. and Matsushima Y. Temperature-Responsive Chromatography Using Poly(N-isopropylacrylamide)-Modified Silica. *Anal. Chem*. Vol. 68 Issue 1. 1996.100–105.
- [51] Colin H. Diez-Masa J.C. et al. The role of the temperature in reversed-phase high-performance liquid chromatography using pyrocarbon-containing adsorbents. *Journal of Chromatography A*. Volume 167. 1978. 41–65.

- [52] Wu S. Figueroa A. Barry L. Protein conformational effect in hydrophobic interaction chromatography : Retention characterization and the role of mobile phase additives and stationary phase hydrophobicity. *Journal of Chromatography A*. 1986. Volume 371. Issue 26. 3–27.
- [53] Stepnowski P. Müller A. et al. Reversed-phase liquid chromatographic method for the determination of selected room-temperature ionic liquid cations. *Journal of Chromatography A*. 2003. Volume 993. Issue 1-2. 173–178.
- [54] Dolan JW. Temperature selectivity in reversed-phase high performance liquid chromatography *Journal of Chromatography A*. 2002. Volume 965. Issue 1-2. 195-205.
- [55] Gilpin R.K. Squires J.A. Effect of Temperature on the Orientation of Bonded Hydrocarbon Phases in Totally Aqueous Liquid Chromatographic Systems. *Chromatogr Sci*. 1981. Volume 19 Issue 4. 195-199.
- [56] McCalley D.V. Effect of temperature and flow-rate on analysis of basic compounds in high-performance liquid chromatography using a reversed-phase column. *Journal of Chromatography A* . 2000. 902. Issue 2. 311-321.
- [57] Kobayashi J. Kikuchi A. Sakai K. and Okano T. Aqueous Chromatography Utilizing pH-/Temperature-Responsive Polymer Stationary Phases To Separate Ionic Bioactive Compounds. *Anal. Chem*. 2011. Vol. 73 Issue 9. 2027–2033.
- [58] Houdiere F. Fowler P. W. J. and Djordjevic N. M. Combination of Column Temperature Gradient and Mobile Phase Flow Gradient in Microcolumn and Capillary Column High-Performance Liquid Chromatography. *Anal. Chem*. 2011. Volume 69. Issue 13. 2589–2593.
- [59] Chmielowiec J. Sawatzky H. Entropy Dominated High Performance Liquid Chromatographic Separations of Polynuclear Aromatic Hydrocarbons. Temperature as a Separation Parameter. *J Chromatogr Sci*. 1979. Volume 17 Issue 5. 245-252.
- [60] Kanazawa H. Ayano E. Sakamoto Ch. Temperature-responsive stationary phase utilizing a polymer of proline derivative for hydrophobic interaction chromatography using an aqueous mobile phase. *Journal of Chromatography A*. 2006. Volume 1106. Issue 1- 2. 152-158.
- [61] Greibrokk T. Andersen T. High-temperature liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*. 2003. Volume 1000. Issue 1- 2. 743-755.
- [62] Kanazawa H. et al. Analysis of peptides and proteins by temperature-responsive chromatographic system using N-isopropylacrylamide polymer-modified columns. *Journal of Chromatography A*. 1997. Volume 15. Issue 9-10. 1545-1550.
- [63] Péter A. Arki A. Vékes E. Tourwé D. Lázár L. Fülöp F. Armstrong DW. Direct and indirect high-performance liquid chromatographic enantioseparation of beta-amino acids. *J Chromatogr A*. 2004. Volume 1031. Issue 1-2. 171-178.
- [64] Yost R.W. Ettre L.S. Conlon R.D. *Practical Liquid Chromatography an introduction*. Perkin-Elmer. 1980. 255-265.
- [65] Chankvetadze B. Enantioseparations by high-performance liquid chromatography using polysaccharide-based chiral stationary phases: an overview. *Methods Mol Biol*. 970. 2013. 81-111.

