

ივანე ჯავახიშვილის სახელობის
თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტი

გიორგი ჯიბუტი

ქირალური ნივთიერებების დაყოფის ოპტიმიზაცია მაღალეფექტურ სითხურ
ქრომატოგრაფიაში პოლისაქარიდული ქირალური სტაციონარული ფაზების
გამოყენებით

ქიმიის დოქტორის აკადემიური ხარისხის მოსაპოვებლად

ხელმძღვანელები:

სადოქტორო პროგრამის კოორდინატორი:

ქიმიის მეცნიერებათა დოქტორი,
პროფესორი, საქართველოს
მეცნიერებათა ეროვნული აკადემიის აკადემიკოსი

შოთა სამსონია

სამეცნიერო ხელმძღვანელი:

ქიმიის მეცნიერებათა დოქტორი,
პროფესორი, საქართველოს
მეცნიერებათა ეროვნული აკადემიის აკადემიკოსი

ბეჟან ჭანკვეტაძე



უნივერსიტეტის
გამოცემლობა

თბილისი

2014 წელი

ანოტაცია

ქირალური მოლეკულა არის ისეთი ტიპის მოლეკულა, რომელიც არ არის თავსებადი საკუთარ სარკულ გამოსახულებასთან. მოლეკულაში ქირალობის გამომწვევი თვისება, ხშირ შემთხვევაში არის ასიმეტრიული ატომის არსებობა, მას ქირალურ ცენტრსაც უწოდებენ. ქირალურ მოლეკულას და მის სარკულ გამოსახულებას ენანტიომერებს უწოდებენ. იმის გამო, რომ ენანტიომერებს აქვთ ერთნაირი ფიზიკური და ქიმიური თვისებები აქირალურ გარემოში, მათი განსხვავება შესაძლებელია მხოლოდ ბრტყლად პოლარიზებული სინათლის ბრუნვის კუთხის ნიშნით. ამიტომ ძალზე რთულდება მათი ანალიზი.

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

ენანტიომერების ანალიზის ყველაზე ფართოდ გავრცელებული ტექნიკა არის მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფია (მესქ). მიუხედავად იმ ფაქტისა, რომ ცნობილია 100-ზე მეტი ქირალური სელექტორი, რომელიც შეიძლება გამოყენებულ იქნას ენანტიომერების დასაყოფად მესქ-ში, კვლავაც რთულია ისეთი ქირალური სელექტორის შერჩევა, რომელიც გამოსადეგი იქნებოდა ქირალურ ნივთიერებათა დიდი ჯგუფის დაყოფისთვის. ყველაზე ხშირად გამოიყენება პოლისაქარიდული ქირალური სელექტორები და კომერციულად ხელმისაწვდომი ქირალური სვეტების უმეტესობაც დამზადებულია პოლისაქარიდული ქირალური სელექტორების გამოყენებით.

წინამდებარე ნაშრომში აღწერილია მესქ-ში ენანტიომერების დაყოფების ოპტიმიზაციის სხვადასხვა მიდგომები: 1) მოძრავი ფაზის ოპტიმიზაცია - ნორმალური, პოლარულ-ორგანული და შებრუნებული ფაზების გამოყენება, ასევე მცირე დანამატების გამოყენება მოძრავ ფაზებში. 2) ქირალური სელექტორის სარჩულის ოპტიმიზაცია - სარჩულის ნაწილაკების ზომისა და მორფოლოგიის ოპტიმიზაცია, და 3) მესქ ხელსაწყოთა ოპტიმიზაცია: მკვდარი მოცულობის შემცირება, სწრაფი დეტექტორების გამოყენება.

Optimization of Enantioseparations in High Performance Liquid Chromatography using Polysaccharide Based Chiral Selectors

Summary

A chiral molecule is a type of molecule that has a non-superposable mirror image. The feature that is most often the cause of chirality in molecules is the presence of an asymmetric atom – chiral center. A chiral molecule and its mirror image are called enantiomers. The enantiomers have same physical and chemical properties in achiral environment and only way to distinguish between them in such environment is the sign of rotation angle of polarized light. The identity of physical and chemical properties makes a separation of enantiomers as very challenging task.

The enantiomers of chiral biologically active compounds often have very different physiological properties; this makes enantioseparation of pharmaceuticals, food additives, agrochemicals and other biologically active compounds very important.

Most widely used instrumental technique for separation of enantiomers is high-performance liquid chromatography (HPLC). Despite the fact, that there are more than 100 chiral selectors (CS) described in the literature for separation of enantiomers using HPLC, still it difficult to find configuration chiral selector for analysis of wide range of chiral compounds. Polysaccharide based chiral selectors are most widely used CS and most commercially available chiral HPLC columns contain polysaccharide based CS.

In this work, the ways are described for optimization of HPLC separations of chiral compounds. In particular, following approaches are described: 1) optimizing mobile phase by using normal phase, polar-organic phase, reverse phase and minor additives in mobile phase. 2) Optimizing inert carrier for coating CS – by optimizing size and morphology of carrier particles, and 3) optimizing instrumentation – by reducing dead volume and use of high-speed detectors.

შინაარსი

გამოყენებული შემოკლებები	1
შესავალი.....	2
1. ლიტერატურის მიმოხილვა.....	4
1.1. ქირალური ნივთიერებების ენანტიომერების დაყოფის მნიშვნელობა	4
1.2 ენანტიომერები და მათი კლასიფიკაცია.....	4
1.3 ენანტიომერების დაყოფის ინსტრუმენტული მეთოდები.....	6
1.3.1 გაზური ქრომატოგრაფია	6
1.3.2 კაპილარული ელექტროფორეზი.....	6
1.3.3 ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფია.....	7
1.4 მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფია	8
1.4.1 ქრომატოგრაფიის ზოგადი მიმოხილვა.....	8
1.4.2 ქრომატოგრაფიის წონასწორული თეორია.....	9
1.4.3 ქრომატოგრაფიის კინეტიკური თეორია.....	11
ვან დემტერის განტოლება თეორიული თეგზის სიმაღლის შესახებ	12
1.4.4 სიჩქარის ზოგადი მოდელი	13
1.4.5 მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფიის თეორია	13
1.4.6 აპარატურა მაღალეფექტურ სითხურ ქრომატოგრაფიაში	14
1.5 პოლისაქარიდული ქირალური სტაციონარული ფაზების მიმოხილვა	16
1.5.1 პოლისაქარიდული ქირალური სელექტორების განვითარება.....	16
1.5.2 პოლისაქარიდული ქირალური სელექტორების ოპტიმიზაცია	17
1.5.3 სარჩულის გავლენა პოლისაქარიდულ ქირალურ ფაზებზე.....	23
1.5.4 სტაციონარული ფაზების ოპტიმიზაცია.....	25
1.5.5 მოძრავი ფაზების ოპტიმიზაცია.....	28
1.5.6. ქირალური დაყოფის მექანიზმები	30
2. ექსპერიმენტული ნაწილი.....	36
2.1 გამოყენებული აპარატურა	36
2.2. ექსპერიმენტის გეგმა.....	42
3 შედეგები და მათი განსჯა.....	43
3.1 მოძრავი ფაზების ოპტიმიზაცია.....	43
3.1.1 გამოყენებული მასალები	43

3.1.2. მოძრავ ფაზაში წყლის შემცველობის გავლენა საანალიზო ნივთიერებების ენანტიომერების ქრომატოგრაფიულ ქცევაზე.....	46
3.1.3 მოძრავ ფაზაში ჭიანჭველამჟავას და დიეთილამინის მცირე დანამატების გავლენა ამლოდიპინის ენანტიომერების ქრომატოგრაფიულ ქცევაზე.....	49
3.1.4 მოძრავ ფაზაში ძმარმჟავის და დიეთილამინის მცირე რაოდენობის დანამატების გავლენა	53
3.1.5. დიჰიდროპირიდინის ქირალური ნაწარმების სკრინინგი პოლარულ-ორგანულ ფაზებზე	55
3.1.6 ტემპერატურის გავლენა ენანტიომერების დაყოფაზე	56
3.2 სტაციონარული ფაზის ოპტიმიზაცია.....	57
3.2.1 ზედაპირულად ფორიანი გლუვი სილიკაგელის (ზფგს) და მთლიანად ფორიანი სილიკაგელის ნაწილაკებზე პოლისაქარიდული ქირალური სელექტორით დაფენით მომზადებული სვეტების შედარება.....	58
3.2.2. 1.7 მკმ ზფგს ნაწილაკებით მომზადებული ქირალური სვეტების შეფასება.....	66
3.2.3 ზფგს ნაწილაკის და ფორების ზომების ოპტიმიზაცია	72
3.3 მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფიული აპარატურის ოპტიმიზაცია.....	81
დასკვნები.....	84
გამოყენებული ლიტერატურა.....	87

გამოყენებული შემოკლებები

FDA	Food and Drug Administration - ამერიკის შეერთებული შტატების წამლისა და საკვები პროდუქტების სააგენტო
HPLC; მესქ	მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფია
ქს	ქირალური სელექტორი
CTA; ცტა	ცელულოზას ტრიაცეტატი
ქსფ	ქირალური სტაციონარული ფაზა
მკმ	მიკრომეტრი
Core-shell; ზფგს	ზედაპირულად ფორიანი გლუვი სილიკაგელი
SFC; ზსქ	ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფია
HILIC	ჰიდროფილური ურთიერთქმედების სითხური ქრომატოგრაფია
ACN	აცეტონიტრილი
DEA	დიეთილამინი
EtOH	ეთანოლი
FA	ჭიანჭველმჟავა
IPA	2-პროპანოლი
Hex	ჰექსანი
AcA	ძმარმჟავა

შესავალი

ქირალური ნივთიერებების ენანტიომერების დაყოფა აქტუალური პრობლემაა თანამედროვე ქიმიაში. აქტუალობას განაპირობებს ის ფაქტი, რომ ქიმიური ნივთიერებების ენანტიომერებს ხშირ შემთხვევაში მკვეთრად განსხვავებული ფიზიოლოგიური მოქმედება ახასიათებთ[1], ამიტომაც მნიშვნელოვანია ასეთი ნივთიერებების ენანტიომერული სისუფთავის ანალიზი ან ქირალურად სუფთა სახით მიღება. ქირალურ ნივთიერებათა რიცხვს განეკუთვნება ქირალური სამკურნალო საშუალებები, სასოფლო-სამეურნეო შხამქიმიკატები, საკვები დანამატები და ასე შემდეგ. ასევე ენდოგენური ქირალური ნივთიერების ენანტიომერული შემადგენლობის ანალიზით მნიშვნელოვანი დასკვნები შეიძლება გაკეთდეს ნიმუშის ასაკის შესახებ, რაც მნიშვნელოვანია როგორც კრიმინალისტიკაში, ასევე არქეოლოგიაში. პრაქტიკული თვალსაზრისის გარდა, ენანტიომერული ნარევების დაყოფას მნიშვნელოვანი თეორიული დატვირთვაც აქვს, რადგან მიუხედავად კარგად განვითარებული ქირალური დაყოფის მეთოდებისა, ჯერ კიდევ ბოლომდე არაა გარკვეული ქირალური დაყოფის მექანიზმები.

ენანტიომერები წარმოადგენენ სივრცულ იზომერებს - ერთმანეთისგან განსხვავდებიან ატომთა ჯგუფების განლაგებით სივრცეში. ამიტომ აქირალურ გარემოში მათი ფიზიკური და ქიმიური თვისებები იდენტურია, გარდა ბრტყლად პოლარიზებული სინათლის ბრუნვის კუთხის ნიშნისა. ამ იდენტურობის გამო, ენანტიომერული ნივთიერებები საუკეთესო ნაერთებს წარმოადგენენ არაკოვალენტური მოლეკულათაშორისი ურთიერთქმედების ნატიფი მექანიზმების კვლევების თვალსაზრისით.

ფიზიკური და ქიმიური თვისებების იდენტურობის გამო ენანტიომერული ნივთიერებების დაყოფა აქირალურ გარემოში პრინციპულად შეუძლებელია. დიდი ხნის მანძილზეც მათი დაყოფა ქირალურ გარემოშიც გადაუჭრელ პრობლემას წარმოადგენდა. მხოლოდ გასული საუკუნის 60-იან წლებში მოხერხდა ენანტიომერული ნარევების ინსტრუმენტული მეთოდის გამოყენებით დაყოფა, კერძოდ გაზური ქრომატოგრაფიის გამოყენებით[2]. 1970-იანი წლებიდან განვითარდა ენანტიომერული ნარევების დაყოფის სითხურ-ქრომატოგრაფიული მეთოდები [3-5], ხოლო 80-იანი წლების ბოლოდან კაპილარული ელექტროფორეზული მეთოდები [6].

მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფია ენანტიომერული ნარევების ყველაზე ფართოდ გამოყენებული მეთოდია და აღიარებულია როგორც ძირითადი ფარმაცოპეული მეთოდი ქირალური სამკურნალო საშუალებების ანალიზისთვის. ამას განაპირობებს მეთოდის უნივერსალურობა, სიმარტივე, ქირალური სტაციონარული ფაზების (ქსფ) ფართო არჩევანი და მათი ხელმისაწვდომობა. თუმცა მიუხედავად კომერციულად ხელმისაწვდომი ქსფ-ების მრავალფეროვნებისა, მაინც პრობლემატურია ქსფ-ებისა და მოძრავი ფაზების კომბინაციების შერჩევა ქირალური ნივთიერებების ფართო ჯგუფისათვის, ასევე მნიშვნელოვანია შესწავლილი იქნას ენანტიომერების ელუირების თანმიმდევრობა და მისი ცვლილების პირობები, რათა მოხდეს ანალიზური თუ პრეპარატიული დაყოფის მეთოდების ოპტიმიზაცია.

წინამდებარე სადისერტაციო ნაშრომის მიზანს წარმოადგენდა სხვადასხვა ჯგუფის ქირალური ნივთიერებების ენანტიოსელექტიური ანალიზის ოპტიმიზაცია პოლისაქარიდულ ქირალურ სტაციონარულ ფაზებზე პირდაპირი, შებრუნებული და პოლარულ-ორგანული მოძრავი ფაზების გამოყენებით, ასევე სტაციონარული ფაზის

ნაწილაკების თვისებების და მოძრავი ფაზის დანამატების გავლენის შესწავლა ქირალურ დაყოფებზე და ხელსაწყო ქარხნული კონფიგურაციის ოპტიმიზაცია ქირალური ანალიზებისთვის.

პირველად დაფიქსირდა ამლოდიპინის ენანტიომერების ელუირების რიგის ცვლილება როგორც ნორმალურ, ისე შებრუნებულ და პოლარულ-ორგანულ მოძრავ ფაზებზე.

პირველად ჩატარდა დიჰიდროპირიდინის ჯგუფის 11 ქირალური ნივთიერებების სკრინინგი ოთხ კომერციულ პოლისაქარიდულ ქირალურ სვეტზე პოლარულ-ორგანული გამხსნელების (მეთანოლი, ეთანოლი, იზოპროპანოლი, აცეტონიტრილი) გამოყენებით.

სტაციონალური ფაზის ოპტიმიზაციის მიზნით პირველად მოხდა პოლისაქარიდული ქირალური სელექტორის დაფენა ფოროვანი ზედაპირის მქონე გლუვი სილიკაგელის სარჩულზე და ჩატარდა დამზადებული ექსპერიმენტული სვეტის შედარება იგივე ქირალური სელექტორის მქონე ტრადიციული ფოროვანი სილიკაგელის სარჩულის მქონე კომერციულ სვეტთან.

პირველად იქნა ქირალურ დაყოფებში გამოყენებული 2 მიკრომეტრზე ნაკლები ნაწილაკის ზომის მქონე სარჩული და გამოიცადა დამზადებული ქირალური სვეტები.

ჩატარდა მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფის ქარხნული კონფიგურაციის ოპტიმიზაცია ქრომატოგრაფიული სურათის გასაუმჯობესებლად.

ამლოდიპინის ენანტიომერების ელუირების თანმიმდევრობის ცვლილების შესწავლა დამატებით საშუალებებს გვაძლევს ვიმსჯელოთ ქირალური დაყოფების ნატიფ მექანიზმებზე. დიჰიდროპირიდინების პოლარულ-ორგანულ ფაზებში სკრინინგის მონაცემები მეტ საშუალებას აძლევს მკვლევარებს სურვილისამებრ აარჩიონ სტაციონალური და მოძრავი ფაზები ამ ჯგუფის ნივთიერების დასაყოფად. ფორიანი ზედაპირის მქონე გლუვი სილიკაგელის სარჩულზე მომზადებულმა სვეტებმა აჩვენა მნიშვნელოვანი უპირატესობები ტრადიციული ფორიანი სილიკაგელის სარჩულზე მომზადებულ სვეტებთან შედარებით, ახალი ტიპის სვეტების გამოყენება საშუალებას გვაძლევს ეფექტურობის დაუკარგავად ჩავატაროთ ანალიზების გაცლებით სწრაფად, რაც თავის მხრივ დროის და გამხსნელის ეკონომიაა, ასევე ზფგს ტიპის სვეტების გამოყენებით და სითხური ქრომატოგრაფის ქარხნული კონფიგურაციის მცირე მოდიფიცირებით შეიძლება სტანდარტული მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფით ჩატარდეს ე.წ ზე-მაღალ ეფექტური სითხურ-ქრომატოგრაფიული ანალიზები, რომელთა სხვა მხრივ ჩატარება გაცილებით ძვირადღირებულ ქრომატოგრაფიულ აპარატურას მოითხოვს.

სადისერტაციო ნაშრომის გარშემო გამოქვეყნებულია სამი სტატია, მათ შორის 2 იმპაქტ ფაქტორიან ჟურნალში, აპრობირებულია 7 საერთაშორისო სიმპოზიუმზე 3 მოხსენების და 4 თეზისის სახით.

ნაშრომი მოცემულია 100 გვერდზე, მოიცავს 14 განტოლებას, 3 ცხრილს, 50 ნახაზს, 11 სურათს, ნუმერაცია თავებში არის საერთო. გამოყენებულია 152 დასახელების ლიტერატურა.

1. ლიტერატურის მიმოხილვა

1.1. ქირალური ნივთიერებების ენანტიომერების დაყოფის მნიშვნელობა

სამკურნალწამლო საშუალებების ნახევარზე მეტი შეიცავს ერთი ქირალურ ცენტრს მაინც. მიუხედავად ენანტიომერების ქიმიური და ფიზიკური თვისებების იდენტურობისა, ისინი ავლენენ მკვეთრად განსხვავებული ბიოაქტივობებს, როგორებიცაა ფარმაკოლოგიური, ტოქსიკოლოგიური, ფარმაკოკინეტიკური და მეტაბოლიტური აქტივობები [7]. უკეთეს შემთხვევაში ერთი ენანტიომერის სასარგებლო აქტივობა გაცილებით მეტია ვიდრე მეორის. ხშირ შემთხვევებში არასამკურნალო ენანტიომერს არ გააჩნია შესამჩნევი ფიზიოლოგიური აქტივობა და მხოლოდ უსარგებლო მინარევია, ხოლო არის შემთხვევები, როდესაც მეორე ენანტიომერს გააჩნია ტოქსიკური ან სხვა ტიპის მავნე ზემოქმედება. ამის მაგალითია გასული საუკუნის 60-იან წლებში პრეპარატი თალიდომიდის შემთხვევა. ეს პრეპარატი რაცემული სახით ენიშნებოდათ ორსულ ქალებს როგორც გულისრევის საწინააღმდეგო საშუალება, თუმცა შემდეგ გაირკვა, რომ თალიდომიდის ერთ-ერთი ენანტიომერი იწვევდა ნაყოფში ფოკომელიას - კიდურების განუვითარებლობას. მსოფლიო მასშტაბით 10 000-მდე ასეთი შემთხვევაა რეგისტრირებული, სამწუხაროდ დაავადებული ახალშობილების მხოლოდ 50 % გადარჩა [8]. თუმცა შემდგომი კვლევებით გაირკვა, რომ თუნდაც სუფთა ენანტიომერული თალიდომიდის მიღების შემდეგ ორგანიზმში მეტაბოლიზმის შედეგად ის განიცდის გარდაქმნას მის მავნე ქირალურ ანალოგში და წარმოადგენს საფრთხეს ნაყოფისათვის, ეს პრეპარატი დღეს-დღეობით აკრძალულია ფეხმძიმეებისთვის. ამ შემთხვევის შედეგად განვითარდა სამკურნალო საშუალებების შემუშავების და გავრცელების უფრო სტრუქტურირებული და გამკაცრებული რეგულაციები [9]. უკვე ოც წელიწადზე მეტია, რაც ამერიკის შეერთებული შტატების წამლისა და საკვები პროდუქტების სააგენტო -FDA რეკომენდაციას უწევს თითოეული ენანტიომერის ფარმაკოლოგიური თვისებების კვლევას ახალი სამკურნალო პრეპარატის დამუშავებისას, ან მხოლოდ ერთი ენანტიომერის გამოყენებას [10].

1.2 ენანტიომერები და მათი კლასიფიკაცია

მოლეკულური ქირალობის ფუძემდებელია ფრანგი მიკრობიოლოგი ლუის პასტერი. მან 1848 წელს ხელით (ვიზუალური გადარჩევით) დაყო ღვინის მჟავას ნატრიუმ-ამონიუმის მარილის კრისტალები. ტერმინი ქირალობა მოდის ბერძნული სიტყვისგან ქიროს (χειρ), რაც ხელს ნიშნავს.

როდესაც მოლეკულა არათავსებადია საკუთარ სარკულ გამოსახულებასთან, მას ქირალურს უწოდებენ, ხოლო არათავსებად სარკულ გამოსახულებებს-ენანტიომერებს. ქირალურ მოლეკულაში შეიძლება გვქონდეს ქირალობის ცენტრი, იგივე ასიმეტრიული ცენტრი. ორგანული ნივთიერებების შემთხვევაში ხშირად ასეთ ცენტრს წარმოადგენს ნახშირბადის ატომი, რომელსაც ოთხი სხვადასხვა ჩამნაცვლებელი გააჩნია. ასეთ ატომს

სტერეოგენულ ნახშირბადს უწოდებენ. თუმცა ხშირია შემთხვევები, როდესაც ქირალური ცენტრის როლს გოგორდი, ფოსფორი და აზოტი ასრულებს, როგორც მაგალითად ომეპრაზოლის, ციკლოფოსფამიდის და მეტაქვალონის მოლეკულებში, შესაბამისად. როგორც აღვნიშნეთ, ენანტიომერების ფიზიკური და ქიმიური თვისებები იდენტურია, გარდა პოლარიზებული სინათლის მობრუნების კუთხის ნიშნისა. ამ ოპტიკური აქტიურობის გამო, ენანტიომერებს ხშირად ოპტიკურ იზომერებსაც უწოდებენ, თუმცა ეს ტერმინი მოძველებულია და უმჯობესია მის გამოყენებას თავი ავარიდოთ. ოპტიკურ თვისებაზე დაფუძნებული კლასიფიკაციის მიხედვით, ენანტიომერები იყოფა მარცხნივ მბრუნავ (levorotary- l იზომერი) და მარჯვნივ მბრუნავ (dextrorotary- d იზომერი) იზომერებად. მარცხნივ მბრუნავი ხშირად აღინიშნება „-“ ნიშნით, ხოლო მარჯვნივ მბრუნავი „+“ ნიშნით, ხოლო d და l იზომერების ექვიმოლური (50/50) ნარევის რაციმული ეწოდება და აღინიშნება „±“ ნიშნით, ან (d,l). რაციმატს არ გააჩნია ოპტიკური აქტივობა.

თანამედროვე (კან-ინგოლდ-პრელოგის) ნომენკლატურის მიხედვით, ენანტიომერების კლასიფიკაცია ხდება ჩამნაცვლებელი ჯგუფების 3 განზომილებიანი სივრცული განლაგების მიხედვით ქირალური ცენტრის გარშემო მოლეკულაში. ეს კლასიფიკაცია დაფუძნებულია კან-ინგოლდ-პრელოგის პრიორიტეტების წესზე, რომელიც გამოიყენება ორგანულ ქიმიაში ჩამნაცვლებელი ჯგუფების პრიორიტეტების განსაზღვრისთვის. ასიმეტრიულ ნახშირბადთან ჩანაცვლებული ჯგუფების პრიორიტეტების განსაზღვრა ხდება რამდენიმე წესის თანმიმდევრობით. არსებობს სხვადასხვა წესი, თუმცა მათ შორის უმარტივესი შემდეგია: 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), რაციმული ნარევი აღინიშნება როგორც R,S. პირდაპირი კავშირი ამ ნომენკლატურასა და ბრტყლად პოლარიზებული სინათლის ბრუნვის ნიშანს შორის არ არსებობს. კონკრეტული მოლეკულის თვისებებიდან გამომდინარე შეიძლება გვქონდეს R(+) ან R(-) და S(+) ან S(-). მოლეკულის ოპტიკური აქტიურობა განისაზღვრება პოლარიმეტრის, ან წრიული დიქროიზმის მეშვეობით, ხოლო ჩამნაცვლებელი ჯგუფების სივრცული განლაგება ბირთვულ-მაგნიტური რეზონანსის, ანდა რენტგენოსტრუქტურული ანალიზით.. R/S სამგანზომილებიანი კონფიგურაცია საშუალებას გვაძლევს ავხსნათ ენანტიომერების ურთიერთქმედება მათ ბიოლოგიურ რეცეპტორებთან.

თუკი მოლეკულაში არის რამდენიმე ქირალური ცენტრი, ამ შემთხვევაში გვექნება სტერეოიზომერები. ორი ქირალური ცენტრის შემთხვევაში გვექნება დიასტერეომერები. დიასტერეომერების ფიზიკურ-ქიმიური თვისებები განსხვავებულია ერთმანეთისგან და შესაბამისად, ხშირად განსხვავებულია მათი ბიოლოგიური აქტივობაც.

ენანტიომერები და დიასტერეომერები წარმოადგენენ სტერეოიზომერების ოჯახს. სტერეოიზომერებს აქვთ ერთნაირი ქიმიური ფორმულა და შემადგენლობა, მაგრამ განსხვავდებიან ჩამნაცვლებლების სივრცული ორიენტაციით.

ეუტომერს უწოდებენ ბიოაქტიურ ენანტიომერს, რომელსაც აქვს მაღალი ფარმაცოლოგიური აქტივობა, ხოლო მისი საწინააღმდეგო ენანტიომერს დისტომერი ეწოდება.

1.3 ენანტიომერების დაყოფის ინსტრუმენტული მეთოდები

1.3.1 გაზური ქრომატოგრაფია

ენანტიომერების ინსტრუმენტული მეთოდით დაყოფა პირველად განხორციელდა გასული საუკუნის 60-იან წლებში გაზური ქრომატოგრაფიის მეთოდით ქირალური სტაციონარული ფაზის გამოყენებით [2]. დღესდღეობით გაზური ქრომატოგრაფიით ენანტიომერების დასაყოფად ორი მიდგომაა გამოყენებული: პირდაპირი მიდგომისას ოპტიკური იზომერების დაყოფა ხდება ქირალური სტაციონარული ფაზების გამოყენებით, ხოლო არაპირდაპირი მიდგომის დროს, ხდება საანალიზო ენანტიომერების ნარევის დერივატიზაცია ენანტიომერულად სუფთა ქირალური დანამატით და ხდება მიღებული დიასტერეომერების ანალიზი სტანდარტული არაქირალური სტაციონარული ფაზების გამოყენებით. გამოიყენება ასევე ორგანოზომილებიანი გაზური ქრომატოგრაფია, სხვადასხვა სტაციონარული ფაზების მქონე სვეტების კონფიგურაციების გამოყენება ერთ ანალიზში. გაზური ქრომატოგრაფიის მაღალი ეფექტურობა საშუალებას იძლევა ერთ ანალიზში დაიყოს არა მარტო ენანტიომერები, არამედ აქირალური მინარევები და დამაბინძურებლები, ანუ ხდება არა მარტო ქირალური, არამედ ქიმიური დაყოფაც.

გაზური ქრომატოგრაფია წარმატებით გამოიყენება დაბალი მოლეკულური მასის მქონე აქროლადი ნივთიერებებისთვის. მაღალი მოლეკულური მასის მქონე არააქროლადი ნივთიერებებისთვის მისი გამოყენება შეზღუდულია, თუმცა ზოგჯერ შესაძლებელია საკვლევი ნივთიერების დერივატიზაცია და აქროლად ფორმაში გადაყვანა [11].

1.3.2 კაპილარული ელექტროფორეზი

კაპილარული ელექტროფორეზი ენანტიომერული ნარევების დაყოფის მძლავრი ენანტიომერების პირველი დაყოფა კაპილარული ელექტროფორეზის საშუალებით განხორციელდა მე-20 საუკუნის 80-იან წლებში, მის შემდეგ მეთოდი აქტიურად ვითარდება, როგორც თეორიული ისე პრაქტიკულ-აპარატურული კუთხით. კაპილარული ელექტროფორეზის მთავარ უპირატესობებს წარმოადგენს ნიმუშის და სხვა რეაგენტების განსაკუთრებით მცირე ხარჯი, ანალიზის მცირე დრო, დაყოფის მაღალი ეფექტურობა და ისეთი ნივთიერებების დაყოფის შესაძლებლობა, რომელთა დაყოფაც გართულებულია, ან საერთოდ შეუძლებელია გაზური, ან სითხური ქრომატოგრაფიის გამოყენებით.

კაპილარული ელექტროფორეზის ექსპერიმენტისას შესაძლებელია ისეთი მონაცემების მიღება, რომელთა მიღებაც შეუძლებელია გაზურ ან მაღალეფექტურ სითხურ ქრომატოგრაფიის მეთოდებით. მაგალითად სელექტორ-სელექტანტის ურთიერთქმედების ისეთი სტერეოსელექტიური ეფექტების დაფიქსირება, რომელთა დანახვაც შეუძლებელია ქრომატოგრაფიული, ბირთვულ-მაგნიტური რეზონანსის ან წრიული დიქროიზმის მეთოდების გამოყენებით.

გარდა ამისა, კაპილარული ელექტროფორეზი უფრო მოქნილია ვიდრე სხვა ანალიზური მეთოდები. სულ რამდენიმე წუთია საჭირო ელექტროფორეზის ერთი მეთოდიდან მეორეზე გადასასვლელად, მაშინ როდესაც სითხურ ქრომატოგრაფიაში სვეტების ან ელუენტის შეცვლა, შემდგომის სისტემის გაწონასწორება ხანგრძლივი და ხშირად არასასურველი პროცესია. გაზური ქრომატოგრაფია კი ლიმიტირებულია მხოლოდ სვეტის შეცვლით, ამავდროულად მოძრავი ფაზის მოდიფიკაცია ხშირად შეუძლებელია, ან არაეფექტურია.

ასევე კაპილარული ელექტროფორეზული მეთოდი უფრო იაფია და ეკოლოგიურად სუფთა, რადგანაც არ იყენებს ტოქსიკურ ორგანულ გამხსნელებს და ნარჩენების რაოდენობა გვაქვს მიკროლიტრებსა და მაქსიმუმ მილილიტრებში.

მეთოდის ნაკლია შედარებით დაბალი მგრძნობიარობა, ვიდრე სხვა ქრომატოგრაფიული მეთოდების. თუმცა ნიმუშის პრეკონცენტრირების მეთოდების განვითარების ხარჯზე მგრძნობიარობაში განსხვავებაც მნიშვნელოვნად მცირდება.

თანამედროვე კაპილარული ელექტროფორეზის ხელსაწყოები საშუალებას იძლევა ჩატარდეს არა მარტო ელექტროფორეზული, არამედ კაპილარული ელექტროქრომატოგრაფიული ექსპერიმენტები, რომელიც წარმოადგენს კაპილარულ სითხურ ქრომატოგრაფიის და კაპილარულ ელექტროფორეზის კომბინაციას [12].

1.3.3 ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფია

ენანტიომერების დასაყოფად ასევე წარმატებით გამოიყენება ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფია, სადაც ელუენტის როლს ძირითადად ასრულებს აირი, ან სითხე რომლის წნევა ან ტემპერატურა თერმოდინამიკული კრიტიკული წერტილის მაღლაა.

ყველაზე ფართოდ ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფიაში ელუენტად გამოიყენება ნახშირორჟანგი - CO_2 , რადგანაც ადვილია მისი ზეკრიტიკულ მდგომარეობაში მოყვანა. გარდა ამისა ნახშირორჟანგი არის იაფი, ეკოლოგიურად სუფთა, ინერტული და გამოსაყენებლად უსაფრთხო აირი.

ქირალური დაყოფებისთვის ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფიაში გამოიყენება სვეტები, რომლებიც პირდაპირ გადმოტანილია მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფიიდან. ძირითადად ესენია პოლისაქარიდული ტიპის, ჯაგრისის ტიპის პირკლეს ფაზები და მაკროციკლური ანტიბიოტიკური ქირალური სტაციონარული ფაზები.

ქრომატოგრაფიული სვეტების მაღალი ეფექტურობა (ძირითადად სწრაფი დიფუზიის გამო) ზეკრიტიკულ სითხეებში ეკოლოგიური სისუფთავე, უსაფრთხოება და სიაფე ამ მეთოდის მთავარი უპირატესობაა.

ნაჩვენებია ასევე სხვა ტიპის ქირალური სტაციონარული ფაზების წარმატებული გამოყენება ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფიაში, მაგალითად Kromasil CHI-TBB და CHI-DMB ტიპის სვეტები [13].

1.4 მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფია

1.4.1 ქრომატოგრაფიის ზოგადი მიმოხილვა

ქრომატოგრაფია (ბერძნულად χρῶμα-ფერი, γράφειν -აღწერა, ჩაწერა) არის ქიმიური ნივთიერებების ნარევთა დაყოფის ხერხი, რომელიც ემყარება საანალიზო ნივთიერებების არათანაბარ განაწილებას ორ, მოძრავ და უძრავ ფაზებს შორის. ნივთიერებათა ნარევები გახსნილია სითხეში, ან აირში და ხდება ნარევის გატარება სტრუქტურირებულ მასალაზე, რომელსაც უძრავი ფაზა ეწოდება, ნარევის უძრავ ფაზაზე გასატარებლად იყენებენ სითხეს, აირს, ან ზეკრიტიკული წნევების მქონე სითხეებს, შესაბამისად გამოყოფენ სითხურ, გაზურ (აირად) და ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფიას. ნარევის შემადგენელი სხვადასხვა კომპონენტები მოძრაობენ სხვადასხვა სიჩქარით, რაც იწვევს მათ დაყოფას. ეს დაყოფა გამოწვეულია სხვადასხვა ნივთიერებების განსხვავებული განაწილებით მოძრავ და უძრავ ფაზას შორის. ქრომატოგრაფიული ექსპერიმენტები ტარდება როგორც პრეპარატული, ისე ანალიზური მასშტაბებით. პრეპარატული მეთოდის მიზანია დაყოფილი ნივთიერების გასუფთავება-შეგროვება შემდგომი გამოყენების მიზნით, ხოლო ანალიზური მეთოდის მიზანი ძირითადად კომპონენტების რაოდენობრივი ანალიზია.

ქრომატოგრაფიული ექსპერიმენტი პირველად ჩატარებული იქნა მიხეილ ცვეტის მიერ 1900 წელს. მისი მიზანი იყო ფოთლის ექსტრაქტიდან პიგმენტების - ქლოროფილის, კაროტენების და ქსანთოფილების დაყოფა. რამდენადაც ამ პიგმენტებს სხვადასხვა შეფერილობა გააჩნიათ (მწვანე, ნარინჯისფერი და ყვითელი, შესაბამისად), ცვეტმა მეთოდს ქრომატოგრაფია უწოდა [14].

მე-20 საუკუნის პირველ ნახევარში მეცნიერების არჩერ ჯ.პ. მარტინის და რიჩარდ ლ.მ. სინჯის შრომებმა საფუძველი ჩაუყარა გაზური ქრომატოგრაფიის და ქაღალდის ქრომატოგრაფიის ტექნიკას, ასევე სითხურ ქრომატოგრაფიას, რომელიც მე-20 საუკუნის მეორე ნახევარში განვითარდა როგორც მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფია (HPLC). მკვლევარებმა აღმოაჩინეს, რომ ცვეტის მიერ მიღებული ქრომატოგრაფიული პრინციპები შეგვიძლია მრავალნაირად გამოვიყენოთ, ზოგად ტექნოლოგიურ პროგრესთან ერთად ქრომატოგრაფიული მეთოდები და აპარატურა ძალზე მრავალფეროვანი გახდა [15].

ქრომატოგრაფიულ ექსპერიმენტში ხდება საკვლევი ნარევის შეყვანა უძრავ ფაზაზე, რომელიც როგორც წესი მოთავსებულია მეტალის მილში, ან კვარცის კაპილარში და ქრომატოგრაფიული სვეტი ეწოდება, მისი სვეტში გადაადგილება

მოდრავი ფაზის განუწყვეტელი მიწოდებით, დაყოფილი კომპონენტების რეგისტრაცია ხდება მათი ფიზიკური, ქიმიური თუ ფიზიკო-ქიმიური თვისების გაზომვით.

ამ მეთოდში ხდება გაზომილი სიგნალის დროზე დამოკიდებულების ჩაწერა, რასაც ქრომატოგრამა ეწოდება, ხოლო კომპონენტები ქრომატოგრამაზე რეგისტრირდებიან ქრომატოგრაფიული პიკის სახით. პიკის რეგისტრაციის დროისა და ფართობის მიხედვით შეიძლება კომპონენტის პირველადი იდენტიფიკაცია და რაოდენობის დადგენა.

1.4.2 ქრომატოგრაფიის წონასწორული თეორია

ქრომატოგრაფიული პროცესის თეორიულად აღწერისთვის, 1941 წელს ა. მარტინმა და რ. სინჯმა შემოგვთავაზეს თეფშების თეორია, რომელიც დაფუძნებული იყო დისტილაციისა და ექსტრაქციის პრინციპებზე. ამ პრინციპს ხშირად წონასწორულ პრინციპს უწოდებენ [16]. თეფშების მოდელში მიჩნეულია, რომ უძრავი ფაზა დაყოფილია „თეფშებად“ როგორც დისტილაციის პროცესში, თვითოეულ „თეფშზე“ არის დამყარებული წონასწორობა საანალიზო ნივთიერების განაწილების თვალსაზრისით მოძრავ და უძრავ ფაზას შორის. წონასწორობა აღიწერება განაწილების კოეფიციენტით K (განტ.1) :

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

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

ტევადობის ფაქტორი k აღიწერება განაწილების კოეფიციენტისა და მოძრავი და სტაციონარული ფაზების მოცულობების ფარდობით (განტ.2) :

$$k = K \frac{V_m}{V_s} = K\beta \quad (\text{განტ.2})$$

შეკავების ფაქტორი R_f წარმოადგენს საანალიზო ნივთიერებების სიჩქარის ფარდობას მოძრავ ფაზასთან შედარებით სტაციონალურ ფაზაზე გავლისას (განტ.3).

$$R_f = \frac{u_c}{u} = \frac{1}{1+k} \quad (\text{განტ.3})$$

სადაც u_c არის k ტევადობის ფარდობის მქონე კომპონენტის სიჩქარე, u კი მოძრავი ფაზის სიჩქარე.

შეკავების მოცულობა, V_R მოძრავი ფაზის ის მოცულობაა, რომელიც საჭიროა, რათა მოხდეს კომპონენტის მაქსიმუმის ელუირება სტაციონარული ფაზიდან, ხოლო შეკავების დრო t_R არის იგივე პროცესისთვის საჭირო დრო მოძრავი ფაზის ნაკადის მუდმივ სიჩქარეზე.

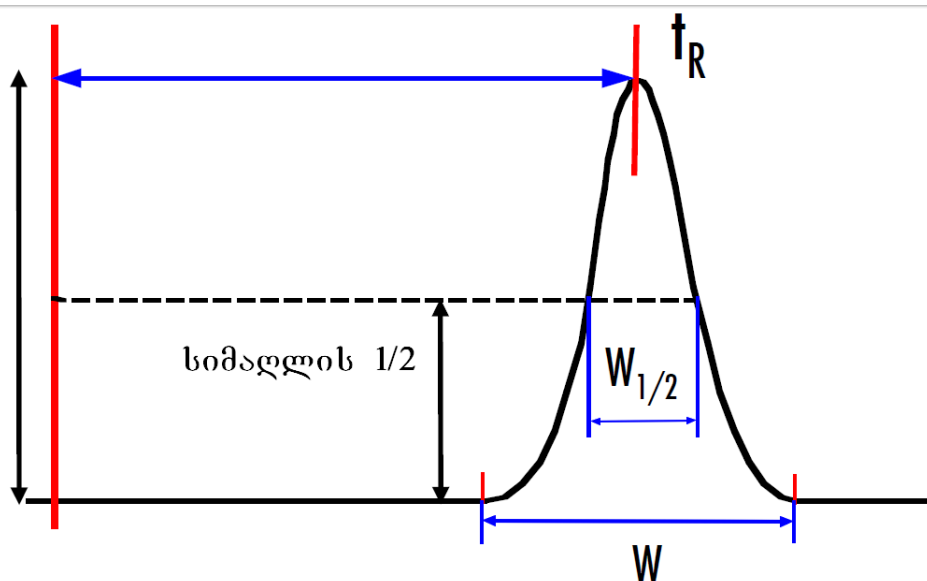
ქრომატოგრაფიული პიკის მიხედვით შესაძლოა ვიმსჯელოთ თეორიული თეფშების რიცხვზე- N , რომელიც ქრომატოგრაფიული სვეტის ეფექტურობის რაოდენობრივი მაჩასიათებელია. პიკის დასაწყისის და ბოლოს გადაკვეთის შორის მანძილს პიკის სიგანე - w ეწოდება, რომელიც ხშირად დროის ერთეულებში იზომება. თეორიული თეფშების რიცხვსა და პიკის გამოსვლის დროს და მის სიგანეს შორის დამოკიდებულება გამოიხატება ფორმულით (განტ.4):

$$N = 16 \left(\frac{t_r}{w} \right)^2 \quad (\text{განტ.4})$$

თუმცა იმის გამო, რომ მწელია მაღალი სიზუსტით გაიზომოს პიკის დაწყების და დამთავრების დრო, პიკის სიგანის ნაცვლად იყენებენ პიკის სიგანეს მის ნახევარ სიმაღლეზე - $w_{1/2}$, ამ შემთხვევაში, თეორიული თეფშების რიცხვი გამოითვლება ფორმულით (განტ.5) :

$$N = 5,54 \left(\frac{t_r}{w_{1/2}} \right)^2 \quad (\text{განტ.5})$$

ილუსტრაციისთვის ნახეთ ნახაზი 1



ნახაზი 1: ქრომატოგრაფიული პიკის მაჩასიათებლები

ორი კომპონენტის დაყოფის აღსაწერად იყენებენ სელექტიურობას - α . რომელიც ამ ორი კომპონენტის შეკავების ფაქტორების ფარდობას წარმოადგენს (განტ.6) :

$$\alpha = \frac{k_2}{k_1} \quad (\text{განტ.6})$$

თუმცა, სელექტიურობა გვიჩვენებს მხოლოდ კომპონენტების მაქსიმუმების დაშორებას ერთმანეთისგან, ხოლო თუ რამდენად დაშორებულია პიკის ფუძეები

ქრომატოგრამაზე, ანუ რამდენად ეფექტურადაა დაყოფილი კომპონენტები, ამას გვიჩვენებს გარჩევითობა R_s (განტ.7) :

$$R_s = \frac{t_2 - t_1}{\frac{w_1 + w_2}{2}} = 1.18 \frac{t_2 - t_1}{\frac{w_1}{2} + \frac{w_2}{2}} = \sqrt{\frac{N}{4}} \frac{\alpha - 1}{\alpha + 1} \frac{k}{1 + k} \quad (\text{განტ.7})$$

წონასწორული თევშების მოდელი კარგია ქრომატოგრაფიული სვეტების და ქრომატოგრაფიის აღსაწერად, თუმცა არ აჩვენებს პროცესის დროს მიმდინარე მოვლენებს.

1.4.3 ქრომატოგრაფიის კინეტიკური თეორია

ქრომატოგრაფიული პროცესის კინეტიკური ანუ სიჩქარის თეორია პირველად დაამუშავა ჯ. ვან-დეემტერმა.

წონასწორული თეორიები გამოიყენება მაშინ, როდესაც მასის გადატანა და ადსორბცია-დესორბციის პროცესი ისეთი სწრაფია, რომ მუდმივი წონასწორული მდგომარეობა მიღწეული მოძრავ და უძრავ ფაზას შორის. თუმცა მასის გადატანის სიჩქარე ხშირად საკმაოდ დაბალია და შესაბამისად, თავს იჩენს არაწონასწორული პროცესები. ეს განსაკუთრებით გამოხატულია დიდი ზომის ბიომოლეკულების დაყოფისას, როდესაც მასის გადატანის და ადსორბცია-დესორბციის პროცესები ნელია და წონასწორული თეორიები აღარ გამოდგება.

ასევე, თუნდაც მცირე ზომის მოლეკულების დაყოფისას, როდესაც წონასწორობა მყისიერად მიიღწევა, კინეტიკური თეორიები გვაძლევენ პროცესის ალტერნატიულ ხედვას. ქრომატოგრაფიის კინეტიკური ანუ სიჩქარის თეორიები ხსნიან სხვადასხვა ფაქტორების კინეტიკურ მონაწილეობას პიკის გაგანიერებაში სვეტურ ქრომატოგრაფიაში. პიკის გაფართოების დამოუკიდებელი შემადგენლებია გრიგალისებური დისპერსია, ლონგითუდინალური დიფუზია და გარე და ტრანსნაწილაკური მასის გადატანა. ხშირად გამოყენებული თეორიული თევშების სიმაღლის განტოლებები გამოყვანილია კინეტიკური მოდელების საფუძველზე [15].

ხშირად ქრომატოგრაფიული პროცესების მოდელირება ხდება მასურ ბალანსზე დაფუძნებული ანუ მაკროსკოპიული მოდელებით. შექმნილია დეტალური მასური ბალანსის დიფერენციალური განტოლებები [17]. ქრომატოგრაფიული სიგნალების პროფილები მიიღება მასური ბალანსის დიფერენციალური განტოლებების ამოხსნით.