- [66] Nagel Ch. W. Application of high performance liquid chromatography to analysis of Flavonoids and phenyl propenoids. *Cereal chemistry*. 1985. Vol.62. No 2. 144-147.
- [67] Rio A.D. Gasteiger, J. Simple method for the prediction of the separation of racemates with high-performance liquid chromatography on Whelk-O1 chiral stationary phase. *J. Chromatogr. A*. 2008. Volume 1185. 49-58.
- [68] Pirkle W.H. Finn J.M Schreiner J.L. Hamper B.C. A widely useful chiral stationary phase for high performance liquid chromatography separation of enantiomers. *Journal of The American Chemical Society*. 1981. Volume 103. 3964-3966.
- [69] Okamoto Y. Yashima E. Polysaccharide derivatives for chromatographic separation of enantiomers. *Angewandte Chemie International Edition*. 1998. Volume 37 Issue 8. 1020-1043.
- [70] Yashima E. Yamamoto C. Okamoto Y. Polysaccharide-based chiral LC columns. *Synlett*. 1998. Volume 4. 344-360.
- [71] Medvedovici A. Sandra P. Toribio L. Frank D. Chiral packed column subcritical fluid chromatography on polysaccharide and macrocyclic antibiotic chiral stationary phases. *Journal of Chromatography A*. 1997. Volume 785. Issues 1–2. 159–171.
- [72] Kotake M. Sakan T. Nakamura N. Senoh S. Resolution into optical isomers of some amino acids by paper chromatography. *Journal of the American Chemical Society*. 1951. Volume 73. 2909-2980.
- [73] Mayer W. Merger F. Darstellung optisch aktiver Catechine durch Racemattrennung mit Hilfe der Adsorptionschromatographie an Cellulose. *Justus Liebigs Annalen der Chemie*. 1961. Volume 644. 65-69.
- [74] Seo Y. J. Kang G.W. Park S.T. Moon M. Park J.H. Cheong W.J. Titanized or zirconized porous silica modified with a cellulose derivative as new chiral stationary phases. *Bulletin of the Korean Chemical Society*. 2007. Volume 28. 999-1004.
- [75] Hesse G. Hagel R. Eine vollständige Racemattrennung durch Elutions-chromatographie an Cellulose-tri-acetat. *Chromatographia*. 1973. Volume 6. Issue 6. 277-278.
- [76] Chankvetadze B. Yashima E. and Okamoto Y. Chloromethylphenylcarbamate derivatives of cellulose as chiral stationary phases for high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr A* 1994. Volume 670. 39-49.
- [77] Zhou L. Antonucci V. Biba M. Gong X. Ge Z. Simultaneous enantioseparation of a basic active pharmaceutical ingredient compound and its neutral intermediate using reversed phase and normal phase liquid chromatography with a new type of polysaccharide stationary phase. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2010. Volume 51. 153–157.
- [78] Okamoto Y. Yashima E. M. Ishikura M. Hatada K. Synthesis, Methanolysis, and Asymmetric Polymerization of meta- and para-substituted Triphenylmethyl Methacrylates. *Polymer Journal*. 1987. Volume 19. 1183-1189.