მეორეს მხრივ, მაკროსკოპიული მოდელები ქრომატოგრაფიულ პროცესებს აღწერენ მოლეკულურ დონეზე, მოლეკულების შემთხვევითი მიგრაციით ქრომატოგრაფიულ სვეტში. მასური ბალანსის განტოლებები აღწერენ კონვექციურ და დისპერსიულ პროცესებს. პირველად ასეთი ტიპის განტოლებები მე-20 საუკუნის პირველ ნახევარში იქნა გამოყვანილი [18, 19].

მასური ბალანსის დიფერენციალური განტოლება, რომელიც ითვალისწინებს კონვექციას და დისპერსიას წარმოდგენილია ქვემოთ:

$$\frac{\partial c}{\partial t} + F \frac{\partial q}{\partial t} + u \frac{\partial c}{\partial z} = D_L \frac{\partial^2 c}{\partial z^2} \quad \text{განტ.8}$$

სადაც c და q არიან საანალიზო ნივთიერებების კონცენტრაციები მოძრავ და უძრავ ფაზაში, შესაბამისად; F წარმოადგენს ფაზურ ფარდობა (განტ.9) :

$$F = \frac{(1-\varepsilon)}{\varepsilon} \quad (\text{განტ.9})$$

ε არის მარცვლის ჯამური ფორიანობა, D_L წარმოადგენს აქსიალურ დისპერსიას, კოეფიციენტი რომელიც ასახავს სვეტის შუალედურ ზონებში ნაკადის გამო არსებულ დისპერსიას და შეიცავს როგორც ლონგიტუდინალურ დიფუზიას, ისე გრიგალისებურ დისპერსიას. t და z დროითი და სივრცული კოორდინატებია, ხოლო u მოძრავი ფაზის სიჩქარე.

ამ განტოლების გამოყენებისას თვლიან, რომ სვეტი არის რადიალურად ჰომოგენური, მორავი ფაზის კუმშვადობა უმნიშვნელოა და ტემპერატურა მუდმივია. გარდა ამისა, ჩათვლილია, რომ სტაციონალურ ფაზაში დიფუზია არ ხდება.

ვან დეემტერის განტოლება თეორიული თეფშის სიმაღლის შესახებ

კინეტიკური მოდელების გამოყენებით ჯ. ვან-დეემტერმა გამოიყვანა თეორიული თეფშების სიმაღლის გამოსათვლელი განტოლება [20] (განტ.10) :

$$H = \frac{2D_L}{u} + \frac{2u}{k'_m F} \left(\frac{k}{1+k} \right)^2 \quad \text{განტ.10}$$

სადაც $k=\alpha F$ არის შეკავების ფაქტორი. აქსიალური დისპერსიის კოეფიციენტის მიახლოებითი მნიშვნელობა შეიძლება გამოითვალოს სხვადასხვა მოდელებით და ემპირიული კორელაციებით. ვან დეემტერმა ივარაუდა, რომ D_L შეიძლება გამოითვალოს როგორც მოლეკულური დიფუზიის და გრიგალისებური დისპერსიულობის ჯამი (განტ.11)[21]:

$$D_L = \gamma D_m + \lambda d_p u \quad \text{განტ.11}$$

სადაც D_m არის მოლეკულური დიფუზიის კოეფიციენტი, d_p არის ნაწილაკების დიამეტრი, γ და λ მუდმივებია, რომელთა ტიპური მიახლოებითი მნიშვნელობებია $\gamma=0.7$ და $\lambda=0.5$ [14]

განტ.2 და განტ. 3 კომბინაციით მიიღება ხშირად გამოყენებული ვან-დეემტერის განტოლება (განტ.12):

$$H = A + \frac{B}{u} + Cu \quad \text{განტ.12}$$

შემდეგი კოეფიციენტებით, რომლებიც აღწერილია განტ.5a; განტ.5b; განტ.5c-ში:

$$A = 2\lambda d_p \quad B = 2\gamma D_m \quad c = \frac{2}{k'_m F} \left(\frac{k}{1+k} \right)^2$$

სადაც A წვერი გრიგალისებურ დისპერსიას გამოხატავს, რომელიც გამოწვეულია არაიდეალურად შევსებულ სვეტში საანალიზო ნივთიერების გავლით,

B წვერი განივი (ლონგიტუდინალური) დიფუზიის მაჩვენებელია,

C წვერი მასის გადატანის წინააღმდეგობას ასახავს,

u კი მოძრავი ფაზის სიჩქარეა

1.4.4 სიჩქარის ზოგადი მოდელი

ფიზიკურად ქრომატოგრაფიის ყველაზე დეტალური კინეტიკური მოდელი არის ძირითადი სიჩქარის მოდელი. ეს მოდელი აქტიურად შეისწავლებოდა სხვადასხვა ავტორების მიერ [22-24].

სიჩქარის ზოგადი მოდელი ერთდროულად ითვალისწინებს ყველა გადატანით და კინეტიკურ ფენომენს, რომლებიც გავლენას ახდენს ქრომატოგრაფიული სიგნალის გაფართოებაზე. ქრომატოგრაფიული პიკის დისპერსიის მთავარი წყაროა საანალიზო ნივთიერების ტრანსნაწილაკური გადატანა, როგორცაა დიფუზია მოძრავი ფაზით სავსე ფორებში, დიფუზია ადსორბირებულ ფაზაზე, რეაქციების კინეტიკა ფაზების საზღვრზე. ნაწილაკთაშორისი-ტრანსპორტი და -დისპერსიის მექანიზმი დამოკიდებულია გარეთა მასის გადატანის და შერევის (აქსიალური დისპერსია) ეფექტებზე. თვითოეული მოვლენისთვის იწერება დიფერენციალური განტოლებები და განტოლებების ნაკრები იხსნება ერთდროულად. ამ მოდელის ანალიზური გადაწყვეტა შესაძლებელია მხოლოდ ლაპლასის დომენში (მიახლოება) გარკვეული გამარტივებების შემდეგ [25, 26].

ამ მოდელში იგულისხმება, რომ მოძრავი ფაზა თანდათან იფილტრება (პერკოლირება) სტაციონარული ფაზის ნაწილაკებს შორის (შუალედურ) სივრცეში. ამ ნაკადიდან ადგილი აქვს დიფუზიას ნაწილაკებში და სტაციონარული ფაზის ფორებს შორის, სადაც მოძრავი ფაზა ინერტულია (უძრავია) და ადსორბცია-დესორბციის პროცესს ადგილი აქვს ფორებს შორის მყოფ უძრავ მოძრავ ფაზას და ადსორბენტის ზედაპირს შორის [14].

1.4.5 მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფიის თეორია

ქრომატოგრაფიული დაყოფის ძირითადი თეორია აღწერილი იყო გაზური ქრომატოგრაფიისთვის. მოსალოდნელი იყო, რომ იგივე პრინციპები სწორი იქნებოდა მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფიისთვისაც (მესქ). გარჩევითობა, R_s , აღწერილია პურნელის განტოლებით [27] თეორიული თეფშების რიცხვით - N , დაყოფის ფაქტორით - α , და შეკავების ფაქტორით k (განტ.13):

$$R_s = 0.25(N^{0,25})(\alpha - 1) \left(\frac{k}{(k+1)} \right) \quad (\text{განტ.13})$$

სვეტის ეფექტურობის, იგივე თეორიული თეფშების რიცხვის-N ნახევრად რაოდენობრივი ინტერპრეტაცია შემოტანილი იქნა ვან-დეემტერის განტოლების შემდგომი განვითარებით [28] გაზური ქრომატოგრაფიისათვის და შემდგომში მოხდა მისი გადმოტანა სითხურ ქრომატოგრაფიაში გიდინგსის მიერ[29]. მოგვიანებით გამოყვანილი იქნა ძალზე გამოსადეგი და ფართოდ გამოყენებული ნოქსის განტოლება [30] (განტ.7):

$$H = Au^{\frac{1}{3}} + \frac{B}{u} + cu \quad (\text{განტ.14})$$

1.4.6 აპარატურა მაღალეფექტურ სითხურ ქრომატოგრაფიაში

მესქ-ში გამოყენებული აპარატურა შედგება რამდენიმე ძირითადი ბლოკისაგან, ასევე შესაძლებელია დამატებითი აპარატურული ბლოკების გამოყენება ფუნქციონალობისა და წარმადობის გასაზრდელად.

ძირითადი ბლოკებია ტუმბო, ინჟექტორი, სვეტი, დეტექტორი და მონაცემების ჩამწერი მოწყობილობა.

მესქ-ში გამოყენებული ტუმბოები რამდენიმე კლასად იყოფა. არსებობს გრადიენტული და იზოკრატული ტუმბოები. იზოკრატული ტუმბოები იდეალურია ისეთ შემთხვევებში, სადაც არაა საჭირო მოძრავი ფაზის შემადგენლობის გრადიენტული ცვლილება ანალიზის მიმდინარეობისას. თუ ქრომატოგრაფიულ ექსპერიმენტში საჭიროა ორგანული და არაორგანული ფაზის შემადგენლობის ცვლილება მრავალკომპონენტიანი ნარევის ეფექტური ანალიზისთვის., ამ შემთხვევაში აუცილებელია გრადიენტული ტუმბოს გამოყენება.

ინჟექტორები ძირითადად ორი ტიპისაა, ხელის ინჟექტორები ფიქსირებული ზომის მქონე ნიმუშის მარყუქით და ავტომატური ინჟექტორები, რომლებიც შეუძლებელია არიან ნიმუშების ავტომატურ მიმწოდებელთან. ხელის ინჟექტორების ერთადერთი უპირატესობა მათი სიიაფა ავტომატურ ინჟექტორებთან შედარებით. თანამედროვე ავტომატურ ინჟექტორებს შეუძლიათ ნიმუშის შეყვანა რაოდენობის ფართო ზღვრებში მაღალი სიზუსტით და უმცირესი ჯვარედინი დაბინძურებით, ასევე ანალიზების სრული ავტომატიზაცია, რადგანაც ნიმუშების ავტომატური მიმწოდებელი 100-ზე მეტ ნიმუშს იტევს.

მესქ-ში გამოიყენება სხვადასხვა ზომების მქონე ქრომატოგრაფიული სვეტები, რომლებიც შევსებულია ანალიზისთვის საჭირო შესაბამისი ფაზით. როგორც წესი, ქრომატოგრაფიული სვეტი წარმოადგენს მეტალის მილს, რომელშიც მოთავსებულია სტაციონარული ფაზა, მილის შიგა დიამეტრი 4,6 მმ-ია, ხოლო სიგრძე 250 მმ, თუმცა მესქ-ს განვითარებასთან ერთად, განვითარება განიცადეს ქრომატოგრაფიულმა სვეტებმაც და დღეს-დღეობით უფრო და უფრო ხშირად იყენებენ გაცილებით მცირე ზომის სვეტებს. გარდა ამისა, შესაძლებელია კაპილარული სვეტების გამოყენებაც.

ყველაზე ფართო გამოყენება მესქ-ში აქვს ულტრაიისფერ-ხილულ დეტექტორებს, რომლებიც კიუვეტაში გამავალი ხსნარის მიერ სინათლის აბსორბციას აფიქსირებენ. არსებობს ამ ტიპის დეტექტორების მრავალი ვარიაცია, ერთტალღიანი, მრავალტალღიანი, დიოდური დეტექტორები, ასევე მონაცემთა ჩაწერის სხვადასხვა სიჩქარეები. დღეს-დღეისობით არსებული კომერციული დეტექტორების მონაცემთა ჩაწერის ყველაზე მაღალი სიჩქარეა 160 ჰერცი.

გარდა ულტრაიისფერი დეტექტორებისა, არსებობს მრავალი ტიპის სპეციფიური- სელექტიური დეტექტორები, რომლებსაც მაღალი მგრძნობიარობა გააჩნიათ ნივთიერებათა გარკვეული ჯგუფის მიმართ. მაგალითად გარდატეხის მაჩვენებლის დეტექტორები გამოიყენება ნახშირწყლების ანალიზისას, ფლუორესცენტული დეტექტორები ფლუორესცენციის უნარის მქონე ნივთიერებების ანალიზისას, სინათლის განხვევის დეტექტორები გამოირჩევა უნივერსალურობით და მაღალი მგრძნობიარობით, თუმცა მათზე მაღალი მგრძნობიარობა მას-სპექტრომეტრულ დეტექტორებს გააჩნიათ. იონურ ქრომატოგრაფიაში გამოიყენება ელექტროქიმიური დეტექტორები და ა.შ.

დამატებითი მოდულებიდან აღსანიშნავია სვეტების თერმოსტატი, რომელშიც შეიძლება მოთავსდეს ერთი, ორი, ან მეტი სვეტი და მოხდეს მათი შორის ავტომატური გადართვა, ასევე სვეტების თერმოსტატირება მითითებულ ტემპერატურაზე. როგორც წესი, მესქ-ში, სვეტის ტემპერატურა არ არის ისეთი მნიშვნელოვანი, როგორც გაზურ ქრომატოგრაფიაში და ძირითადად გამოიყენება ანალიზების სტაბილურობის და განმეორებადობის გასაზრდელად, თუმცა უკანასკნელი წლების გამოკვლევები მიუთითებს, რომ ტემპერატურა,ეს მნიშვნელოვან გავლენას ახდენს ენანტიომერების დაყოფაზე [31].

სითხურ ქრომატოგრაფებში ასევე გამოიყენება მოძრავი ფაზების დეგაზატორების ბლოკი, რომელიც აცილებენ მოძრავ ფაზებში გახსნილ გაზებს, რათა ამ უკანასკნელმა არ მოახდინონ გავლენა ანალიზზე. თანამედროვე სისტემებში დეგაზატორების ბლოკი ჩამონტაჟებულია უშუალოდ ტუმბოში.

თავდაპირველად, დეტექტორის სიგნალების ჩასაწერად გამოიყენებოდა თვითჩამწერები, შემდეგ ინტეგრატორები, რომლებიც გარდა ქრომატოგრამის ჩაწერისა, ახდენდნენ პიკების ინტეგრაციასაც. დღეს-დღეობით მონაცემთა ჩაწერა, ასევე ხელსაწყო მართვა და მონაცემების დამუშავება ხდება სპეციალიზირებული კომპიუტერული პროგრამული უზრუნველყოფის საშუალებით. როგორც წესი, ქრომატოგრაფის მწარმოებელ ყველა კომპანიას შექმნილი აქვს საკუთარი პროგრამული უზრუნველყოფა თავისი წარმოების ქრომატოგრაფებთან სამუშაოდ, თუმცა შეიმჩნევა ქრომატოგრაფიული სისტემების მართვის და მონაცემების შენახვის უნიფიცირების ტენდენცია. ამიტომ არის პროგრამები, რომლებიც მართავენ არა მხოლოდ „საკუთარ“ აპარატურას, არამედ სხვა კომპანიის წარმოების აპარატურასაც, ასევე არის კომპანიები, რომლებიც მუშაობენ მხოლოდ ქრომატოგრაფების მართვის და მომცემთა დამუშავების პროგრამულ უზრუნველყოფებზე, რომლებიც თავსებადია მრავალი მწარმოებლის აპარატურასთან.

1.5 პოლისაქარიდული ქირალური სტაციონარული ფაზების მიმოხილვა

დღესდღეობით არსებობს მრავალი სხვადასხვა ტიპის ქირალური სელექტორი (ქს) ენანტიომერების თხევად-ფაზური დაყოფისათვის. ფაქტიურად ნებისმიერი დაბალი ან მაღალი მოლეკულური მასის მქონე ქირალურ ნივთიერება, რომელსაც აქვს უნარი წარმოქმნას არაკოვალენტური მოლეკულათაშორისი ენანტიოსელექტიური კომპლექსი, შეიძლება გამოყენებული იქნას როგორც ქირალური სელექტორი ენანტიომერების თხევადფაზური დაყოფისთვის. ამის გამო ბოლო 50 წლის განმავლობაში ასეულობით ქს-ია აღწერილი ლიტერატურაში. მიუხედავად შესწავლილი ქს-ის დიდი რიცხვისა, მათგან მხოლოდ რამდენიმეს კომერციალიზაცია მოხდა. უფრო მეტიც, ყველა კომერციალიზებული მასალა არ დარჩენილა გამოყენებაში. მათი ნაწილი გაქრა ბაზრიდან, ხოლო ნაწილი თამაშობს მეორეხარისხოვან როლს მრავალმილიარდიან ქირალურ ბიზნესში. გარდა ზემოთ აღნიშნული ქს-ის უნარისა, წარმოქმნას მოლეკულათაშორისი (გარდამავალი) კომპლექსები ქირალურ საანალიზო ნივთიერებებთან, არის კიდევ რამდენიმე კრიტერიუმი, რომლებსაც უნდა პასუხობდეს ქს, რათა მოხდეს მისი წარმატებით გამოყენება თხევადფაზური დაყოფისათვის. მათ შორის ყველაზე მნიშვნელოვანია რომ (1) მოლეკულათაშორისი კომპლექსების წარმოქმნის კინეტიკა და დინამიკა საშუალებას იძლეოდეს, რათა მოცემულ ქირალურ ნივთიერება გამოყენებული იქნას მაღალი ეფექტურობის მქონე დაყოფისათვის, როგორებიცაა მესქ და განსაკუთრებით, კაპილარული ელექტროქრომატოგრაფია. (2) ქს-ს უნდა ჰქონდეს თვისება, გამოყენებული იქნას უნივერსალურად სხვადასხვა მოძრავ ფაზებში, როგორებიცაა პირდაპირი და შებრუნებული ფაზები, პოლარულ-ორგანული ფაზები და ზეკრიტიკული სითხეები. ასევე უნდა გააჩნდეს მრავალრიცხოვანი განსხვავებული სტრუქტურების მქონე ქირალური ნივთიერებების ენანტიოსელექტიური გარჩევის/გამოცნობის უნარი. (3) ქს გამოსადეგი უნდა იყოს მიკრო და ნანო მასშტაბის დაყოფის მეთოდებისთვის, ასევე ანალიზური და პრეპარატიული მასშტაბის დაყოფისთვისაც. (4) ქს-ის მოსამზადებელი მასალები და რეაგენტები ხელმისაწვდომი უნდა იყოს.

პოლისაქარიდების ნაწარმები სრულიად შეესაბამებიან ამ კრიტერიუმებს, ფაქტობრივად პოლისაქარიდული ქს-ია გამოყენებული ლიტერატურაში აღწერილი 80% -ზე მეტ ანალიზური და 90%-ზე მეტ პრეპარატიული და საწარმოო მასშტაბების ენანტიომერების დაყოფის შემთხვევებში [32].

1.5.1 პოლისაქარიდული ქირალური სელექტორების განვითარება

პირველი, მაგრამ წარუმატებელი მცდელობა ენანტიომერების დაყოფისა, რომელიც დაფუძნებული იყო მათ სელექტიურ ადსორბციაზე თხევადი ფაზიდან ქირალურ მასალაზე, აღწერილი იქნა 1904 წელს გერმანელი მეცნიერის რ. ვილშტეტერის მიერ. ეს მეცნიერი ცდილობდა ამ პროცესის საფუძველზე დაედგინა ბამბის შეღებვა ქიმიური თუ ფიზიკური პროცესი იყო [33]. 1939 წელს გ. ჰენდერსონმა და ჰ. რულმა აჩვენეს ენანტიომერების პირველი ნაწილობრივი დაყოფა დისაქარიდ

ლაქტოზას ქირალურ ადსორბენტად გამოყენებით სვეტურ ქრომატოგრაფიაში [34]. 1944 წელს ვ. პრელოგმა და პ. ვილანდმა გამოიყენეს ტროგერის ფუძის დაყოფა ლაქტოზის ადსორბენტზე, რათა ეპასუხათ 3 ვალენტური აზოტის ატომის ასიმეტრიულობის კრიტიკულ შეკითხვაზე [35]. 1951 წელს კოტაკემ გამოაქვეყნა შრომა, ენანტიომერების დაყოფის შესახებ ქირალურ სელექტორად ცელულოზის გამოყენებით ქაღალდის ქრომატოგრაფიაში. ეს იყო პოლისაქარიდის ქირალურ სელექტორად გამოყენების პირველი მაგალითი [36]. ათი წლის შემდეგ, აღწერილი იქნა ცელულოზის გამოყენება ქირალური კატეხინების დასაყოფად სვეტურ ქრომატოგრაფიაში [37]. ამ კვლევების საფუძველზე ნატივური დი, ოლიგო და პოლისაქარიდების ენანტიომერების გამოცნობის უნარი შეზღუდული ჩანდა. თუმცა 1960-იანი წლებიდან, ცელულოზას მრავალი ნაწარმი იქნა გამოყენებული ენანტიომერების დასაყოფად ქრომატოგრაფიაში. ა. ლუტრინგჰაუსის ადრეული მცდელობა ნაწილობრივ აცეტილირებული ცელულოზის გამოყენებისა ქირალურ სელექტორად [38] შეუმჩნეველი რჩება ლიტერატურულ მიმოხილვებში, რადგან ყურადღება გამახვილებულია მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფიაში ცელულოზის ტრიაცეტატზე (ცტა) [33], რომელის გამოყენებაც პირველად აღწერილი იქნა გ. ჰესეს და რ. ჰაგელის მიერ 1973 წელს [39]. ამ სტატიის შემდეგ, გ. ბლაშკემ და მისმა თანამშრომლებმა დაიწყეს ცტა-ს ინტენსიური შესწავლა ქირალური სამკურნალო საშუალებების ენანტიომერების დასაყოფად, რომელთა მიღება სხვა გზით გართულებული იყო [40]. შემდგომში, პოლისაქარიდული რთული ეთერების და ფენილკარბამატების მიზანმიმართული სინთეზით და მათი ინტენსიური სკრინინგით და გამოყენებით, როგორც ახალი ტიპის ქირალურ სტაციონალურ ფაზებად (ქსფ) დიდი პროგრესი იქნა მიღწეული [32]. თუ 1944 წელს ვ. პრელოგმა და პ. ვილანდმა გამოიყენეს 6გ რაცემატი, 18 ლ პეტროლეუმის ეთერი და 2.8 კგ ლაქტოზა, რათა მიეღოთ 150 მგ ტროგერის ფუძის სუფთა ენანტიომერები [35], დღესდღეობით იგივე შედეგი შეგვიძლია მივიღოთ რამდენიმე წუთში ათასჯერ ნაკლები რაოდენობის მოძრავი და და უძრავი ფაზების გამოყენებით და პრაქტიკულად ენანტიომერების სრული რაოდენობრივი გამოსავლით. განუწყვეტელი მუშაობა მიმდინარეობს როგორც თვითონ ქირალური სელექტორის ოპტიმიზაციის, ასევე ინერტული სარჩულების, დაფენის და იმობილიზაციის მეთოდების გასაუმჯობესებლად [32].

1.5.2 პოლისაქარიდული ქირალური სელექტორების ოპტიმიზაცია

1980-იან წლებში შრომები პოლისაქარიდული ქირალური სელექტორების ოპტიმიზაციაზე ძირითადად მიმდინარეობდა ორ ჯგუფში, რომლებიც მჭიდროდ თანამშრომლობდნენ ერთმანეთთან, ესენი იყო ი. ოკამოტოს ჯგუფი ოსაკას უნივერსიტეტში და კომპანია „დაიცელი“ (Daicel), ორივე ჯგუფი მოღვაწეობდა იაპონიაში, მის საზღვრებს გარეთ მხოლოდ რამდენიმე კვლევა ჩატარდა [41; 42]

მესქ-ში ენანტიომერების დასაყოფად გამოყენებულ ახალი ტიპის პოლისაქარიდულ ქირალურ სელექტორებზე, კონკრეტულად კი პოლისაქარიდების ფენილკარბამატებზე გამოქვეყნებულ პირველ სტატიაში შემოწმებული იყო სხვადასხვა პოლისაქარიდები, როგორებიცაა ცელულოზა, ამილოზა, ინულინი, კურდლანი, ქიტოზანი, ქსილანი და დექსტრანი [43]. აღმოჩნდა, რომ შესწავლილი მასალებიდან, ცელულოზა და ამილოზა წარმოადგენენ ყველაზე საინტერესო მასალებს

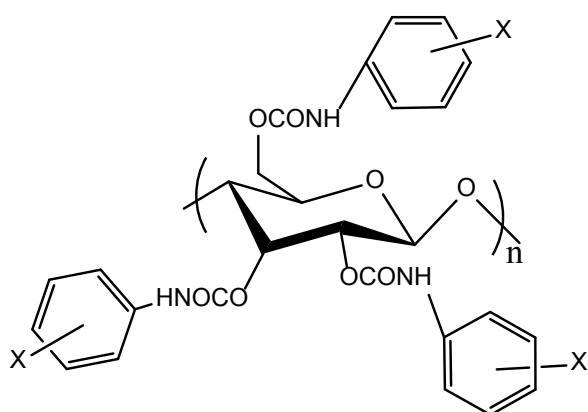
მათი ქირალური გამოცნობის თვალსაზრისით, სუფთა სახით ხელმისაწვდომობით და მათი დამუშავების სიმარტივით. ზოგიერთმა სხვა პოლისაქარიდების, განსაკუთრებით ქიტინის ფენილკარბამატებმა [44; 45] აჩვენეს მნიშვნელოვანი ქირალური გამოცნობის უნარი ქირალური საანალიზო ნივთიერებების გარკვეული ჯგუფის მიმართ, თუმცა მხოლოდ ცელულოზის და ამილოზის ნაწარმების კომერციალიზაცია მოხდა ენანტიომერების დასაყოფად ანალიზური და პრეპარატული მიზნებისთვის მესქ-ში [46]. ცელულოზის შემთხვევაში, ქირალური სელექტორის მოსამზადებლად ძირითადად გამოიყენება მიკროკრისტალური ცელულოზა სავაჭრო სახელით „ავიცელი“ (Avicel), ხოლო ამილოზის შემთხვევაში ის შეიძლება იყოს ბუნებრივი ან სინთეზური/ნახვრადსინთეზური ამილოზა. ბუნებრივი ამილოზის წყარო შეიძლება იყოს კარტოფილის, სიმინდის, ბრინჯის, ხორბლის და სხვადასხვა ლობიოს ჯიშისგან მიღებული სახამებელი. ბუნებრივი პროდუქტის წყარო გავლენას ახდენს ქირალური გამოცნობის შესაძლებლობაზე. ხელოვნურ ამილოზას უპირატესობა აქვს კონტროლირებადი მოლეკულური მასის და მისი ვიწრო განაწილების გამო [32].

პოლისაქარიდების სხვადასხვა ნაწარმებიდან ძირითადად შესწავლილი იქნა რთულ-ეთერული და კარბამატული ნაწარმები. აღმოჩნდა, რომ ორივე მათგანი მისაღებია, როგორც ქირალური სელექტორები მესქ-ში [38, 39; 46-51]. შესწავლილი იქნა აგრეთვე ცელულოზას და ამილოზას ალკილ-, ციკლოალკილ- და არილ ნაწარმები. ორივე სერიაში და ჩანაცვლებული არილ ნაწარმები აღმოჩნდა ყველაზე სასარგებლო ქირალური სელექტორები. ასევე პოლისაქარიდების ზოგიერთი ალკილ-ეთერების კომერციალიზაცია, თუმცა მათი გამოყენება ენანტიომერების დაყოფის პრობლემების გადასაჭრელად, სწრაფად მცირდება და სავარაუდოდ ახლო მომავალში საერთოდ გაქრება ბაზრიდან. ცელულოზას ზოგიერთი ციკლოალკილ-ნაწარმები ავლენენ ფრიად საინტერესო ქირალური გამოცნობის უნარს და შესაძლოა გამოყენებულ იქნან ენანტიომერების დაყოფებისათვის თხელფენოვან ქრომატოგრაფიაში ულტრაიისფერი სინათლის მცირე შთანთქმის გამო [46]. ასევე სინთეზირებული იქნა ცელულოზის ფენილ- კარბონატული ბენზოილფორმატული ნაწარმები, მაგრამ მათი ქირალური გამოცნობის უნარი ნაკლებია ვიდრე ეთერული და ფენილკარბამატული ნაწარმების [48].

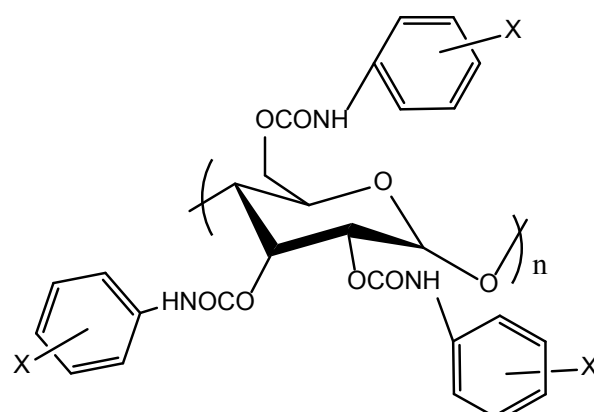
უკანასკნელი სამი ათწლეულის განმავლობაში მესქ-ში გამოყენებული პოლისაქარიდული ქირალური სელექტორების ოპტიმიზაცია ფოკუსირებული იქნა პოლისაქარიდების ნაწარმებში ფენილის ჯგუფის ჩამნაცვლებლების ოპტიმიზაციაზე. როგორც ი. ოკამოტოს და მისი ჯგუფის ადრეულ შრომებში იქნა აღწერილი, პოლისაქარიდების არომატული ეთერები და ფენილკარბამატები ავლენენ ქირალური გამოცნობის მაღალ უნარს [46; 47], მაგრამ ეს თვისებები მკვეთრად უმჯობესდება, თუკი ფენილის ნაშთში შესაბამის ადგილას ჩანაცვლებული იქნება ელექტრონ-დონორული, ან ელექტრონ-აქცეპტორული ჯგუფები [49-51]. ბენზოატური ნაწარმები, რომლებშიც დამატებულია ელექტრონ-დონორული ჩამნაცვლებლები, როგორიცაა მაგალითად ალკილის ჯგუფი, ავლენენ უფრო მაღალი ქირალური გამოცნობის უნარს, ვიდრე ნაწარმები, რომლებშიც არის ელექტრონ-აქცეპტორული ჩამნაცვლებლები როგორებიცაა ჰალოგენები, ან ტრიფტორმეთანის ჯგუფი. ეს ახსნილია ჩამნაცვლებელი ჯგუფების ცელულოზას ნაწარმის კარბონილის ჯგუფის ელექტრონულ სიმკვრივეზე მნიშვნელოვანი გავლენით [49, 50]. ელქტონ-დონორულმა მეთოქსი ჯგუფის

ჩამნაცვლებლებმა არ აჩვენეს ქირალური გამოცნობის თვისების მატება, სავარაუდოდ მეთოქსი ჯგუფის მაღალი პოლარობის გამო. შესწავლილ ცელულოზის ბენზოატებს შორის, 4-მეთილბენზოატმა აჩვენა მაღალი ქირალური გამოცნობის უნარი[50]. სილიკაგელზე დაფენილი ეს მასალა კომერციალიზებული იქნა სავაჭრო სახელებით “Chiralcell™ OJ” (Diacel) და “Lux™ Cellulose-3” (Phenomonex) და გამოიყენება ქირალური ნივთიერებების ენანტიომერების ფართო ჯგუფის დასაყოფად ანალიზური და პრეპარატიული მასშტაბებით. ცელულოზას ბენზოატებისგან განსხვავებით, ამილოზას ბენზოატებს აღმოაჩნდათ გაცილებით დაბალი ქირალური გამოცნობის უნარი, რაც შეიძლება ახსნილი იქნას, ამილოზას ნაწარმების მცირე კონფორმაციული სტაბილურობით, რაც სხვადასხვა კონფორმაციული იზომერების წარმოქმნის საშუალებას იძლევა [32]. ცოტა ხნის წინ, ნაჩვენები იქნა, რომ ცელულოზა 4-მეთილბენზოატის ქირალური გამოცნობის უნარი შეიძლება გაკონტროლებული იქნეს დანამატებით, რომლებიც ემატება ქირალური სელექტორის სილიკაგელზე დაფენის ეტაპზე [52].

ცელულოზის და ამილოზის კარბამატების ქირალური სელექტორების სტრუქტურები შეჯამებულია ნახ.2 და 3-ზე, ხოლო ცხრილი 1-ში მითითებულია ჩამნაცვლებლები.



ნახ. 2 ცელულოზას კარბამატები



ნახ. 3 ამილოზას კარბამატები

X=

a: 4-NO ₂	n: 4-CH ₃	z: 3-OCH(CH ₃) ₂
b: 4-CF ₃	o: 4-OPh	aa: 3,5-(OCH ₃) ₂
c: 4-I	p: 4-O-CH(CH ₃) ₂	ab: 3,5-(CH ₃) ₂
d: 4-Br	q: 4-OC ₂ H ₅	ac: 2,6-(OCH ₃) ₂
e: 4-Cl	r: 4-OCH ₃	ad: 3,4-(OCH ₃) ₂
f: 4-F	s: 2-Cl	ae: 3,5-Cl ₂
g: H	t: 2-CH ₃	af: 3,4-Cl ₂
i: 4-Ph	u: 2-OCH ₃	ag: 2,6-Cl ₂
j: 4-Si(CH ₃) ₃	v: 3-Cl	ah: 3,5-F ₂
k: 4-C(CH ₃) ₃	w: 3-CH ₃	ai: 3,5-(CF ₃) ₂
l: 4-CH(CH ₃) ₂	x: 3-OCH ₃	
m: 4-C ₂ H ₅	y: 3-OC ₂ H ₅	

ცხრილი 1. ჩამნაცვლებლები ცელულოზას და ამილოზას კარბამატებში [32]

ქრომატოგრაფიულმა სკრინინგმა აჩვენა, რომ ცელულოზას ფენილკარბამატები აჩვენებს უკეთეს ქირალური გამოცნობის უნარს, თუ ფენილის ნაშთის მე-4 პოზიციაში ჩამნაცვლებულია ელექტრონ-აქცეპტორული, ან ელექტრონ-დონორული ჩამნაცვლებლები [51]. ჩამნაცვლებლები გავლენას ახდენს როგორც კარბამატის ნაშთის ელექტრონულ სიმკვრივეზე, ასევე მოქმედებენ თვითონ საანალიზო ქირალური ნივთიერების ენანტიომერებთანაც. ელექტრონ-აქცეპტორული ჩამნაცვლებლების გავლენით, NH ჯგუფების პროტონის მჟაურობა იზრდება, ასევე იზრდება ელექტრონ-აქცეპტორული ბუნების ქირალური საანალიზო ნივთიერებების უმეტესობის შეკავების დროც, რადგანაც სავარაუდოდ ეს ნივთიერებები ურთიერთქმედებენ სელექტორის NH ჯგუფებთან წყალბადური ბმებით[32]. ამის საწინააღმდეგოდ, როდესაც ფენილის ნაშთში დამატებულია ელექტრონ-დონორული ჩამნაცვლებლები, კარბამატის ჯგუფის კარბონილის ჟანგბადის ატომის ელექტრონული სიმკვრივე იზრდება, შესაბამისად ელექტრონ დონორული თვისებების ჯგუფების მქონე ქირალური ნივთიერებების ენანტიომერები უფრო ძლიერად მოქმედებენ ასეთი ტიპის ცელულოზას ნაწარმებთან. შენიშნულ იქნა, რომ ცელულოზას კარბამატებში, რომლებშიც ჩამნაცვლებულია პოლარული ჯგუფები, როგორებიცაა ნიტრო და მეთოქსი ჯგუფები, ავლენენ ქირალური გამოცნობის დაბალ უნარს, რაც სავარაუდოდ გამოწვეულია ამ პოლარული ჯგუფების არაენანტიოსელექტიური ურთიერთქმედებით საანალიზო ენანტიომერებთან, რადგანაც ისინი განლაგებულნი არიან ქირალური გლუკოზას ჯგუფიდან მოშორებით[32]. გასათვალისწინებელია ის ფაქტიც, რომ ქირალურ ნივთიერებასა და სელექტორს შორის არსებული შეკავშირების სიმტკიცე აპრიორი არ არის პირდაპირ კავშირში ქირალური გამოცნობის უნართან, ზემოთხსენებულ დასკვნებს ფრთხილად უნდა მივუდგეთ. თუმცადა ურთიერთქმედება საანალიზო ქირალურ ნივთიერებასა და სელექტორს შორის არის (ქირალური) გამოცნობის წინაპირობა[32]. ასევე დაიკვირვება გარკვეული კორელაცია ქირალური ნივთიერებების პოლისაქარიდების ფენილკარბამატების მიმართ აფინობასა და მასალის ქირალურული გამოცნობის უნარს შორის[51].

ადრეულ შრომებში ნაჩვენები იქნა, რომ არა მარტო ჩამნაცვლებლის ბუნება, არამედ მისი მდებარეობა ფენილის ნაშთში დიდ გავლენას ახდენს ქირალური გამოცნობის უნარზე. ამავდროულად შემჩნეული იქნა, რომ ცელულოზის ნაწარმებისთვის ორთო მდგომარეობაში ჩამნაცვლებული მასალები ავლენენ ქირალური გამოცნობის ნაკლებ უნარს, ვიდრე მეტა- და პარა-მდგომარეობაში მყოფი ჩამნაცვლებლები [32].

ამილოზას ნაწარმებისთვის მეთილის ან ქლორის ჩამნაცვლებლების შეტანა აუმჯობესებს ქირალური გამოცნობის უნარს [52, 53]. ასევე შემჩნეული იქნა გარკვეული განსხვავება ცელულოზის და ამილოზის ფენილ-კარბამატების ნაწარმებს შორის ჩამნაცვლებლების ბუნების და მდებარეობის თვალსაზრისით. ყველაზე სასარგებლო ქირალური სელექტორები ორივე შემთხვევაში იყო ტრის(3,5 დიმეთილფენილკარბამატი)-ს ნაწარმები. ცელულოზა ტრის(3,5 დიმეთილფენილკარბამატი) დაფენილ იქნა სილიკაგელზე და კომერციალიზებული Chrilacel™ OD სახელწოდებით Diacel-ის მიერ, Lux™ Cellulose-1 სახელწოდებით

Phenomonex-ის მიერ, CelluCoat™ სახელით Eka Nobel-ის მიერ, ასევე სხვა მწარმოებლების მიერაც. სილიკაგელზე დაფენილი ამილოზა ტრის(3,5-დიმეთილფენილკარბამატი) Diacel-ის მიერ გამოშვებულ იქნა Chiralpack™ AD სახელით, ხოლო Eka Nobel-ის მიერ AmyCoat™ სახელით [32].

ცელულოზას და ამილოზას ფენილკარბამატების ნაწარმებში არსებობს შიგამოლეკულური წყალბადური ბმები მეზობელ გლუკოზის ბირთვების მე-2 და მე-3 პოზიციაში ჩანაცვლებულ კარბამატის ნაშთებს და შორის. ამდენად ფენილის ჯგუფში სხვადასხვა ჩამნაცვლებლები გავლენას ახდენენ არა მხოლოდ ქირალურ ნივთიერებასა და სელექტორს შორის ურთიერთქმედებაზე, არამედ ქირალური სელექტორის ხსნადობაზე სხვადასხვა ორგანულ გამხსნელებში, ასევე პოლისაქარიდის მაღალმოწესრიგებულ მეორეულ სტრუქტურაზე. რამდენადაც პოლისაქარიდული ქირალური სელექტორები თავიდანვე გამოყენებული იქნა მესქ-ში სილიკაგელზე მათი ფიზიკური დაფენის შემდეგ, ასევე საჭიროა, რომ მათ გააჩნდეს ხსნადობა ზოგიერთ გამხსნელში რათა მოხდეს მათი გახსნა და დაფენა სილიკაგელზე. მეორე მხრივ, მესქ-ში ქირალურ სელექტორად გამოყენებული ნაწარმები, უხსნადი უნდა იყოს ისეთ გამხსნელებში, რომლებიც გამოიყენება მესქ-ში როგორც მოძრავი ფაზის კომპონენტი ან მოძრავი ფაზა. მაგალითად, ცელულოზა ტრის(3,5-დიქლოროფენილკარბამატი) აჩვენებდა ქირალური გამოცნობის უფრო მაღალ შესაძლებლობას, ვიდრე ცელულოზა ტრის(3,5-დიმეთილფენილკარბამატი) [51], თუმცა მისი ხსნადობა ნ-ჰექსანი/იზოპროპანოლის ფაზებში არ იძლეოდა საშუალებას გამოყენებული ყოფილიყო ნორმალურ-ფაზიან ქრომატოგრაფიაში, იმ დროს როდესაც ცელულოზა ტრის(3,5-დიმეთილფენილკარბამატი) გახდა ყველაზე ხშირად გამოყენებადი ქირალური სელექტორი მესქ-ში.

რამდენადაც ქირალურ საანალიზო ნივთიერებას და პოლიმერულ ქირალურ სელექტორს შორის ურთიერთქმედება საკმაოდ ნელი პროცესი შეიძლება იყოს, დაბალმოლეკულურ ქირალურ სელექტორებთან ურთიერთქმედებასთან შედარებით, ამან შესაძლოა დიდი გავლენა მოახდინოს პიკის გაგანიერებაზე მესქ-ში. ამდენადაც პოლისაქარიდულ ქირალურ სელექტორში მაღალი მოწესრიგებულობის ხარისხის მქონე მეორეული სტრუქტურები და ქირალურ საანალიზო ნივთიერებებთან ურთიერთქმედების ერთგვაროვანი ცენტრების არსებობა ძალზე მნიშვნელოვანი ფაქტორებია. ამასთან, კარბამატის ნაშთს აქვს ორმაგი ფუნქცია პოლისაქარიდების ფენილკარბამატულ ნაწარმებში: (1) კარბამატის ჯგუფები ქირალურ საანალიზო ნივთიერებასთან ურთიერთქმედების ყველაზე სავარაუდო ცენტრებია, (2) მოლეკულათაშორისი წყალბადური ურთიერთქმედებების გავლენით, იგივე კარბამატის ჯგუფები მნიშვნელოვნად განაპირობებენ პოლისაქარიდების ნაწარმების ხსნადობას სხვადასხვა გამხსნელებში, ასევე მათ მოწესრიგებულ სტრუქტურას. რამდენადაც ორივე ეს ფაქტორი მნიშვნელოვანია ქირალური სელექტორისთვის, ქირალურ ნივთიერებებთან ურთიერთქმედებებისთვის თავისუფალი კარბამატის ჯგუფებისა და შიგამოლეკულურ ურთიერთქმედებებში ჩართული კარბამატის ნაშთებს შორის კარგი ბალანსის მქონე მასალები ყველაზე პერსპექტიული ქირალური სელექტორებია [54-57].

კარბამატის მეზობელ ნაშთებს შორის წყალბადური ბმების არსებობა შეიძლება ფენილკარბამატების ინფრაწითელი სპექტრების NH უბანზე დაკვირვებით[55]. ასეთი გაზომვები აჩვენებს რომ, ფენილის ბირთვში ელექტრონ-დონორული ჩამნაცვლებლები ზრდის შიგამოლეკულურ ურთიერთქმედებაში ჩართულ კარბამატის ჯგუფების რიცხვს, ხოლო ელექტრონ-აქცეპტორული ჩამნაცვლებლები ამცირებს შიგამოლეკულურ კარბამატულ ურთიერთქმედებებს, სავარაუდოდ ესაა ცელულოზა ტრის(3,5-დიქლოროფენილკარბამატის) მაღალი ხსნადობის მიზეზი ნ-ჰექსანი/2-პროპანოლის ნარეგებში.

ზემოთ მოხსენიებულ იდეებზე დაყრდნობით ბ. ჭანკვეტაძისა და თანაავტორების მიერ 1990-იანი წლების დასაწყისში სინთეზირებულ იქნა პოლისაქარიდების ფენილკარბამატების ახალი ნაწარმები, რომლებიც ფენილის ბირთვში ერთდროულად შეიცავენ როგორც ელექტრონ-დონორულ, ისე ელექტრონ-აქცეპტორულ ჩამნაცვლებლებს შიგამოლეკულურ კავშირებში ჩართული კარბამატის ჯგუფებისა და საანალიზო ნივთიერებებთან ურთიერთობისთვის თავისუფალი NH ჯგუფების კარგი ბალანსის მისაღწევად [56-57]. ცხრილი 2-ში მოცემულია ამ მიზნებისთვის გამოყენებული ჩამნაცვლებლები:

a: 2-Cl-4-CH ₃	f: 4-Cl-2-CH ₃	j: 4-F-3-CH ₃
b: 5-Cl-2-CH ₃	g: 4-Cl-3-CH ₃	k: 3-F-5-CH ₃
c: 2-Cl-6-CH ₃	h: 5-F-2-CH ₃	l: 3-Cl-5-CH ₃
d: 3-Cl-3-CH ₃	i: 3-F-4-CH ₃	m: 3-Br-5-CH ₃
e: 3-Cl-4-CH ₃	j: 4-F-3-CH ₃	

ცხრილი 2. ჩამნაცვლებლები ცელულოზას და ამილოზას ტრის-ჰალოგენ-მეთილფენილკარბამატების ნაწარმებში [32]

საწყისი კვლევები განხორციელდა ცელულოზას ნაწარმებისთვის. ფურიე-გარდაქმნის ინფრაწითელი სპექტროსკოპია გამოყენებული იქნა ორი ტიპის NH (თავისუფალი და წყალბადური ბმებით შეკავშირებული) ჯგუფების ფარდობის დასადგენად. ეს იძლეოდა საშუალებას შერჩეულიყო ყველაზე პერსპექტიული ქირალური სელექტორები ახალ სინთეზირებულ ნაწარმებს შორის. ამ კვლევებით დადგინდა, რომ ცელულოზა ტრის(4-ქლორო-3-მეთილფენილკარბამატი) შეიცავდა კარგად დაბალანსებულ თავისუფალ და წყალბადურ ბმაში ჩართულ კარბამატის ნაშთებს და მიჩნეული იქნა როგორც ყველაზე პერსპექტიული ქირალური სელექტორი [55]. ელექტრონული წრიული დიქროიზმის სპექტრმაც აჩვენა, რომ ამ ნაწარმს აქვს ყველაზე მოწესრიგებული მეორეული სტრუქტურა, ქირალურ საანალიზო ნივთიერებებთან ურთიერთქმედებისთვის თავისუფალი ერთგვაროვანი ადსორბციული ცენტრებით. სპექტრალურ თვისებებსა და ქრომატოგრაფიულ მახასიათებლებს შორის გამოვლინდა კარგი კორელაცია [55].

მესქ-ში ქირალურ სელექტორად გამოსადეგი პოლისაქარიდების ფენილკარბამატების დაგეგმილი სინთეზის სტრატეგია განხორციელდა ამილოზას ნაწარმების მიმართაც. ცელულოზას ნაწარმების ანალოგიურად, ფურიე-გარდაქმნის ინფრაწითელმა სპექტროსკოპიამ აჩვენა, რომ ამილოზა ტრის (5-ქლორო-2-

მეთილფენილკარბამატი) იქნებოდა ყველაზე პერსპექტიული ქირალური სელექტორი, ამილოზას სხვა ნაწარმებთან შედარებით. საინტერესოა აღინიშნოს, რომ ჩამნაცვლებლების სქემა ცელულოზას და ამილოზას ყველაზე პერსპექტიულ ქირალურ სელექტორებში განსხვავებული აღმოჩნდა. ცელულოზას და ამილოზას ფენილკარბამატებს შესაბამისად გააჩნიათ 3/2 და 4/3 სპირალური კონფორმაცია. სპირალური სტრუქტურის ამ განსხვავებით შესაძლებელია აიხსნას ჩამნაცვლებლის განსხვავებული ეფექტი ქირალურ გამოცნობაზე [46]. კვლავაც, ცელულოზას ნაწარმების მსგავსად, ამილოზას ამ ნაწარმის ელექტრონული წრიული დიქროიზმის სპექტრმაც აჩვენა, რომ მას გააჩნია მაღალმოწესრიგებული მეორეული სტრუქტურა. ამ შემთხვევაშიც სპექტრალურ და ქრომატოგრაფიულ თვისებებს შორის კარგი კორელაცია გამოვლინდა [56].

ზოგიერთი ამ მასალის ადრეულმა სკრინინგმა აჩვენა მათი უკეთესი ქირალური გამოცნობის უნარი არსებულ მასალებთან შედარებით [59]. შესაბამისად, ეს გახდა ზოგიერთი ამ მასალის კომერციალიზაციის საფუძველი ქირალური სვეტების მწარმოებელი რამდენიმე ლიდერი კომპანიის მხრიდან. მაგალითად ცელულოზა ტრის(3-ქლორო-4-მეთილფენილკარბამატი)-ს ბაზაზე მომზადებული ქირალური სტაციონარული ფაზა კომერციალიზებულია სავაჭრო სახელით Lux™ Cellulose-2 (Phenomenex) და Chiralcel™ OZ (Diacel), ხოლო ცელულოზა ტრის(4-ქლორო-3-მეთილფენილკარბამატის) ბაზაზე მომზადებული მასალა Lux™ Cellulose-4 (Phenomenex), ასევე ამილოზა ტრის(5-ქლორო-2-მეთილფენილკარბამატი) ცნობილია სავაჭრო სახელით Lux™ Amylose-2 (Phenomenex) და Chiralpak™ AY (Diacel).

ი. ოკამოტომ და მისმა თანამშრომლებმა გამოიყენეს სხვა მიდგომა ერთი ქირალური სელექტორის შემადგენლობაში სხვადასხვა ბუნების მქონე ჩამნაცვლებლების კომბინაციისათვის [60-62]. პოლისაქარიდების რეგიოსელექტიური გარდაქმნის სტრატეგიის გამოყენებით, ავტორებმა წარმატებით დაასინთეზეს ცელულოზას და ამილოზას ისეთი ნაწარმები, რომლებსაც ჰქონდათ დიმეთილფენილ და დიქლორფენილ კარბამატები გლუკოპირანოზას ბირთვის საპირისპირო (პირველად და მეორეულ) მხარეს [60,61]. სხვადასხვა ფენილკარბამატების კომბინაციებთან ერთად, კვლევითმა ჯგუფმა წარმატებით დაასინთეზა პოლისაქარიდის ნაწარმი, რომელშიც კომბინირებული იყო კარბამატის და ბენზოატის ჯგუფები, ასევე სამი სხვადასხვა ჩამნაცვლებელი ამილოზის გლუკოპირანოზული ბირთვის 2, 3 და 6 მდგომარეობაში [62]. რეგიოსელექტიურად ჩანაცვლებული ნაწარმები ავლენდნენ განსხვავებულ სელექტიურობას, თუმცა ქირალური ნივთიერებათა ვიწრო ჯგუფებისთვის არსებულ მასალებთან შედარებით. ასევე, ეს მასალები საკმაოდ რთულია მისაღებად, ამიტომ მათი კომერციალიზაცია არ მომხდარა [32].

1.5.3 სარჩულის გავლენა პოლისაქარიდულ ქირალურ ფაზებზე

ენანტიოსელექტიურობის განმაპირობებელი ქირალური სელექტორი ნივთიერებათა დამყოფი სისტემის მთავარი კომპონენტია. ქირალურ სელექტორსა და ქირალურ საანალიზო ნივთიერებას შორის ენანტიოსელექტიური ურთიერთქმედების გარეშე ენანტიომერების დაყოფა პრინციპულად შეუძლებელია. მაღალმოლეკულური ქირალური სელექტორის ქიმიური თვისებები გავლენას ახდენს არა მარტო გამოცნობის

თერმოდინამიკურ სელექტიურობაზე, არამედ ასევე მნიშვნელოვნად მოქმედებს მასის გადატანაზე მოძრავ და უძრავ ფაზას შორის. ამასთან ერთად ინერტული სარჩულის ბუნება და მორფოლოგია კრიტიკული ფაქტორებია, რომლებიც გავლენას ახდენენ დაყოფის პროცესის დინამიკასა და კინეტიკაზე, სვეტის გამტარიანობასა და საბოლოო ჯამში, გარჩევადობასა და დაყოფის სიჩქარეზე [32].

პოლისაქარიდული მასალები ენანტიომერების დასაყოფად შესაძლებელია გამოყენებულ იქნან გრანულირებული სახითაც, ანუ ინერტულ სარჩულზე დაფენის გარეშე [63-66]. ასეთ მასალებს, თეორიულად უნდა გააჩნდეთ დაყოფის მაღალი სელექტიურობა და ნიმუშის მეტი ტევადობა, ისეთ ფაზებთან შედარებით სადაც 80% და მეტი ინერტული სარჩულია. ექსპერიმენტებმა აჩვენეს, რომ ასეთი ტიპის მარცვლების დაბალი მექანიკური სიმტკიცე და მასის გადატანის თვისებები გარკვეულ პრობლემებს ქმნის მათი გამოყენების თვალსაზრისით ენანტიომერების პრეპარატული მასშტაბებით დაყოფისთვისაც კი (სადაც, როგორც წესი, აქცენტი კეთდება ნიმუშის ტევადობაზე და დაყოფის ეფექტურობა ძალიან კრიტიკულ ფაქტორს არ წარმოადგენს). 2008 წელს აღწერილი იქნა ჰიბრიდული ორგანულ-არაორგანული მასალები გაუმჯობესებული მექანიკური და წნევამდგრადი თვისებებით [66]. ნაჩვენები იქნა მათი მაღალი ტევადობა სილიკაგელის სარჩულზე დაფენილ იგივე სელექტორთან შედარებით, თუმცა ასეთი ტიპის სტაციონარული ფაზების გამოყენება ჯერ-ჯერობით შესაძლებელია მხოლოდ შეზღუდულ შემთხვევებში [32].

ყველაზე ფართოდ გამოყენებული ქრომატოგრაფიული სარჩული პოლისაქარიდული ქირალური სელექტორებისათვის არის ფართეფორიანი სფერული სილიკაგელი ნაწილაკების ნომინალური ზომით 3-7 მკმ ანალიზური სვეტებისთვის და 5-20 მკმ პრეპარატული სვეტებისთვის. ლიტერატურაში აღწერილია პოლისაქარიდული ქირალური მასალები სხვა სარჩულებით, მაგალითად ცირკონიუმის [67], ტიტანის ოქსიდის, მაგნიუმის ოქსიდის [68], ცირკონირებული და ტიტანირებული სილიკაგელის [69], ასევე ორგანული პოლიმერებით [70], თუმცა ამ მასალებს არ გააჩნიათ სილიკაგელთან შედარებით რაიმე ცალსახა უპირატესობა.

გარდა ნაწილაკური სარჩულისა, შესაძლებელია სილიკაგელზე დაფუძნებული მონოლითური სარჩულების [71-73] და ფორიანი ზედაპირის მქონე გლუვი სილიკაგელის [74] გამოყენება ქირალური სტაციონარული ფაზების მოსამზადებლად. მონოლითური სილიკაგელის მასალებს აქვთ ისეთი უპირატესობები, როგორიცაა დაბალი უკუწნევა, ასევე თეორიული თევშების რიცხვის მოძრავი ფაზის ხაზოვან სიჩქარეზე ნაკლები დამოკიდებულება. ეს კომბინაცია კი სწრაფი დაყოფების საშუალებას გვაძლევს. პოლისაქარიდის ნაწარმის პირველი მონოლითური სვეტი აღწერილი იყო ლიტერატურაში 2003 წელს [71]. ამ სვეტზე, რომელიც მომზადებული იყო ცელულოზა ტრის (3,5 დიმეთილფენილკარბამატის) დაფენით კომერციულად ხელმისაწვდომ აქირალურ მონოლითურ სვეტზე, შესაძლებელი გახდა 2,2,2-ტრიფტორო-1-(9-ანთრილ)ეთანოლის ენანტიომერების ფუძისეული დაყოფა 30 წამში. პოლისაქარიდების დაფენით მომზადებულ მონოლითურ სვეტებს აქვთ ნაკლი, რომელიც მდგომარეობს მათ შედარებით ნაკლებ სტაბილურობაში და შეუთავსებლობაში ზოგიერთ მოძრავ ფაზასთან. მოგვიანებით შესაძლებელი გახდა ცელულოზა (3,-5 დიმეთილფენილკარბამატის) კოვალენტური დამაგრება მონოლითურ

სარჩულზე [72]. დღესდღეობით შესაძლებელია სხვადასხვა ტექნიკის გამოყენება ქირალური სელექტორის მონოლითურ სარჩულზე კოვალენტური იმობილიზაციისთვის. მიუხედავად იმისა, რომ მონოლითურ სვეტებს აქვთ გარკვეული უპირატესობები, დღეს-დღეობით კომერციულიულად ხელმისაწვდომი მონოლითური სარჩულების მორფოლოგია არ არის ბოლომდე ოპტიმიზირებული პოლისაქარიდული ქირალური სვეტების მოსამზადებლად. უფრო მეტიც, არსებული მასალების წინასწარი მომზადება პოლისაქარიდის ნაწარმის დაფენისთვის და მონოლითის მახასიათებლების განსაზღვრა არ არის მარტივი შესასრულებელი. მიუხედავად სირთულეებისა, დღეს-დღეობით შესაძლებელია მონოლითური ქირალური სვეტის მომზადება ენანტიომერების სწრაფად დასაყოფად, თუმცა ამ ტიპის სვეტებს არ აქვთ შთამბეჭდავი თეორიული თეფშების რიცხვი განსაკუთრებით მოძრავი ფაზის მაღალი ნაკადის შემთხვევაში [32].

ზედაპირულად ფორიანი გლუვი სილიკაგელის (Core-Shell, ზფგს) ტიპის დამყოფ მასალებს გააჩნიათ ისეთი უპირატესობები, როგორიცაა დიფუზიური გზის მოკლე სიგრძე და შესაბამისად, სვეტის მაღალი ეფექტურობა, ასევე სვეტის წარმადობის ნაკლები შემცირება მოძრავი ფაზის ხაზოვანი სიჩქარის გაზრდისას, რომელიც ძირითადად განპირობებულია შემცირებული წინააღმდეგობით მასის გადატანისადმი (მცირე C წევრი ვან-დეემტერის განტოლებაში) [74]. ამ ტიპის პირველი პოლისაქარიდული ქირალური სტაციონარული ფაზა აღწერილი იყო ჩვენი ჯგუფის მიერ ცოტა ხნის წინ [75]. სვეტი იძლეოდა თეორიული თეფშების მაღალ რიცხვს, ასევე უფრო სწრაფ დაყოფებს ქირალური ნივთიერებისთვის. ზფგს-ს ტიპის ფაზების უპირატესობა თვალნათლივ ჩანს მოძრავი ფაზების მაღალ სიჩქარეზე. ზფგს-ს ნაწილაკების მოდიფიკაცია ქირალური სელექტორით და მახასიათებლების დადგენა უფრო მარტივია, ვიდრე მონოლითური სვეტების შემთხვევაში.

1.5.4 სტაციონარული ფაზების ოპტიმიზაცია

ქირალური სტაციონარული ფაზის ორი ყველაზე მნიშვნელოვანი კომპონენტის, ქირალური სელექტორის და ინერტული სარჩულის ოპტიმიზაცია სხვადასხვა გზით შეიძლება მოხდეს. საწყისი მეთოდი იყო პოლისაქარიდის ნაწარმების დაფენა სარჩულის ზედაპირზე (ხშირ შემთხვევაში სარჩული ფორიანი სილიკაგელი იყო). ამ მეთოდის მთავარი უპირატესობა ის არის, რომ შესაძლოა პოლისაქარიდის ტრის ნაწარმის გამოყენება, რადგან არ არის საჭირო ქირალურ სელექტორსა და სარჩულს შორის კოვალენტური ურთიერთქმედება. ასევე, დაფენის პროცესი შედარებით მარტივია და არ საჭიროებს ქირალური სელექტორის, ან სარჩულის ზედაპირის წინასწარ აქტივაციას. ასევე ადვილია ქირალური სელექტორის შემცველობის კონტროლი და პოლისაქარიდის ნაწარმები ინარჩუნებენ მოქნილობას. თუმცა, ამ მეთოდით მომზადებული ქირალური სტაციონარული ფაზების მთავარი ნაკლია შეზღუდული სტაბილურობა გამხსნელების მიმართ. ბოლო ათწლეულების განმავლობაში დიდი სამუშაოები იქნა ჩატარებული იმისთვის, რომ შეემუშავებინათ პოლისაქარიდული ქირალური სელექტორის ფოროვან სილიკაგელზე კოვალენტური იმობილიზაციის მეთოდი, რომელიც სვეტის ქრომატოგრაფიულ წარმადობაზე უმნიშვნელო უარყოფით გავლენას მოახდენდა [32].

პოლისაქარიდის ნაწარმების სილიკაგელის ზედაპირზე კოვალენტური იმობილიზაციის პირველი მეთოდი აღწერილი იქნა 1987 წელს [76]. ამ ნაშრომში, პოლისაქარიდის ნაწარმში შესაბამის იზოციანატთან რეაქციაში შეუსვლელი ჰიდროქსილის ჯგუფების მცირე რიცხვი მიბმული იყო 3- ამინოპროპილსილანით მოდიფიცირებულ სილიკაგელზე, დიიზოციანატის როგორც შემკერავი რეაგენტის გამოყენებით. ავტორები თვლიდნენ, რომ დიიზოციანატი მოქმედებდა ერთის მხრივ პოლისაქარიდის თავისუფალ ჰიდროქსილის ჯგუფებთან და მეორეს მხრივ მოდიფიცირებული სილიკაგელის ამინო ჯგუფებთან. მოგვიანებით, კ. მინგულიონმა და მისმა თანამშრომლებმა დაადგინეს, რომ დიიზოციანატის ტიპის დამაკავშირებლებს შეუძლიათ არა მხოლოდ პოლისაქარიდის ნაწარმის წინასწარ გააქტიურებულ სილიკაგელზე კოვალენტური მიბმა, არამედ შეუძლიათ ერთმანეთს დაუკავშირონ ცელულოზას სხვადასხვა ჯაჭვების თავისუფალი ჰიდროქსილის ჯგუფები და ამ გზით მოახდინონ პოლისაქარიდის ნაწარმის იმობილიზაცია სილიკაგელის ზედაპირზე [77].

ი. ოკამოტომ და მისმა თანამშრომლებმა აჩვენეს, რომ დიიზოციანატით პოლისაქარიდების ნაწარმის რეგიოსელექტიური იმობილიზაცია იძლევა გაუმჯობესებულ ქირალური გამოცნობის უნარს არარეგიოსელექტიურად იმობილიზებულ ქირალურ სტაციონალურ ფაზებთან შედარებით [78]. ზემოთ აღნიშნული მეთოდით მომზადებული ქირალური სტაციონარული ფაზები ავლენდნენ ენანტიომერების დაყოფის შედარებით მცირე შესაძლებლობებს, ვიდრე დაფენილი ტიპის ქირალური სტაციონარული ფაზები.

ცელულოზა 4-ვინილბენზოატის იმობილიზაცია მოდიფიცირებულ სილიკაგელზე რადიკალური თანაპოლიმერიზაციის საშუალებით პირველად აღწერილი იყო კიმატას მიერ [79]. ამ მეთოდში, ცელულოზა 4-ვინილბენზოატი დაფენილი იყო აკრილის ჯგუფებით მოდიფიცირებულ სილიკაგელზე. შემდეგ გამხსნელში გაფანტული ნაწილობრივ კარბამოილირებული ცელულოზას ნაწარმით დაფენილი სილიკაგელი გაცხელებული იქნა ბენზოილის პეროქსიდის ინიციატორის თანაობისას. ამ ქირალური სტაციონარული ფაზის გამოყენება შესაძლებელი იყო დიქლორმეთანის, ან ტეტრაჰიდროფურანის შემცველ ელუენტებთან, თუმცა იგი ავლენდა ნაკლებ ენანტიოსელექტიურობას ტრადიციული მეთოდებით დაფენილ ქირალურ სტაციონალურ ფაზებთან შედარებით. რამდენადაც ამ მეთოდით მიღებულ ცელულოზას ნაწარმი პოლიმერულ ჯაჭვში შეიცავს სტირილის ჯგუფების დიდ რიცხვს, მოსალოდნელია მისი მაღალმოწესრიგებული რეგულარული სტრუქტურის დარღვევა იმობილიზაციის პროცესში, რაც დაბალი ენანტიოსელექტიურობის ყველაზე სავარაუდო მიზეზია.

კ. მინგულიონმა და მისმა თანამშრომლებმა შეიმუშავეს პოლისაქარიდების ნაწარმების სილიკაგელის ზედაპირზე კოვალენტური იმობილიზაციის პერსპექტიული მეთოდი [77, 80], რომელიც დაფუძნებულია პოლისაქარიდის სტრუქტურაში ფენილკარბამატის ჯგუფებთან ერთად 10-უნდეკანოილის ჯგუფების შეყვანაზე. კოვალენტური იმობილიზაცია მიიღწევა გაცხელებით α, α' -აზობისისობუტირონიტრილის (აიზნ) თანაობისას გამხსნელის გარეშე. გამომდინარე იქედან, რომ მოხდა დაახლოებით ერთი და იგივე რაოდენობის ქირალური სელექტორის იმობილიზაცია სხვადასხვა ტიპის სილიკაგელის და ალუმინის და

გრაფიტის სარჩულებზე, ავტორები მივიდნენ იმ დასკვნამდე, რომ პოლისაქარიდული ჯაჭვების ურთიერთდაკავშირება (შეკერვა) იყო იმობილიზაციის მთავარი მექანიზმი. ამ მეთოდით მიღებული ქირალური სტაციონარული ფაზები აჩვენებდნენ ძალზე პერსპექტიულ ენანტიომერული დაყოფის შესაძლებლობებს, თუმცა არცერთი მიღებული მასალის კომერციალიზაცია არ მომხდარა.

ი. ზოუმ და მისმა თანამშრომლებმა მოამზადეს კოვალენტურად იმობილიზებული პოლისაქარიდული ნაწარმები ბიფუნქციონალური რეაგენტების, როგორცაა ტოლილენ-2,4-დიიზოოქტანის გამოყენებით [81]. თუმცა, ამ ფაზამაც ნაკლები ენანტიოსელექტიურობა აჩვენა დაფენილი ტიპის ფაზასთან შედარებით, განსაკუთრებით, როდესაც გამოყენებული იყო დამაკავშირებლის დიდი რაოდენობა იმობილიზაციის ხარისხის გასაზრდელად. ამ შემთხვევაში, სავარაუდოდ, პოლისაქარიდის ნაწარმსა და სილიკაგელს შორის დიდი რაოდენობის ბმებმა დაარღვია პოლისაქარიდის მაღალმოწესრიგებული სტრუქტურა.

მაღალმოწერიგებული სტრუქტურის დარღვევის თავიდან ასაცილებლად, ამილოზას ნაწარმები ქიმიურად მიბმული იყო სილიკაგელზე მხოლოდ აღმდგენელი ბოლოებით [82]. მიღებულმა მასალამ აჩვენა დაფენილი ქირალური სტაციონარული ფაზების ენანტიოსელექტიურობის მსგავსი ენანტიოსელექტიურობა, თუმცა ეს მეთოდი გამოსადეგია მხოლოდ ამილოზას ნაწარმებისთვის და მასალის მომზადების პროცესი საკმაოდ რთულია.

ბოლო ათწლეულში განვითარდა და დაიხვეწა ადრე შემოთავაზებული რადიკალური თანაპოლიმერიზაციის მეთოდი და მიღებულ ქირალურ სტაციონარულ ფაზებს აქვთ მსგავსი ენანტიოსელექტიურობა დაფენილი ქირალური სტაციონარული ფაზების ენანტიოსელექტიურობასთან შედარებით [56, 83, 84].

ფრანკოტემ აღწერა პოლისაქარიდების ტრის-ნაწარმების სილიკაგელზე იმობილიზაციის მეთოდი ულტრაიისფერი სინათლის დასხივებით, თუმცა პოლისაქარიდების ნაწარმებში არ იყო დამატებული ფოტოპოლიმერიზებადი ჯგუფები [85]. იმობილიზაციის მექანიზმი ჯერ არ არის გარკვეული. ამ ტიპის ფაზებზე შესაძლებელია რაცემატების ფართო ჯგუფების დაყოფა შესაბამისი მოძრავი ფაზების გამოყენებით. ასევე მოხდა აზიდო ჯგუფის შემცველი ცელულოზას ნაწარმების იმობილიზაცია ამინოპროპილსილანიზებულ სილიკაგელზე შტაუდინგერის რეაქციით, თუმცა მიღებული ფაზების ქრომატოგრაფიული წარმადობა არ იყო მაღალი [86].

ბ. ჭანკვეტაძემ შემოგვთავაზა ცელულოზას ნაწარმების იმობილიზაცია, რომლებსაც გააჩნდათ თავისუფალი ჰიდროქსილების მცირე ჯგუფი Υ-გლიციდოქსიპროპილსილანით მოდიფიცირებულ სილიკაგელზე [72]. ამ მეთოდის უპირატესობა მდგომარეობს იმაში, რომ შესაძლებელია მეტად მოქნილი კოვალენტურად იმობილიზებული ფაზების მომზადება, ასევე რეაქციის მოსახერხებელი პირობები: არ არის საჭირო გაცხელება, ან მშრალი გამხსნელების გამოყენება.

ი. ზოუსა და მისი თანამშრომლების მიერ შემოთავაზებული მეთოდის შემდგომი განვითარებით, ი. ოკამოტომ და მისმა თანამშრომლებმა შეიმუშავეს იმობილიზაციის ეფექტური მეთოდი 1-2% ტრიეთილსილილის ჯგუფის შემცველი პოლისაქარიდების

ნაწარმის მოლეკულათაშორისი პოლიკონდენსაციის გზით მისაღებად [88,89]. ამ მეთოდის ნათელი უპირატესობაა ის, რომ სავარაუდოდ შენარჩუნებული იქნება პოლისაქარიდის მაღალმოწესრიგებული სტრუქტურა, რადგანაც იმობილიზაცია ხდება მცირე რაოდენობის ტრიეთოქსისილილის ჯგუფების ხარჯზე, შესაბამისად მცირეა კავშირების რაოდენობა. შესაბამისად მიღებულმა ფაზამ აჩვენა მაღალი ენანტიოსელექტიურობა, რომელიც შეედრებოდა ტრადიციულად მომზადებულ დაფენილ ქირალურ სტაციონალურ ფაზას. ავტორების მიხედვით, ეს მეთოდი გვთავაზობს პროცესის სიმარტივეს, იმობილიზაციის მაღალ ეფექტურობას, ასევე მიღებული ქირალური სტაციონარული ფაზის მაღალ ენანტიოსელექტიურობას, ისევე როგორც გამოყენების შესაძლებლობას სხვადასხვა პოლისაქარიდების ნაწარმებისათვის.

დღესდღეობით კომერციულად ხელმისაწვდომია სხვადასხვა ქირალური სტაციონარული ფაზები გამხსნელებთან უნივერსალური თავსებადობით: Daicel-ის პროდუქტები Chiralpak™ IA, Chiralpak™ IB, Chiralpak™ IC და Chiralpak™ ID, რომლებიც შესაბამისად შეიცავენ ქირალურ სელექტორებს ამილოზა (3,5-დიმეთილფენილკარბამატი); ცელულოზა (3,5-დიმეთილფენილკარბამატი); ცელულოზა (3,5-დიმეთილფენილკარბამატი) და ცელულოზა (3,5-დიქლოროფენილკარბამატი). ეს იმობილიზირებული ქირალური სტაციონარული ფაზები არიან მდგრადი, თავსებადი გამხსნელების მრავალნაირ კომპოზიციასთან და გამოსადეგები მათი განსხვავებული ენანტიოსელექტიურობის მხრივ, ენანტიომერების ელუირების თანმიმდევრობას შებრუნების მხრივ და სვეტებთან თავსებად გამხსნელებში საანალიზო ქირალური ნივთიერებების კარგი ხსნადობის მხრივ [32]. ეს არის მნიშვნელოვანი უპირატესობების ანალიზური და განსაკუთრებით პრეპარატიული მასშტაბებით გამოყენებისთვის. მიუხედავად იმისა, რომ ამ ფაზების ენანტიოსელექტიურობა მაღალია, არის რაცემული ნივთიერებები, რომლებიც იყოფა დაფენილ ქირალურ სტაციონალურ ფაზებზე და არ იყოფა „იგივე“ ქირალური სელექტორით მომზადებულ კოვალენტურად იმობილიზებულ ფაზებზე და პირიქით [90]. უფრო მეტიც, ნაჩვენებია ენანტიომერების ელუირების თანმიმდევრობას ცვლილება დაფენილ და კოვალენტურად იმობილიზებულ ცელულოზის და ამილოზის (3,5-დიმეთილფენილკარბამატებს) შორის [91]. დაფენილი და კოვალენტურად ბმული პოლისაქარიდის ნაწარმების განსხვავებული ქირალური გამოცნობის უნარი უნდა უკავშირდებოდეს მათ განსხვავებულ მოქნილობას, თუმცა ამ განსხვავების ასევე სავარაუდო მიზეზია ამ ორი ტიპის ქირალური სტაციონარული ფაზის განსხვავებული ქიმიური შედგენილობა.

1.5.5 მოძრავი ფაზების ოპტიმიზაცია

სილიკაგელზე დაფენილი პოლისაქარიდის ნაწარმები თავდაპირველად რეკომენდირებული იყო ნორმალურ ფაზიანი ელუენტებითვის [46], თუმცა ადრეულ ნაშრომებშივე გ. ჰესემ და რ. ჰეგელმა ცელულოზას ტრიაცეტატისთვის ელუენტად გამოიყენეს სუფთა ეთანოლი [39]. უფრო მეტიც, პოლისაქარიდების ფენილკარბამატების შესახებ გამოქვეყნებულ პირველ შრომაში ი. ოკამოტომ ახსენა წყლიანი აცეტონიტრილის ფაზის გამოყენების მაგალითები, თუმცა ის ნაკლებად

პერსპექტიულად ჩათვალია [43]. შებრუნებულ მოძრავ ფაზასთან პოლისაქარიდების ნაწარმების თავსებადობა მიგნებული იყო შემდგომ[92;93]. დღესდღეობით, პოლისაქარიდული ქირალური ფაზების გამოყენება შეიძლება ნორმალურ-ფაზიან, შებრუნებულ-ფაზიან პოლარულ-ორგანულ და ზეკრიტიკული სითხის მოძრავ ფაზებთან. თითოეულ ამ რეჟიმს აქვს თავისი უპირატესობა და გამოყენების არეალი, მაგალითად ნორმალურ-ფაზიანი ქრომატოგრაფია უკეთ ერგება ფარმაცევტულ ანალიზებს და პრეპარატულ დაყოფებს, შებრუნებულ-ფაზიან ქრომატოგრაფიას მეტი გამოყენება აქვს ბიოანალიზში და მას-სპექტრომეტრულ შეუღლებულ ქრომატოგრაფიულ დაყოფებში, პოლარულ-ორგანულ ფაზიანი დაყოფები კი მიმზიდველია სწრაფი ანალიზებისთვის და პრეპარატული დაყოფებისთვის. ზეკრიტიკული წნევების მქონე ფაზების გამოყენებას აქვს უპირატესობა როგორც სწრაფ ანალიზებში, ასევე პრეპარატული მასშტაბით დაყოფებში, თან ეკოლოგიურად სუფთაა და შედარებით იაფი. თავსებადობა ყველა ტიპის მოძრავ ფაზებთან პოლისაქარიდული ქირალური სვეტების დიდი უპირატესობაა და ეს თვისება მათ აქცევს ენანტიომერული ნარევების დაყოფის შედარებით უნივერსალურ საშუალებად. ზოგიერთი მწარმოებელი გვთავაზობს ისეთი ტიპის უნივერსალურ სვეტებს, რომლებიც შესაბამისი გაწონასწორების შემდეგ, შეიძლება გამოყენებულ იქნას ყველა ხსენებული ტიპის ფაზასთან. ზოგი კომპანია კი გვთავაზობს სვეტების სპეციალურ მოდელებს, რომლებიც თავსებადია მხოლოდ ერთ კონკრეტულ ქრომატოგრაფიულ მოძრავ ფაზასთან. ორივე ამ მიდგომას აქვს თავისი ნაკლი და უპირატესობა [32].

მოძრავი ფაზის სწორად შერჩევის მნიშვნელობა ჩანს შემდეგი მაგალითიდან: 1984 წელს სინთეზირებული იქნა ცელულოზა ტრის(3,5-დიქლოროფენილკარბამატი) და ამ მასალის მაღალი ენანტიოსელექტიურობა გამოჩნდა პირველივე სკრინინგის ექსპერიმენტებში [51], თუმცა ამ მასალის საფუძველზე დამზადებული ქირალური სვეტების კომერციალიზაცია დიდი ხნის განმავლობაში ვერ მოხერხდა, ცელულოზას ნაწარმის ნ-ჰექსანი - იზოპროპანოლის ნარევი ხსნადობის გამო. ეს ფაზა კი მიჩნეული იყო ძირითად მოძრავ ფაზად პოლისაქარიდული ქირალური სვეტებისათვის [46]. მოგვიანებით, შებრუნებულ-ფაზიანი ელუენტების [94] და პოლარულ-ორგანული ელუენტების შესწავლისას [93;95;96] გამოჩნდა ამ მასალის მიერ ენანტიომერების გამოცნობის მაღალი უნარი. შესაბამისად, ცელულოზა ტრის(3,5-დიქლოროფენილკარბამატი)-ს საფუძველზე მომზადებული სვეტის კომერციალიზაცია მოხდა 2005 წელს Sepapak™-5 სახელით (Sepaserve, გერმანია). ამ ქირალურ სტაციონალურ ფაზაზე ზოგიერთი ქირალური ნივთიერებისათვის ძალზე მაღალი ენანტიოსელექტიურობა დაფიქსირდა [96]. მოგვიანებით კომპანია Diacel-მა ამ სვეტის კოვალენტურად იმობილიზირებული ანალოგი გამოუშვა Chiralpack™ IC სახელწოდებით. თუმცა ამ ორი სვეტის პირდაპირი შედარება მართებული არ არის, რადგან კოვალენტური იმობილიზაციის დროს გარკვეულწილად იცვლება პოლისაქარიდის ნაწარმის ქიმიური შემადგენლობა და სტრუქტურა. მრავალ პუბლიკაციაშია ნაჩვენები შებრუნებული ფაზის [92,97] და პოლარულ-ორგანული ფაზის [98-101] წარმატებული გამოყენება ენანტიომერების დასაყოფად პოლისაქარიდულ ქირალურ სვეტებზე. ქირალური სვეტის უნარი, შეძლოს ენანტიომერების დაყოფა როგორც წყლიან, ასევე უწყლო ელუენტების გამოყენებით,

განსაკუთრებით მნიშვნელოვანია პროცესების პირდაპირი მონიტორინგისთვის ქიმიურ და ფარმაცევტულ მრეწველობაში [102].

როგორც ზემოთ იყო აღნიშნული, თავდაპირველად პოლისაქარიდული სვეტების გამოყენება გათვალისწინებული იყო ნორმალურ-ფაზიან (უწყლო) ელუენტებთან კომბინაციაში. ამის მთავარი მიზეზი იყო ის, რომ წყალბადური ბმების წარმოქმნა საანალიზო ნივთიერებასა და ქირალურ სელექტორს შორის განიხილებოდა, როგორც ენანტიომერების დაყოფის ძირითადი წინაპირობა, ხოლო წყლიან ფაზაში ასეთი ურთიერთქმედებების ალბათობა დაბალი უნდა ყოფილიყო. დღესდღეობით გამოქვეყნებულია ასობით პუბლიკაცია ენანტიომერების დაყოფაზე ნორმალური ფაზის გამოყენებით, ასევე მრავლადაა მიმოხილვითი სტატიები [46, 58, 103-105], კომპანიების სახელმძღვანელოები და მონაცემთა ბაზები, რომლებიც დეტალურად აღწერენ ენანტიომერების დაყოფის მაგალითებს პოლისაქარიდულ ქირალურ სვეტებზე ნორმალურ ფაზიანი გამხსნელების გამოყენებით.

ნორმალურ ფაზების ძირითად კომპონენტად ხშირად გამოიყენება არაპოლარული ორგანული გამხსნელები, როგორიც არის ნ-ჰექსანი, ნ-ჰეპტანი, ასევე ხშირად მათი მოდიფიცირება ხდება დაბალმოლეკულური სპირტების დამატებით, როგორიც არის იზოპროპანოლი, პროპანოლი, ეთანოლი, მეთანოლი, ზოგჯერ ბუტანოლიც. კოვალენტურად იმოხილიზებულ სელექტორებთან კომბინაციაში იყენებენ ნორმალურ ფაზებს, რომლებიც შეიცავენ ტეტრაჰიდროფურანს, ჰალოგენშემცველ ნახშირწყალბადებს, აცეტონს, დიეთილის ეთერს და სხვებს. ფუძე ბუნების, მჟავა ბუნების ან ერთდროულად ორივე ტიპის მცირე რაოდენობით დანამატებს იყენებენ იონური ნივთიერებების ენანტიომერების დაყოფის გასაუმჯობესებლად. ზოგ შემთხვევაში ამ დანამატებს ძლიერი გავლენა აქვთ ენანტიოსელექტიურობაზე.

1.5.6. ქირალური დაყოფის მექანიზმები

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

ენანტიომერების ელუირების თანმიმდევრობას ცვლილება პოლისაქარიდულ სვეტებზე პირველად დაფიქსირდა 1989 წელს რ. ვაინერის და მისი თანამშრომლების მიერ მოძრავ ფაზაში სპირტული მოდიფიკატორის შემცველობის ცვლილებით [106]. ავტორებმა ეს დაკვირვება ახსნეს იმ ჰიპოთეზით, რომ არსებობს მინიმუმ ორი ტიპის ადსორბციული ურთიერთქმედებისცენტრი ქირალურ ფაზასა და ქირალურ საანალიზო ნივთიერებას შორის. ამ ცენტრებზე კი სხვადასხვა მოლეკულური მასის და მოლეკულის ფორმის მქონე სპირტული ტიპის მოდიფიკატორებს სხვადასხვანაირი გავლენა უნდა მოეხდინა. მსგავსი ეფექტი დაფიქსირდა ცელულოზას ეთერულ ქირალურ სტაციონალურ ფაზაზე და ავტორები შეეცადნენ ენანტიომერების ელუირების

თანმიმდევრობას ცვლილების მექანიზმის ახსნას ბირთვული ოვერჰაუზერის ეფექტით ბირთვულ მაგნიტურ რეზონანსში და წრიული დიქროიზმის მეთოდების გამოყენებით [107]. ისინი მივიდნენ იმ დასკვნამდე, რომ საანალიზო ნივთიერების, ან ქირალური სელექტორის კონფორმაციები სხვადასხვა სპირტული მოდიფიკატორების ზეგავლენით არ იცვლება, დანამატები გავლენას ახდენენ ენანტიოსელექტიური ურთიერთქმედების ცენტრების ხელმისაწვდომობაზე. სპირტული დანამატების გავლენით ელუირების თანმიმდევრობას ცვლილების მომდევნო მაგალითი დაფიქსირდა ომეპრაზოლის ენანტიომერებისთვის კ. ბალმერის მიერ [108]. ავტორები ამ შემთხვევაშიც შეეცადნენ მექანიზმის ახსნას და წამოაყენეს ჰიპოთეზა, რომ სპირტების გავლენით ქირალური სელექტორი განიცდის შექცევად კონფორმაციულ ცვლილებას, რაც ენანტიომერების რიგის ცვლილების საფუძველია. ო. გილენჰაალმა და მ. სტეფანსონმა გამოაქვეყნეს ნაშრომი, სადაც აღწერილი იყო ენანტიომერების ელუირების თანმიმდევრობას ცვლილება იბუპროფენისა და ნუშის მჟავას ენანტიომერებისთვის ნორმალურ ფაზაში სპირტული დანამატის გავლენით [109]. ტემპერატურის გავლენაზე ჩატარებული კვლევების მიხედვით, ავტორები მივიდნენ იმ დასკვნამდე, რომ გარკვეული პირობების გავლენით, ქირალური სელექტორის თვისებები შესაძლოა ისე შეიცვალოს, რომ ქრომატოგრაფიული შეკავების დრო და სელექტიურობა ხდება არაპროგნოზირებადი. იბუპროფენის შემთხვევაში ამ ფაქტორების არაწრფივი დამოკიდებულება ტემპერატურაზე მიუთითებს იმაზე, რომ შესაძლებელია ადგილი ჰქონდეს კონფორმაციულ ცვლილებებს. ხოლო მიუხედავად ნუშის მჟავას შემთხვევაში გამოვლენილი ხაზოვანი დამოკიდებულებისა, ორ ენანტიომერს ადსორბციულ ცენტრებთან ურთიერთმოქმედების განსხვავებული გიბსის თავისუფალი ენერგიები გააჩნიათ. აქედან გამომდინარე, მოძრავი ფაზის შემადგენლობის, ან ტემპერატურის მცირე ცვლილებამ შესაძლოა გამოიწვიოს ერთი, ან რამდენიმე ბმის სელექტიური ბლოკირება ქირალურ სელექტორის კონფორმაციული ცვლილების გარეშე. ვ. ვენგმა და მისმა თანამშრომლებმა დააფიქსირეს ენანტიომერების ელუირების თანმიმდევრობას ცვლილება სპირტის შემცველობაზე დამოკიდებულებით 1,1'-ბინაფტოლისთვის Chiralpak AD სვეტზე [110] და ნაპროქსენისთვის მის იმობილიზებულ ანალოგზე [81].

ზემოთხსენებული ეფექტი ასევე შემჩნეულ იქნა შევსებული სვეტზე ზეკრიტიკული სითხის ქრომატოგრაფიაში Chiralpak AD-ს გამოყენებით. არილპროპიონის მჟავას ზოგიერთი ქირალური ნაწარმის ენანტიომერების ელუირების თანმიმდევრობა შეიცვალა, როდესაც ნახშირორჟანგის ფაზაში პოლარული სპირტული დანამატი შეიცვალა. კერძოდ მეთანოლიდან იზოპროპანოლზე გადასვლისას, როდესაც სვეტის ტემპერატურა იყო 30 °C [112].

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

ენანტიომერების ელუირების თანმიმდევრობაზე გავლენას ახდენს არა მხოლოდ სპირტული მოდიფიკატორი, არამედ მისი რაოდენობა მოძრავ ფაზაში [111, 113-115]. რამდენადაც ეს არის უფრო ნატიფი ცვლილება (რაოდენობრივი და არა თვისობრივი), ამ ფენომენის მექანიზმის ახსნა ძალზე მნიშვნელოვანია ენანტიოსელექტიური მოლეკულათაშორისი ურთიერთქმედებების ნატიფი მექანიზმების ასახსნელად. ამ

ტიპის ცვლილების პირველი მაგალითი დააფიქსირა კ. ბალმერმა 1992 წელს [113]. თუმცა უნდა აღინიშნოს, რომ მოძრავი ფაზა შეიცავდა მცირე რაოდენობით წყალს, ხოლო იგივე ეფექტი უწყლო ელუენტებით აღარ გამოვლინდა. ავტორებმა ეს ეფექტი, მსგავსად ადრე გამოქვეყნებული შრომებისა [106; 116], ახსნეს იმით, რომ ქირალური სელექტორი შეიცავს მინიმუმ ორი ტიპის ურთიერთქმედების ცენტრებს და ერთ-ერთ მათგანზე წყალი ძლიერ გავლენას ახდენს. იგივე კვლევაში, ავტორებმა ასევე აჩვენეს ენანტიომერების ელუირების თანმიმდევრობას ცვლილება ტემპერატურის გავლენით, თუმცა ამ შემთხვევაშიც მოძრავ ფაზაში იყო წლის მცირე შემცველობა [103]. ეს ჰიპოთეზა ძალზე ელევანტურია, თუმცა არ ხსნის იმ ფაქტს, თუ რატომ აქვს ადგილი ამ ფენომენს მხოლოდ კონკრეტული ენანტიომერების შემთხვევაში.

ნ. გრინბერგი და მისი თანამშრომლები სწავლობდნენ ორი არომატული α -ჩანაცვლებული ალანინის რთულ-ეთერული ნაერთის ენანტიომერების დაყოფას ორ პოლისაქარიდულ ქირალურ სტაციონალურ ფაზაზე. მათ შეამჩნიეს ელუირების თანმიმდევრობას ცვლილება ერთ-ერთი ნივთიერების ენანტიომერებისთვის მოძრავ ფაზაში ეთანოლის, ან ნ-პროპანოლის კონცენტრაციის გავლენით, თუმცა მხოლოდ ამილოზაზე დაფუძნებული ქირალური სტაციონარული ფაზის შემთხვევაში [114]. შედეგების ასახსნელად, ავტორებმა გამოიყენეს ვიბრაციული წრიული დიქროიზმი და სიმკვრივის ფუნქციონალური თეორიის გათვლები. ამ კვლევის ძირითადი დასკვნა იყო ის, რომ ფაზაში სპირტული მოდიფიკატორის შემცველობა გავლენას ახდენს ქირალური სელექტორის კონფორმაციაზე, რადგან წყვეტს შიგამოლეკულური წყალბადური ბმების ნაწილს. ქირალური სელექტორის ამგვარი კონფორმაციული ცვლილებები მიჩნეული იყო ზოგიერთი ქირალური საანალიზო ნივთიერების ენანტიომერების ელუირების თანმიმდევრობას ცვლილების მიზეზად. ეს მაგალითი მნიშვნელოვანია არა მხოლოდ მექანიზმის ახსნის მხრივ, არამედ ანალიზური მეთოდების შემუშავების მხრივაც.

ლიტერატურაში აღწერილია სულ რამდენიმე შემთხვევა მოძრავ ფაზაში მცირე რაოდენობის დანამატების ძლიერ გავლენის შესახებ პოლისაქარიდულ ქირალურ ფაზების ენანტიოსელექტიურობაზე, თუმცა ჯერ კიდევ ადრეულ კვლევებში კ. ბალმერმა შენიშნა ენანტიომერების ელუირების თანმიმდევრობას ცვლილება ქირალური ამინო-სპირტის დაყოფისას Chiralpak AD სვეტზე ალკანი/ალკოჰოლის ფაზაში წყლის შემცველობაზე დამოკიდებულებით [108]. ცოტა ხნის წინ, აღმოჩენილი იქნა ქირალური დიჰიდროპირიდინის ნაწარმის - ამლოდიპინის ენანტიომერების ელუირების თანმიმდევრობას ცვლილება Lux Cellulose-2 და Lux Cellulos-4 სვეტებზე ჭიანჭველამჟავას კონცენტრაციაზე დამოკიდებულებით აცეტონიტრილ-დიეთილამინის ფაზაში ჭიანჭველამჟავას კონცენტრაციის მცირე დიაპაზონში [100]. შემდგომში, მსგავსი ეფექტი იგივე ნივთიერებისთვის იგივე სვეტებზე დაფიქსირდა ნორმალურ და შებრუნებულფაზიან ელუენტებში [117]. ჭიანჭველამჟავას კონცენტრაციაზე ელუირების თანმიმდევრობას ცვლილება ასევე დაფიქსირდა FMOC-იზოლეიცინისთვის Lux Cellulose-1 სვეტზე [115]. ამ დაყოფების მექანიზმების გასარკვევად საჭიროა კვლევები სხვადასხვა ინსტრუმენტული მეთოდების გამოყენებით.

რამდენადაც პოლისაქარიდების ნაწარმები (განსაკუთრებით კი ისინი, რომლებიც შეიცავს არომატულ ჩამნაცვლებებს) შეიცავს დიდ ჰიდროფობურ არეებს, თეორიულად ამ მასალებსა და ქირალურ საანალიზო ნივთიერებებს შორის წყალბადური ბმის წარმოქმნა შესაძლებელია წყლის არეშიც. იმ ფაქტის მიუხედავად, მონაწილეობს თუ არა წყალბადური ურთიერთქმედებები ამ პროცესში, პოლისაქარიდული ქირალური სტაციონარული ფაზები წყლიან მოძრავ ფაზებთან კომბინაციაში ძალზე სასარგებლოა ენანტიომერების დასაყოფად [92,97, 118-120]. როგორც ზემოთ იქნა აღნიშნული, შებრუნებული მოძრავი ფაზა განსაკუთრებით საინტერესოა ბიოანალიზური და სითხურ ქრომატოგრაფიულ-მას სპექტრომეტრული კვლევებისათვის. საჭიროა აღინიშნოს, რომ კარბამატის ან რთულეთერული ნაშთების კომბინაციით და ჰიდროფობური ურთიერთქმედების არეების გამო, პოლისაქარიდული ქირალური სელექტორები ხშირად არ ავლენენ ტიპიურ შებრუნებულ-ფაზიან მესქეცევას. ეს ნაჩვენები იყო ქირალური სულფოქიდების ენანტიომერების დაყოფებისათვის [121] და დადასტურებული იყო ამლოდიპინის ენანტიომერების კვლევისას [107]. თუმცა, საანალიზო ნივთიერებისა და დაყოფის პირობების მიხედვით, პოლისაქარიდული ქირალური სტაციონარული ფაზა შეიძლება მოიქცეს როგორც შებრუნებული ფაზის მსგავსად, ან ჰიდროფილური ურთიერთქმედების ქრომატოგრაფიის მასალის მსგავსად. ზემოთხსენებული ენანტიომერების ელუირების თანმიმდევრობას ცვლილება ჭიანჭველმჟავას კონცენტრაციის გავლენით შემჩნეულია წყალი-ორგანული გამსხნელების ელუენტების შემთხვევაშიც, თუმცა წყლის შემცველობის გარკვეულ მნიშვნელობამდე [107].