- [79] Tian Q. Zhou Z. Chunguang Lv. Yang J. Direct enantiomeric separation of chiral pesticides by liquid chromatography on polysaccharide-based chiral stationary phases under reversed phase conditions. *Analytical Methods*. 2012. Issue 8. 2307-2317.
- [80] Yamamoto C. Hayashi T. Okamoto Y. High-performance liquid chromatographic enantioseparation using chitin carbamate derivatives as chiral stationary phases. *J Chromatogr A*. 2003. Volume 1021 Issue 1-2. 83-91.
- [81] Okamoto Y. Kawashima M. Hatada K. Chromatographic resolution. 7. Useful chiral packing materials for high-performance liquid chromatographic resolution of enantiomers: phenylcarbamates of polysaccharides coated on silica gel. *Journal of the American Chemical Society*, 106 (1984) 5357-5359.
- [82] Ikai T. Yamamoto C. Kamigaito M. Okamoto Y. Enantioseparation by HPLC using phenylcarbonate, benzoylformate, p-toluenesulfonylcarbamate and benzoylcarbamates of cellulose and amylose as chiral stationary phases, *Chirality* 17. 2005. 299-304.
- [83] Meyring M. Strickmann D. Chankvetadze B. Blaschke G. Desiderio C. Fanali S. Investigation of in vitro biotransformation of R-(+)-thalidomide by HPLC. nano-HPLC. CEC and HPLC-APCI-MS. *J. Chromatogr. B*. 1999. Volume 723. 255-264.
- [84] Okamoto Y. Aburatani R. Hatada K. Chromatographic chiral resolution: XIV. Cellulose tribenzoate derivatives as chiral stationary phases for high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*. 1987. Volume 389. 95-99.
- [85] Okamoto Y. Kawashima M. Yamamoto K. Hatada K. Useful chiral packing materials for high-performance liquid chromatographic resolution. Cellulose triacetate and tribenzoate coated on macroporous silica gel. *Chemistry Letters*. 13. 1984. No. 5. 739-742.
- [86] Ichida A. Shibata T. Okamoto I. Yuki Y. Namikoshi H. Toda Y. Resolution of enantiomers by HPLC on cellulose derivatives. *Chromatographia*. 1984 Volume 19. 280-284.
- [87] Okamoto Y. Kawashima M. Hatada K. Chromatographic resolution: XI. Controlled chiral recognition of cellulose triphenylcarbamate derivatives supported on silica gel. *Journal of Chromatography A*. 1986. 363. 173-186.
- [88] Ikai T. Yamamoto C. Kamigaito M. Okamoto Y. Immobilized polysaccharide derivatives: chiral packing materials for efficient HPLC resolution. *Chem Rec*. 2007. Volume 7. Issue 2. 91-103.
- [89] Wang T. Chen YW. Application and comparison of derivatized cellulose and amylose chiral stationary phases for the separation of enantiomers of pharmaceutical compounds by high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr A*. 1999. Volume 855 Issue 2. 411-21.
- [90] Chankvetadze B. Yashima E. Okamoto Y. Tris(chloro- and methyl-disubstituted phenylcarbamate)s of cellulose as chiral stationary phases for chromatographic enantioseparation, *Chem. Lett*. 4. 1993. 617-620.
- [91] Kubota T. Yamamoto Ch. and Okamoto Y. Tris(cyclohexylcarbamate)s of Cellulose and Amylose as Potential Chiral Stationary Phases for High-Performance Liquid Chromatography and Thin-Layer Chromatography. *J. Am. Chem. Soc*. 2000. Volume 122. Issue 17. 4056-4059.

- [92] Okamoto Y. Aburatani R., Fukumoto T. Hatada K. Chromatographic chiral resolution : XIV. Cellulose tribenzoate derivatives as chiral stationary phases for high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*. 1987. Volume 389. 95–102.
- [93] Chankvetadze B. Yashima E. Okamoto Y. Dimethyl-, dichloro- and chloromethylphenylcarbamates of amylose as chiral stationary phases for high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*. 1995. Volume 694. Issue 1. 101-109.
- [94] Wang T. Chen. Y.W. Vailaya A. Enantiomeric separation of some pharmaceutical intermediates and reversal of elution orders by high-performance liquid chromatography using cellulose and amylose tris(3,5-dimethylphenylcarbamate) derivatives as stationary phases. *Journal of Chromatography A*. 2000. Volume 902. Issue 2. 345–355.
- [95] Lindner K.R. Mannschreck A. Separation of enantiomers by high-performance liquid chromatography on triacetylcellulose, *Journal of Chromatography A* 193. 1980. 308-310.
- [96] Zhang S. Ong T.T. Ng S.C. Chan H.S.O. Chemical immobilization of azido cellulose phenylcarbamate onto silica gel via Staudinger reaction and its application as a chiral stationary phase for HPLC. *Tetrahedron Letters*. 2007. Volume 48 Issue 31. 5487-5490.
- [97] Chen X. Yamamoto C. Okamoto Y. One-pot synthesis of polysaccharide 3,5-dimethylphenylcarbamates having a random vinyl group for immobilization on silica gel as chiral stationary phases. *Journal of Separation Science*. 2006. Volume 29 Issue 10. 1432-1439.
- [98] Chankvetadze B. Kartoziya I. Yamamoto C. Okamoto Y. Comparative enantioseparation of selected chiral drugs on four different polysaccharide-type chiral stationary phases using polar organic mobile phases. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2002. Volume 27 Issue. 467-478.
- [99] Kubota T. Yamamoto C. Okamoto Y. Phenylcarbamate derivatives of cellulose and amylose immobilized onto silica gel as chiral stationary phases for high-performance liquid chromatography. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*. 2004. Volume 42 Issue 18. 4704-4710.
- [100] Francotte E. Huynh D. Immobilized halogenophenylcarbamate derivatives of cellulose as novel stationary phases for enantioselective drug analysis, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2002. Volume 27 Issue 3-4. 421-429.
- [101] Ikai T. Yamamoto C. Kamigaito M. Okamoto Y. Efficient immobilization of cellulose phenylcarbamate bearing alkoxyisilyl Group onto Silica Gel by Intermolecular Polycondensation and Its Chiral Recognition. *Chemistry Letters*. 2006. Volume. 35 Issue 11. 1250-1251.
- [102] Chen X. Liu Y. Qin F. Kong L. Zou H. Synthesis of covalently bonded cellulose derivative chiral stationary phases with a bifunctional reagent of 3-(triethoxysilyl) propyl isocyanate. *Journal of Chromatography A*. 2003. Vol. 2. Issue 1010. 185-194.
- [103] Chankvetadze B. Yamamoto C. Okamoto Y. Extremely high enantiomer recognition in HPLC separation of racemic 2-(benzylsulfinyl)benzamide using cellulose tris(3,5-dichlorophenylcarbamate) as a chiral stationary phase. *Chemistry Letters*. 2000. Volume 29 Issue 10. 1176-1177.