სუფთა ეთანოლი, როგორც მოძრავი ფაზა, პოლისაქარიდულ ქირალურ სელექტორთან კომბინაციაში გამოყენებულ იქნა ჯერ კიდევ 1973 წელს ჰესეს და ჰაგელის მიერ[39], თუმცა ამ ქირალური სელექტორების კომერციალიზაციის შემდეგ, სუფთა პოლარულ-ორგანული გამსხნელები, როგორებიცაა მეთანოლი, ეთანოლი, იზოპროპანოლი, აცეტონიტრილი, მიჩნეული იქნა პოტენციურად საშიშ გამსხნელებად სვეტებისთვის და რეკომენდირებული არ იყო მათი გამოყენება ენანტიომერების დასაყოფად პოლისაქარიდულ სვეტებზე. 2000 წლამდე პოლარულ-ორგანული გამსხნელების გამოყენების შესახებ პოლისაქარიდულ ქირალურ სელექტორებთან კომბინაციაში გამოქვეყნებული იყო მხოლოდ რამდენიმე ნაშრომში[122-125], თუმცა 2000 წელს ნაჩვენები იქნა ამ კომბინაციის ეფექტურობა ენანტიომერულ ნარევთა ფართო ჯგუფის დასაყოფად [95, 96] და ამის შემდეგ ეს კომბინაცია პოპულარული გახდა პოლისაქარიდულ ქირალურ სელექტორებზე ენანტიომერების დაყოფისთვის. ამ მოძრავი ფაზების უპირატესობაა ანალიზის მცირე დრო, პიკების უკეთესი ფორმა და სიმაღლე, ასევე საანალიზო ნივთიერებების უმრავლესობის კარგი ხსნადობა ამ გამსხნელებში. რაღაც პერიოდის განმავლობაში მიიჩნეოდა, რომ პოლარულ-ორგანული ფაზების გამოყენებას ენანტიომერების დასაყოფად, ნაკლები წარმატება აქვს ვიდრე პირდაპირ და შებრუნებულ ფაზებს [126], თუმცა ამ ბოლო წლებში გამოქვეყნებულ შრომებში ნაჩვენები იქნა ენანტიომერთა დაყოფის ბევრი მაგალითი პოლარულ-ორგანული მოძრავი ფაზების გამოყენებით [98-101, 127], რამაც ბიძგი მისცა შემდგომ კვლევებს ამ სფეროში [127-131]. მოძრავი ფაზების მოდიფიკატორები და მათი კონცენტრაცია ასევე მნიშვნელოვან როლს ასრულებს ამ ტიპის დაყოფებში. მსგავსად ნორმალურ ფაზაში სპირტული მოდიფიკატორების გავლენით ენანტიომერების

ელუირების თანმიმდევრობას ცვლილებისა, პოლარულ-ორგანულ გამხსნელებში ქირალური სამკურნალწამლო საშუალება როპივაკაინის დაყოფისას პოლისაქარიდულ ქირალურ სელექტორებზე მჟავა დანამატის გავლენით ადგილი ქონდა ელუირების თანმიმდევრობას ცვლილებას [129]. უფრო მეტიც, ამლოდიპინის ენანტიომერების ელუირების თანმიმდევრობას ცვლილება დაფიქსირდა მჟავა ბუნების დანამატის-ჭიანჭველმჟავას კონცენტრაციის გავლენით. ეს ფენომენი გამოყენებულ იქნა ამლოდიპინის ენანტიომერების სასურველი რიგით ელუირების მიღწევის მიზნით S-ამლოდიპინში R-ამლოდიპინის მინარევის რაოდენობრივი განსაზღვრის მიზნით [131].

როგორც წესი, ზეკრიტიკული სითხის ქრომატოგრაფია მიიჩნევა ცალკე მეთოდად, თუმცა რამდენადაც ამ მეთოდში ნიმუშს სვეტში გადაადგილების და დაყოფის მექანიზმები მსგავსია მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფიისა, ზეკრიტიკული წნევის სითხე შესაძლოა მივიჩნიოთ როგორც კიდევ ერთი ტიპის მოძრავი ფაზა. გარდა ამისა, ზსქ-ს და მესქ-ს ინსტრუმენტები ძალზე მსგავსია და ზოგიერთი მწარმოებლის მესქ ხელსაწყო ადვილად შესაძლოა გარდაიქმნას ზსქ ხელსაწყოდ მხოლოდ ერთი მოდულის დამატებით [32]. გაზური და სითხურ ქრომატოგრაფიის საზღვარზე აღმოცენებული ამ მეთოდის მთავარი უპირატესობა არის საანალიზო ნივთიერებების უფრო მაღალი დიფუზიის სიჩქარე ზეკრიტიკულ სითხეში, ვიდრე „ნორმალურ“ სითხეში და შესაბამისად, დაყოფის მაღალი ეფექტურობა, სწრაფი დაყოფები და ეკოლოგიურად სუფთა და ამავედროულად იაფი ნახშირორჟანგის, როგორც მოძრავი ფაზის ადვილი მოშორება. ქირალური ზსქ სწრაფად იმკვიდრებს ადგილს, განსაკუთრებით როგორც „მწვანე“ ტექნოლოგია პრეპარატული მასშტაბის გამოყენებისას [132-137]. რამდენადაც გათხევადებული ნახშირორჟანგის მაელუირებელი ძალა ხშირად საკმარისი არ არის საანალიზო ნივთიერებების სვეტებიდან ელუირებისთვის, დანამატის სახით გამოიყენება პოლარული მოდიფიკატორები, როგორებიცაა არის მეთანოლი, ეთანოლი, და აცეტონიტრილი. ამ შემთხვევაში ხშირად საჭიროა კრიტიკულიდან გადახრილ პირობებში ოპერირება, თუმცა ამ დროსაც ნათელია ზსქ-ს ზემოთ ხსენებული უპირატესობები [133]. გ.გუიოშონმა ბოლოს გამოქვეყნებულ ნაშრომთა სერიაში განიხილა წნევის და სიმკვრივის გავლენა ქვეკრიტიკულ და ზეკრიტიკულ პირობებში [134-138]. საუკეთესო შედეგების მისაღწევად, უმჯობესია ოპერირება ნახშირორჟანგის დაბალი კუმშვადობის პირობებში. მაღალი კუმშვადობის შემთხვევაში, სიმკვრივის მაღალი გრადიენტი უარყოფითად მოქმედებს გამხსნელის შემადგენლობაზე სვეტის გასწვრივ და შესაბამისად ამცირებს სვეტის ეფექტურობას [136]. ფუძე ბუნების რაცემატებისთვის ამატებენ ფუძე დანამატს, მაგალითად დიეთილამინს [139]. მ. ვენტურამ აღწერა ამიაკის, როგორც დანამატის გამოყენება ფუძე ბუნების რაცემატების დაყოფისათვის [140]. კ. ჰამანმა აღწერა ამონიუმის ჰიდროქსიდის დანამატის გამოყენება იგივე ტიპის დაყოფებისთვის [141]. გამოქვეყნებულია ასევე ნაშრომი, სადაც აღწერილია მჟავა ბუნების დანამატით ფუძე ბუნების რაცემატების დაყოფების გაუმჯობესება საანალიზო ნივთიერებასა და დანამატს შორის მარილების წარმოქმნის გამო [142]. მჟავა ბუნების რაცემატებისთვის იყენებენ მცირე რაოდენობით მჟავა ბუნების დანამატებს როგორებიცაა ძმარმჟავა, ჭიანჭველმჟავა და ტრიფტორმმარმჟავა. შემჩნეულია, რომ ხშირ შემთხვევაში არაა საჭირო მჟავა ბუნების დანამატების გამოყენება მჟაური რაცემატების დასაყოფად, რადგან თვითონ ნახშირორჟანგს აქვს „მჟავა“ ბუნება [139]. ეს

მნიშვნელოვანი უპირატესობაა მესქ-სთან შედარებით მჟავა ბუნების რაცემატების პრეპარატული მასშტაბით დაყოფისას. ცოტა ხნის წინ ი. ვანდერ ჰეიდენმა და მისმა თანამშრომლებმა აჩვენეს ენანტიომერთა დიდი ჯგუფის წარმატებული დაყოფა ზსქ-ის მეთოდით იზოპროპილამინის და ტრიფტორმმარმჟავის დანამატით მეთანოლშემცველ ზსქ ფაზებში [143].

ვ. დავანკოვმა წამოაყენა ჰიპოთეზა რომ ქირალურ სელექტორს ენანტიომერის გამოსაცნობად ესაჭიროება მინიმუმ სამი კონფიგურაციაზე დამოკიდებული წერტილი [144], თუმცა ეს ჰიპოთეზა ვერ ხსნის ენანტიომერების დაყოფის ბევრ მაგალითს[145].

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

2. ექსპერიმენტული ნაწილი

2.1 გამოყენებული აპარატურა

სითხურ-ქრომატოგრაფიული კვლევებისთვის გამოყენებული იქნა Agilent Technologies წარმოების მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფები, რომლებიც ნაჩვენებია სურათებზე 1-4. ქრომატოგრაფები ერთმანეთისგან განსხვავდებოდა სხვადასხვა ტექნიკური პარამეტრებით, როგორებიცაა მაქსიმალური წნევა და დეტექტორის სიხშირე (სიჩქარე) და შესაბამისად გამოიყენებოდა ექსპერიმენტის სხვადასხვა ეტაპებზე.



**Agilent 1200 სერიის მაღალეფექტური
სითხური ქრომატოგრაფი**

შემადგენლობა:

G1312A ბინარული ტუმბო

G1367B ნიმუშების ავტომატური

მიმწოდებელი

G1316B სვეტების თერმოსტატი

G1314D ერთტალღიანი დეტექტორი

ხელსაწყო მართვის და მონაცემთა

დამუშავების პროგრამა

Agilent Chemstation

მაქსიმალური წნევა 400 ბარი

ტალღის სიგრძე 110-900 ნმ

დეტექტორის სიხშირე 20 ჰერცი

სურათი 1: Agilent 1200 სერიის ქრომატოგრაფი



სურათი 2: Agilent 1220 სერიის სითხური ქრომატოგრაფი

G4290B მონობლოკი, რომელიც შეიცავს ბინარულ ტუმბოს, ნიმუშების ავტომატურ მიმწოდებელს, სვეტის ღუმელს, ერთტალღიან ულტრაიისფერ-ხილულ დეტექტორს. ხელსაწყო მართვის და მონაცემთა დამუშავების პროგრამა Agilent Chemstation

მაქსიმალური წნევა 600 ბარი, დეტექტორის სიხშირე 40 ჰერცი, ტალღის სიგრძე 110-900ნმ.

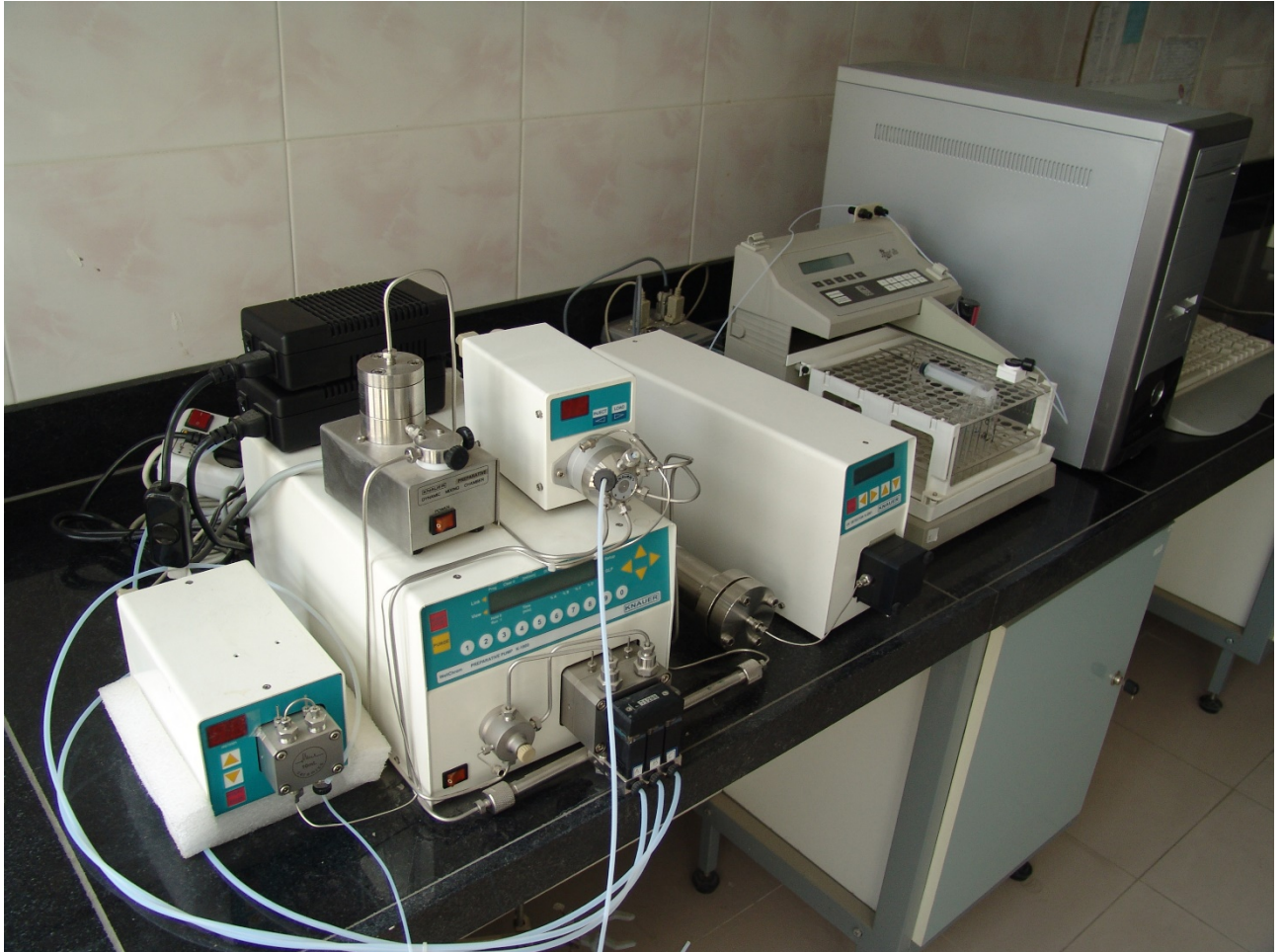


სურათი 3: Agilent 1290 სერიის ზე-მაღალი ეფექტურობის სითხური ქრომატოგრაფი (U-HPLC)

მოდულები:

G4220A ბინარული ტუმბო, **G4226A** ნიმუშების ავტომატური მიმწოდებელი, **G1316C** სვეტების თერმოსტატი, **G1315C** დიოდური ულტრაიისფერ-ხილული დეტექტორი. ხელსაწყო მართვის და მონაცემთა დამუშავების პროგრამა Agilent Chemstation

მაქსიმალური წნევა 1200 ბარი, დეტექტორის სიხშირე 80 ჰერცი, ტალღის სიგრძე 110-900 ნმ.



სურათი 4. Knauer-ის სითხური ქრომატოგრაფი

მოდულები: Knauer K-1001 იზოკრატიული ტუმბო

ხელის ინჟექტორი 20 მკლ მარყუჟით

Knauer K-2001 ულტრაიისფერი დეტექტორი

ხელსაწყოს მართვის და მონაცემთა დამუშავების პროგრამა Eurochrom

მაქსიმალური წნევა 400 ბარი, დეტექტორის სიხშირე 10 ჰერცი. ფიქსირებული ტალღის სიგრძეებით 200; 220; 254; 280 ნმ.

სტაციონარული ფაზის ფიზიკურ-ქიმიური მახასიათებლების დასაზუსტებლად გამოიყენებოდა შესაბამისი ხელსაწყოები.

სარჩულის ნაწილაკების ზომის და ფორმის კვლევისათვის გამოიყენებოდა ზედაპირის ფართობის და ფოროვნების განმსაზღვრავი ხელსაწყო და ელექტრონული მიკროსკოპი.



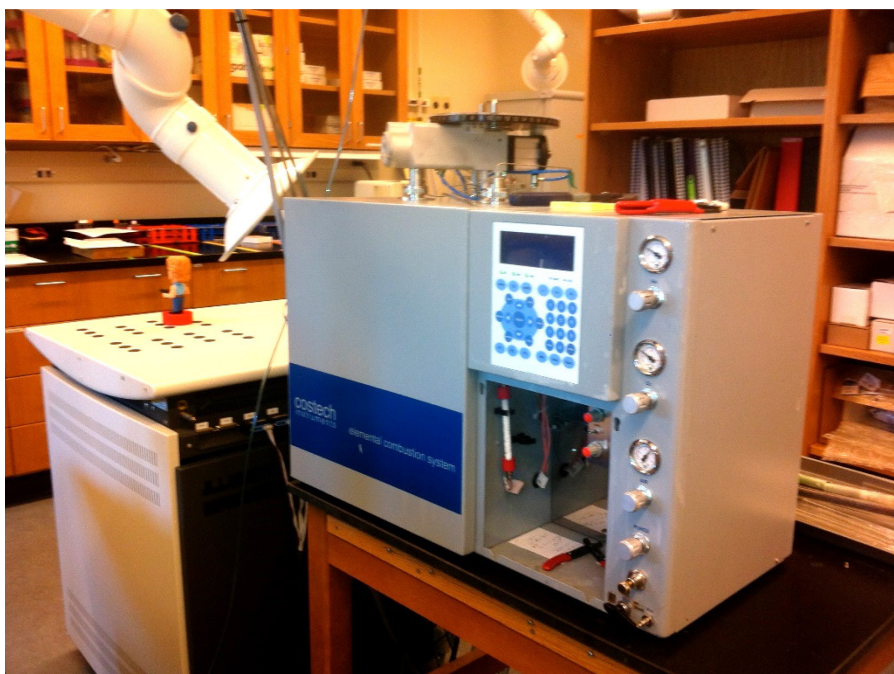
სურათი 5. Micromeritics -ის წარმოების Tristar II Surface Area and Porosity System 3020

ზედაპირის ფართობის და ფოროვნების გამზომი ხელსაწყო, ზედაპირი ფართობის გაზომვა $0.01\text{მ}^2/\text{გ}$ -დან



სურათი 6. Zeiss წარმოების ელექტრონული მიკროსკოპი Gemini გარჩევადობა 1.0 ნმ-დან, Gemini სვეტით და ESD დეტექტორით.

ქირალური სელექტორის დაფენის ხარისხის შესამოწმებლად გამოიყენებოდა ელემენტური ანალიზატორი



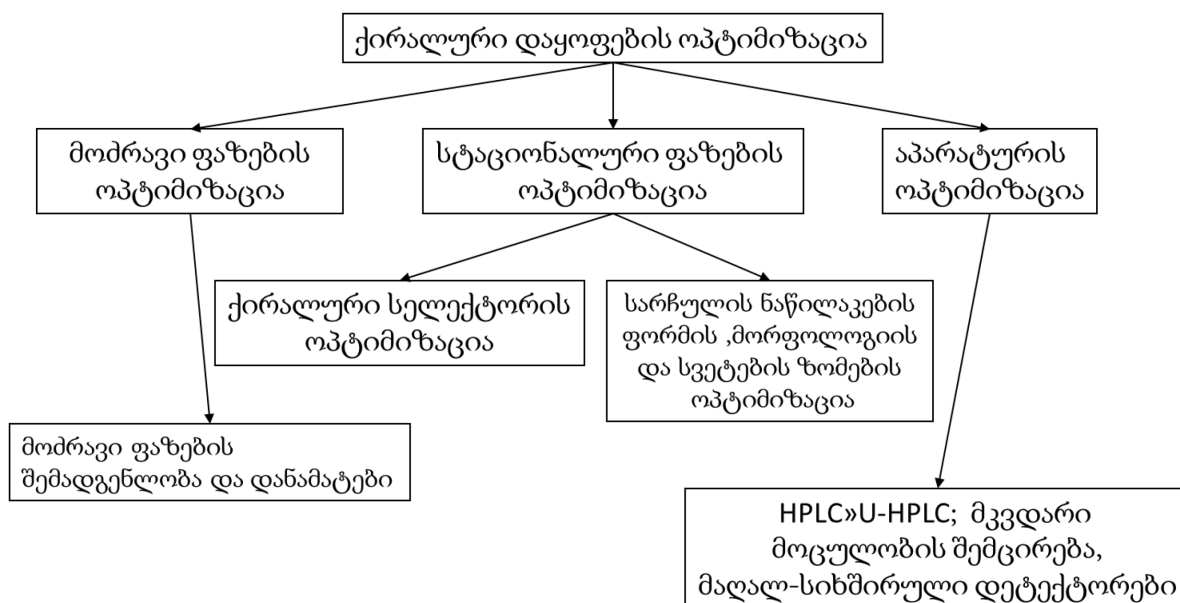
სურათი 7. Costech Analytical Technologies Inc. წარმოების Elemental Combustion System CHNS-O, Model ECS4010

2.2. ექსპერიმენტის გეგმა

ქირალური დაყოფის ოპტიმიზაციისთვის ექსპერიმენტები დაგეგმილი იქნა სამი მიმართულებით:

1. მოძრავი ფაზების ოპტიმიზაცია - ამ დროს ხდებოდა არსებულ კომერციულ ქირალურ სვეტებზე ქირალურ ნივთიერებათა დაყოფის ოპტიმიზაცია მოძრავი ფაზის, მისი დანამატების ცვლილებით, გამოიყენებოდა ნორმალური, შებრუნებული და პოლარულ-ორგანული მოძრავი ფაზები, ასევე მცირე რაოდენობით დანამატები-მოდულიკატორები მოძრავ ფაზაში, როგორებიცაა დიეთილამინი, ჭიანჭველმჟავა, ძმარმჟავა. პირველად იქნა ჩატარებული დიჰიდროპირიდინის ქირალური ნაწარმების სკრინინგი შებრუნებულ და პოლარულ-ორგანულ მოძრავ ფაზებზე.
2. სტაციონარული ფაზების ოპტიმიზაციის დროს ადგილი ჰქონდა კომერციულად ხელმისაწვდომ და ექსპერიმენტული სტაციონარული ფაზების გამოყენებას, ასევე ერთი და იგივე ქირალური სელექტორის დაყოფის უნარის შედარებას სხვადასხვა ტიპის სარჩულებზე, პირველად იქნა გამოყენებული ფორიანი ზედაპირის მქონე გლუვი სილიკაგელი, როგორც სარჩული ქირალური სელექტორებისათვის.
3. აპარატურის ოპტიმიზაციის ეტაპზე ჩატარდა ექსპერიმენტული ზედაპირულად ფორიანი გლუვი სილიკაგელის სარჩულზე მომზადებული ქირალური სტაციონარული ფაზების გამოცდა ე.წ ზემოაღნიშნული სითხური ქრომატოგრაფიაში, სადაც სამუშაო წნევების მაქსიმუმი 1200 ბარია, ასევე ჩატარდა უშუალოდ ხელსაწყო კონფიგურაციის ოპტიმიზაცია ქრომატოგრაფიული სურათის გასაუმჯობესებლად.

ექსპერიმენტის გეგმა წარმოდგენილია სქემაზე

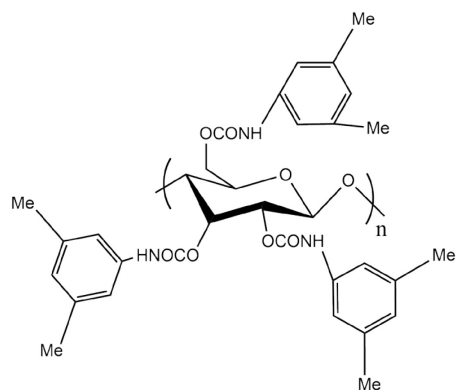


3 შედეგები და მათი განსჯა

3.1 მოძრავი ფაზების ოპტიმიზაცია

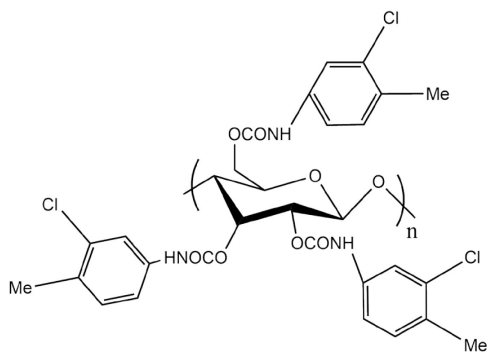
3.1.1 გამოყენებული მასალები

მოძრავი ფაზების ოპტიმიზაციისთვის გამოიყენებოდა 5 ქირალური სელექტორის შემცველი სვეტები, რომლებიც მოცემულია ნახ. 3-ზე.



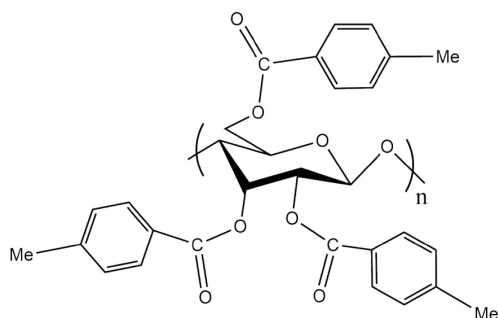
ცელულოზა ტრის (3,5- დიმეთილფენილკარბამატი)

Lux Cellulose 1



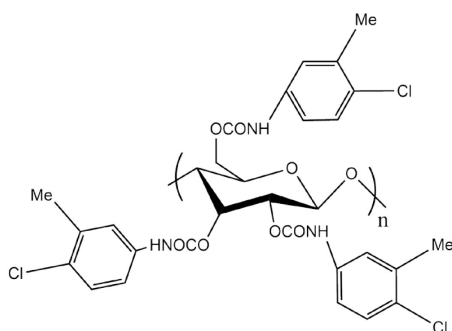
ცელულოზა ტრის(3-ქლორ-4-მეთილფენილკარბამატი)

Lux Cellulose 2



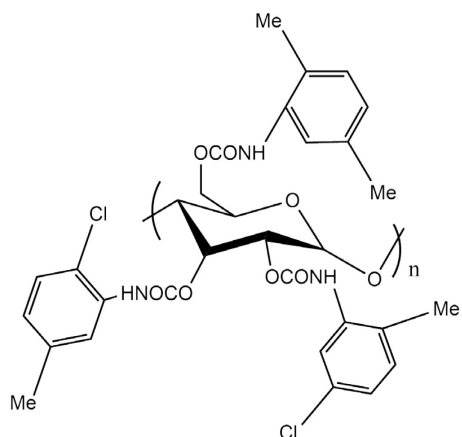
ცელულოზა ტრის (4-მეთილბენზოატი)

Lux Cellulose 3



ცელულოზა ტრის(4-ქლორ-3-მეთილფენილკარბამატი)

Lux Cellulose 4



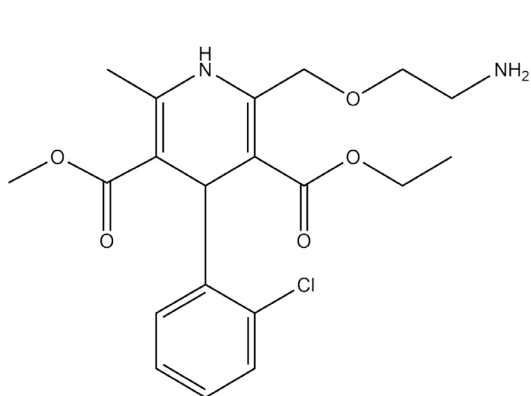
ამილოზა ტრის (5-ქლორ - 2-მეთილფენილკარბამატი)

Lux Amylose 2

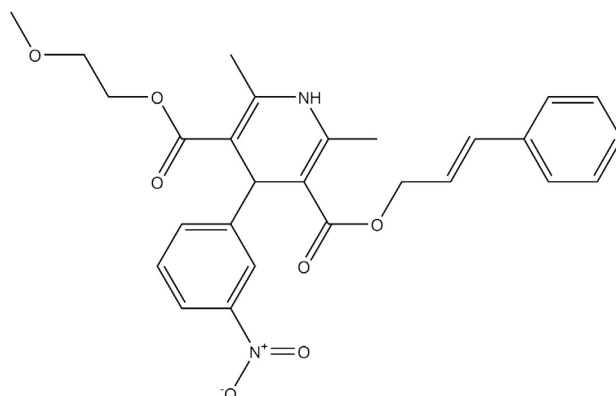
ნახ. 4 ნაშრომის ამ ნაწილში გამოყენებული ქირალური სელექტორების სტრუქტურები

ეს სვეტები მოწოდებული იყო კომპანია Phenomenex Inc.- ის მიერ (ტორანსი, კალიფორნია, ამერიკის შეერთებული შტატები).

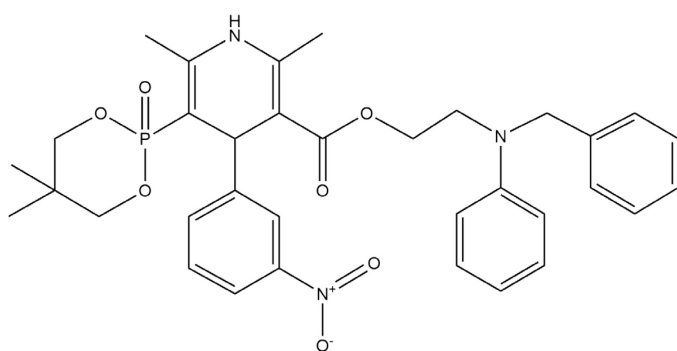
საანალიზოდ აღებული იყო დიჰიდროპირიდინის 11 ქირალური ნაწარმი (Sigma-Aldrich, შტაინჰაიმი, გერმანია), რომლებიც წარმოდგენილია ნახ. 5-ზე.



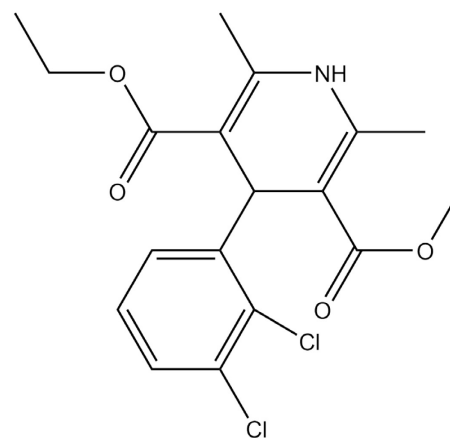
ამლოდიპინი



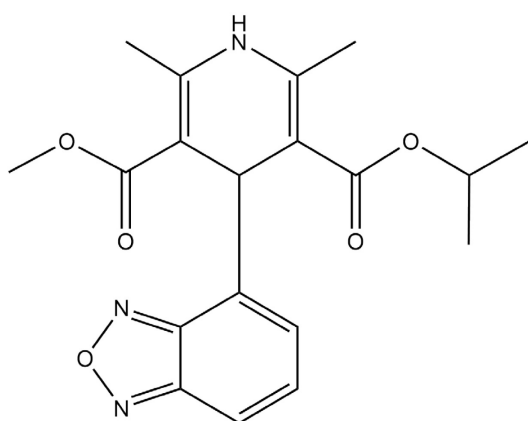
ცილნიდიპინი



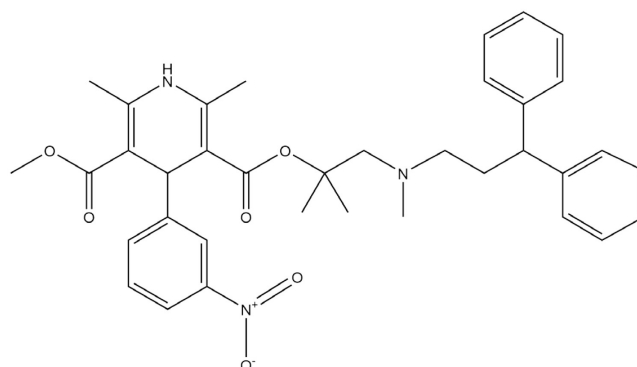
ფელონიდიპინი



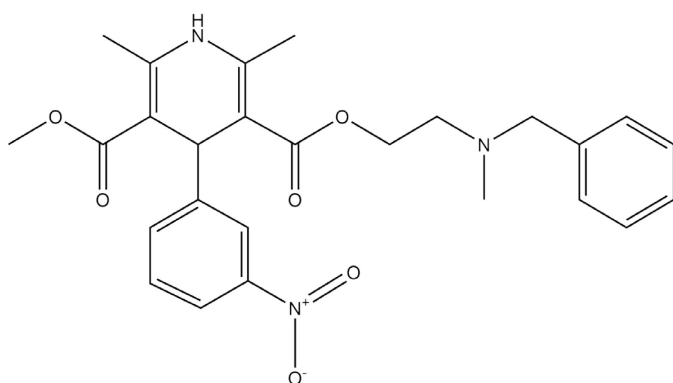
ფელონიდიპინი



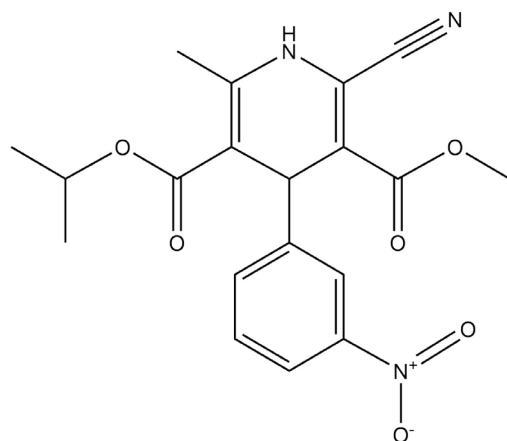
ისრადიპინი



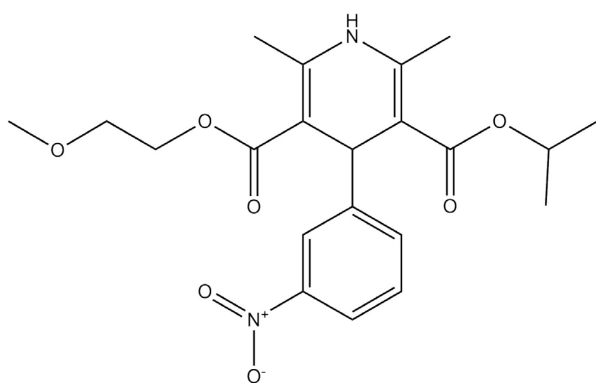
ლერკანიდიპინი



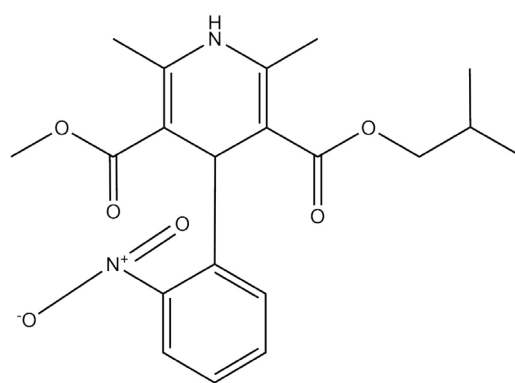
ნიკარდიპინი



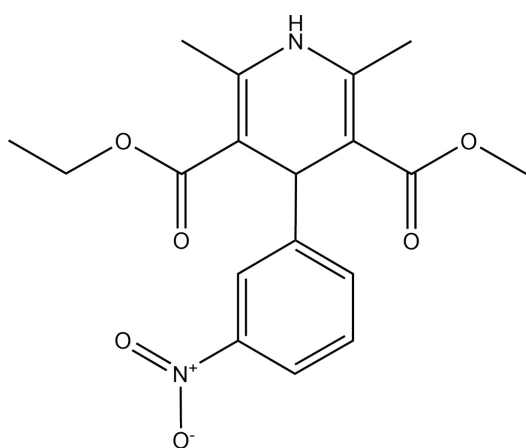
ნილვალდიპინი



ნიმოდპინი



ნიზოლდიპინი



ნიტრენდიპინი

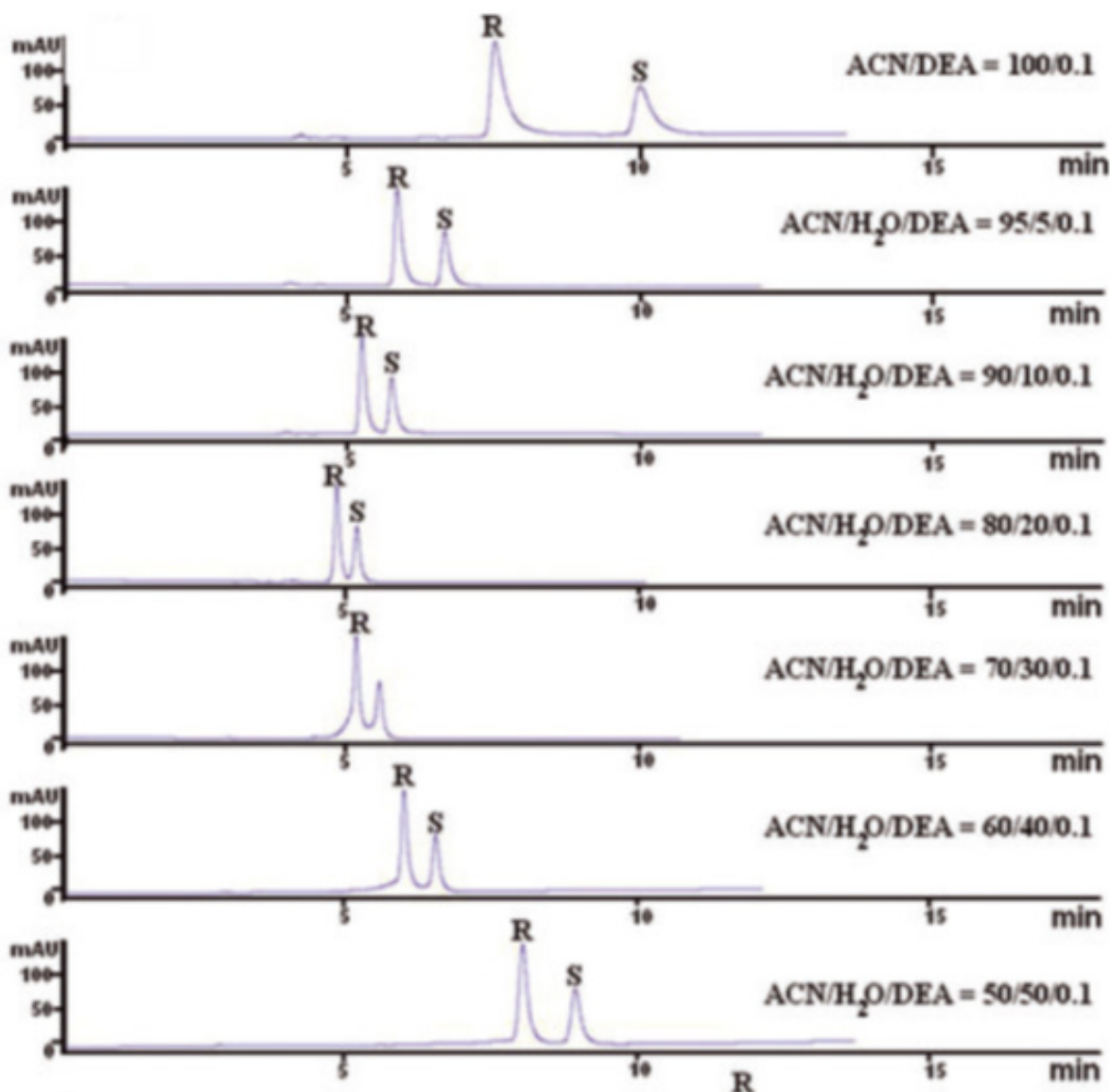
ნახ. 5 ნაშრომში გამოყენებული ქირალური დიჰიდროპირიდინების სტრუქტურები.

მოდრავ ფაზებად გამოყენებული იყო ნორმალური ფაზა ჰესანი-იზოპროპანოლი, პოლარულ-ორგანული ფაზა: მეთანოლი, ეთანოლი, იზოპროპანოლი, აცეტონიტრილი, შებრუნებული (წყლიანი) ფაზები და მცირე რაოდენობის მჟაური დანამატები როგორცაა ჭიანჭველმჟავა და მმარმჟავა, ასევე ფუძე ბუნების დანამატი - დიეთილამინი.

დიჰიდროპირიდინის ნაწარმები წარმოადგენენ L ტიპის კალციუმის არხის ბლოკატორებს და მედიცინაში გამოიყენებიან როგორც გულის კუნთის მასტიმულირებელი საშუალებები. მათი უმეტესობა ქირალური ბუნებისაა, ამიტომ მნიშვნელოვანია სამკურნალწამლო საშუალებებში მათი ქირალური სისუფთავის ანალიზი, ასევე განსაკუთრებულად საინტერესო იყო ფართოდ გამოყენებული ამლოდიპინი, ჩვენი ჯგუფის წინა კვლევებიდან ცნობილი იყო, რომ ნორმალურ ფაზაში ჭიანჭველმჟავის დანამატის გავლენით ადგილი ჰქონდა ენანტიომერების ელუირების თანმიმდევრობას ცვლილებას. საინტერესო იყო ადგილი ექნებოდა თუ არა იგივე ეფექტს სხვა სტაციონარული და მოძრავი ფაზის, ასევე დანამატის შემთხვევაში, ასევე მოხდებოდა თუ არა სხვა დიჰიდროპირიდინის ქირალური ნაწარმის ენანტიომერების ელუირების თანმიმდევრობას ცვლილება.

3.1.2. მოძრავ ფაზაში წყლის შემცველობის გავლენა საანალიზო ნივთიერებების ენანტიომერების ქრომატოგრაფიულ ქცევაზე

მოდრავ ფაზაში წყლის შემცველობის ზრდისას საინტერესო შედეგები დაფიქსირდა ამლოდიპინის ენანტიომერების დაყოფისას, აცეტონიტრილის მოძრავ ფაზაში წყლის შემცველობის 20%-მდე ზრდისას, ადგილი ჰქონდა ჰიდროფილური ურთიერთქმედების ქრომატოგრაფიის (HILIC) მსგავს სურათს. ანუ წყლის შემცველობის ზრდისას, მცირდებოდა ენანტიომერების შეკავების დრო, ხოლო წყლის შემცველობის 20% ზე მაღლა ზრდისას, პროცესი გაგრძელდა სტანდარტული შებრუნებულფაზიანი ქრომატოგრაფიის მექანიზმით, ანუ წყლის შემცველობის ზრდა ფაზაში იწვევდა ენანტიომერების შეკავების დროის ზრდას. ქრომატოგრამები ნაჩვენებია ნახაზი 6-ზე. (მოძრავი ფაზის კომპონენტები მოცემულია მოცულობითი პროცენტებით: V%). ამლოდიპინის ენანტიომერები აღებული იყო 2:1 მასური თანაფარდობით, ნიმუშში კონცენტრაციები შეადგენდა 1 მგ/ლ R ენანტიომერისთვის და 0,5 მგ/ლ S ენანტიომერისთვის.

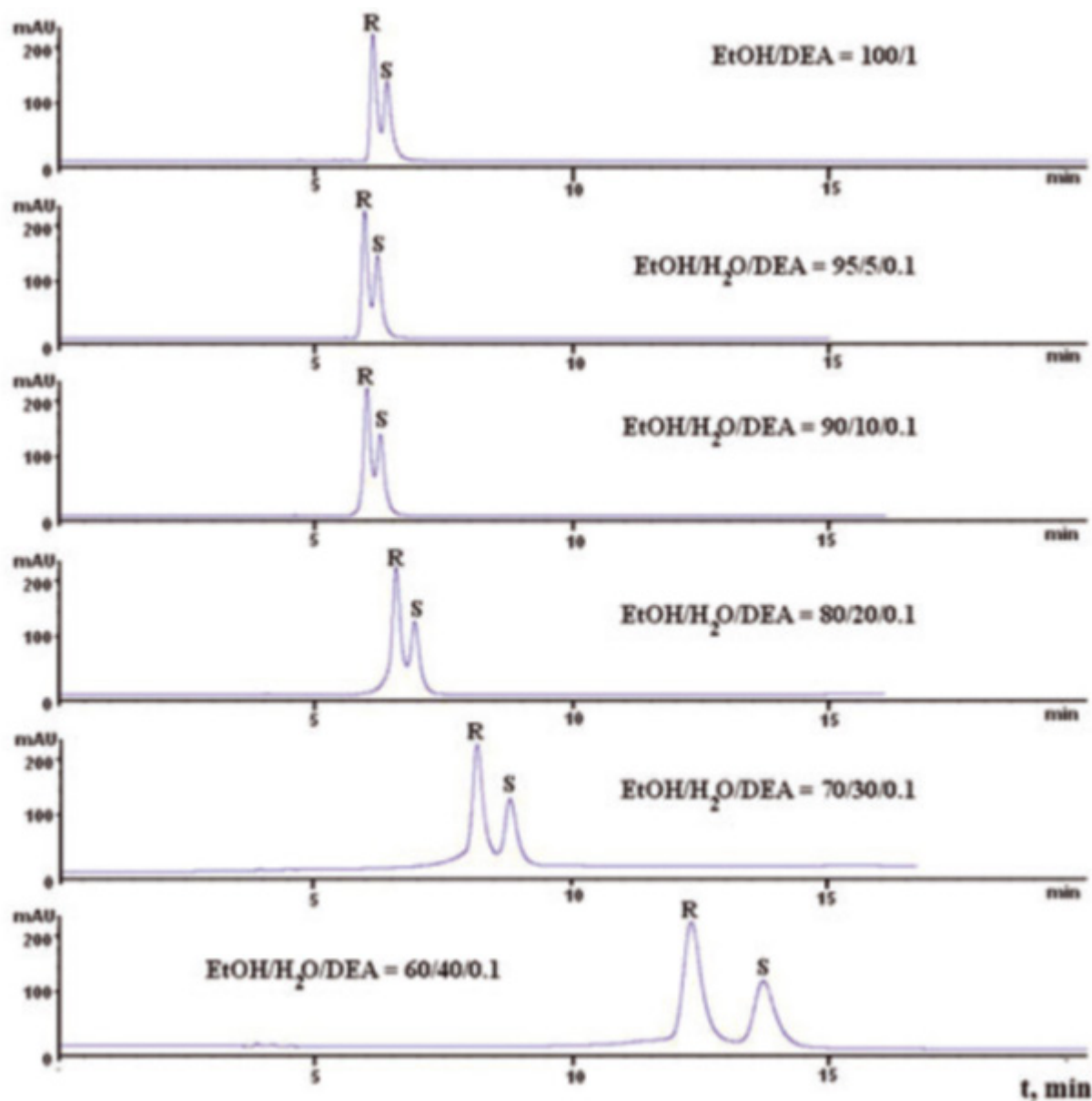


ნახ. 6: ამლოდიპინის ენანტიომერების შეკავების დროის ცვლილება აცეტონიტრილის ფაზაში წყლის შემცველობის გაზრდისას ცელულოზა ტრის(4-ქლორ-3-მეთილფენილკარბამატის) შემცველ სვეტზე [117]

აცეტონიტრილი / დიეთილამინის მოძრავ ფაზაში წყლის შემცველობის ზრდით 0-დან 20 მოცულობით პროცენტამდე ელუირების დრო შემცირდა დაახლოებით 2-ჯერ, თუმცა როგორც ქრომატოგრამებიდან ჩანს გაუარესდა სელექტიურობა და გარჩევადობა, ამასთან წყლის 5%-იანი შემცველობისას, დაყოფის სურათი დამაკმაყოფილებელია, თან ანალიზის დროც გაცილებით მცირეა მხოლოდ აცეტონიტრილი / დიეთილამინის მოძრავ ფაზად გამოყენებასთან შედარებით. წყლის შემცველობის 20%-ზე მეტად გაზრდის შემდეგ ჰიდროფილური ურთიერთქმედების ქრომატოგრაფიის მსგავსი სურათი აღარაა და ადგილი გვაქვს ტიპურ შებრუნებულფაზიან ქრომატოგრაფიასთან. ამ სურათის მექანიზმების ახსნას ესაჭიროება დამატებითი კვლევები.

R და *S* - ქირალური ნივთიერებების ენანტიომერების აღნიშვნა კან-ინგოლდ-პრელოვის პრიორიტეტების წესის მიხედვით.

ჰიდროფილური ურთიერთქმედების ქრომატოგრაფიის მსგავსი სურათი ნაკლებად იყო გამოკვეთილი როდესაც მოძრავ ფაზად გამოყენებული იყო ეთანოლი-წყლის ნარევი. (მოძრავი ფაზის კომპონენტები მოცემულია მოცულობითი პროცენტებით: V%.)

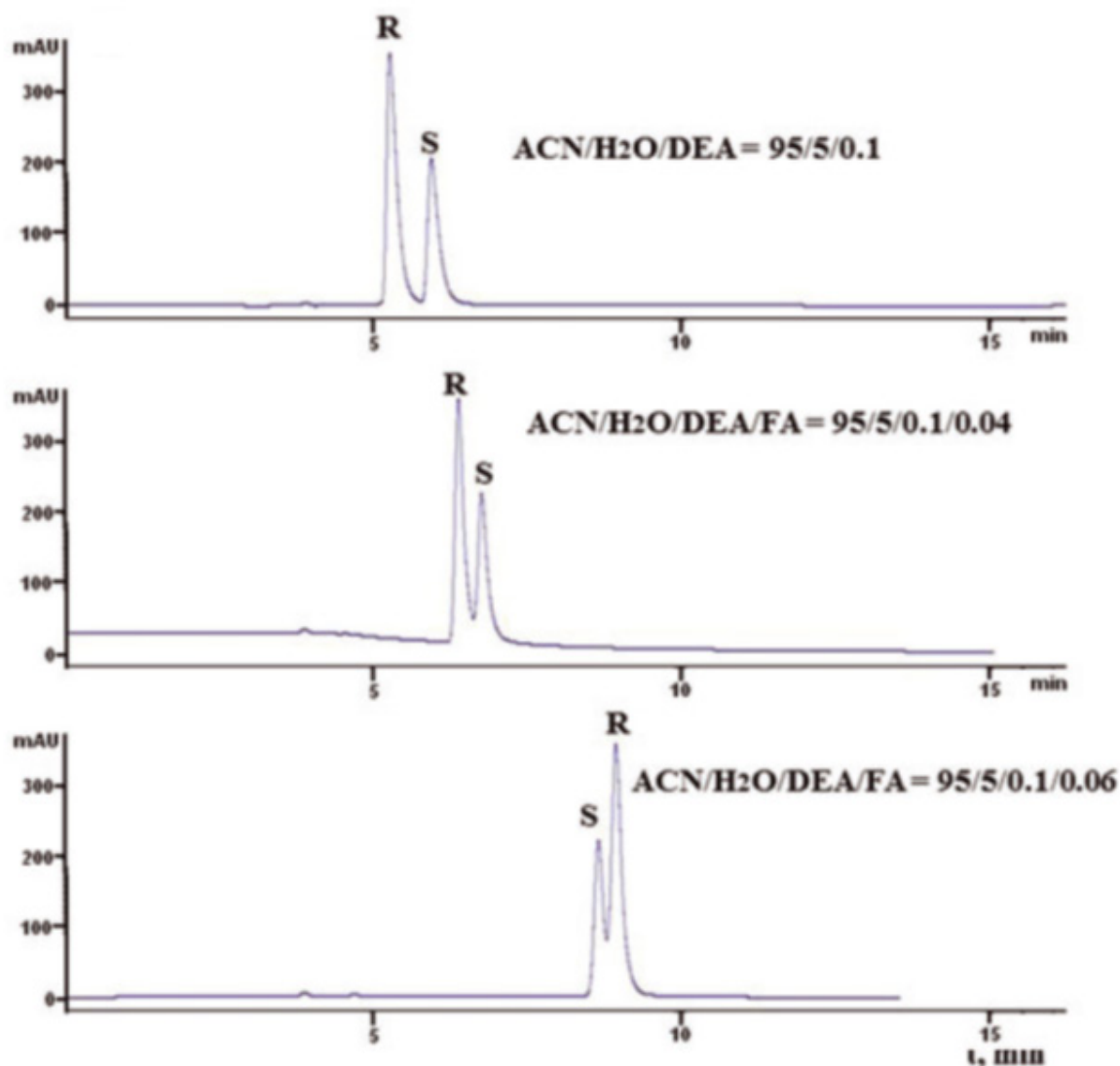


ნახ. 7: ამლოდიპინის ენანტიომერების შეკავების დროის ცვლილება ეთანოლის ფაზაში წყლის შემცველობის გაზრდისას ცელულოზა ტრის(4-ქლორ-3-მეთილფენილკარბამატის) შემცველ სვეტზე [117]

ეთანოლი / დიეთილამინის მოძრავი ფაზის შემთხვევაში HILIC-ის მსგავსი სურათი ნაკლებად იყო გამოხატული, მხოლოდ წყლის შემცველობის 5%-ზე მოხდა ელუირების დროის უმნიშვნელოდ შემცირება, წყლის შემცველობის შემდგომი გაზრდისას, სახეზე გვქონდა შებრუნებულფაზიანი ქრომატოგრაფიული სურათი: გაიზარდა ელუირების დრო, თუმცა ქრომატოგრამიდან ჩანს, რომ ასევე გაიზარდა სელექტიურობა და გარჩევადობა.

3.1.3 მოძრავ ფაზაში ჭიანჭველამჟავას და დიეთილამინის მცირე დანამატების გავლენა ამლოდიპინის ენანტიომერების ქრომატოგრაფიულ ქცევაზე

როდესაც მოძრავ ფაზად გამოყენებული იყო აცეტონიტრილი-წყალი-დიეთილამინის ფაზა მოცულობითი პროცენტული ფარდობით V% 95:5:0.1, მასში ჭიანჭველამჟავის კონცენტრაციის გაზრდამ 0,04%-დან 0,06%-მდე გამოიწვია ამლოდიპინის ენანტიომერების ელუირების თანმიმდევრობას ცვლილება.

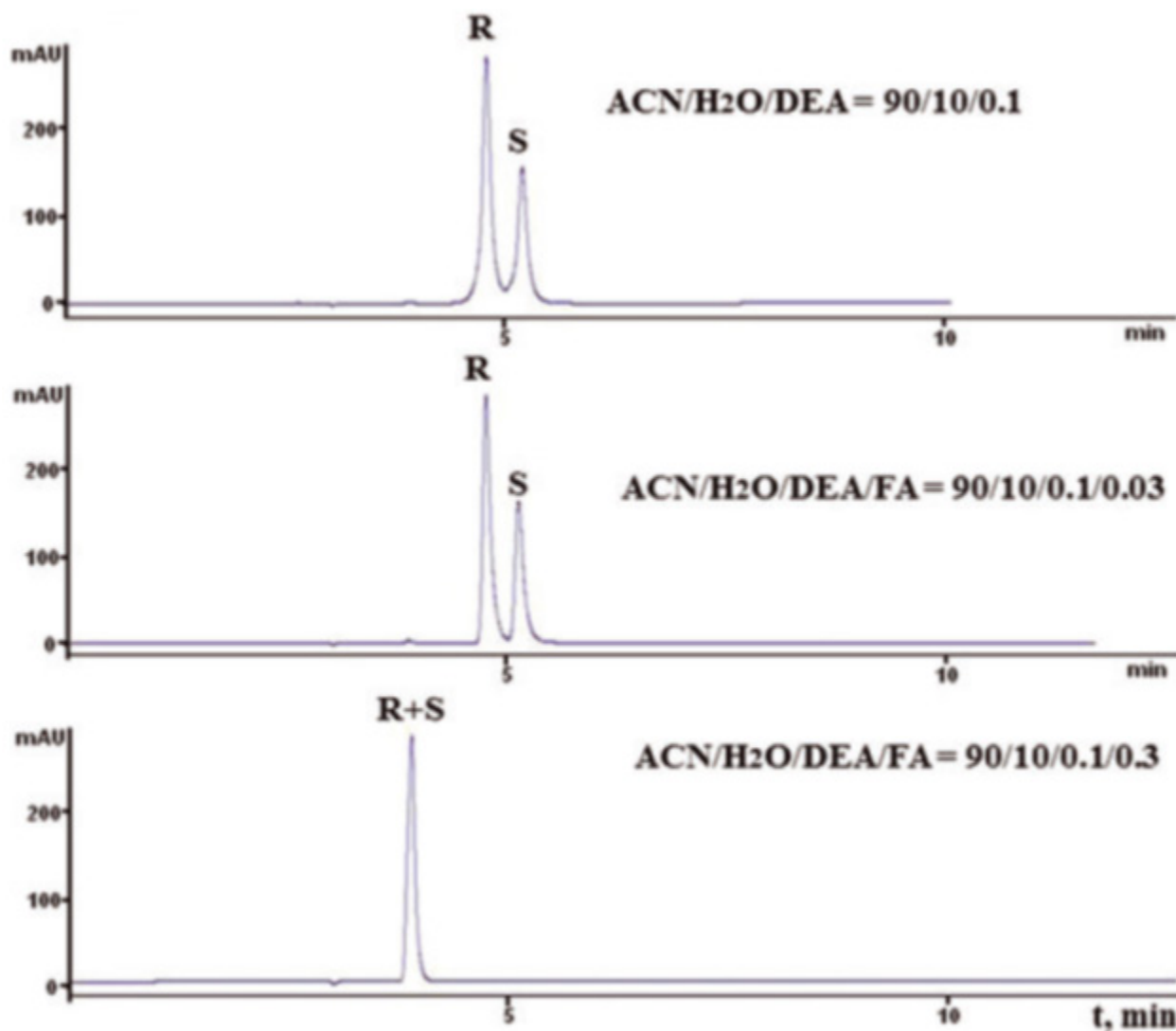


ნახ. 8: ამლოდიპინის ენანტიომერების ელუირების თანმიმდევრობას ცვლილება ცელულოზა ტრის(4-ქლორ-3-მეთილფენილკარბამატის) შემცველ სვეტზე ჭიანჭველამჟავის კონცენტრაციის გავლენით შებრუნებულ ფაზიან გამხსნელში [117]

ქრომატოგრამებიდან ჩანს, რომ ჭიანჭველამჟავის კონცენტრაციის გაზრდით გაიზარდა ენანტიომერების ელუირების დრო, ხოლო ჭიანჭველამჟავის კონცენტრაციის 0,06 მოცულობით პროცენტამდე გაზრდით შეიცვალა ენანტიომერების ელუირების

თანმიმდევრობაც. ამ მოვლენის მექანიზმი არაა გარკვეული და მისი შემდგომი კვლევა მნიშვნელოვანია ენანტიომერების დაყოფის ნატიფი მექანიზმების ასახსნელად.

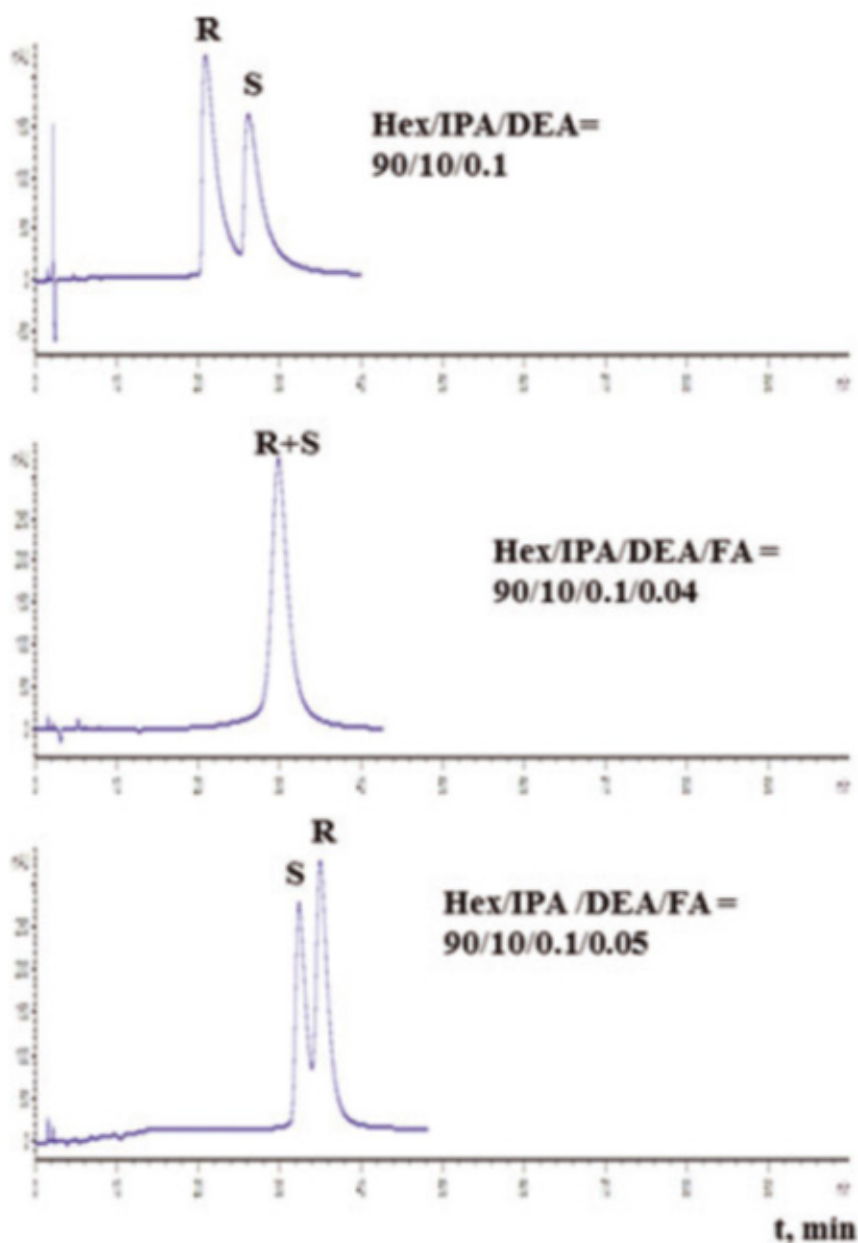
როდესაც მოძრავ ფაზად აღებული იყო აცეტონიტრილი-წყალი დიეთილამინი 90/10/0,1 მოცულობითი პროცენტული ფარდობით, ჭიანჭველამჟავის კონცენტრაციის გაზრდით 0,3%-მდე მოხდა ენანტიომერების კოელუირება - R და S ენანტიომერები ქრომატოგრამაზე გამოვიდა ერთი პიკის სახით.



ნახ. 9: ამლოდიპინის ენანტიომერების კოელუირება ცელულოზა ტრის(4-ქლორ-3-მეთილფენილკარბამატის) შემცველ სვეტზე ჭიანჭველამჟავის კონცენტრაციის გავლენით შებრუნებულ ფაზიან გამხსნელში [117; 146]

წინა მაგალითისგან განსხვავებით, ამ შემთხვევაში წყლის შემცველობა მოძრავ ფაზაში 10 მოცულობით პროცენტს შეადგენდა, ჭიანჭველამჟავის კონცენტრაციის გაზრდას არ გამოუწვევია ენანტიომერების ელუირების რიგის თანმიმდევრობის ცვლილება, თუმცა მოხდა ენანტიომერების კოელუირება მოძრავ ფაზაში ჭიანჭველამჟავის 0,3 V% კონცენტრაციაზე.

ამლოდიპინის ენანტიომერების ელუირების თანმიმდევრობას ცვლილება დაფიქსირდა ნორმალურ ფაზაში ნ-ჰექსანი-იზოპროპანოლი-დიეთილამინი 90/10/0,1 მოცულობითი პროცენტული თანაფარდობით ცელულოზა ტრის(3-ქლორ-4-მეთილფენილკარბამატის) შემცველ სვეტზე ჭიანჭველამჟავის კონცენტრაციის 0,05%-მდე გაზრდისას

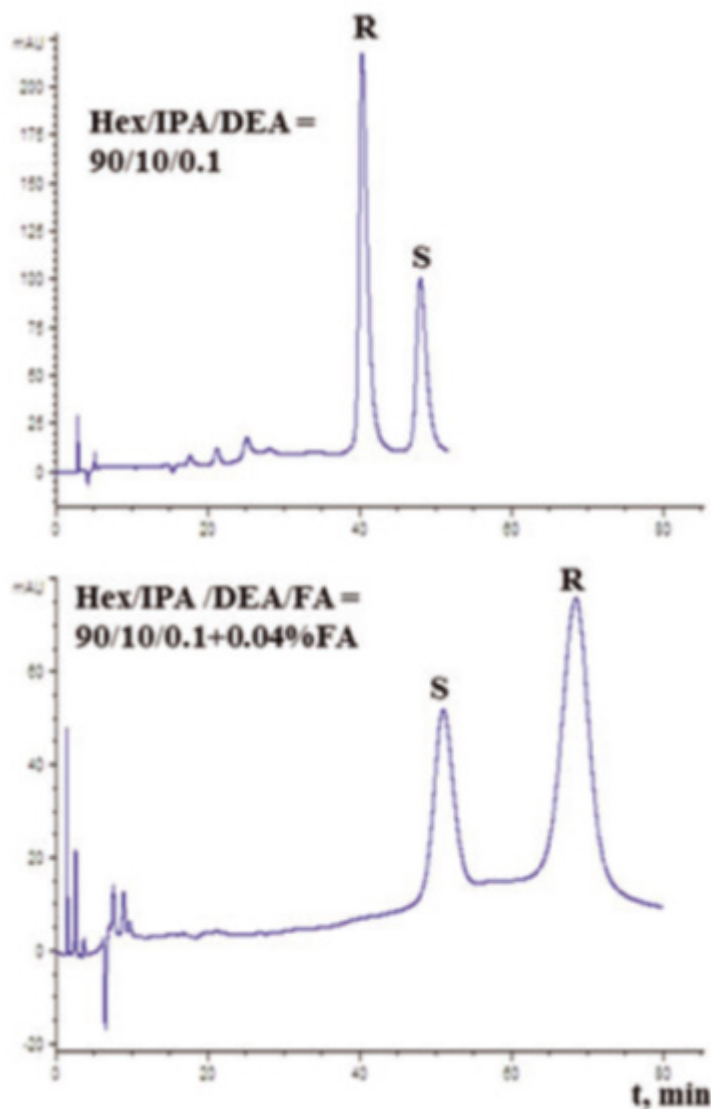


ნახ. 10: ამლოდიპინის ენანტიომერების ელუირების თანმიმდევრობას ცვლილება ცელულოზა ტრის(3-ქლორ-4-მეთილფენილკარბამატის) შემცველ სვეტზე ჭიანჭველამჟავის კონცენტრაციის გავლენით ნორმალურფაზიან გამხსნელში. [117; 146]

ცელულოზა ტრის(3-ქლორ-4-მეთილფენილკარბამატის) შემცველ სვეტზე ნორმალურ ფაზაში ჭიანჭველამჟავის 0,04 V%-ზე მოხდა კოელუირება, ხოლო 0,05 V%-

ზე შეიცვალა ენანტიომერების ელუირების თანმიმდევრობა, ამასთან, როგორც ქრომატოგრამებიდან ჩანს, მცირედ გაიზარდა ელუირების დროც.

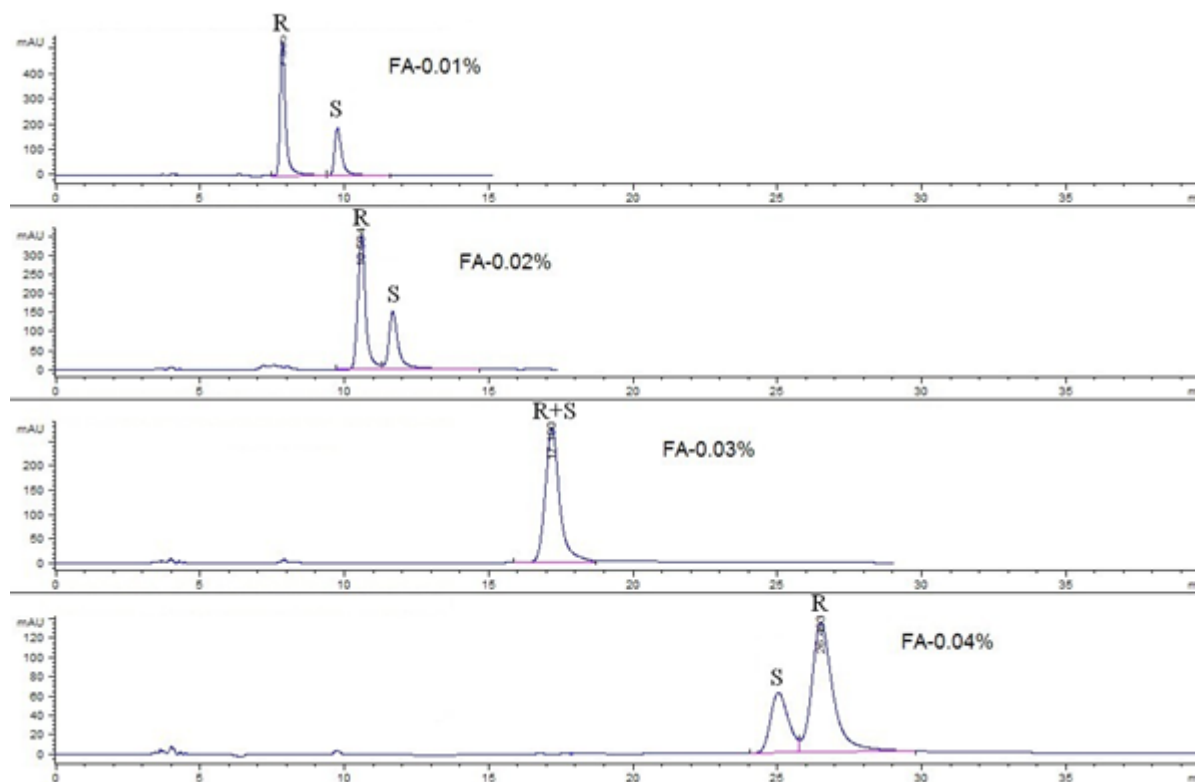
ანალოგიური სურათი დაფიქსირდა ცელულოზა ტრის (4-ქლორ-3-მეთილფენილ;კარბამატის) შემცველ სვეტზეც, ნ-ჰექსანი-იზოპროპანოლი-დიეთილამინი 90/10/0,1 მოცულობითი პროცენტული თანაფარდობით შემცველობის მოძრავ ფაზაზე:



ნახ. 11: ამლოდიპინის ენანტიომერების ელუირების თანმიმდევრობას ცვლილება ცელულოზა ტრის(4-ქლორ-3-მეთილფენილკარბამატის) შემცველ სვეტზე ჭიანჭველამჟავის კონცენტრაციის გავლენით ნორმალურფაზიან გამხსნელში. [117; 146]

ცელულოზა ტრის(4-ქლორ-3-მეთილფენილკარბამატის) შემცველ სვეტზე ნორმალურ ფაზაში ჭიანჭველამჟავის 0,04 V%-ზე შეიცვალა ენანტიომერების ელუირების თანმიმდევრობა, ამასთან, კვლავაც მცირედ გაიზარდა ელუირების დრო.

ამლოდიპინის ენანტიომერების ელუირების თანმიმდევრობა შეიცვალა პოლარულ-ორგანულ გამხსნელშიც ჭიანჭველამჟავის კონცენტრაციის გაზდით 0,04%-მდე ცელულოზა ტრის (4-ქლორ-3 მეთილფენილკარბამატის) შემცველ სვეტზე:

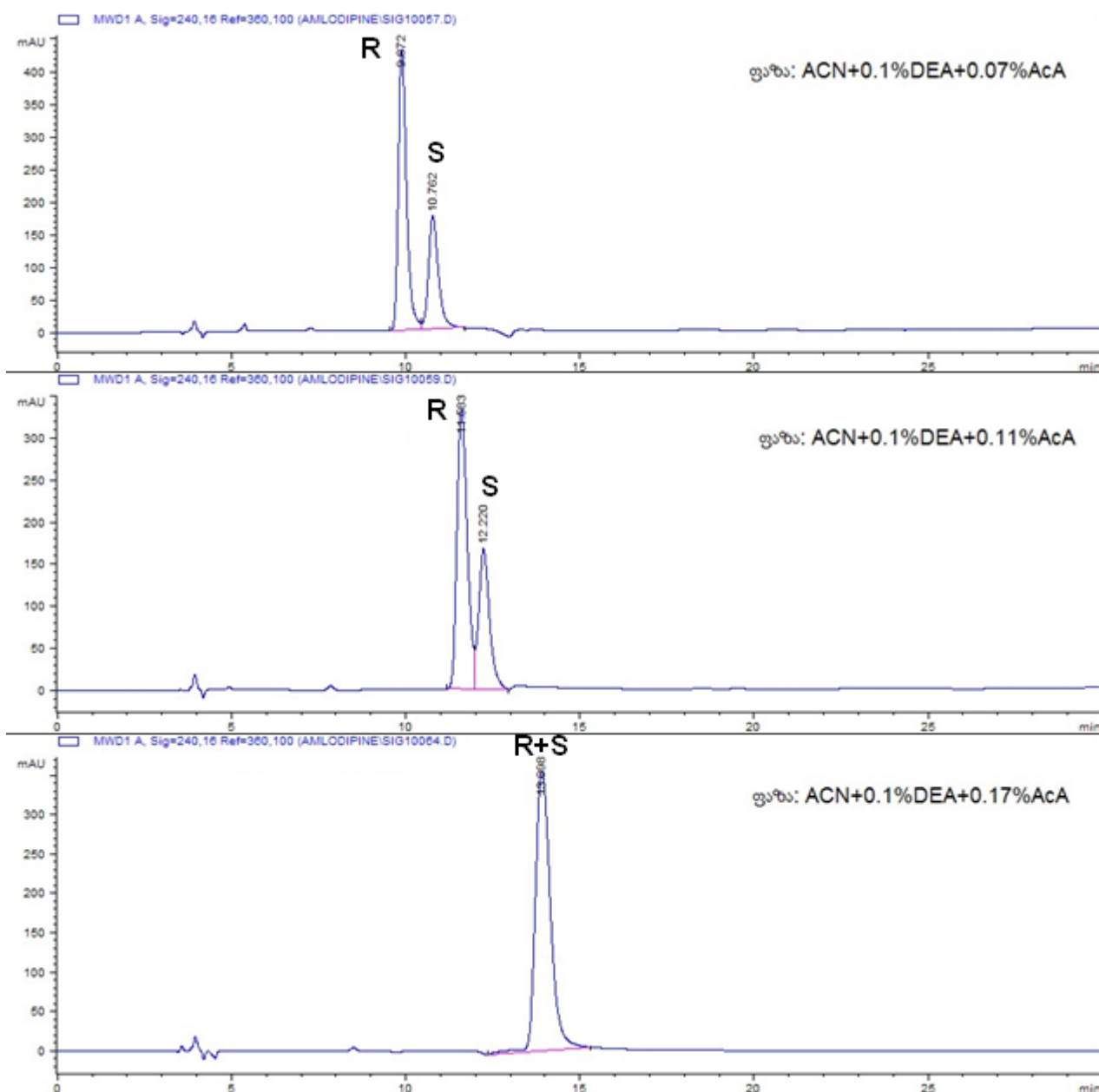


ნახ. 12: ამლოდიპინის ენანტიომერების ელუირების თანმიმდევრობას ცვლილება ცელულოზა ტრის(4-ქლორ-3-მეთილფენილკარბამატის) შემცველ სვეტზე ჭიანჭველამჟავის კონცენტრაციის გაზღვრით აცეტონიტრილში [147-148]

ცელულოზა ტრის(4-ქლორ-3-მეთილფენილკარბამატის) შემცველ სვეტზე მოძრავ ფაზად აცეტონიტრილის გამოყენებისას ჭიანჭველამჟავის 0,03 V%-ზე მოხდა ენანტიომერების კოელუირება, ხოლო 0,04 V%-ზე შეიცვალა ენანტიომერების ელუირების თანმიმდევრობა, ამასთან, დაახლოებით სამჯერ გაიზარდა ელუირების დრო.

3.1.4 მოძრავ ფაზაში ძმარმჟავის და დიეთილამინის მცირე რაოდენობის დანამატების გავლენა

განსხვავებით ჭიანჭველმჟავას დანამატისგან, ძმარმჟავის დანამატის კონცენტრაციის გაზდრით არ მომხდარა ენანტიომერების ელუირების თანმიმდევრობას ცვლილება, თუმცა თანდათან გაიზარდა შეკავების დროები და ძმარმჟავის კონცენტრაციის 0,17V %-მდე გაზდისას ცელულოზა ტრის (4-ქლორ-3 მეთილფენილკარბამატის) შემცველ სვეტზე მოხდა ამლოდიპინის ენანტიომერების კოელუირება



ნახ. 13: ამლოდიპინის ენანტიომერების კოელუირება ცელულოზა ტრის(4-ქლორ-3-მეთილფენილკარბამატის) შემცველ სვეტზე ძმარმჟავას კონცენტრაციის გავლენით აცეტონიტრილის მოძრავ ფაზად გამოყენებისას. [117; 147-148]

ჭიანჭველამჟავის და ძმარმჟავის დანამატების ენანტიომერების ელუირების დროზე და თანმიმდევრობაზე გავლენის მიხედვით შეიძლება დავასკვნათ, რომ ელუირების თანმიმდევრობა დამოკიდებულია არა მხოლოდ დანამატის მჟავა ბუნებაზე, არამედ მის აღნაგობაზეც. სავარაუდოა, რომ ჭიანჭველამჟავას და ძმარმჟავას მოლეკულები განსხვავებული აღნაგობის გამო განსხვავებულად მოქმედებენ ქირალური სელექტორის ურთიერთქმედების ცენტრებზე და ერთ შემთხვევაში იწვევენ ენანტიომერების ელუირების რიგის სცვლილებას, ხოლო მეორე შემთხვევაში- არა.

ენანტიომერების ელუირების თანმიმდევრობას ცვლილება საინტერესოა არა მარტო ქირალური დაყოფების მექანიზმების კვლევის მიზნით, არამედ აქვს პრაქტიკული გამოყენებაც როგორც ანალიზური, ისე პრეპარატული და საწარმოო მასშტაბების სითხურ-ქრომატოგრაფიული დაყოფებისთვის, მაგალითად, როდესაც მინარევის სახით არსებული ერთ-ერთი ენანტიომერი გამოდის მთავარი ენანტიომერის პიკის შემდეგ, დაბალი გარჩევადობის შემთხვევაში, რთულია ფუძისეული დაყოფის მიღება, რადგან, მცირე ზომის პიკი შეიძლება დაიკარგოს დიდი ზომის პიკის კუდში. ხოლო თუკი მოხერხდება ენანტიომერების ელუირების თანმიმდევრობას შებრუნება, მინარევის სახით არსებული ენანტიომერის პატარა პიკი გამოვა მთავარი ენანტიომერის პიკამდე, ფუძისეული დაყოფის მიღება უფრო მარტივია, უმჯობესდება ქრომატოგრაფიული სურათი და შესაბამისად უფრო ზუსტია რაოდენობრივი ანალიზი, ასევე იზრდება ენანტიომერული სისუფთავის ხარისხი პრეპარატული თუ საწარმოო მასშტაბების დროს.

დიჰიდროპირიდინის სხვა ქირალური ნაწარმებისთვის არ დაფიქსირებულა ენანტიომერების ელუირების თანმიმდევრობას ცვლილება მოძრავი ფაზის შედგენილობის ცვლილების შედეგად.

3.1.5. დიჰიდროპირიდინის ქირალური ნაწარმების სკრინინგი პოლარულ-ორგანულ ფაზებზე

რამდენადაც დიჰიდროპირიდინის ქირალური ნაწარმების დაყოფები არ იყო შესწავლილი პოლარულ-ორგანულ ფაზებზე, ჩავატარეთ ზემოთ აღნიშნული 11 ნაწარმის სკრინინგი ოთხ ქირალურ სვეტზე მოძრავ ფაზებად აცეტონიტრილის, მეთანოლის, ეთანოლის და იზოპროპანოლის გამოყენებით. ნიმუშები მომზადდა დაახლოებით 0,5 მგ/მლ კონცენტრაციით და ანალიზები ჩატარდა 1 მლ/წთ სიჩქარით, დეტექტირება მოხდა 254ნმ

Lux Cellulose 1 სვეტზე დაიყო მხოლოდ ერთი ნივთიერება - ცილინდიპინი ეთანოლის და აცეტონიტრილის ელუენტად გამოყენებისას.

Lux Cellulose 2 სვეტზე მეთანოლის არეში ნაწილობრივ დაიყო ნიზოლდიპინი და ცილინდიპინი. ეთანოლის და იზოპროპანოლის მოძრავ ფაზაში ნაწილობრივ დაიყო ნილვალდიპინი,

Lux Cellulose 3 სვეტზე მეთანოლის გამოყენებისას ნაწილობრივ დაიყო ნიტრენდიპინი, ნიმოდიპინი და ლერკანიდიპინი, ხოლო ეთანოლში ნაწილობრივ დაიყო ნიზოლდიპინი, ნილვალდიპინი და ნიმოდიპინი, სრულად დაიყო ნიკარდიპინი, აცეტონიტრილის არეში ნაწილობრივ დაიყო ცილინდიპინი.

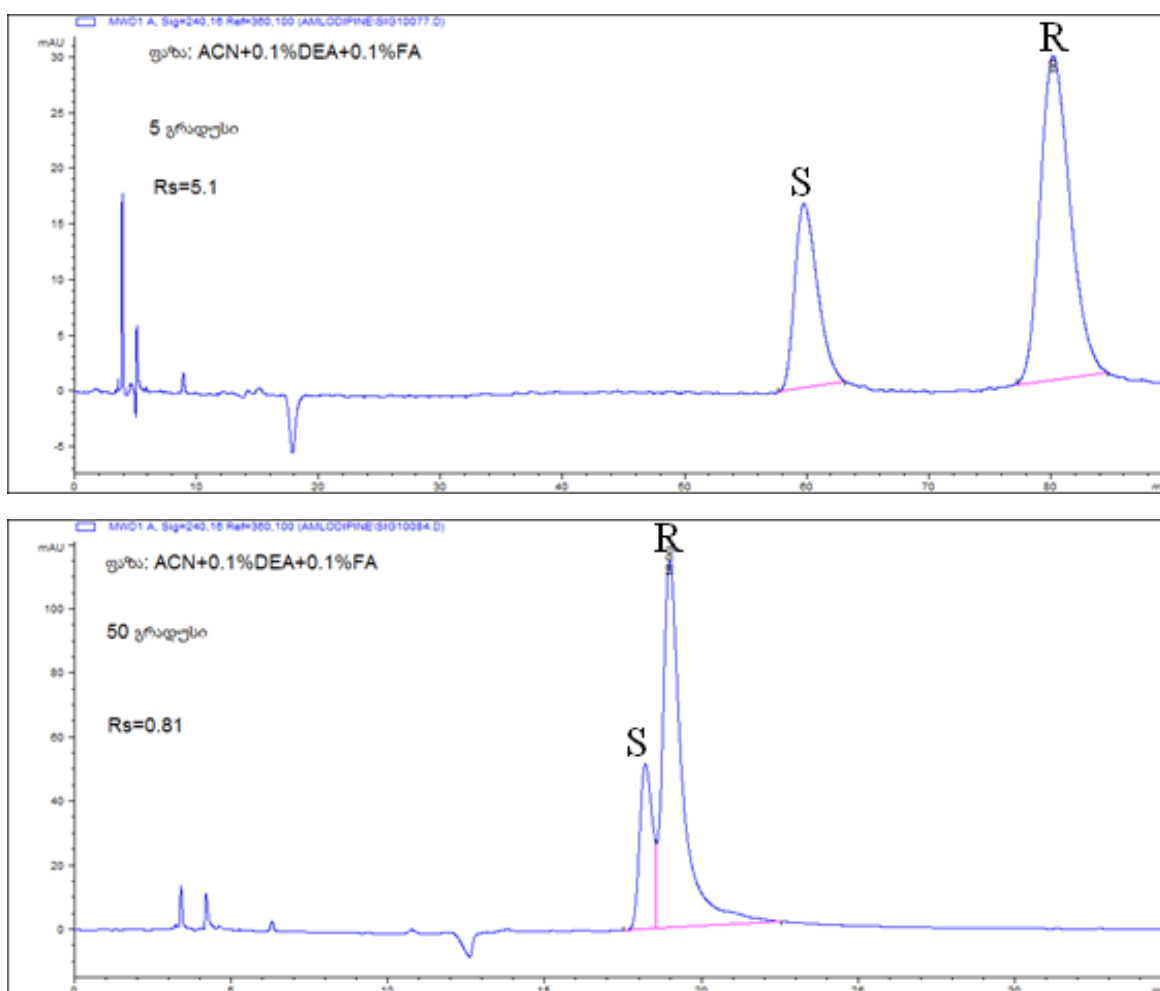
Lux Cellulose 4 სვეტზე ეთანოლის მოძრავ ფაზად გამოყენებისას ნაწილობრივ დაიყო ნიზოლდიპინი და ცილინდიპინი, ხოლო ეთანოლის შემთხვევაში. ამლოდიპინი და ნილვალდიპინი.

Lux Amylose 2 სვეტზე ნაწილობრივ დაიყო ნიმოდიპინი იზოპროპანოლის მოძრავ ფაზაში.

ამრიგად, პოლარულ-ორგანულ გამხსნელებზე საუკეთესო შედეგები მიღებული იქნა Lux Cellulose-3 სვეტზე, ხოლო პოლარულ-ორგანული გამხსნელებიდან დაყოფების ყველაზე დაბალი რიცხვი მიღებული იქნა იზოპროპანოლის ელუენტად გამოყენებისას.

3.1.6 ტემპერატურის გავლენა ენანტიომერების დაყოფაზე

ჩატარდა ანალიზები ამლოდიპინის ენანტიომერების დაყოფაზე ტემპერატურის გავლენის შესასწავლად 5-50 °C ფარგლებში 5°C ბიჯით, როგორც მოსალოდნელი იყო, ტემპერატურის შემცირებით გაიზარდა ენანტიომერების შეკავების დრო, ასევე გაიზარდა სელექტიურობაც. მოძრავ ფაზად აღებული იყო აცეტონიტრილი-დიეთილამინი -მეთანოლი 100/0,1/0,1 V% ფარდობით, ქირალურ სელექტორად ცელულოზა ტრის (4-ქლორ-3 მეთილფენილკარბამატი). ქრომატოგრამები ნაჩვენებია ნახ. 13-ზე.



ნახ 14: ტემპერატურის გავლენა ამლოდიპინის ენანტიომერების დაყოფაზე ცელულოზა ტრის(4-ქლორ-3-მეთილფენილკარბამატის) ქირალურ სელექტორზე 5°C-ზე და 50°C-ზე. [117; 146-148]

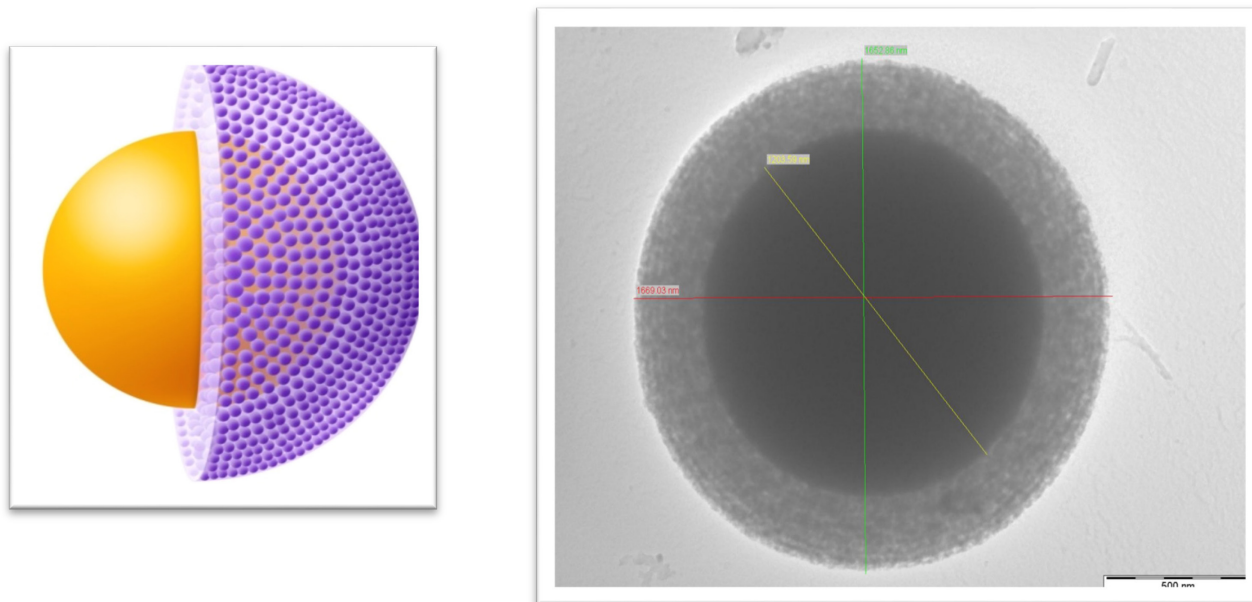
განსხვავებით ლიტერატურაში აღწერილი შემთხვევისა [31] ამლოდიპინის ენანტიომერების ელუირების თანმიმდევრობა არ შეცვლილა მოძრავი ფაზის ტემპერატურის ცვლილებისას.

3.1 თავში აღწერილი ანალიზები ჩატარებული იყო Agilent 1200 სერიის მაღალეფექტურ სითხურ ქრომატოგრაფზე.

3.2 სტაციონარული ფაზის ოპტიმიზაცია

ზედაპირულად ფორიანი გლუვი სილიკაგელის (ზფგს) ნაწილაკებზე ქირალური სელექტორის დაფენა ჩვენ გამოკვლევებამდე ლიტერატურაში აღწერილი არ იყო. რადგანაც ამ ტიპის ნაწილაკების გამოყენება აქირალურ სითხურ ქრომატოგრაფიაში სულ უფრო და უფრო პოპულარული ხდება, გადავწყვიტეთ გამოგვეცადა ქირალური სტაციონარული ფაზის მომზადების შესაძლებლობა ზფგს ნაწილაკებზე პოლისაქარიდული ქირალური სელექტორის დაფენით და შეგვედარებია ამ სვეტის წარმადობა ტრადიციული ფორიანი სილიკაგელით მომზადებულ სვეტებთან.

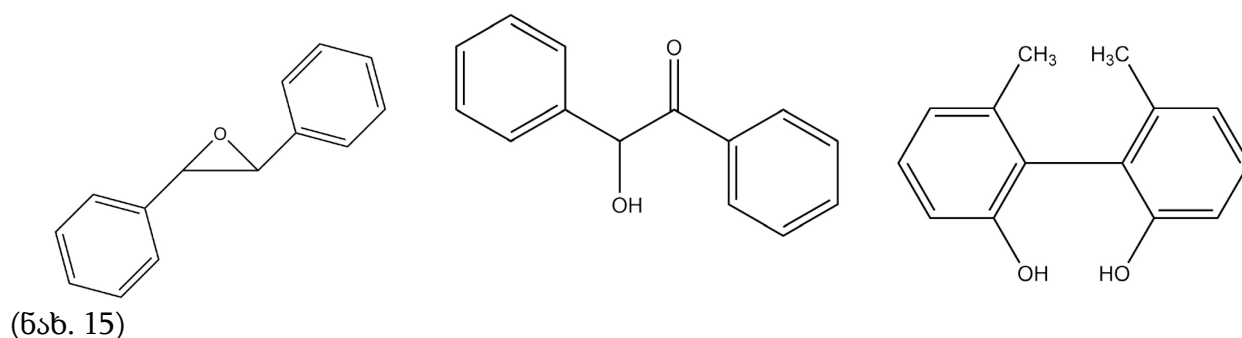
განსხვავებით ტრადიციული ფორიანი სილიკაგელისგან, ზედაპირულად ფორიანი სილიკაგელის ნაწილაკები წარმოადგენს სილიციუმის გლუვ მარცვალს, რომლის ზედაპირზეც დატანილია ფორიანი სილიკაგელი. შესაბამისად ზფგს-ს ნაწილაკებში ნაკლებია დიფუზიის გზა, მცირეა უკუწნევა. სურათი 8-ზე მოცემულია ზფგს ნაწილაკის სქემატური გამოსახულება და ელექტრონულ-მიკროსკოპული სურათი.