- [104] Venhuyne N. Andreoli F. Fernandez S. Roussel C. Acid catalyzed racemization process of atropisomeric N-aryl o-substituted thiazoline thiones. Poster presentation. 17-th International Symposium on Chirality (ISCD-17). Parma, Italy, September 11–14. 2005.
- [105] Tachibana K. Ohnishi A. Reversed-phase liquid chromatographic separation of enantiomers on polysaccharide type chiral stationary phases. *Journal of Chromatography A*. 2001. Volume 906 Issue 1-2. 127-154.
- [106] Chankvetadze B. Yamamoto C. Okamoto Y. Enantioseparations using cellulose Tris(3,5-dichlorophenylcarbamate) using high-performance liquid chromatography with analytical and capillary columns: Potential for screening of chiral compounds. *Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening*. 2000. Volume 3 Issue 6. 497-508.
- [107] Chankvetadze B. Yamamoto C. Okamoto Y. HPLC Enantioseparation with cellulose tris(3,5-dichlorophenylcarbamate) in aqueous methanol as a mobile phase. *Chemistry Letters*. 2000. Volume 29 Issue 4. 352-353.
- [108] Ghanem A. Naim L. Immobilized versus coated amylose tris(3,5-dimethylphenylcarbamate) chiral stationary phases for the enantioselective separation of cyclopropane derivatives by liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*. 2006. Volume 1101 Issue 1-2. 171-178.
- [109] Ikai T. Yamamoto C. Kamigaito M. Okamoto Y. Immobilization of polysaccharide derivatives onto silica gel: Facile synthesis of chiral packing materials by means of intermolecular polycondensation of triethoxysilyl groups. *Journal of Chromatography A*. 2007. Volume 1157 Issue 1-2. 151-158.
- [110] Stringham R.W. Chiral separation of amines in subcritical fluid chromatography using polysaccharide stationary phases and acidic additives. *Journal of Chromatography A*. 2005. Volume 1070 Issue 1-2. 163-170.
- [111] Franco P. Senso A. Minguillón C. Oliveros L. 3,5-Dimethylphenylcarbamates of amylose, chitosan and cellulose bonded on silica gel: Comparison of their chiral recognition abilities as high-performance liquid chromatography chiral stationary phases. *Journal of Chromatography A*. 1998. Volume 796. Issue 2. 265–272.
- [112] Booth T.D. Wainer I.W. Investigation of the enantioselective separations of α -alkylarylcarboxylic acids on an amylose tris(3,5-dimethylphenylcarbamate) chiral stationary phase using quantitative structure-enantioselective retention relationships Identification of a conformationally driven chiral recognition mechanism. *Journal of Chromatography A*. 1996. Volume 737. Issue 2. 157-169.
- [113] Kleidemigg O.P. Kappe C.O. Separation of enantiomers of 4-aryl dihydropyrimidines enantioselective HPLC: a critical comparison of chiral stationary phases. *tetrahedron:Asymmetry*. 1997. Volume 8. 2057-2067.
- [114] Hendrickx A. Mangelings D. Chankvetadze B. Vander Heyden Y. Comparative enantioseparations of pharmaceuticals in capillary electrochromatography on polysaccharide-based chiral stationary phases containing selectors with or without chlorinated derivatives. *Electrophoresis*. 2010. Volume 19. 3207-3216.