სურათი 8: ზფგს ნაწილაკის სქემა (მარცხნივ და ელექტრონულ-მიკროსკოპული სურათი (მარჯვნივ) [149]

3.2.1 ზედაპირულად ფორიანი გლუვი სილიკაგელის (ზფგს) და მთლიანად ფორიანი სილიკაგელის ნაწილაკებზე პოლისაქარიდული ქირალური სელექტორით დაფენით მომზადებული სვეტების შედარება

ექსპერიმენტისთვის ქირალურ სელექტორად აღებული იყო ცელულოზა ტრის (4-ქლორ-3-მეთილფენილკარბამატი), ხოლო საანალიზო ქირალურ ნივთიერებებად ტრანს-სტილბენის ოქსიდი, ბენზოინი და 2,2'-დიჰიდროქსი-6,6'-დიმეთილბიფენილი



ნახ. 15:

ტრანს-სტილბენის ოქსიდი

ბენზოინი

2,2'-დიჰიდროქსი-6,6'-
დიმეთილბიფენილი

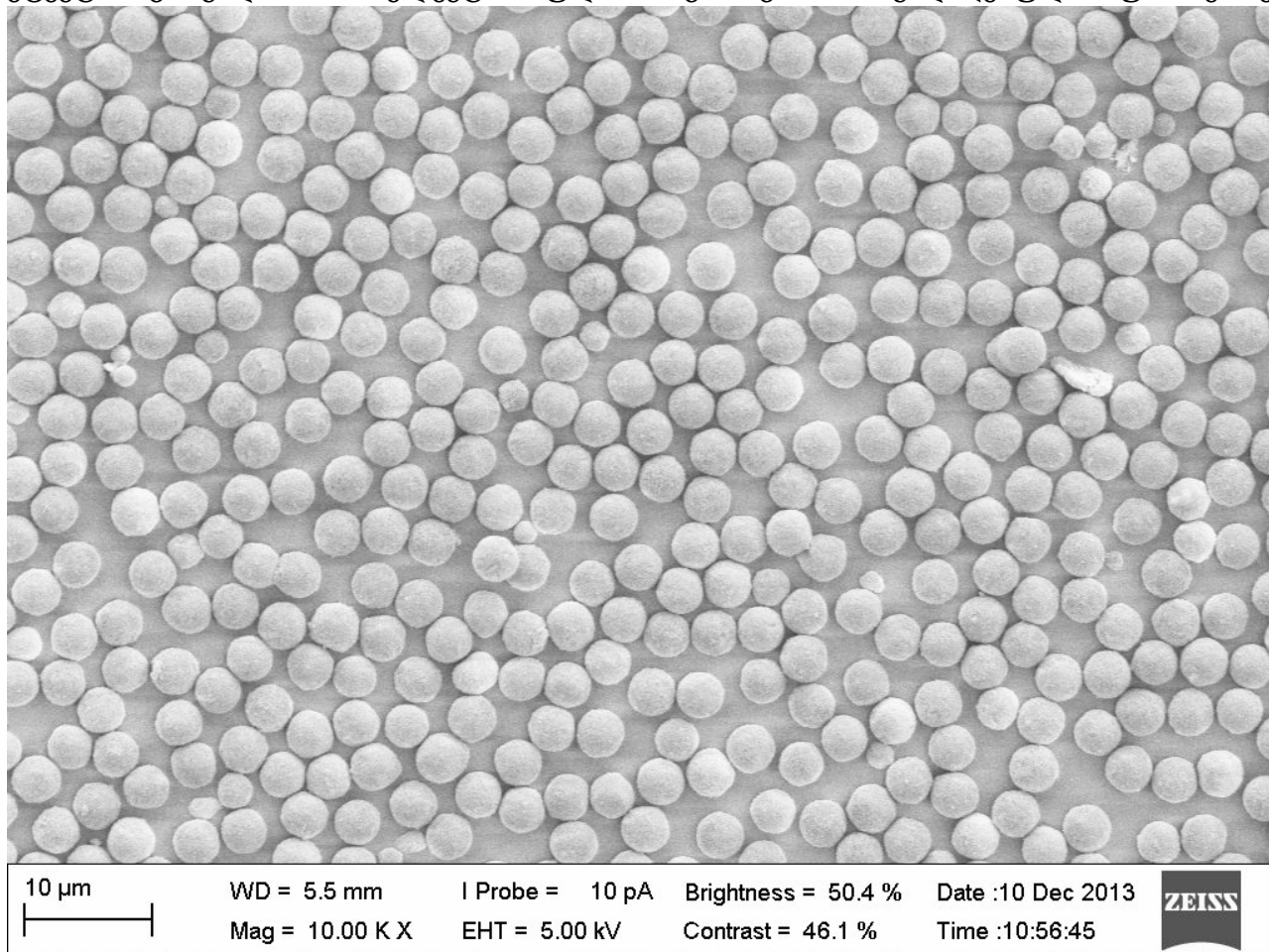
ექსპერიმენტის ამ ნაწილში გამოყენებული იქნა ნეიტრალური ბუნების მქონე ქირალური ნივთიერებები, რადგანაც გვინტერესებდა მხოლოდ სტაციონარული ფაზის მორფოლოგიის გავლენის შესწავლა ენანტიომერების დაყოფაზე.

შესადარებლად გამოყენებული იყო იგივე ქირალური სელექტორის შემცველი კომერციული სვეტი Lux Cellulose-4, რომელშიც ქირალური სელექტორის მასური შემცველობა იყო 20%. სვეტის ზომები იყო 250მმX4.6მმ, ნაწილაკების ნომინალური ზომა 3 მკმ.

ექსპერიმენტული სვეტების მოსამზადებლად გამოყენებული იქნა 2,6 მკმ დიამეტრის ნაწილაკის ნომინალური ზომის მქონე ზფგს, რომლის ფორების ნომინალური დიამეტრი იყო 90Å, ასვე მეორე ექსპერიმენტული სვეტის მოსამზადებლად გამოიყენებოდა ტრადიციული ფორიანი სილიკაგელი 3 მკმ ნაწილაკების ნომინალური ზომით და 100Å ფორების ნომინალური ზომით.

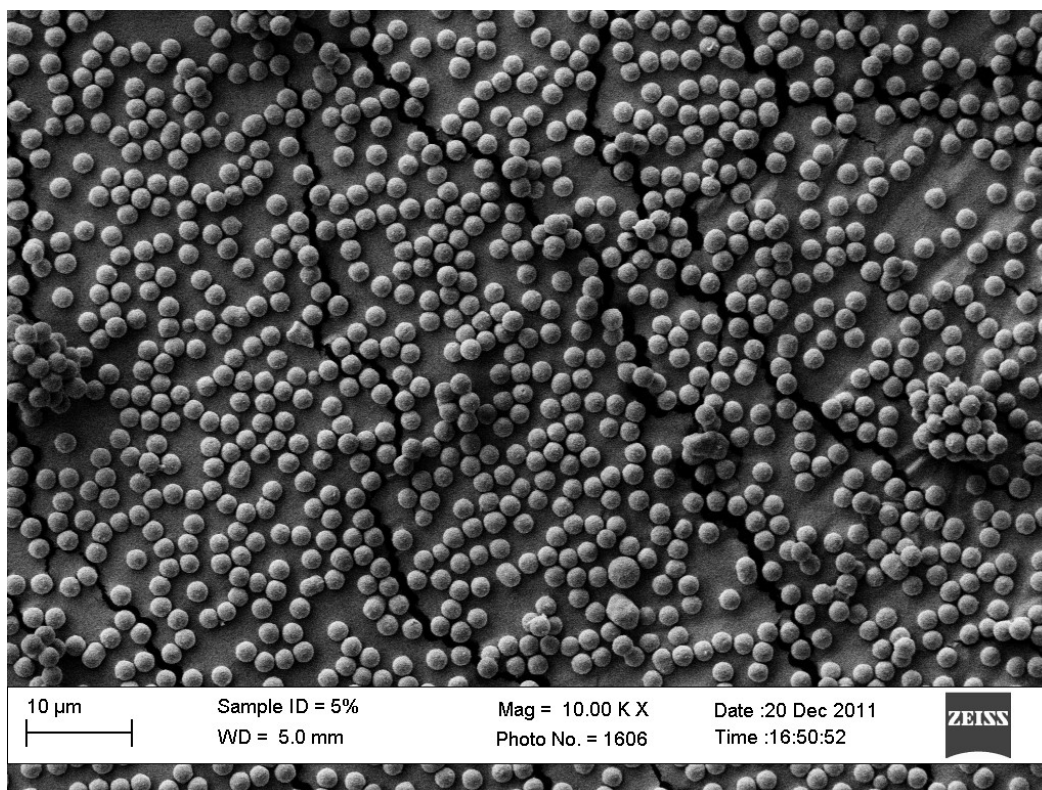
ზფგს და ტრადიციული სილიკაგელის ქირალური სელექტორით დასაფენად, ქირალური სელექტორი გაიხსნა შესაბამისი რაოდენობის ტეტრაჰიდროფურანში, მიღებულ ხსნარს დაემატა სილიკაგელის წონაკი, რამდენიმე წუთით ჩაიდგა ულტრაბერაში და შემდეგ ამოშრა შემცირებული წნევის ქვეშ ოთახის ტემპერატურაზე როტაციულ ამოვრთქლებელში. მიღებული ფხვნილის ამოშრობა გაგრძელდა 60 °C-ზე 1 საათის განმავლობაში. სვეტების შესავსები ნარევი მომზადდა ნ-ჰექსანი-იზოპროპანოლის 9/1 მოცულობითი ფარდობის ხსნარში, მოხდა მიღებული ნარევის ორჯერადი დეკანტაცია და ჩაიტვირთა 250X4.6მმ ზომის უჟანგავი ფოლადის სვეტებში 500 ბარ წნევაზე Knauer K-1900 პნევმატიური ტუმბოთი.

სტაციონარული ფაზის ელემენტური ანალიზით დადგინდა, რომ ზფგს ტიპის სვეტში ქირალური სელექტორის მასური შემცველობა იყო 6,8%, ხოლო ტრადიციული სილიკაგელის ექსპერიმენტულ სვეტში 5,6%. ზფგს ტიპის ნაწილაკებზე ქირალური სელექტორის მეტი რაოდენობის დაფენა ვერ მოხერხდა იმის გამო, რომ ადგილი ჰქონდა ნაწილაკების აგრეგაციას, რაც სტაციონალურ ფაზას ნაკლებად გამოსადეგს ხდიდა. ეს ეფექტი კარგად ჩანს ელექტრონული მიკროსკოპით გადაღებულ სურათებზე:



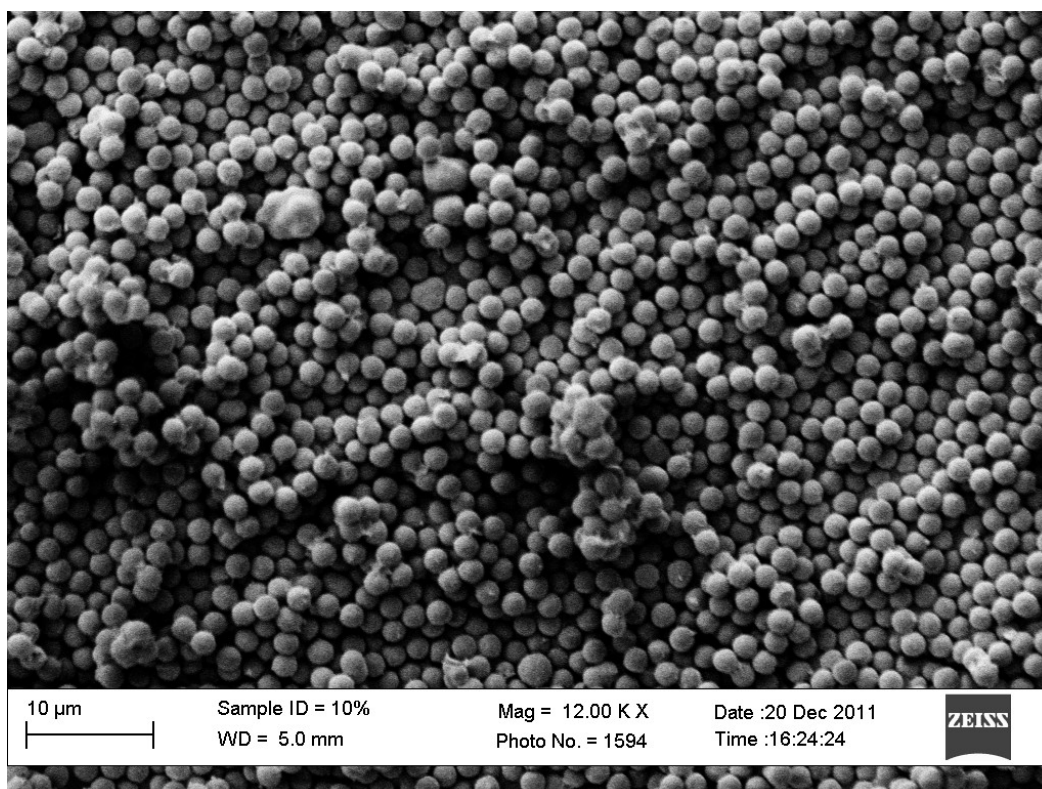
სურათი 9: 2,6 მკმ ნომინალური ზომის მქონე ზედაპირულად ფორიანი გლუვი სილიკაგელის ნაწილაკები ქირალური სელექტორით დაფენამდე

ამ სურათზე ჩანს რამდენად ერთგვაროვანია ზედაპირულად ფორიანი გლუვი სილიკატების ნაწილაკები.



სურათი 10:
ზედაპირულად
ფორიანი გლუვი
სილიკატების
ნაწილაკები 5%
ქირალური
სელექტორით
დაფენის შემდეგ

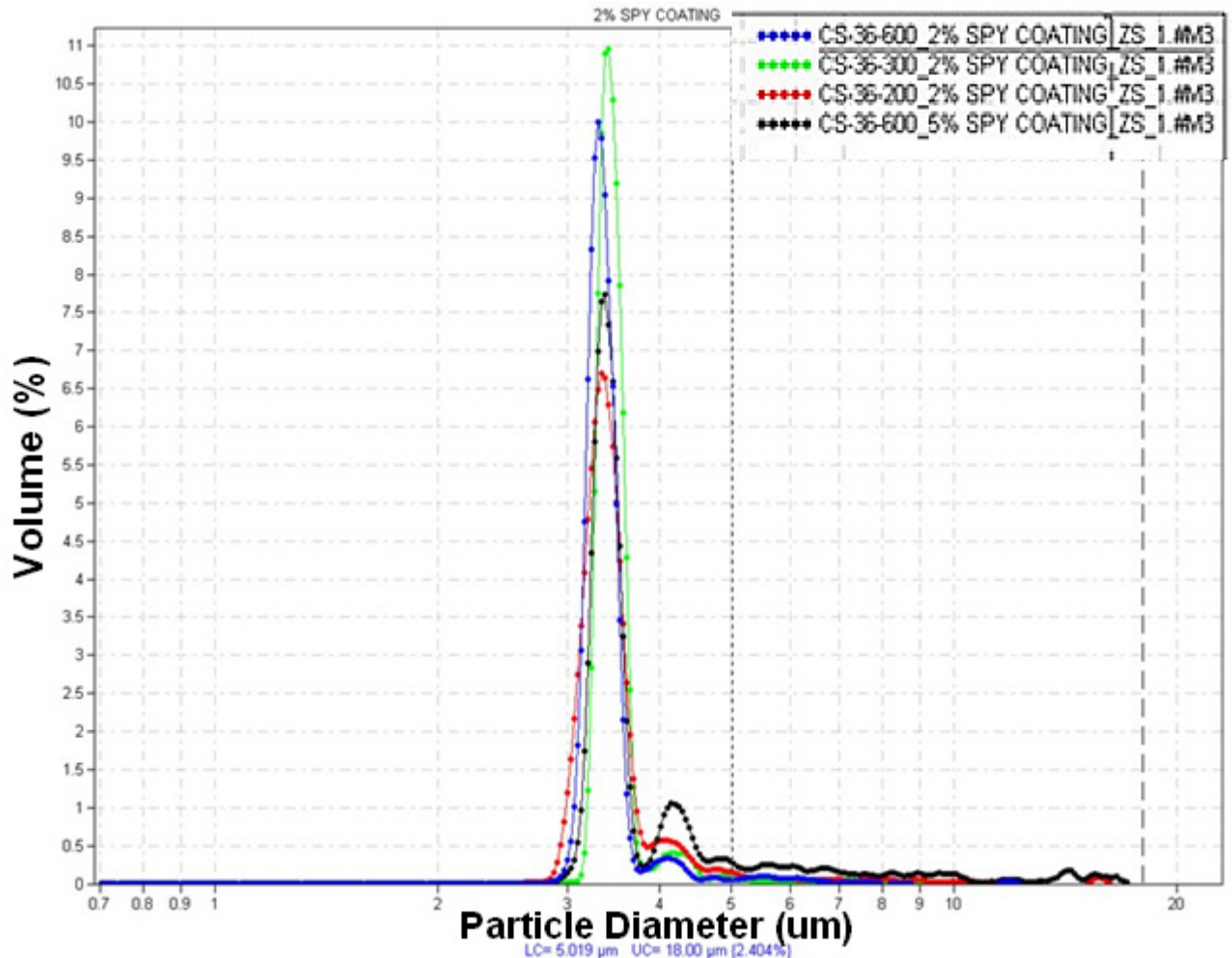
სურათზე ჩაბს, რომ ადგილი აქვს ნაწილაკთა აგრეგაციების წარმოქმნას.



სურათი 11:
ზედაპირულად
ფორიანი გლუვი
სილიკატების
ნაწილაკები 10%
ქირალური
სელექტორით
დაფენის შემდეგ

სურათზე ჩანს რომ ქირალური სელექტორის 10%-ით დაფენისას ნაწილაკთა აგრეგაციების წარმოქმნა გაცილებით ხშირია და ეს ფაზა მაღალი უკუწნევის გამო გამოუსადეგარია ქრომატოგრაფიული სვეტების მოსამზადებლად.

ზედაპირულად ფორიანი გლუვი სილიკაგელის შემთხვევაში ფორების ზომების განაწილება ვიწროა, რაც ჩანს ფორის ზომების ანალიზით მიღებულ შედეგზე



ნახ. 16: სილიკაგელის ფორის ზომების განაწილება ზედაპირულად ფორიანი გლუვი 3.6 მიკრომეტრი ზომის სილიკაგელის ნაწილაკებისთვის.

ნაწილაკების ზომების და სილიკაგელის ფორის ზომის ერთგვაროვნება, რომლებიც ნათლად ჩანს სურათი 9 და ნახაზი 16-ზე უზრუნველყოფს დიფუზიის მოკლე გზას, რაც თავის მხრივ მკვეთრად ამცირებს პიკის გაგანიერებას და ზრდის სვეტის ეფექტურობას.

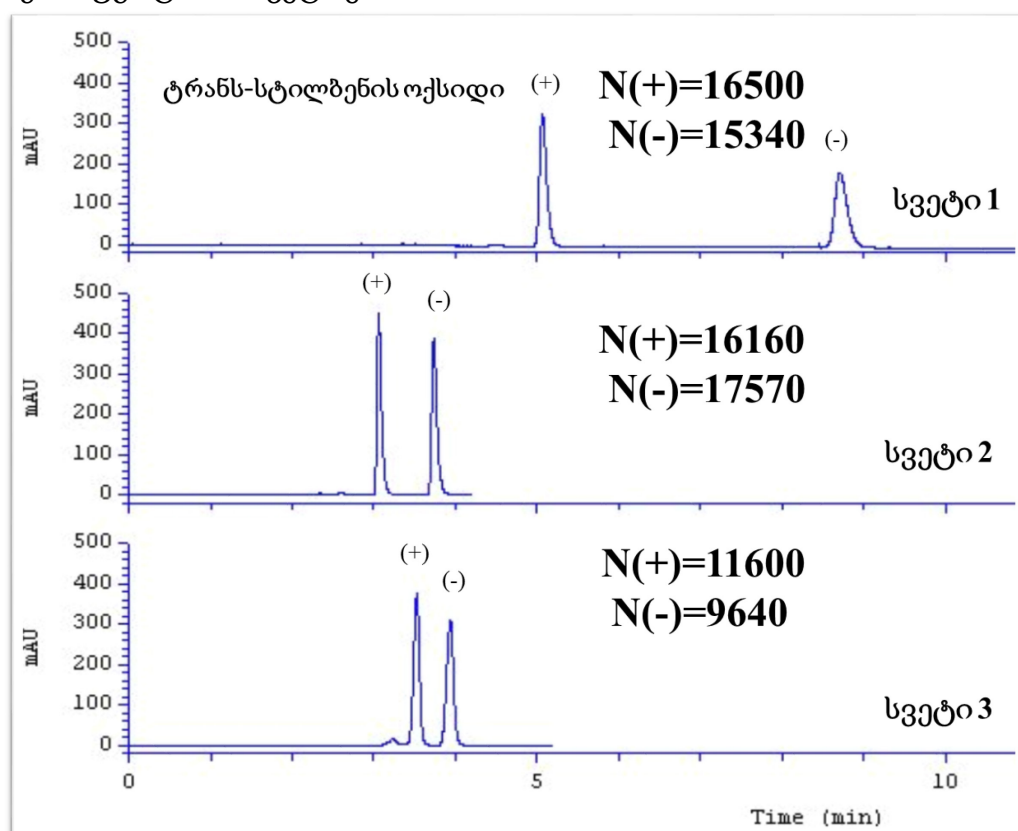
ზემოთ აღნიშნული სამი ქირალური ნივთიერების ენანტიომერების ანალიზი ჩატარდა Knauer-ის მაღალეფექტურ სითხურ ქრომატოგრაფზე, მოძრავ ფაზად გამოყენებული იყო ნ-ჰექსანი-იზოპროპანოლი 9/1 მოცულობითი ფარდობით, ნიმუშები გაიხსნილი იყო მოძრავ ფაზაში 0,2 მგ/მლ კონცენტრაციით. რადგანაც ეს ხელსაწყო არ იყო ოპტიმიზირებული ასეთ სვეტებთან სამუშაოდ, შედეგები გადამოწმდა Agilent 1200 სერიის მაღალეფექტურ სითხურ ქრომატოგრაფზე.

დაყოფის სელექტიურობა სამივე ნივთიერებისათვის როგორც მოსალოდნელი იყო, ყველაზე მაღალი იყო კომერციულ სვეტზე, რადგანაც ქირალური სელექტორის შემცველობა ამ სვეტში 20%-ია. შედეგები მოცემულია ცხრილი 3-ში:

საანალიზო ნივთიერება	სვეტი 1 ($t_0=3.06$)	სვეტი 2 ($t_0=2.61$)	სვეტი 3 ($t_0=3.00$)
ტრანს-სტილბენის ოქსიდი	2.85	2.47	1.84
ბენზოინი	1.33	1.27	1.20
2,2'-დიჰიდროქსი-6,6'- -დიმეთილბიფენილი	1.27	1.22	1.15

ცხრილი 3 საანალიზო ნივთიერებების სელექტიურობა (α) და მკვდარი მოცულობა t_0 კომერციულ (სვეტი 1) ზფეს (სვეტი 2) და ფორიანი სილიკაგელის (სვეტი 3) ექსპერიმენტულ სვეტებზე

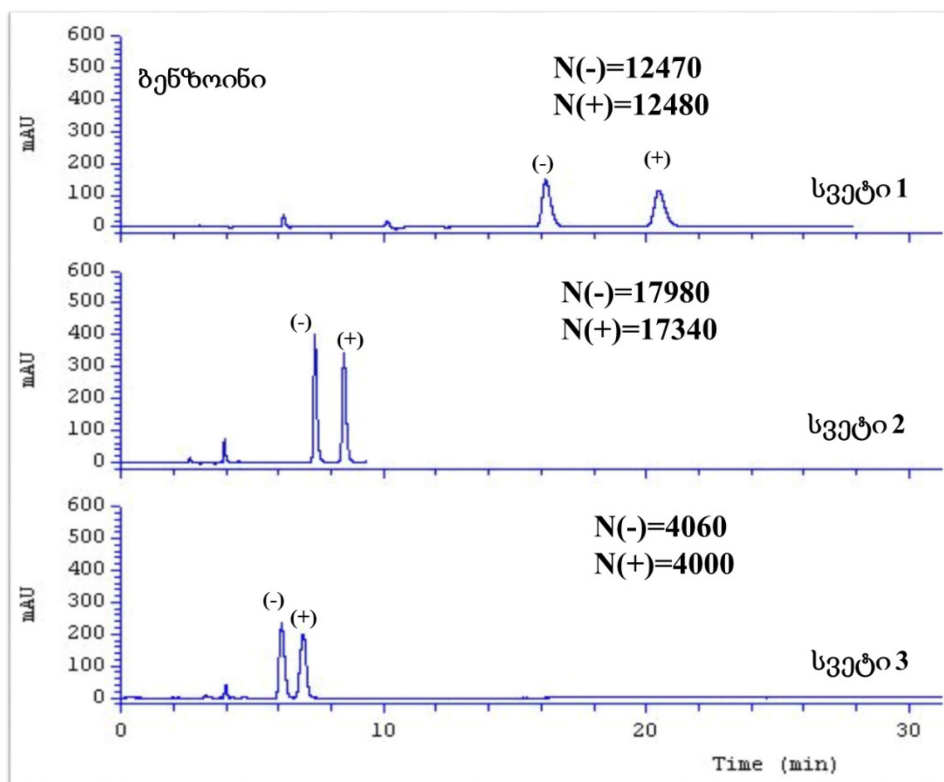
თუმცა, ზფეს ტიპის ექსპერიმენტულ სვეტს აღმოაჩნდა ყველაზე მცირე მკვდარი მოცულობა (t_0) სამივე სვეტს შორის. ასევე ქირალური სელექტორის მაღალი შემცველობა ნეგატიურ გავლენას ახდენს მასის გადატანაზე, ამიტომ ექსპერიმენტული ქრომატოგრამებიდან გამოთვლილი თეორიული თევშების რიცხვი ყოვეთვის მაღალი იყო ზფეს ტიპის სვეტზე.



ნახ. 17: ტრანს-სტილბენის ოქსიდის ქრომატოგრამები და თეორიული თევშების რიცხვი კომერციულ (სვეტი 1) ზფეს (სვეტი 2) და ფორიანი სილიკაგელის (სვეტი 3) ექსპერიმენტულ სვეტებზე. [75; 149-152] ეფექტურობა გაზრდილია დაახლოებით 13%-ით კომერციულ სვეტთან შედარებით $N(-)$, ხოლო ელუირების სიჩქარე 2,5-ჯერ, ასევე ნაკლებია პიკის გაგანიერება.

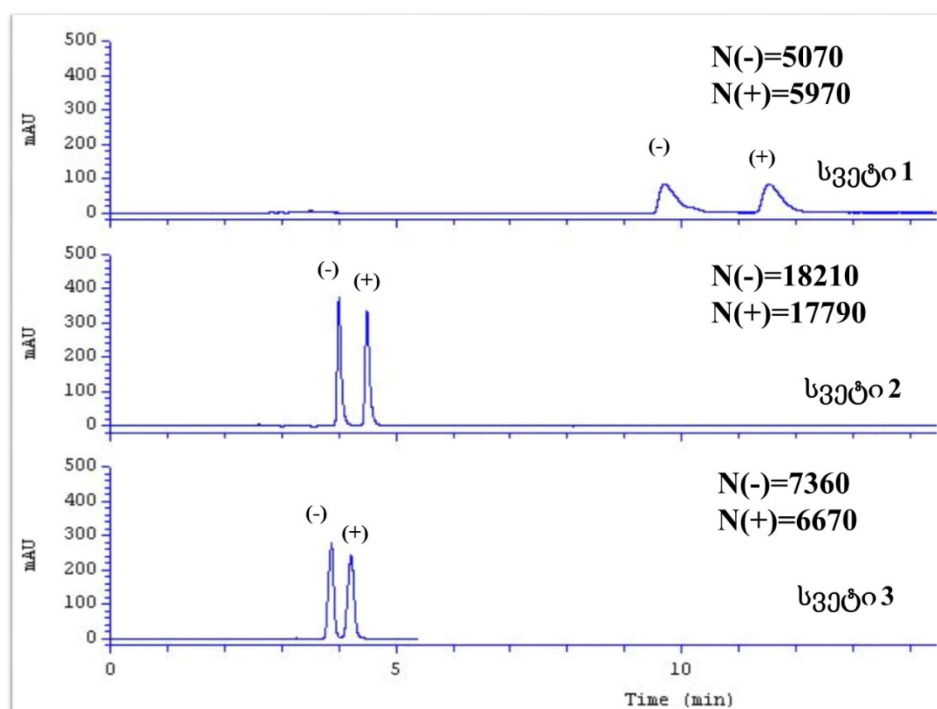
$N(+)$ და $N(-)$ – თეორიული თევშების რიცხვი (+) და (-) ენანტიომერისთვის

(+) და (-) - ენანტიომერების ნომენკლატურა პოლარიზებული სინათლის მობრუნების კუთხის ნიშნის მიხედვით



ნახ 18: ბენზოინის ქრომატოგრამები და თეორიული თევშების რიცხვი კომერციულ (სვეტი1) ზფგს (სვეტი2) და ფორიანი სილიკაგელის (სვეტი 3) ექსპერიმენტულ სვეტებზე. [75; 149-150]

ეფექტურობის ზრდა კომერციული სვეტის მიმართ 30%-ია, ხოლო ელუირების სიჩქარე 2-ჯერ ნაკლებია სვეტი 2-ზე.



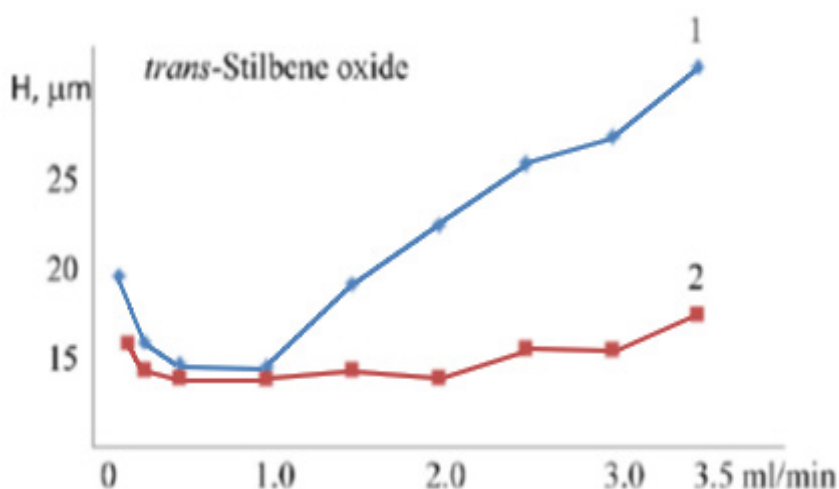
ნახ. 19: 2,2'-დიჰიდროქსი -6,6'-დიმეთილბიფენილის ქრომატოგრამები და თეორიული თევშების რიცხვი კომერციულ (სვეტი1) ზფგს (სვეტი2) და ფორიანი სილიკაგელის (სვეტი 3) ექსპერიმენტულ სვეტებზე. [75; 151-152]

კომერციულ სვეტთან შედარებით, ეფექტურობის ზრდა 80%-ია, ხოლო ელუირების დრო დაახლოებით 3-ჯერ ნაკლებია სვეტი 2-ზე.

ყველაზე მნიშვნელოვანი შედეგი ამ კვლევაში იყო ის, რომ ზფგს-ზე დაფენილ ქირალურ სელექტორს ჰქონდა ყველაზე მაღალი თეორიული თეფშების რიცხვი მიუხედავად მასში ქირალური სელექტორის შედარებით მცირე შემცველობისა, ასევე მნიშვნელოვანია თეორიული თეფშების რიცხვებს შორის განსხვავება ექსპერიმენტული ზფგს ტიპის და ტრადიციული სილიკაგელის სვეტებზე, ნაწილობრივ ეს შეიძლება აიხსნას იმ ფაქტით, რომ ზფგს ტიპის სვეტზე შედარებით მეტია ქირალური სელექტორის შემცველობა ვიდრე ტრადიციულ სვეტზე: 6,8% და 5,6%-შესაბამისად, თუმცა მხოლოდ 1,2%-იანი განსხვავება ქირალური სელექტორის რაოდენობაში ვერ მოგვცემდა ექსპერიმენტულად დადგენილ სხვაობას თეორიული თეფშების რაოდენობაში. უფრო სავარაუდოა ის ფაქტი, რომ ზფგს-ზე დაფენილი ქირალური სელექტორი უფრო ხელმისაწვდომია საანალიზო ნივთიერების მოლეკულებისათვის, ვიდრე ტრადიციულ სილიკაგელზე დაფენილი ქირალური სელექტორი.

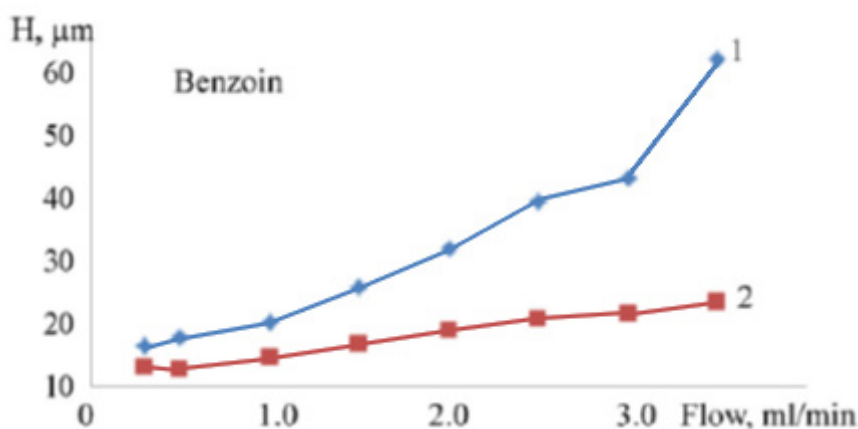
ექსპერიმენტული მონაცემებიდან ვან-დეემტერის მრუდების აგების შედეგად აღმოჩნდა, რომ მაგალითად, ტრანს-სტილბენის ოქსიდისთვის მოძრავი ფაზის ოპტიმალური სიჩქარე ახლოსაა კომერციული და ზფგს ტიპის ექსპერიმენტული სვეტისათვის, თუმცა ზფგს ტიპის სვეტის შემთხვევაში ოპტიმალური სიჩქარის ზღვარი გაცილებით დიდია.

ზფგს ტიპის სვეტის უპირატესობა აშკარად გამოიკვეთა ანალიზების მოძრავი ფაზის მაღალ სიჩქარეზე ჩატარებისას, როგორც წესი, ანალიზის სიჩქარის გაზრდისას თეორიული თეფშების სიმძლევ ექსპონენციალურად იზრდება, შესაბამისად ასევე იკლებს სვეტის ეფექტურობა, თუმცა ზფგს ტიპის სვეტის შემთხვევაში ანალიზის სიჩქარის გაზრდისას თეორიული თეფშების სიმძლევ გაცილებით ნელა იზრდებოდა, რაც საშუალებას იძლევა ჩატარდეს ანალიზები მაღალ სიჩქარეზე ეფექტურობის მინიმალური დანაკარგით.



ნახ. 20: ვან დეემტერის მრუდები კომერციული (1) და ექსპერიმენტული ზფგს ტიპის (2) სვეტებისთვის ტრანს-სტილბენის ოქსიდისთვის. [75; 151]

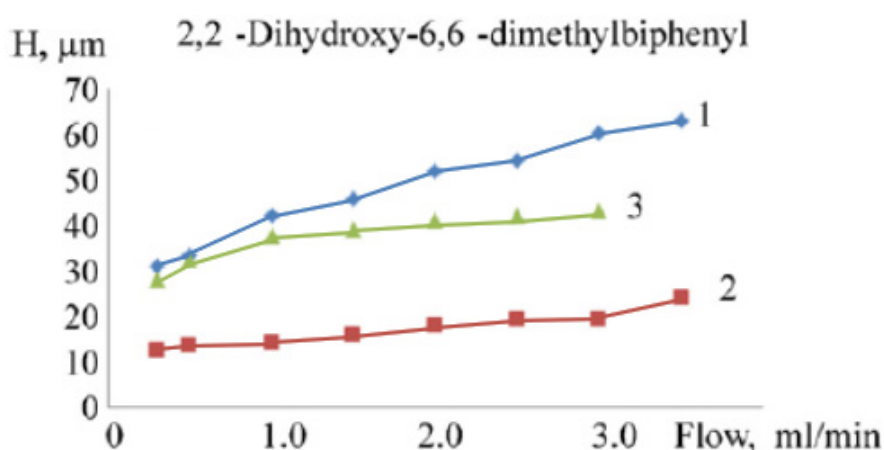
ნახაზიდან ჩანს, რომ ოპტიმალური სიჩქარის 3,5-ჯერ გაზრდით, კომერციულ სვეტზე (1) თეორიული თევშების სიმაღლე დაახლოებით 2-ჯერ გაიზარდა, ხოლო ზფგს სვეტზე უმნიშვნელოდ.



ნახ. 21: ვან დეემტერის მრუდები

კომერციული (1) და ექსპერიმენტული ზფგს ტიპის (2) სვეტებისთვის ბენზოინისთვის.[75; 151]

ბენზონის შემთხვევაში ოპტიმალური სიჩქარის 3,5-ჯერ გაზრდით დაახლოებით 2-ჯერ გაიზარდა თეორიული თევშების სიმაღლე ზფგს სვეტზე (2), ხოლო კომერციულ სვეტზე (1) დაახლოებით 4-ჯერ.



ნახ. 22: ვან დეემტერის მრუდები კომერციული (1), ექსპერიმენტული ზფგს ტიპის (2) და ტრადიციული სილიკაგელის (3) სვეტებისთვის 2,2'-დიჰიდროქსი-6,6'-დიმეთილბიფენილისთვის. [75; 151]

2,2'-დიჰიდროქსი-6,6'-დიმეთილბიფენილისთვის მოძრავი ფაზის გაზრდით უმნიშვნელოდ გაიზარდა თეორიული თევშების სიმაღლე ზფგს სვეტისთვის (2) ხოლო კომერციული სვეტისთვის(1) დაახლოებით 2,5-ჯერ. ასევე აღსანიშნავია ის ფაქტი, რომ ზფგს სვეტისთვის თეორიული თევშების სიმაღლე გაცილებით მცირეა ვიდრე კომერციული და ექსპერიმენტული (3) ფორიანი სილიკაგელის სვეტებისთვის.

შედეგებიდან ჩანს, რომ ზფგს ტიპის სვეტებზე მოძრავი ფაზის სიჩქარის 3,5-ჯერ გაზრდისას, თეორიული თევშების სიმაღლე იზრდება მაქსიმუმ 2-ჯერ, ხოლო კომერციულ სვეტებზე კი მაქსიმალური ზრდა 5-ჯერადია.

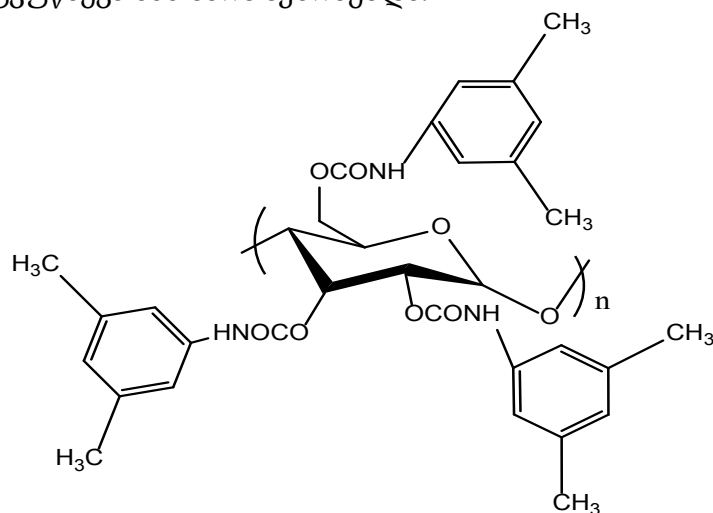
ეს შედეგები ნათლად აჩვენებს ზფგს ტიპის სვეტების პოტენციალს და უპირატესობას ტრადიციული ფორიანი სილიკაგელის სვეტებთან შედარებით განსაკუთრებით ანალიზის მაღალ სიჩქარეებზე. მაღალია თეორიული თევშების

რიცხვი, მცირე ენანტიომერების შეკავების დრო და სვეტის ეფექტურობა ნაკლებადაა დამოკიდებული მოძრავი ფაზის ნაკადის ხაზოვან სიჩქარეზე.

3.2.2. 1.7 მიკრომეტრი (მკმ) ზფგს ნაწილაკებით მომზადებული ქირალური სვეტების შეფასება

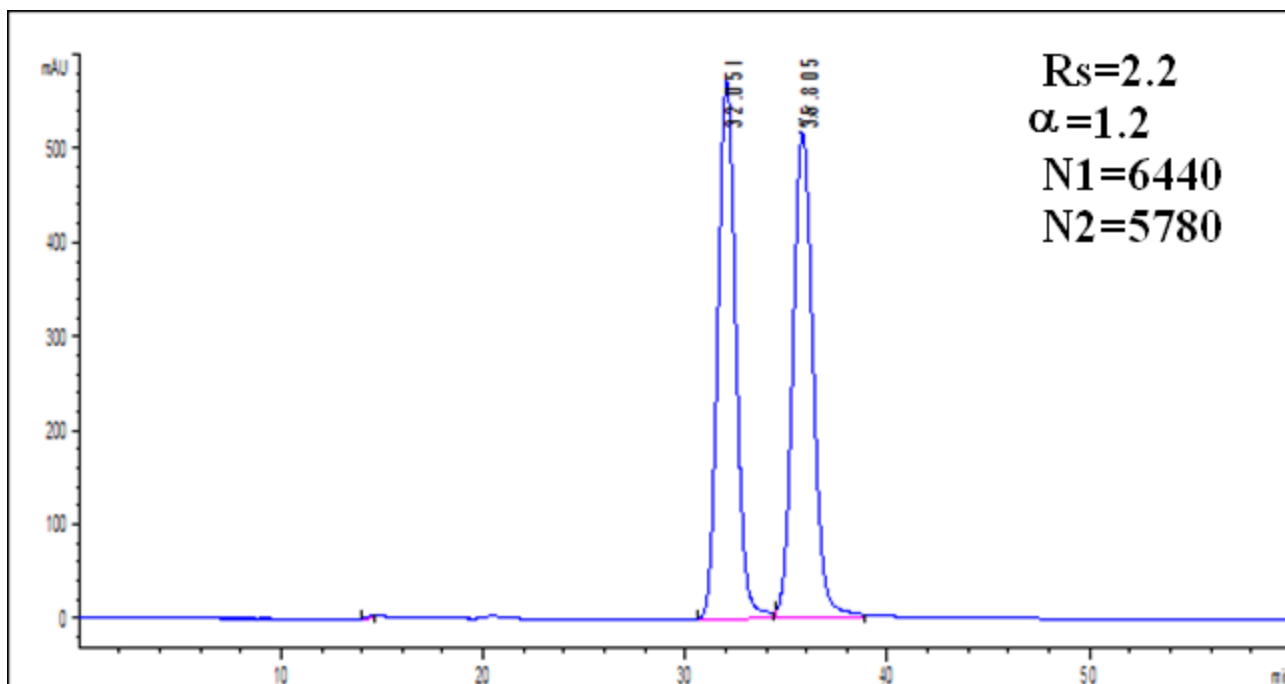
სულ რამდენიმე შრომაა გამოქვეყნებული 2 მკმ-ზე მცირე ნაწილაკებით მომზადებული ქირალური სვეტების გამოყენებაზე, თუმცა აქამდე გამოყენებული არ ყოფილა ზედაპირულად ფორიანი გლუვი სილიკაგელის ნაწილაკები ე.წ სუბ-2მკმ-იან სვეტებზე. ზფგს ტიპის სვეტებს აქვთ ნაკლები უკუწნევა და შესაბამისად ეს სვეტები შეიძლება გამოყენებული იქნას სტანდარტულ მაღალეფექტურ სითხურ ქრომატოგრაფზე. ექსპერიმენტისთვის 1,7 მკმ ზფგს ნაწილაკებზე მოხდა ქირალური სელექტორის, ამილოზა ტრის(3,5-დიმეთილფენილკარბამატის) დაფენა 2 და 5% მასური შემცველობით, სტაციონარული ფაზა ჩაიტვირთა 100მმX4.6მმ ზომის უჟანგავი ფოლადის სვეტებში და შესწავლილი იქნა მისი თვისებები ტრანს-სტილბინის ოქსიდის და ბენზოინის ენანტიომერების დასაყოფად.

ანალიზები ჩატარებული იქნა Agilent 1220 სერიის მაღალეფექტურ სითხურ ქრომატოგრაფზე. აღმოჩნდა, რომ 2%-იანი დაფენის სვეტზე შესაძლებელი იყო მოძრავი ფაზის მაქსიმუმ 3 მლ/წთ სიჩქარეზე ანალიზები, რადგანაც უფრო მაღალ სიჩქარეზე უკუწნევა აჭარბებდა დაშვებულ 600 ბარს, ხოლო 5%-იანი დაფენის სვეტზე მოძრავი ფაზის მაქსიმალური ნაკადის სიჩქარე იყო 0,8 მლ/წთ, უფრო მაღალ სიჩქარეზე უკუწნევა 600 ბარს აჭარბებდა.