[115] Chankvetadze B. Yamamoto C. Kamigaito M. Tanaka N. Nakanishi K. Okamoto Y. High-performance liquid chromatographic enantioseparations on capillary columns containing monolithic silica modified with amylose tris(3,5-dimethylphenylcarbamate). *Journal of Chromatography A*. 2006. Volume 1101. Issue 1-2. 171-178.

[116] Zhang T. Nguyen D. Franco P. Isobe Y. Michishita T. Murakami T. Cellulose tris(3,5-dichlorophenylcarbamate) immobilised on silica: a novel chiral stationary phase for resolution of enantiomers. *J Pharm Biomed Anal*. 2008. Volume 46 Issue 5. 882-91.

[117] გ.ჯიბუტი. ქირალური ნივთიერებების დაყოფის ოპტიმიზაცია მაღალეფექტურ სითხურ ქრომატოგრაფიაში პოლისაქარიდული ქირალური სტაციონალური ფაზების გამოყენებით, დისერტაცია. თბილისი. 2014.

[118] Yang J. Wang L. Guo Q. Yang G. Chiral separation of five beta-blockers using di-n-hexyl L-tartrate-boric acid complex as mobile phase additive by reversed-phase liquid chromatography *Se Pu*. 2012. Volume 30. Issue 3. 280-284.

[119] Huang H. Jin J. Lee W. Comparative enantiomer separation of beta-blockers on polysaccharide derived chiral stationary phases using high performance liquid chromatography with acid or base additive in the mobile phases. *Se Pu*. 2009. Volume 27. Issue 4. 467-471.

[120] Poe-Hirr Hsyu Kathleen M. Giacomini. High performance liquid chromatographic determination of the enantiomers of α -adrenoceptor blocking agents in biological fluids I: Studies with pindolol. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 1986. Volume 75. Issue 6. 601-605.

[121] Basci N.E. Temizer A. Bozkurt A. Isimer A. Optimization of mobile phase in the separation of β -blockers by HPLC. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 1998. Volume 18. 745-750.

[122] Zhang X. Ouyang J. Baeyens. W.R.G. Zhai S. Yang Y. Guangming Huang. Enantiomeric separation of β -blockers by HPLC using (R)-1-naphthylglycine and 3,5-dinitrobenzoic acid as chiral stationary phase. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2003. Volume 31. 1047-1057.

[123] Imran Ali. Vinay D. Gaitonde. Hassan Y. Aboul-Enein. Afzal Hussaina. Chiral separation of Beta-adrenergic blockers on CelluCoat column by HPLC. *Talanta* 2009. Volume 78. 458-463.

[124] Morante-Zarcero S. Sierra I. Comparative HPLC methods for Beta-blockers separation using different types of chiral stationary phases in normal phase and polar organic phase elution modes. Analysis of propranolol enantiomers in natural waters. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2012. Volume 62. 33- 41.

[125] Mosiashvili L. Chankvetadze L. Farkas T. Chankvetadze B. On the effect of basic and acidic additives on the separation of the enantiomers of some chiral beta-blockers with polysaccharide-based chiral selectors and polar organic mobile phases. *J Chromatogr A* . 2013. Volume 1317. 167-174.

[126] გოგალაძე ხ. ჭანკვეტაძე ბ. ზოგიერთი ქირალური ბეტა-ბლოკატორის ენანტიომერების დაყოფა ნორმალურ ფაზაში ახალი ტიპის პოლისაქარიდული

ქირალური სტაციონალური ფაზების გამოყენებით. ზეპირი მოხსენება საერთაშორისო სამეცნიერო-პრაქტიკული კონფერენციაზე "ინოვაციური ტექნოლოგიები და გარემოს დაცვა" შრომების კრებული. ქუთაისი. საქართველო 27-28 ნოემბერი 2014. 248-250.

[127] გოგალაძე ხ. ჭანკვეტაძე ბ. ქირალური ბეტა-ბლოკატორების ენანტიომერული ნარეგების დაყოფა პოლარული ორგანული მოძრავი ფაზებით ახალი ტიპის პოლისაქარიდული ქირალური სტაციონალური ფაზების გამოყენებით. ზეპირი მოხსენება საერთაშორისო სამეცნიერო-პრაქტიკული კონფერენციაზე "ინოვაციური ტექნოლოგიები და გარემოს დაცვა IETP 2013". შრომების კრებული. ქუთაისი. საქართველო 6-7 ივნისი 2013. 300-302.

[128] გოგალაძე ხ. ჭანკვეტაძე ბ. თაყაიშვილი ნ. მსხილაძე ა. ქარჩხაძე მ. ზოგიერთი ბეტა ბლოკატორის ენანტიომერების დაყოფა სითხურ ქრომატოგრაფიაში მოძრავ ფაზად იზოპროპანოლის გამოყენებით საერთაშორისო სამეცნიერო-პრაქტიკული კონფერენციაზე "ინოვაციური ტექნოლოგიები და გარემოს დაცვა IETP 2013". შრომების კრებული. ქუთაისი. საქართველო 6-7 ივნისი. 2013. 320-321.

[129] გოგალაძე ხ. ჭანკვეტაძე ბ. ქირალური ბეტა-ბლოკატორების ენანტიომერული ნარეგების დაყოფა პოლარულ-ორგანულ გამხსნელებში ახალი ტიპის პოლისაქარიდული ქირალური სტაციონალური ფაზების გამოყენებით. ზეპირი მოხსენება საერთაშორისო სამეცნიერო-პრაქტიკული კონფერენცია "ინოვაციური ტექნოლოგიები და გარემოს დაცვა". შრომების კრებული. ქუთაისი. საქართველო. 30-31 მაისი 2012. 277-280.

[130] Gogaladze Kh. Chankvetadze L. Tsintsadze M. Farkas T. Chankvetadze B. Effect of basic and acidic additives on the separation of some basic drug enantiomers on polysaccharide-based chiral columns with acetonitrile as mobile phase, Chirality. 2015. Volume 27. Issue 3. 228–234.

[131] Gogaladze Kh. Chankvetadze B. Separation of enantiomers of chiral drug dimethindene maleate in capillary electrophoresis by using native cyclodextrins as chiral selectors ნივთიერებათა ელექტრო- და თხევადფაზური დაყოფების მეთოდების მე-18 საერთაშორისო სიმპოზიუმი. 2011. თბილისი.

[132] Gogaladze Kh. Chankvetadze B. Separation of enantiomers of selected chiral beta-blocker drugs by using novel polysaccharide-based chiral stationary phases in normal-phase HPLC. S7-P15 .29-ე საერთაშორისო სიმპოზიუმი სითხურ ქრომატოგრაფიაში. 2012 პოლონეთი

[133] Gogaladze Kh. Zakashvili N. Separation of enantiomers of selected chiral beta-blocker drugs by using novel polysaccharide-based chiral stationary phases in normal-phase HPLC. 6th Georgian-German School And Workshop In Basic Science. 2014

[134] Gogaladze Kh. Chankvetadze Kh. The Effect of Basic and Acidic Additives on the Separation of b-Blocker Enantiomers on Polysaccharide-based Chiral Columns with Acetonitrile as Mobile Phase. 6th Georgian-German School And Workshop In Basic Science. 2014.

[135] გოგალაძე ხ. ჭანკვეტაძე ბ. მაღალეფექტურ სითხურ ქრომატოგრაფიაში ზოგიერთი ქირალური ბეტა-ბლოკატორის ენანტიომერული ნარეგების დაყოფა პოლისაქარიდული

ტიპის ქირალური სტაციონალური ფაზებისა და მოძრავ ფაზად აცეტონიტრილის გამოყენებით. საქართველოს მეცნიერებათა ეროვნული აკადემიის მაცნე. ქიმიის სერია. 2015. ტ.41 N 1-2. 41-46.

[136] გოგალაძე ხ. ზაქაშვილი ნ. მაღალეფექტურ სითხურ ქრომატოგრაფიაში ზოგიერთი ქირალური ბეტა-ბლოკატორის ენანტიომერული ნარეგების დაყოფა ნორმალურ ფაზაში პოლისაქარიდული ტიპის ქირალური სტაციონალური ფაზების გამოყენებით. საქართველოს მეცნიერებათა ეროვნული აკადემიის მაცნე. ქიმიის სერია. 2015. ტ.41 N1-2. 52-57.