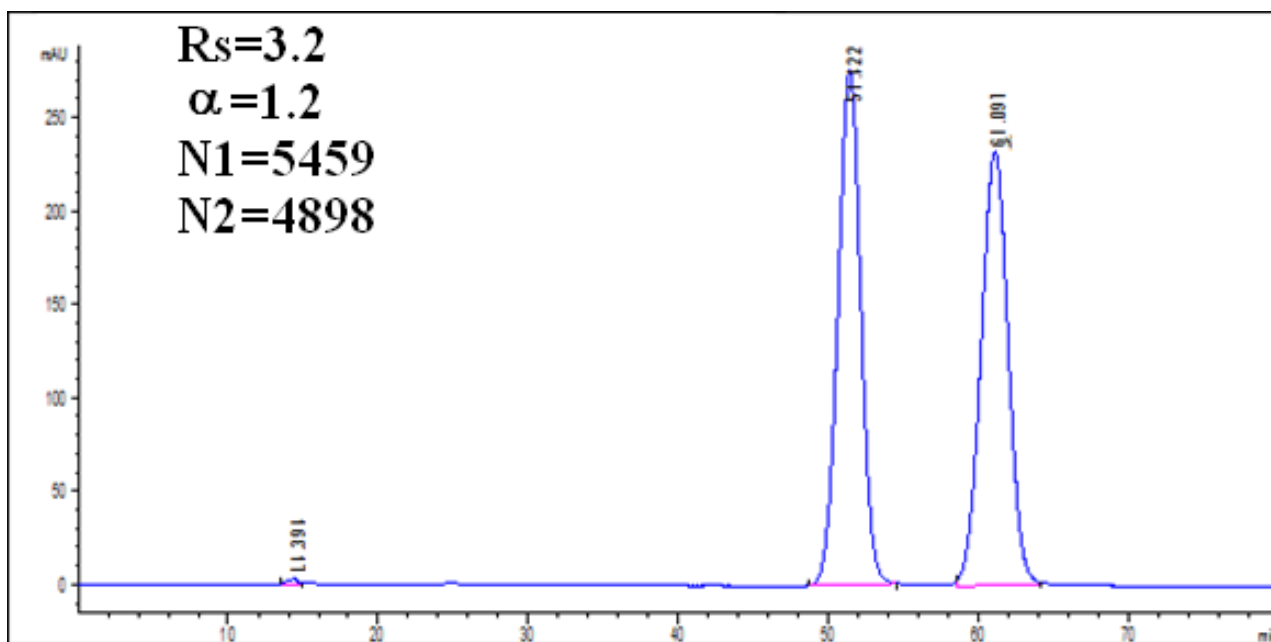


ნახ. 23: ამილოზა ტრის-
-(3,5-დიმეთილფენილკარბამატი).
(ADMPC; SP6)

0,1 მლ/წთ სიჩქარეზე 2%-იანი დაფენის სვეტზე ბენზოინის ენანტიომერების დაყოფას დასჭირდა 40 წთ, ხოლო 5%-იანი დაფენის სვეტზე 65 წუთი



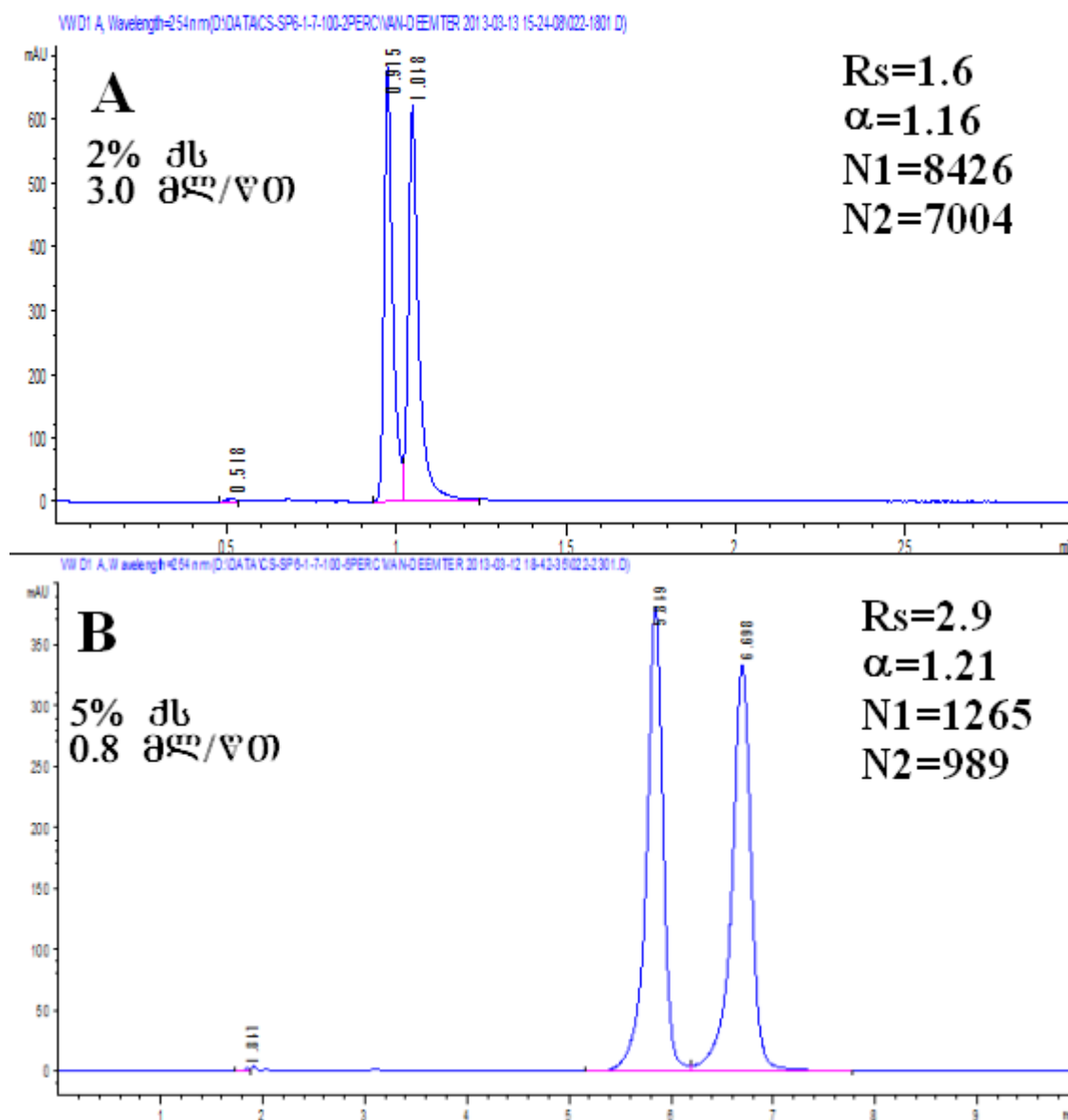
ნახ. 24: ბენზოინის ენანტიომერების დაყოფა 2% ქირალური სელექტორის შემცველ სვეტზე 0,1მლ/წთ ნაკადის სიჩქარეზე.



ნახ. 25: ბენზოინის ენანტიომერების დაყოფა 5% ქირალური სელექტორის შემცველ სვეტზე 0,1მლ/წთ ნაკადის სიჩქარეზე.

როგორც ქრომატოგრამებიდან ჩანს, 2% ქირალური სელექტორის შემცველ სვეტზე ნაკლებია ელუირების დრო, (40 და 65 წუთი შესაბამისდ) მაგრამ 5% ქს-ს შემცველ სვეტს აქვს უფრო მაღალი გარჩევადობა, თუმცა სელექტიურობა თანაბარია, ხოლო თეორიული თევშების რიცხვი 2%-იან ქს-ს შემცველ სვეტზე შედარებით მაღალია.

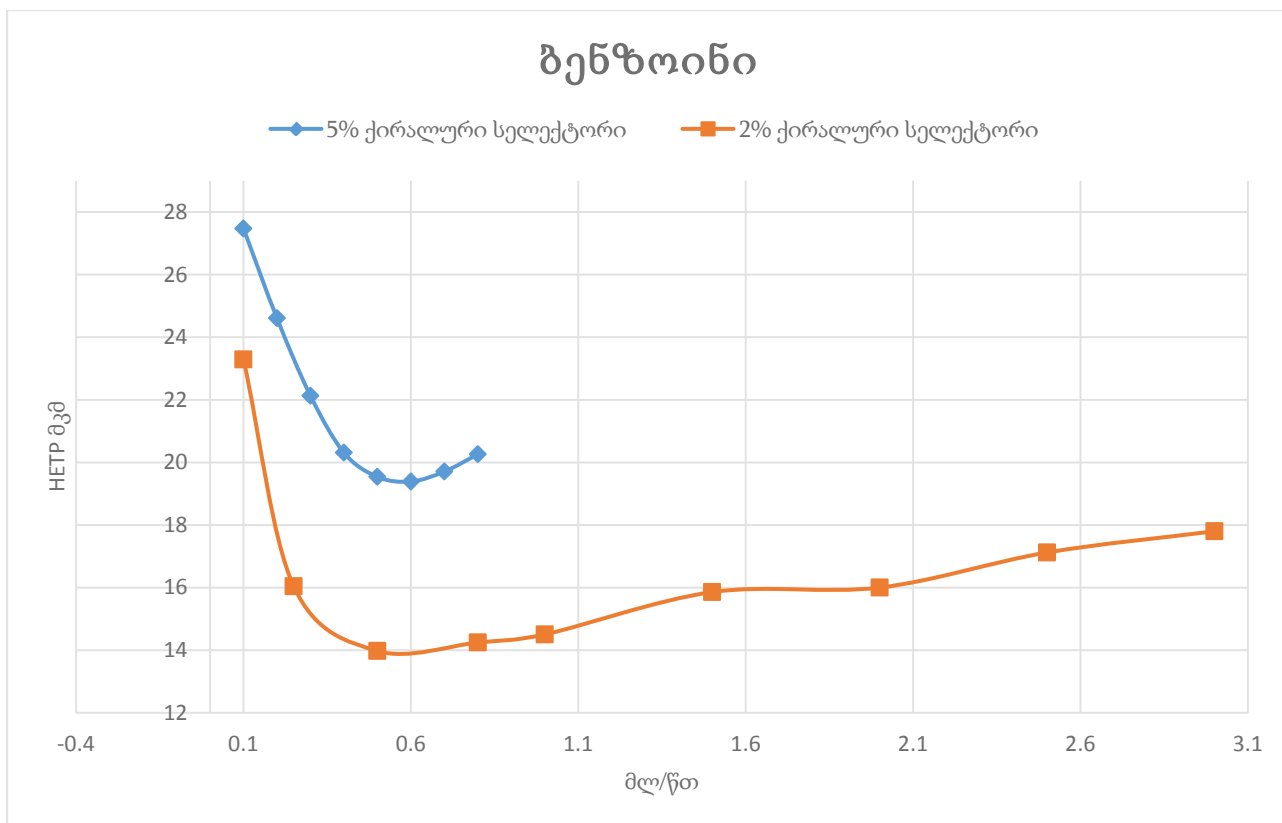
ნაკადის მაქსიმალურ შესაძლო მნიშვნელობებზე, რომლებიც შეადგენდა 2 და 5%-იანი დაფენის სვეტებისთვის 3,0 და 0,8 მლ/წთ შესაბამისად, ანალიზებს დასჭირდა 1,3 და 7,5 წთ



ნახ. 26: ბენზოინის ენანტიომერების დაყოფა A: 2% ქირალური სელექტორის შემცველ სვეტზე 3,0 მლ/წთ ნაკადის სიჩქარეზე და B: 5% ქს შემცველ სვეტზე 0,8 მლ/წთ ნაკადის სიჩქარეზე

5% ქს შემცველ სვეტზე მოძრავი ფაზის 0,8 მლ/წთ სიჩქარეზე უკვე მიღწეული იყო ხელსაწყოსთვის მაქსიმალური დასაშვები წნევა 600 ბარი, ხოლო 2% ქს შემცველ სვეტზე ეს ზღვარი 3 მლ/წთ სიჩქარეზე იქნა მიღწეული. სვეტის უკუწნევენს შორის ასეთი სხვაობა გამოწვეულია ზფეს ნაწილაკთა აგრეგაციების წარმოქმნის გამო მათი ქს-ით დაფარვისას, რაც ნაჩვენებია სურათი 10-ზე.

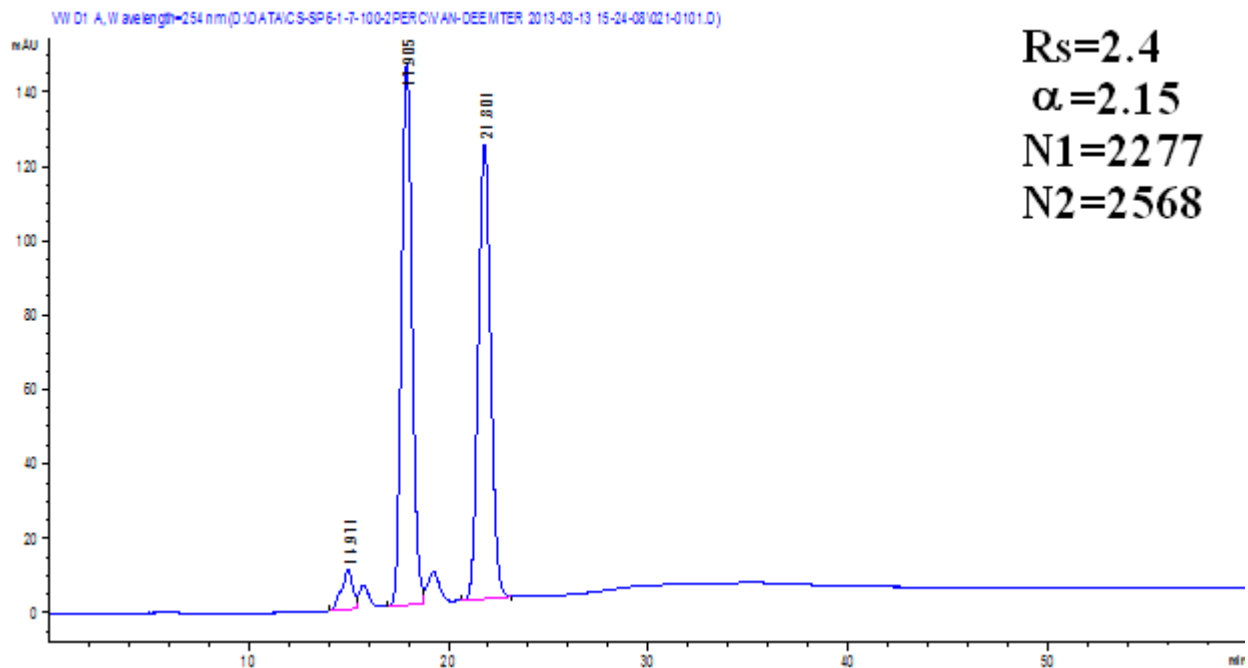
ვან-დეემტერის მრუდებზე ჩანს, რომ 2%-იანი სვეტისთვის სიჩქარის გაზრდით მაქსიმალურ მნიშვნელობაზე თეორიული თევშების სიმაღლე უმნიშვნელოდ იზრდება.



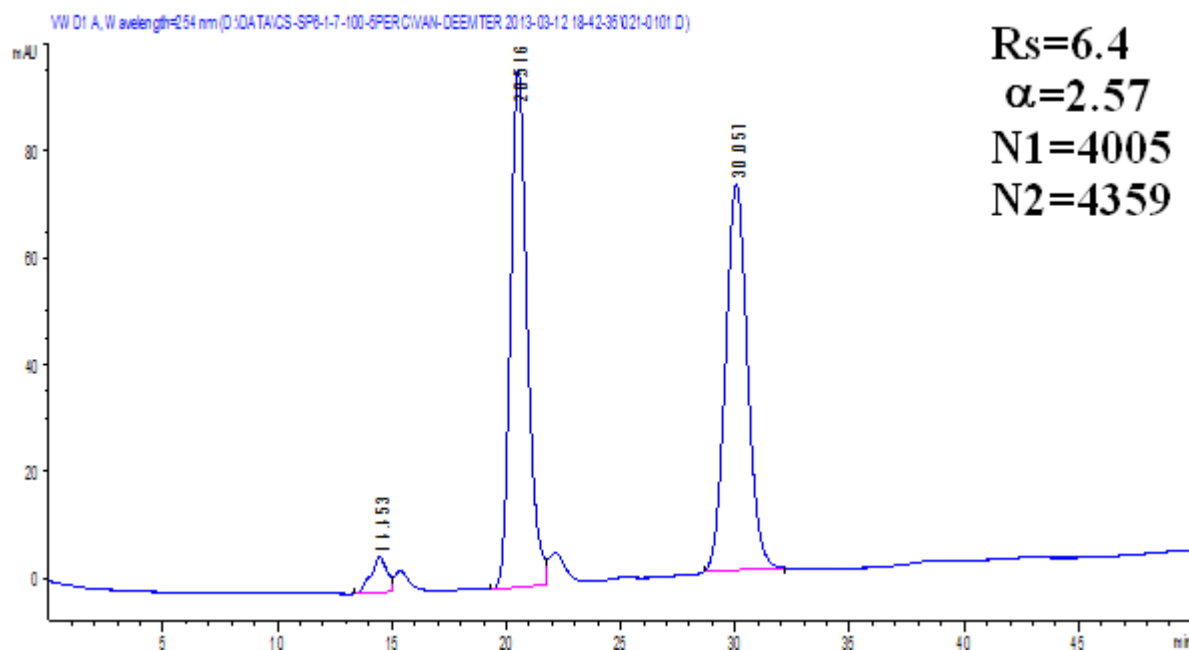
ნახ. 27: ვან-დეემტერის მრუდები ბენზოინისთვის 2 და 5%-იანი დაფენის სვეტებზე.

როგორც ნახაზიდან ჩანს, 2% ქს-ს შემცველ სვეტზე ოპტიმალური ნაკადის (0,5 მლ/წთ) 6-ჯერ გაზრდით თეორიული თეფშების სიმადლე გაიზარდა უმნიშვნელოდ- 14 დან 18 მიკრომეტრამდე, შესაბამისად, ამ სვეტით შესაძლებელია ჩატარდეს სწრაფი ანალიზები სტანდარტული მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფის გამოყენებით და არ საჭიროებს ძვირადღირებულ ზე-მაღალეფექტურ სითხურ ქრომატოგრაფებს, რადგან სვეტის უკუწნევა 600 ბარზე ნაკლებია რაც განპირობებულია ზფგს ნაწილაკების გამოყენებით.

მსგავსი შედეგები დაფიქსირდა ტრანს-სტილბენის ოქსიდის ენანტიომერების დაყოფის დროსაც, 0,1 მლ/წთ სიჩქარეზე 25 წთ 2%-იანი დაფენის სვეტისთვის და 33 წთ 5%-იანი დაფენის სვეტისთვის, ხოლო 3,0 მლ/წთ სიჩქარეზე 0,8წთ 2%-იანი დაფენის სვეტისთვის



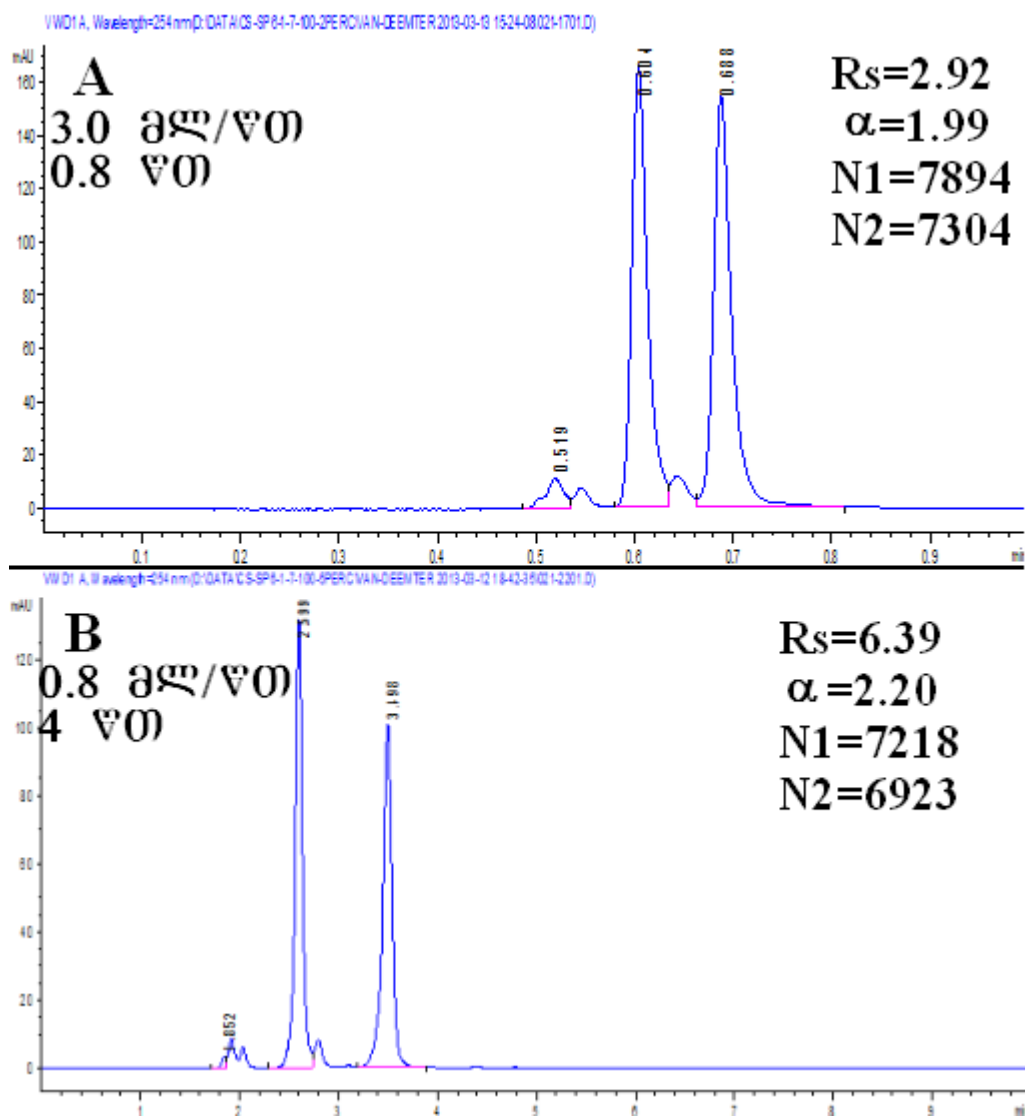
ნახ. 28: ტრანს-სტილბენის ოქსიდის ენანტიომერების დაყოფა 2% ქირალური სელექტორის შემცველ სვეტზე 0,1მლ/წთ ნაკადის სიჩქარეზე.



ნახ. 29 : ტრანს-სტილბენის ოქსიდის ენანტიომერების დაყოფა 5% ქირალური სელექტორის შემცველ სვეტზე 0,1მლ/წთ ნაკადის სიჩქარეზე.

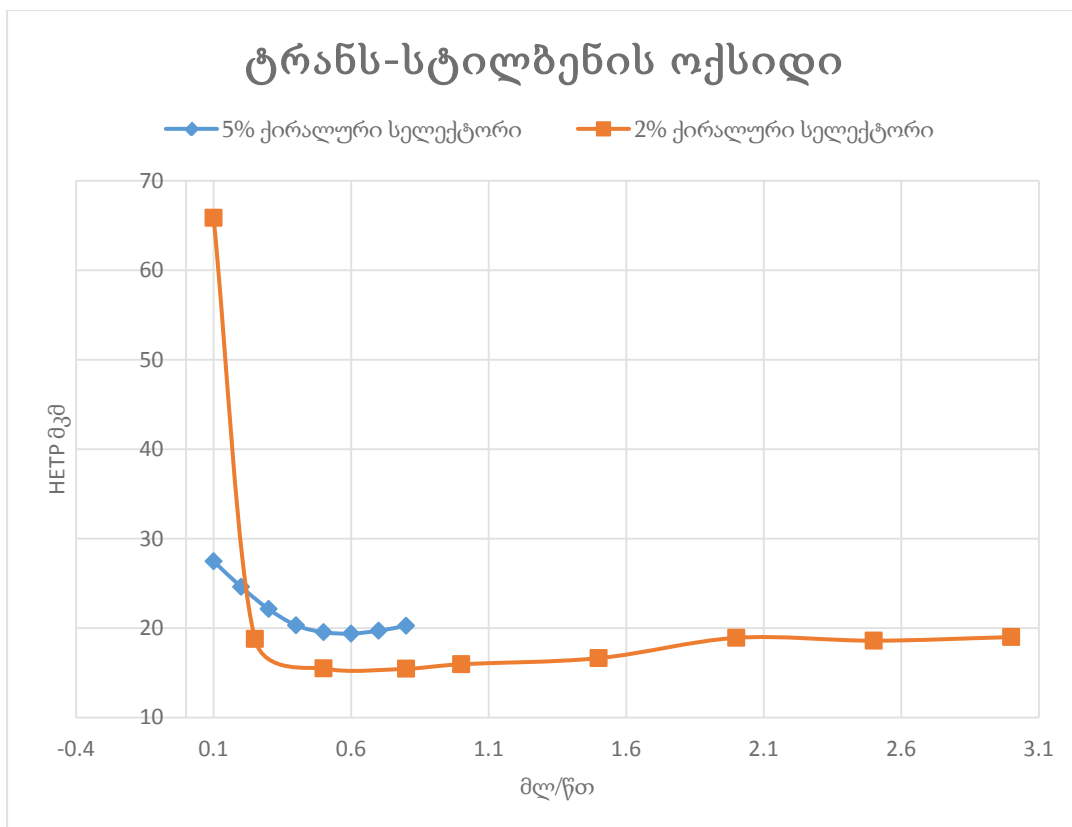
ბენზოინის მსგავსად, 2% ქირალური სელექტორის შემცველ სვეტზე ნაკლებია ელუირების დრო, (24 და 36 წუთი შესაბამისდ) მაგრამ 5% ქს-ს შემცველ სვეტს აქვს უფრო მაღალი გარჩევადობა და სელექტიურობაც.

თეორიული თეფშების რიცხვი 5%-იან ქს-ს შემცველ სვეტზე დაახლოებით 2-ჯერ მაღალია.



ნახ. 30: ტრანს-სტილბენის ოქსიდის ენანტიომერების დაყოფა A: 2% ქირალური სელექტორის შემცველ სვეტზე 3,0 მლ/წთ ნაკადის სიჩქარეზე და B: 5% ქს შემცველ სვეტზე 0,8 მლ/წთ ნაკადის სიჩქარეზე

როგორც ქრომატოგრამებიდან ჩანს, 2% ქს-ს შემცველ სვეტზე შესაძლებელია ტრანს-სტილბენის ოქსიდის ენანტიომერების ფუძისეული დაყოფა 1 წუთზე ნაკლებ დროში.



ნახ. 31: ვან-დეემტერის მრუდები ტრანს-სტილბენის ოქსიდისთვის 2 და 5%-იანი დაფენის სვეტებზე.

ბენზოინის ანალოგიურად, ტრანს-სტილბენის ოქსიდისთვისაც მოძრავი ფაზის სიჩქარის 5-ჯერ და მეტჯერ გაზრდით თეორიული თეფშების სიმალლე უმნიშვნელოდ იზრდება, რაც საშუალებას გვაძლევს 1 წუთზე ნაკლებ დროში მოვახდინოთ მისი ენანტიომერების ფუძისეული დაყოფა სტანდარტულ სითხურ ქრომატოგრაფზე.

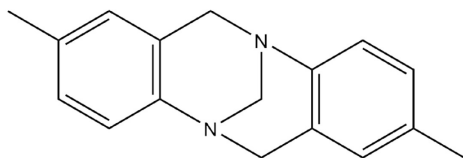
3.2.3 ზფგს ნაწილაკის და ფორების ზომების ოპტიმიზაცია

სარჩულის ნაწილაკების შემდგომი ოპტიმიზაციის მიზნით ჩატარდა ექსპერიმენტი ცელულოზა ტრის(3,5-დიმეთილფენილკარბამატის) (SP1; ნახ. 4) და ამილოზა ტრის(3,5 დიმეთილფენილკარბამატის) (SP6 ნახ. 23) გამოყენებით. ქირალური სელექტორები დაფენილი იქნა ზფგს-ზე რომლის დიამეტრი იყო 2,8 მკმ და ფორების ზომა 300 Å, შესადარებლად ასევე SP1 და SP6 ქირალური სელექტორები დაფენილი იქნა 3 მკმ ნაწილაკის ზომის და 300 Å ფორის ზომის ტრადიციულ მთლიანდ ფორიან სილიკაგელზე.

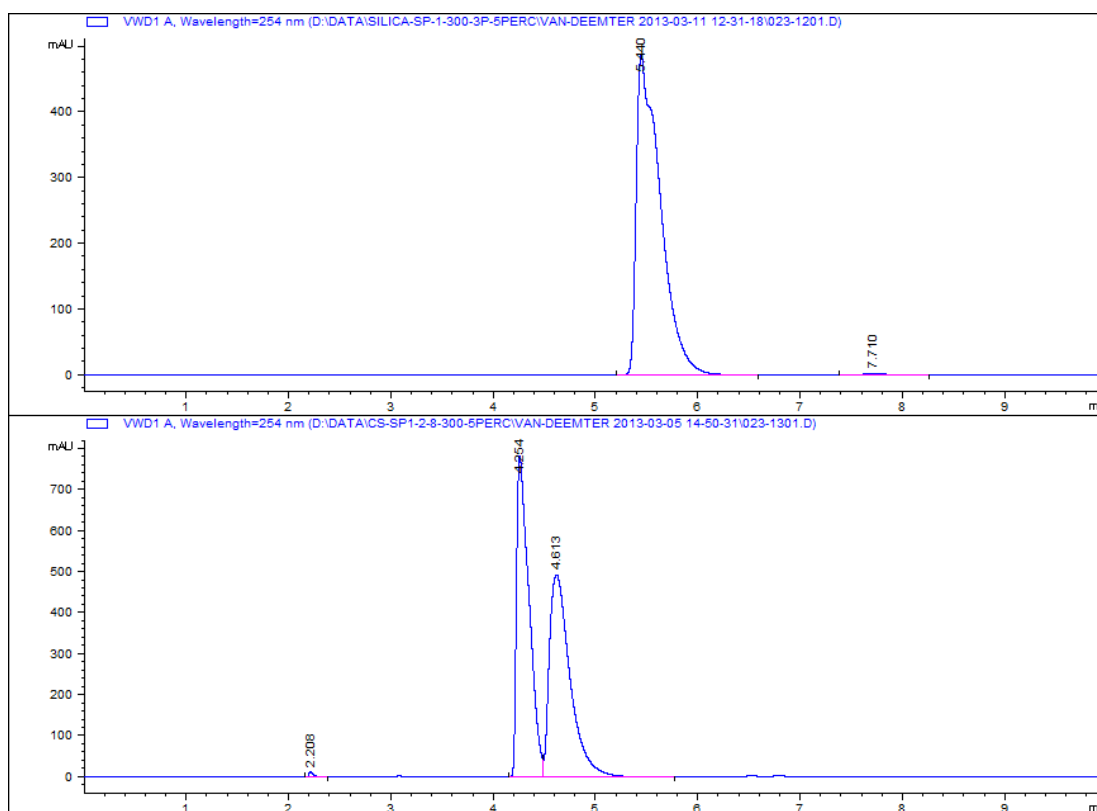
SP1 სელექტორის შემთხვევაში, მოხდა 5%-იანი დაფენა და ფაზა ჩაიტვირთა 150მმX4,6მმ ზომის სვეტებში, საანალიზოდ აღებული იყო ტრანს-სტილბენის ოქსიდი (ნახ. 15), ბენზოინი (ნახ.15) და ტროგერის ფუძე (ნახ. 32). ზფგს-ს სვეტზე უკუწნევა გაცილებით დაბალი იყო ვიდრე ტრადიციული სილიკაგელის სვეტზე, რის გამოც ზფგს სვეტზე ანალიზების უფრო მაღალი სიჩქარით ჩატარება გახდა შესაძლებელი.

მოძრავ ფაზად გამოყენებული იყო ჰექსანი იზოპროპანოლი 80/20% მოცულობითი ფარდობით. ანალიზები ჩატარდა Agilent 1220 სერიის ქრომატოგრაფზე.

საინტერესო შედეგი დაფიქსირდა ტროგერის ფუძის ენანტიომერების დაყოფისას, როდესაც ზფგს სვეტზე აღნიშნული ნივთიერების ენანტიომერები დაიყო, ხოლო ტრადიციული სილიკაგელის სვეტზე კი არა. (ნახ. 9)

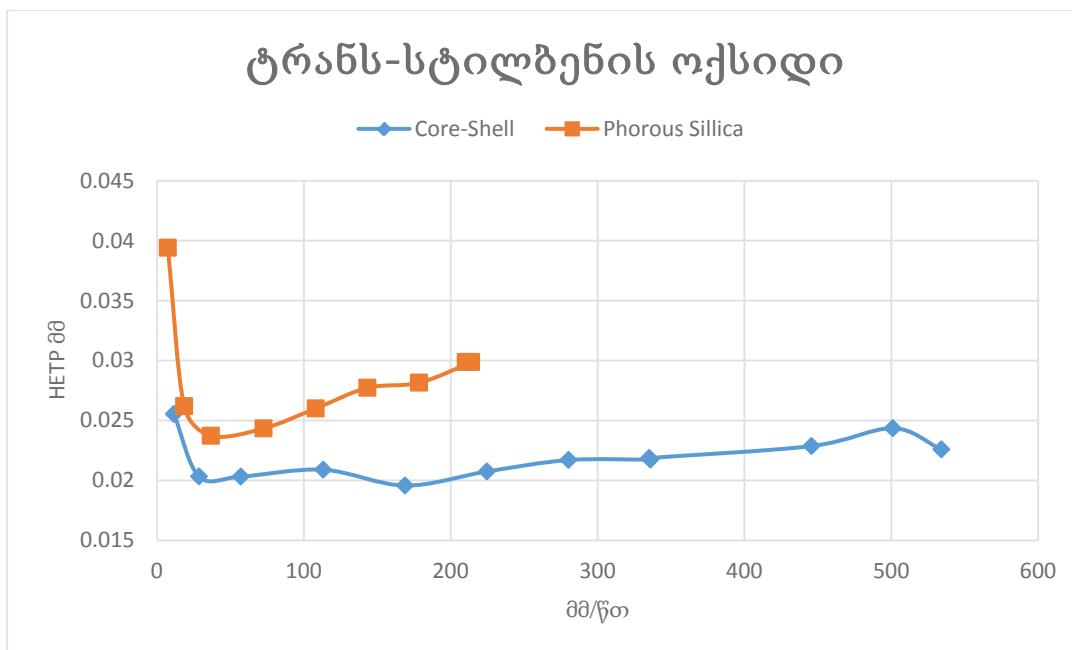


ნახ. 32: ტროგერის ფუძე

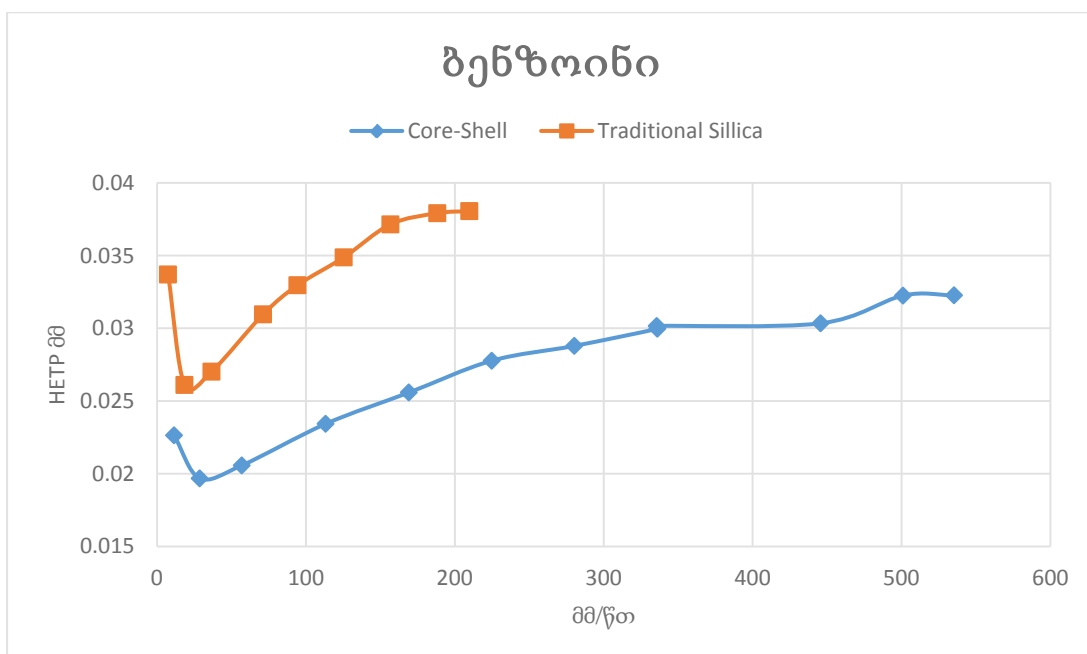


ნახ. 33: ტროგერის ფუძის ენანტიომერების ანალიზი ტრადიციული (ზემოთ) და ზფგს ტიპის სვეტებზე (ქვემოთ) ნორმალურ ფაზაში ქირალურ SP1 სელექტორზე.

ნახ. 34-36-ზე წარმოდგენილია ვან-დეემტერის მრუდები ზფგს და ტრადიციული სილიკაგელისთვის სამი საანალიზო ნივთიერებისთვის



ნახ. 34: ვან-დეემტერის მრუდები ტრანს-სტილბენის ოქსიდისთვის ზფგს და ტრადიციული სილიკაგელის სვეტებზე SP1 ქირალურ სელექტორზე

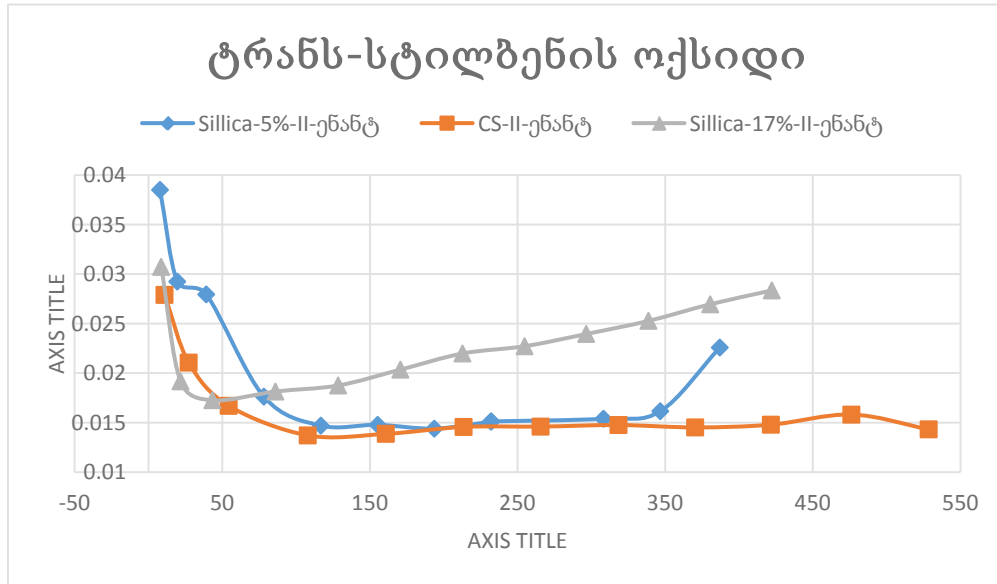


ნახ. 35: ვან-დეემტერის მრუდები ბენზოინისთვის ზფგს და ტრადიციული სილიკაგელის სვეტებზე SP1 ქირალურ სელექტორზე.

ვან-დეემტერის მრუდებიდან ჩანს, SP1 ქირალური სელექტორის შემთხვევაში ორივე ნივთიერებისთვის თეორიული თეფშების სიმაღლე ნაკლებია (შესაბამისად მეტია სვეტის ეფექტურობა) ზფგს ნაწილაკებით მომზადებულ სვეტზე, ასევე ზფგს სვეტის დაბალი უკუწნევის გამო შესაძლებელია ანალიზების დაახლოებით სამჯერ უფრო სწრაფად ჩატარება, ასევე სწრაფი ანალიზების დროსაც ზფგს ნაწილაკებით მომზადებული სვეტების ეფექტურობა მაღალია ვიდრე ტრადიციული სილიკაგელით მომზადებული სვეტისა.

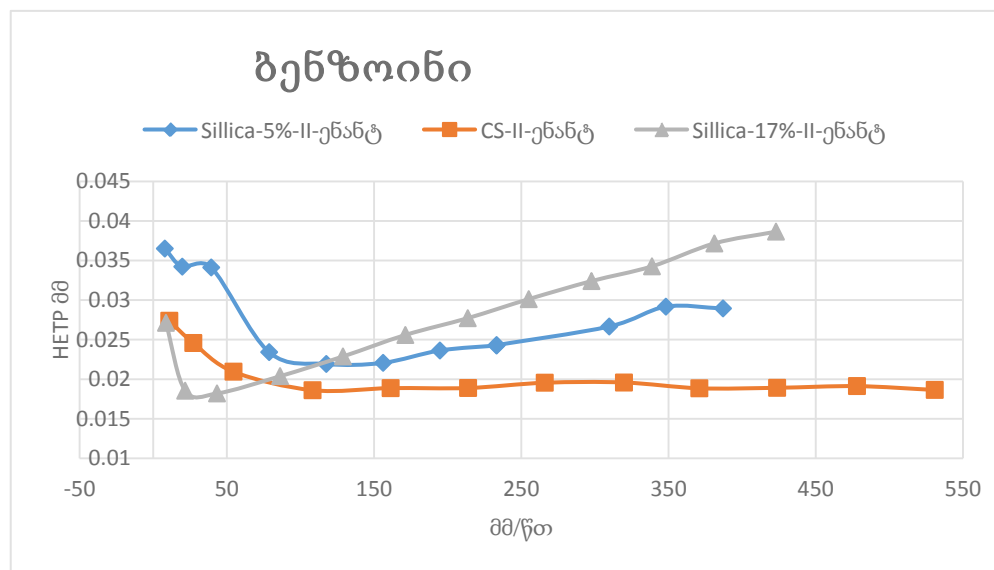
SP6 ქირალური სელექტორის შემთხვევაში მომზადდა ზფგს ტიპის სვეტი 5%-იანი დაფენით, ტრადიციული სილიკაგელის სვეტი 2%-იანი დაფენით და შედარებული იყო 17%-იანი დაფენის ტრადიციული სილიკაგელის სვეტთან. აღნიშნულ სვეტებზე ტროგერის ფუძის დაყოფა ფუძისეულად არ მოხედბდა.

ნახაზი 36 და 37-ზე წარმოდგენილია ვან-დეემტერის მრუდები ტრანს-სტილბენის ოქსიდისა და ბენზოინისთვის სამივე სვეტზე



ნახ. 36: ვან-დეემტერის მრუდები ტრანს-სტილბენის ოქსიდისთვის ზფგს და ტრადიციული სილიკაგელის სვეტებზე SP6 ქირალურ სელექტორზე

ნახ. 37: ვან-დეემტერის მრუდები ბენზოინისთვის ზფგს და ტრადიციული სილიკაგელის სვეტებზე SP6 ქირალურ სელექტორზე.

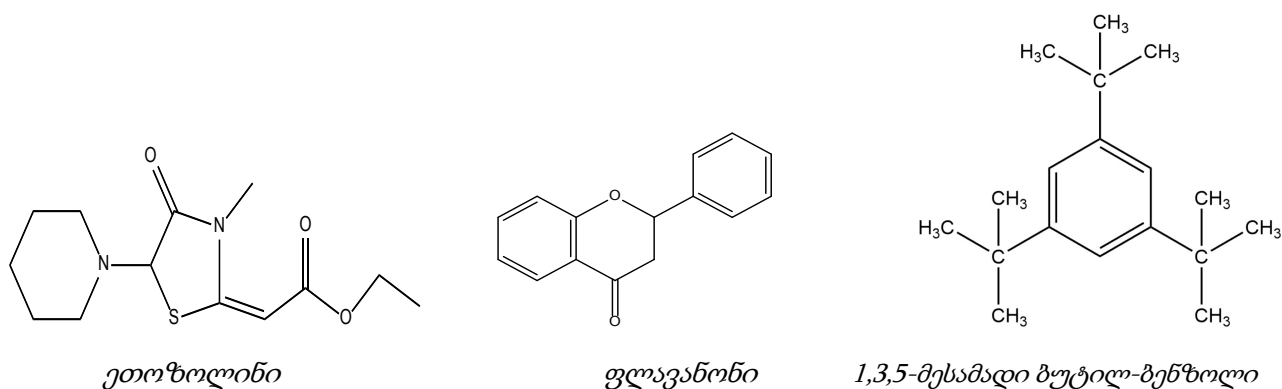


ვან-დეემტერის მრუდები გვაჩვენებს, რომ ზფგს-თი

მომზადებულ სვეტს გააჩნია მეტი ეფექტურობა ანალიზების მაღალ სიჩქარეზე ჩატარებისას და ასევე დაბალი უკუწნევის გამო შესაძლებელია მასზე ანალიზების უფრო სწრაფად ჩატარება ვიდრე ტრადიციული სილიკაგელით მომზადებულ სვეტებზე, მნიშვნელოვანია ის ფაქტი, რომ თეორიული თეფშების სიმადლე პრაქტიკულად უცვლელია ანალიზების მაღალ სიჩქარეზე ჩატარებისას.

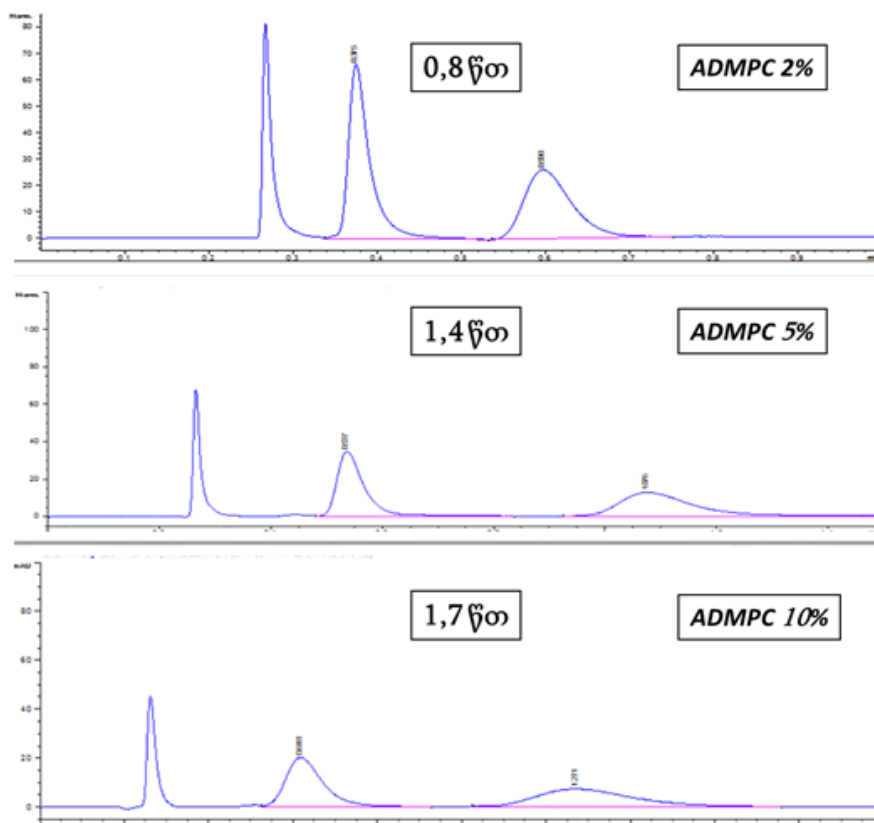
შემდგომი ოპტიმიზაციისთვის, მომზადდა 100მმX4.6მმ ზომის ქრომატოგრაფიული სვეტები ამილოზა ტრის (3,5-დიმეთილფენილკარბამატი) ქირალური სელექტორის (SP6, ADMPC) 2, 5 და 10%-იანი დაფენით 3,6 მკმ ნაწილაკის

ზომის მქონე ზფგს-ზე. საანალიზოდ აღებული იქნა ეთოზოლინი , ფლავანონი, ტრანს-სტილბენის ოქსიდი და ტროგერის ფუძე. მოძრავ ფაზად გამოყენებული იქნა მეთანოლი, ნაკადის სიჩქარე 0,1-5,0 მლ/წთ ზღვრებში, ანალიზები ჩატარდა Agilent 1290 U-HPLC-ზე. მკვდარი მოცულობის გამოსაანგარიშებლად ნიმუშებს დაემატა მცირე რაოდენობით 1,3,5-მესამადი ბუტილ-ბენზოლი. სტრუქტურული ფორმულები წარმოდგენილია ნახაზი 38-ზე.

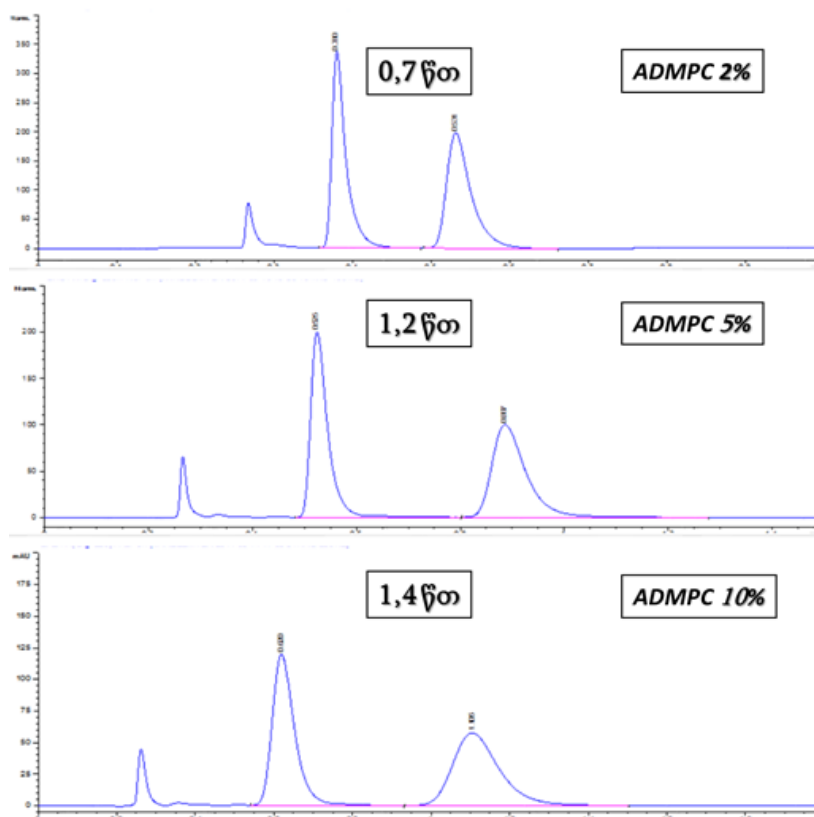


ნახ. 38

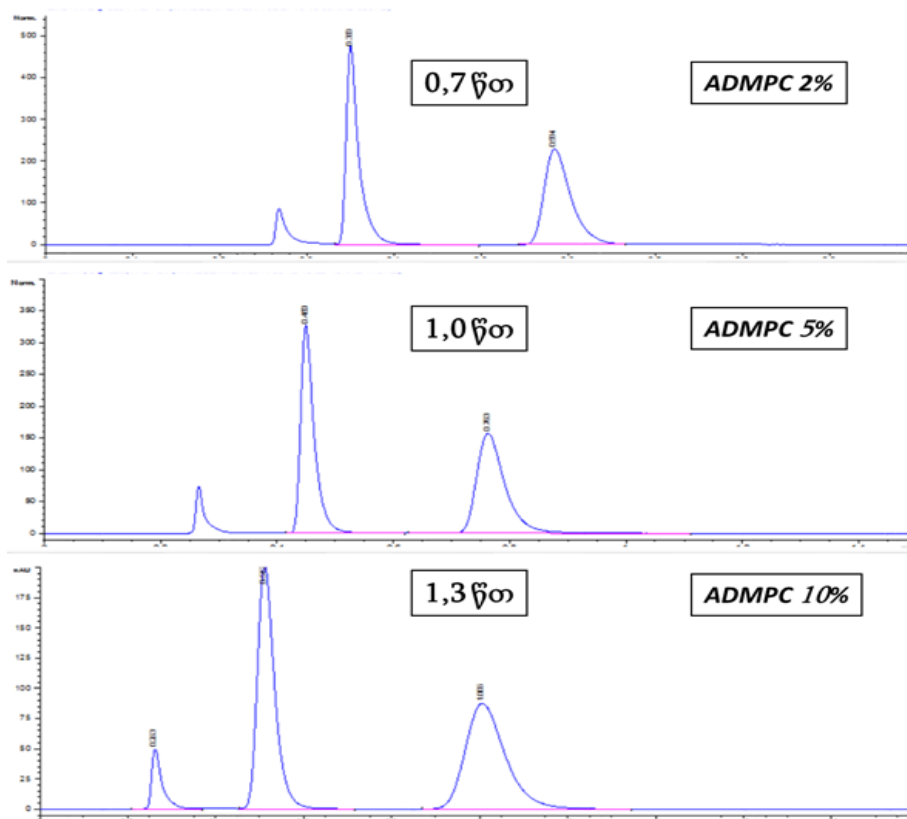
ნახ. 39-42-ზე წარმოდგენილია ქრომატოგრამები აღნიშნული ქირალური ნივთიერებების 5,0 მლ/წთ გამხსნელის სიჩქარეზე 2, 5 და 10%-იანი დაფენის ზფგს სვეტებზე.



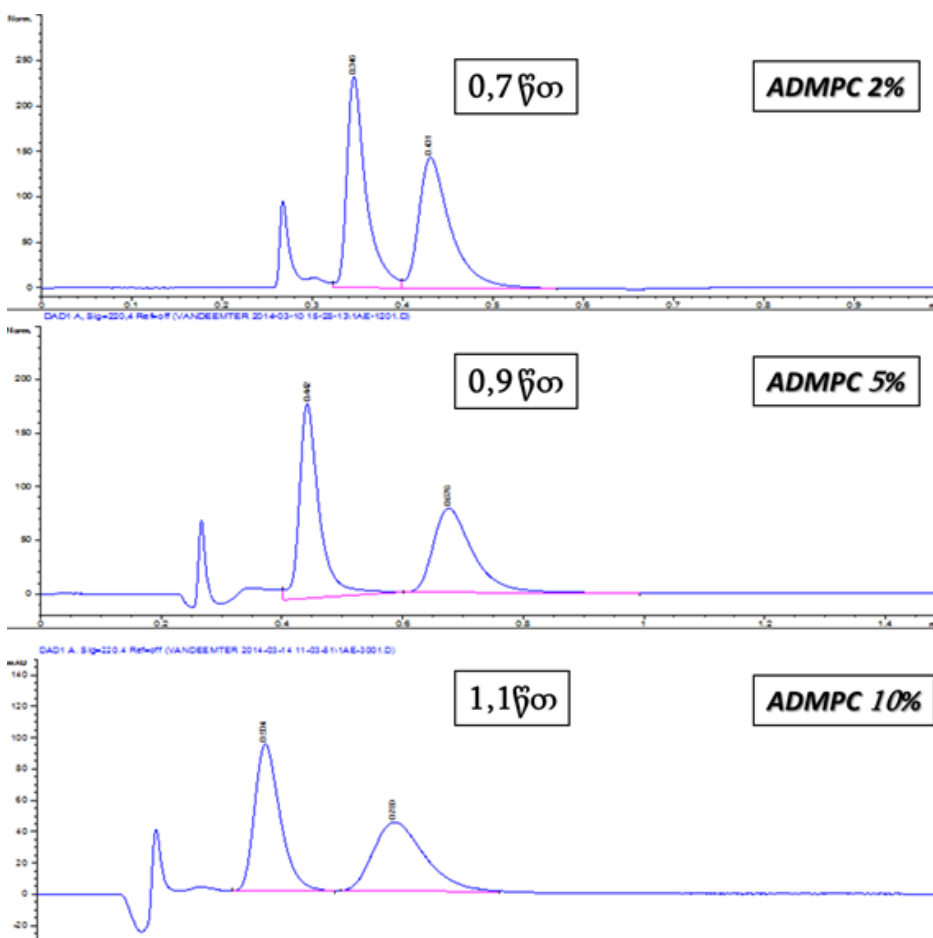
ნახ. 39: ეთოზოლინის ენანტიომერების ანალიზი 5,0 მლ/წთ სიჩქარეზე.



ნახ. 40: ფლაგანონის ენანტიომერების ანალიზი 5,0 მლ/წთ სიჩქარეზე.



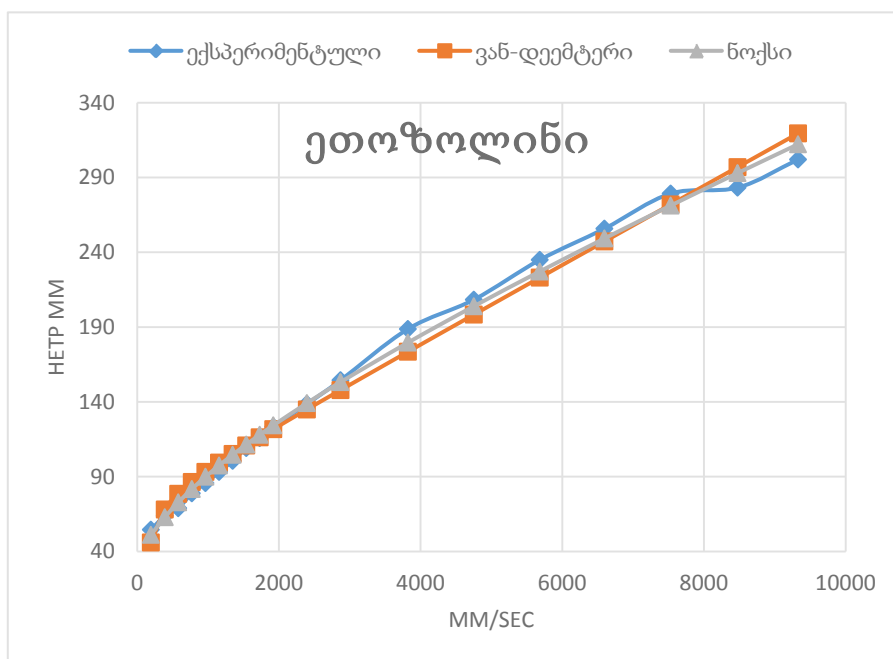
ნახ. 41: ტრანს-სტილბენის
ოქსიდის
ენანტიომერების ანალიზი
5,0 მლ/წთ სიჩქარეზე.



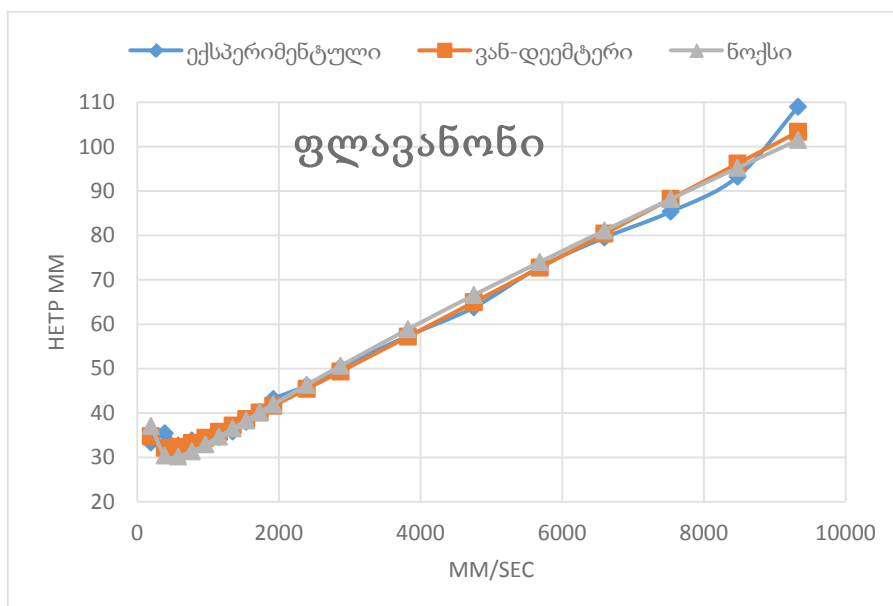
ნახ. 42: ტროგერის
ფუძის
ენანტიომერების
ანალიზი 5,0 მლ/წთ
სიჩქარეზე.

სამივე სვეტზე ოთხივე ქირალური ნივთიერება დაიყო მოძრავი ფაზის მაქსიმალურ შესაძლო სიჩქარეზე, ამავდროულად უკუწნევა არ აღემატებოდა 600 ბარს, რაც საშუალებას იძლევა ჩატარდეს სწრაფი ანალიზები სტანდარტულ მაღალეფექტურ სითხურ ქრომატოგრაფებზეც.

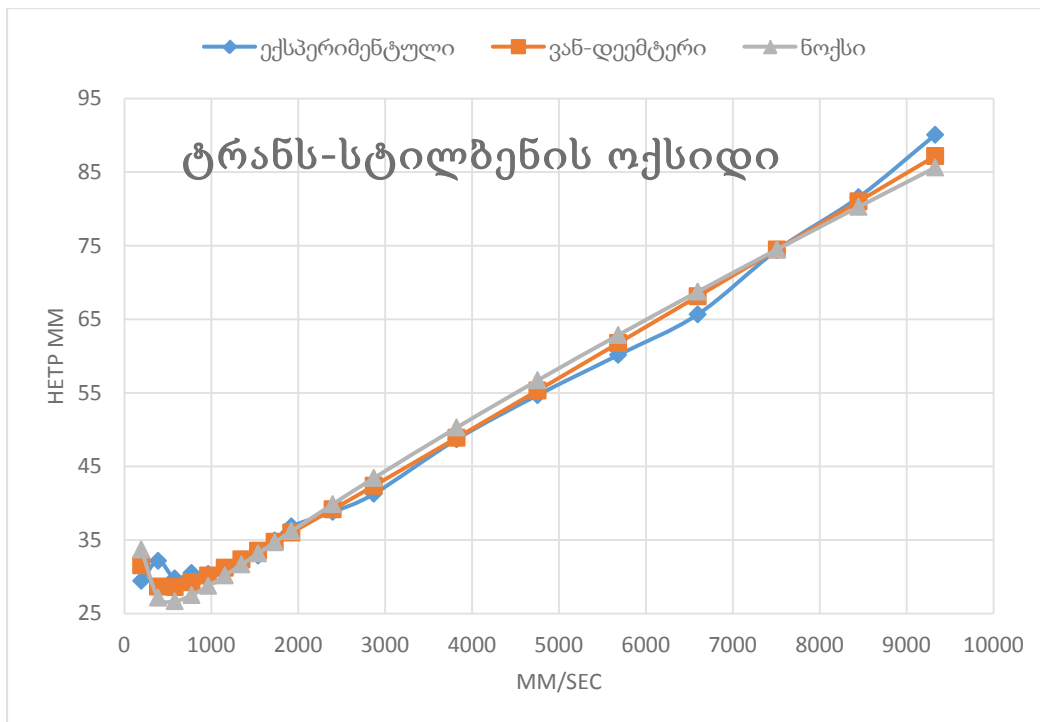
მიღებული ექსპერიმენტული შედეგებიდან პროგრამა STATA-ს საშუალებით გამოითვალა ვან დეემტერის A, B და C კოეფიციენტები, ამ კოეფიციენტების ჩასმით ვან-დეემტერის (განტ. 12) და ნოქსის (განტ. 14) განტოლებებში აიგო თეორიული ვან დეემტერის მრუდებიც. თეორიულ და პრაქტიკულ მრუდებს შორის კარგი კორელაცია გამოვლინდა, რაც ნაჩვენებია ნახ. 44-47-ზე.



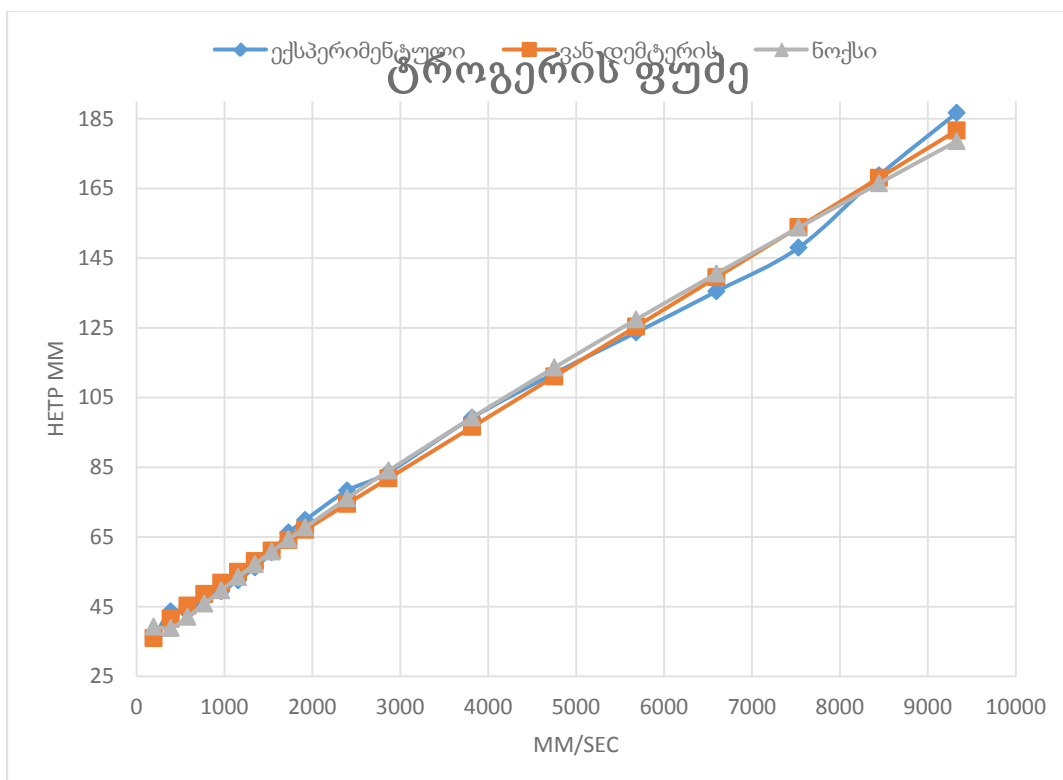
ნახ. 43: ექსპერიმენტული, ვან-დეემტერისა და ნოქსის მრუდები მოძრავი ფაზის სიჩქარის თეორიული თეფშების სიმაღლეზე დამოკიდებულების შესახებ ეთოზოლინისთვის.



ნახ. 44: ექსპერიმენტული, ვან-დეემტერისა და ნოქსის მრუდები მოძრავი ფაზის სიჩქარის თეორიული თეფშების სიმაღლეზე დამოკიდებულების შესახებ ფლავანონისთვის.



ნახ. 45: ექსპერიმენტული, ვან-დეემტერისა და ნოქსის მრუდები მოძრავი ფაზის სიჩქარის თეორიული თეფშების სიმაღლეზე დამოკიდებულების შესახებ ტრანს სტილბენის ოქსიდისთვის



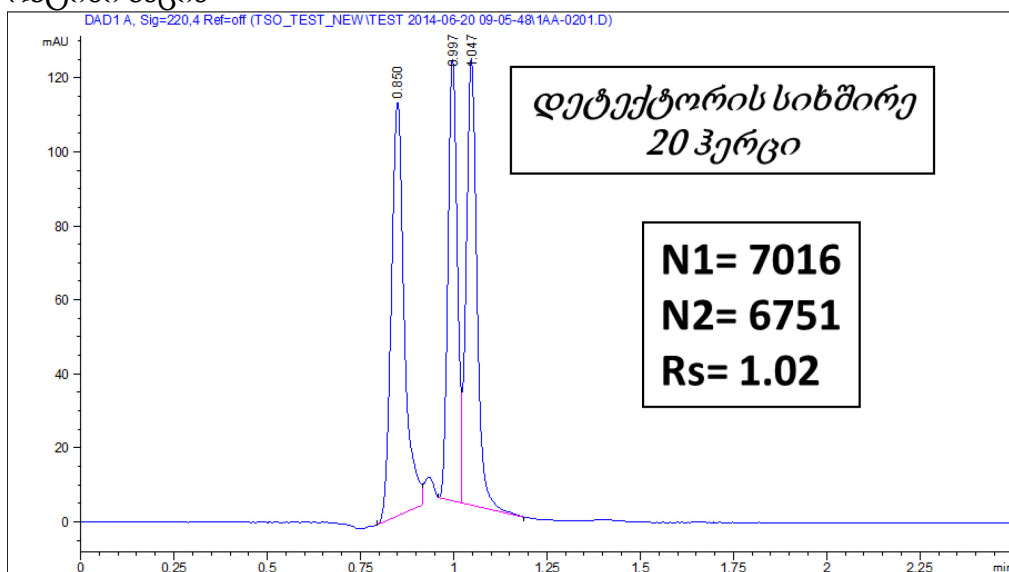
ნახ. 46: ექსპერიმენტული, ვან-დეემტერისა და ნოქსის მრუდები მოძრავი ფაზის სიჩქარის თეორიული თეფშების სიმაღლეზე დამოკიდებულების შესახებ ტროგერის ფუძისთვის.

3.3 მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფიული აპარატურის ოპტიმიზაცია

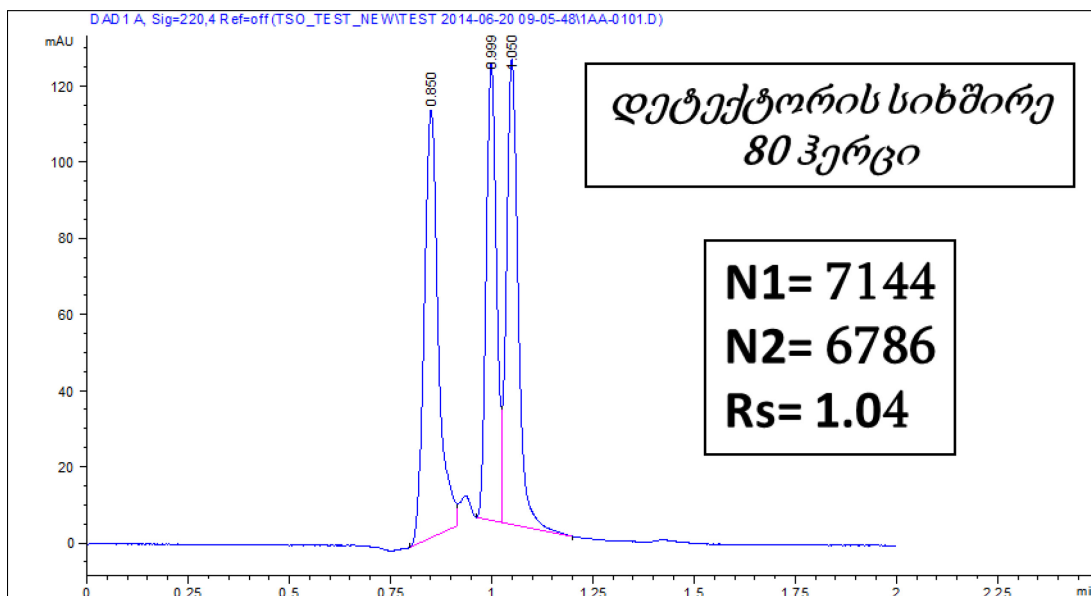
როგორც ზემოთ იყო აღნიშნული, ზედაპირულად ფოროვან გლუვი სილიკაგელის სვეტებს გააჩნიათ მცირე მკვდარი მოცულობა ფორიანი სილიკაგელის სვეტებთან შედარებით, ამიტომ სვეტის შემდგომი პიკის გაგანიერება ქრომატოგრაფიულ ხელსაწყოში უფრო მეტ გავლენას ახდენს ქრომატოგრაფიულ სურათზე. თუ სვეტიდან დეტექტორამდე მკვდარი მოცულობა დიდია, სვეტში მიღებული თეორიული თეფშების მაღალი რიცხვი იკარგება ხელსაწყოს შეუსაბამობის გამო ასეთ მაღალეფექტურ სვეტებთან. აქედან გამომდინარე, მნიშვნელოვანია მოხდეს ხელსაწყოს ქარხნული კონფიგურაციის შემდგომი ოპტიმიზაცია, რათა მაქსიმალურად შემცირდეს მკვდარი მოცულობა და მისგან გამოწვეული პიკის გაგანიერება. ამის მიღწევა შეიძლება სვეტისა და დეტექტორის დამაკავშირებელი კაპილარების სიგრძისა და დიამეტრის შემცირებით, ასევე დამატებითი მოდულების, როგორცაა მაგალითად თერმოსტატში სვეტების გადართვის სისტემის, გვერდის ავლით, ასევე დეტექტორში მიკროკიუვეტის გამოყენებით.

სწრაფი ანალიზების შემთხვევაში მკვდარი მოცულობის გარდა, დიდი მნიშვნელობა აქვს დეტექტორის სისწრაფეს (სიხშირეს). დეტექტორი მონაცემებს იწერს არა განუწყვეტილ, არამედ გარკვეული სიხშირით აფიქსირებს წერტილებს და შემდეგ პროგრამული უზრუნველყოფით ხდება ამ წერტილების შეერთება და საბოლოო ქრომატოგრამის მიღება. თუკი დეტექტორის სიჩქარე დაბალია, ის დააფიქსირებს ნაკლები რაოდენობის წერტილებს და საბოლოო ქრომატოგრამაც არ ასახავს რეალურ სურათს.

ამ ფაქტორების გავლენის შესასწავლად, გამოყენებული იქნა ტრანს-სტილბენის ოქსიდი, რომლის ანალიზი ტარდებოდა 5 სმ სიგრძის სვეტზე, რომელიც შევსებული იყო 5%-იანი დაფენის ADMPC ქირალური სელექტორით ზფგს-ზე. ნახ. 47-48-ზე წარმოდგენილია ანალიზების შედეგები და ქრომატოგრაფიული მახასიათებლები მკვდარი მოცულობის ოპტიმიზაციამდე. ხდებოდა დეტექტორის სიხშირის ოპტიმიზაცია

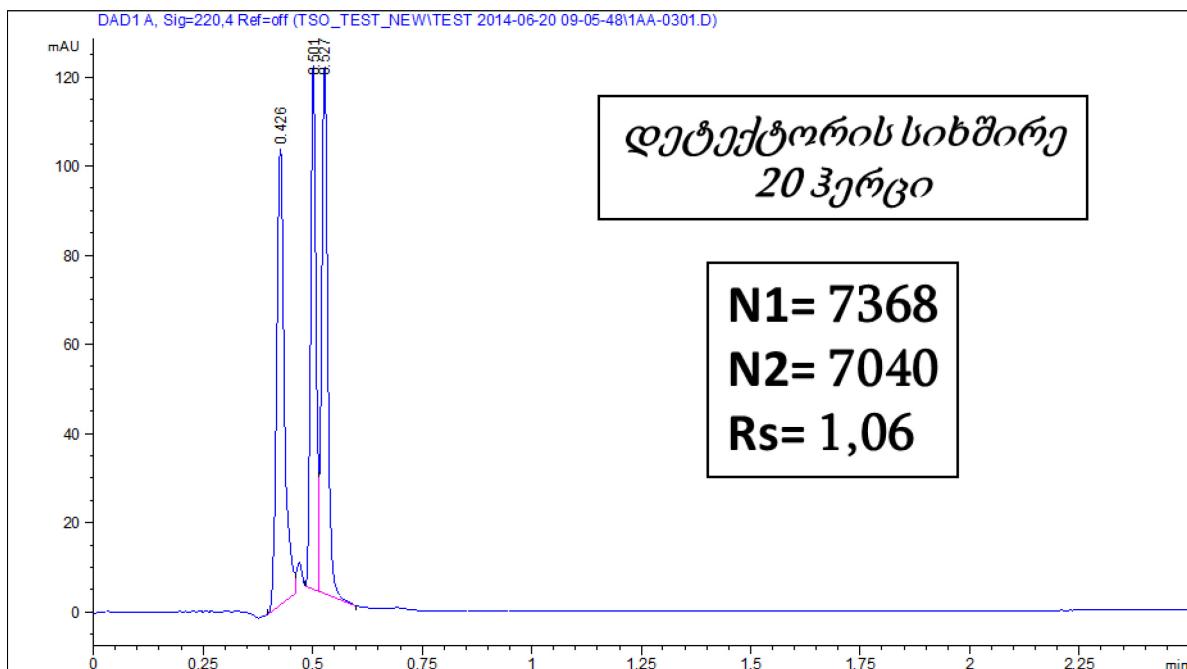


ნახ. 47: ტრანს-სტილბენის ოქსიდის ანალიზი 20 ჰერც სიხშირეზე მკვდარი მოცულობის ოპტიმიზაციამდე.

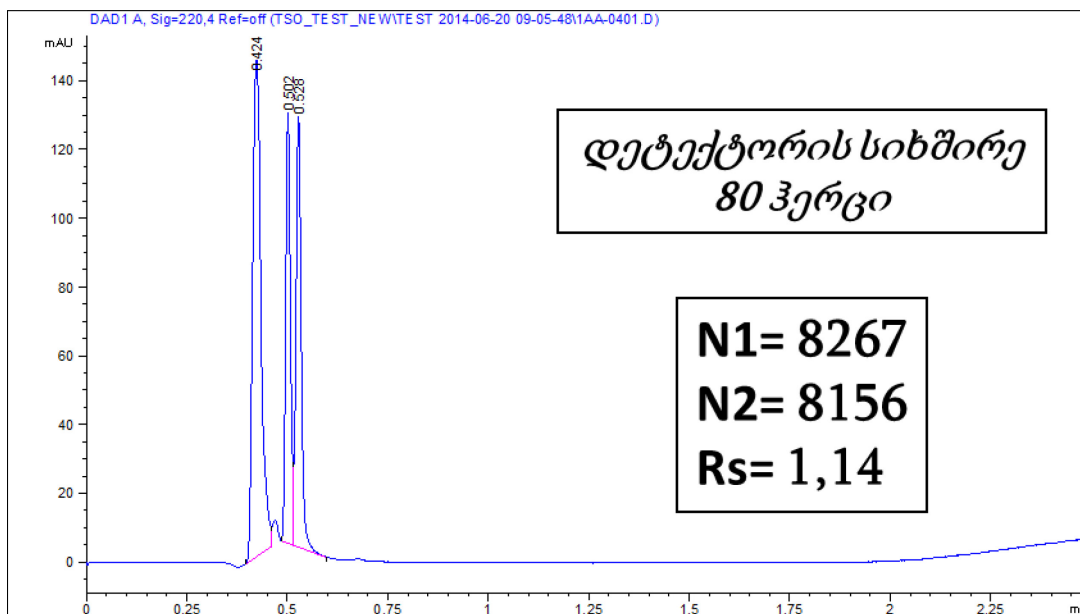


ნახ. 48: ტრანს-სტილბინის ოქსიდის ანალიზი 80 ჰერც სიხშირეზე მკვდარი მოცულობის ოპტიმიზაციამდე.

მკვდარი მოცულობის ოპტიმიზაციის მიზნით მოხდა მეტალის 120 მიკრომეტრი შიგა დიამეტრის მქონე კაპილარების შეცვლა 75 მიკრომეტრი შიგა დიამეტრის მქონე კვარცის კაპილარებით. (შეიცვალა სვეტის დეტექტორზე დამაკავშირებელი კაპილარი) ასევე შეიცვალა დეტექტორის სტანდარტული კიუვეტა მიკროკიუვეტით, რომელსაც ჰქონდა 10-ჯერ ნაკლები შიგა მოცულობა ვიდრე სტანდარტულს.



ნახ. 49 ტრანს-სტილბინის ოქსიდის ანალიზი 20 ჰერც სიხშირეზე მკვდარი მოცულობის ოპტიმიზაციის შემდეგ.



ნახ. 50: ტრანს-სტილბინის ოქსიდის ანალიზი 80 ჰერც სიხშირეზე მკვდარი მოცულობის ოპტიმიზაციის შემდეგ.

მკვდარი მოცულობის და დეტექტორის სიხშირის ოპტიმიზაციის შემდეგ, თეორიული თეფშების რიცხვი გაიზარდა პირველი ენანტიომერისთვის 17, ხოლო მეორე ენანტიომერისთვის 20%-ით, გარჩევადობა გაიზარდა 11%-ით.

დასკვნები

1.

- მოძრავი ფაზის ოპტიმიზაციის დროს, ჩატარდა 11 დიჰიდროპირიდინის ქირალური ნაწარმის ანალიზები ხუთ ქირალურ სვეტზე.
- პირველად ჩატარდა ამ ნივთიერებების სკრინინგი პოლარულ-ორგანულ ფაზებში. პოლარულ-ორგანული ფაზების გამოყენება მოსახერხებელია ენანტიომერების პრეპარატიული შეგროვების დროს რაციმატებისგან, რადგანაც პოლარულ-ორგანულ ფაზაში შეგროვებული ენანტიომერი შესაძლოა შემდგომში გამოყენებული იქნას როგორც ნორმალურ ფაზიანი (ჰექსანის შემცველი), ისე შებრუნებულ ფაზიანი (წყლის შემცველი) ქრომატოგრაფიული ექსპერიმენტებისას, რადგანაც გამოყენებული პოლარულ-ორგანული ფაზების (სუფთა სპირტები, აცეტონიტრილი) უმრავლესობა კარგად ხსნადია როგორც წყალში, ისე ჰექსანში.
- პოლარულ-ორგანული ფაზების გამოყენებისას, საუკეთესო შედეგი მოგვცა Lux-Cellulose-3 სვეტმა.
- შესწავლილი იქნა ამლოდიპინის ენანტიომერების ქრომატოგრაფიული შეკავებისა და დაყოფის სელექტიურობის დამოკიდებულება მოძრავი ფაზის ტემპერატურაზე. ტემპერატურის გავლენით როგორც მოსალოდნელი იყო შეიცვალა ელუირების დრო (დაბალ ტემპერატურაზე გაიზარდა, მაღალზე შემცირდა) გამხსნელის სიბლანტის ცვლილების გამო, თუმცა ადგილი არ ჰქონია ელუირების თანმიმდევრობას ცვლილებას, როგორც ეს აღწერილი იყო ლიტერატურაში [31] იზლეიციტინის F-MOC ნაწარმის ენანტიომერების შემთხვევაში.

ადგილი ჰქონდა შემთხვევებს, რომლებიც ჩვენს გამოკვლევებამდე ლიტერატურაში აღწერილი არ იყო. კერძოდ:

- აცეტონიტრილში წყლის კონცენტრაციის ზრდით ადგილი აქვს ჯერ ჰიდროფილური ურთიერთქმედების ქრომატოგრაფიის მსგავს ეფექტს, ხოლო წყლის 20%-ით და შემდეგ გაზრდისას, სტანდარტულ შებრუნებული ფაზის ქრომატოგრაფიას ამლოდიპინის ენანტიომერებისათვის, რომლებიც ნაკლებად გამოკვეთილია ეთანოლი-წყლის სიტემისათვის.
- დაფიქსირდა ელუირების თანმიმდევრობას ცვლილება მოძრავ ფაზაში ჭიანჭველამჟავას მცირე დანამატის გავლენით როგორც ნორმალურ, ისე პოლარულ ორგანულ და შებრუნებულ მოძრავ ფაზებში Cellulose 2 და Cellulose 4 სვეტებზე ამლოდიპინის ენანტიომერებისათვის.
- ძმარმჟავამ, როგორც მჟავე დანამატმა მოძრავ ფაზაში, არ გამოიწვია ამლოდიპინის ენანტიომერების ელუირების თანმიმდევრობას ცვლილება განსხვავებით ჭიანჭველმჟავასგან.

ამ კვლევების შედეგად დამუშავებულია ამლოდიპინის ენანტიომერების ელუირების თანმიმდევრობას ცვლილების მეთოდები როგორც ნორმალურ ფაზაში, ასევე შებრუნებულ და პოლარულ-ორგანულ ფაზებში, რომლებიც აქამდე არ ყოფილა აღწერილი ლიტერატურაში. ამლოდიპინის ენანტიომერების ელუირების

თანმიმდევრობას ცვლილების შემდგომი შესწავლა მნიშვნელოვანია ენანტიომერების დაყოფის ნატიფი მექანიზმების დასადგენად, ასევე პოლარულ-ორგანულ ფაზაში პირველად ჩატარებულმა სკრინინგმა აჩვენა, რომ საუკეთესო ქირალური სვეტი პოლარულ-ორგანული გამხსნელების გამოყენებისთვის არის Lux Cellulose-3, ამ შედეგების პრაქტიკული გამოყენება შესაძლებელია როგორც ანალიზური მასტაბით, ისე პრეპარატიული და საწარმოო მასშტაბებით.

2.

სტაციონარული ფაზის ოპტიმიზაციის მიზნით, პირველად მოხდა ზედაპირულად ფორიანი გლუვი სილიკაგელის სარჩულის გამოყენება პოლისაქარიდული ქირალური სტაციონარული ფაზებისთვის, შესწავლილი იქნა ნაწილაკის სხვადასხვა ზომისა და ფორის ზომების მქონე ზფგს სარჩულები სხვადასხვა ქირალური სელექტორებისთვის. ზფგს სარჩულებით მომზადებული ქირალური სტაციონარული ფაზის შესასწავლად, გარდა ქრომატოგრაფიული მეთოდისა, გამოყენებული იქნა ელემენტური ანალიზის, ზედაპირის ფართობისა და ფოროვანების განსაზღვრის და ელექტონული მიკროსკოპიის მეთოდები. ზფგს ტიპის ქირალურმა სტაციონალურმა ფაზებმა აჩვენეს რიგი უპირატესობები ტრადიციულ ფორიანი სილიკაგელის ფაზებთან შედარებით:

- მცირე მკვდარი მოცულობა
- დაყოფის მაღალი სელექტიურობა
- თეორიული თეფშების მაღალი რიცხვი
- მოძრავი ფაზის მაღალი ოპტიმალური ნაკადები
- წარმადობის მცირე დანაკარგი სწრაფი ანალიზებისას

ასევე, პირველად იქნა გამოყენებული 1,7 მკმ ნაწილაკის ზომის მქონე ზფგს სარჩული ქირალური სვეტების მოსამზადებლად. აღმოჩნდა, რომ 5% ქირალური სელექტორის შემცველ სვეტს აქვს მაღალი უკუწნევა. ასევე ვან-დეემტერის მრუდებიდან გამოჩნდა, რომ ზფგს ტიპის ფაზებში თეორიული თეფშების სიმალლე ნაკლებად იზრდება მოძრავი ფაზის სიჩქარის გაზრდისას, რაც სწრაფი ანალიზების ჩატარების საშუალებას იძლევა. ზფგს ტიპის ქირალურ სტაციონალურ ფაზებს აქვთ მოძრავი ფაზის ოპტიმალური სიჩქარის ფართო დიაპაზონი. როგორც მოსალოდნელი იყო, ქირალური სელექტორის შემცველობის გაზრდისას გაიზარდა სვეტის სელექტიურობა, თუმცა ზფგს ნაწილაკების შემთხვევაში ქირალური სელექტორის გაზრდა ხშირ შემთხვევაში იწვევს სარჩულის ნაწილაკების აგრეგაციას, რაც ფაზას ნაკლებად გამოსადეგს ხდის, თუმცა სელექტორის დაბალი შემცველობის დროსაც, ზფგს ტიპის სტაციონალურ ფაზებს გააჩნიათ უკეთესი ქრომატოგრაფიული თვისებები, ვიდრე ტრადიციული ფორიანი სილიკაგელის სტაციონალურ ფაზებს. სავარაუდოდ, ახლო მომავალში ახალი ტიპის ფაზები მძლავრ კონკურენციას გაუწევს ტრადიციულ სილიკაგელზე დამზადებულ ქირალურ სტაციონალურ ფაზებს.

თანამედროვე კომერციულ ქირალურ სვეტებთან შედარებით, ზფგს ტიპის ექსპერიმენტულმა სვეტებმა აჩვენეს 20-80%-მდე ეფექტურობის ზრდა, ხოლო ენანტიომერების ელუირების დრო მოძრავი ფაზის ერთი და იგივე სიჩქარისას შემცირდა 2-5-ჯერ, რაც თავის მხრივ ნიშნავს ანალიზების უფრო სწრაფად ჩატარებას მეტი ეფექტურობით, გამხსნელის და დროის დაზოგვას. ხოლო ე.წ სუბ-2ნმ სვეტების

გამოყენების შემთხვევაში, დროის და გამხსნელის დანაზოგი რადიკალურად იზრდება, რადგანაც უმეტეს შემთხვევაში შესაძლებელია ანალიზების ჩატარება 1 წუთზე ნაკლებ დროში.

3.

ჩატარდა ხელსაწყოს ქარხნული კონფიგურაციის ოპტიმიზაცია, მოხდა მკვარი მოცულობის შემცირება და დეტექტორის სიხშირის (სიჩქარის) გაზრდა რამაც გააუმჯობესა ქრომატოგრაფიული სურათი, 10-25%-ით გაიზარდა გარჩევადობა. თუმცა სამომავლოდ შესაძლებელია მკვდარი ოცულობის კიდევ უფრო შემცირება და უფრო სწრაფი- 160 ჰერცი სიხშირის დეტექტორების გამოყენება მონაცემთა ხარისხის გასაზრდელად სწრაფ ქირალურ დაყოფებში. ზედაპირულად ფორიანი გლუვი სილიკაგელის ნაწილაკების საფუძველზე მომზადებული სვეტების პოტენციალის სრულიად გამოსაყენებლად, საჭიროა ხელსაწყოს ჰქონდეს მინიმალური მკვდარი მოცულობა და სწრაფი დეტექტორი, ამ შემთხვევაში კარგია ე.წ ზე-მაღალ ეფექტური სითხური ქრომატოგრაფის გამოყენება, თუმცა იმის გამო, რომ ზფგს ნაწილაკებზე მომზადებულ სვეტებს აქვთ მცირე უკუწნევა, შესაძლოა გამოყენებული იქნას ტრადიციული მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფები, მხოლოდ ჩაუტარდეს მათ მოდიფიცირება მკვდარი მოცულობის შესამცირებლად და საჭიროების შემთხვევაში შეიცვალოს არსებული დეტექტორი უფრო სწრაფით, ეს კი გაცილებით იაფია, ვიდრე მთლიანად ახალი ხელსაწყო, დამატებული ისიც, რომ ნაწილაკების მცირე ნომინალური ზომის მქონე სვეტების გამოყენებისას, საჭიროა გაცილებით მცირე რაოდენობის გამხსნელი, ანალიზების ღირებულება კიდევ უფრო შემცირდება, ამასთან მონაცემების ხარისხი გაიზრდება.

გამოყენებული ლიტერატურა

- [1] Chirality and Biological Activity of Drugs, Crossey R.J. Boca Raton USA, CRC Press. 1995. 199.
- [2] Gil-Av E. Freibusch B. Charles-Sigler R. Separation of enantiomers by gas liquid chromatography with an optically active stationary phase. Tetrahedron Letters 7. 1966. 1009-1015.
- [3] Rogozhin S.V. Davankov V.A. Ligand xchange chromatography on asymmetric complex-forming sorbents as a new method for resolution racemates. Journal of the Chemical Society D Chemical Communications. 1971. Issue 10. 490a-490a.
- [4] 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. Issue 103. 3964-3966.
- [5] Blaschke G. Chromatographic resolution of racemates. New analytical methods. Angewandte Chemie, International Edition in English. 1980. Issue 19. 13-24.
- [6] Gasmann E. Cuo J.E. Zare R.N. Separation of enantiomeric amino acids in ligand exchange capillary electrophoresis. Science. 1985. Issue 230. 13-24.
- [7] Cotton H. Elebring T. Larson M. Li L. Sorensen H. Uge S.Von. Asymmetric synthesis of esomeprazole, Tetrahedron: Asymetry. 2002. Issue 11. 3819-3825.
- [8] Reversal of Fortune: How a vilified drug became a life-saving agent in the "war" against cancer - Onco'Zine - The International Cancer Network Nov 30, 2013.
- [9] The Chemical Industry. Heaton C. A. London UK. Springer. 1994. 385.
- [10] Liu J.T. Liu R.H. Enantiomeric composition of abused amine drugs: chromatographic methods of analysis and data interpretation. Journal of Biochemical and Biophysical Methods. 2002. Issue 54 (1-3). 115-146.
- [11] Chiral separation methods for pharmaceutical and biotechnological products.S. Ahuja (Editor). New Jersey USA. Wiley & Sons Inc. 2011. 458.
- [12] Capillary Electrophoresis in Chiral Analysis. B. Chankvetadze. West Sussex, England. Wiley & Sons L.T.D. 1997. 561.
- [13] Depta A. Giese T. Johannsen M. Brunner G. Separation of stereoisomers in a simulated moving bed-supercritical fluid chromatography plant. Journal of Chromatography A. 1999. Volume 865. Issue 1-2. 175-186
- [14] Ettre L.S. M.S. Tswett and the invention of chromatography. LCGC North America. 2003. Volume 21 Issue 5. 458-467

- [15] Liquid Chromatography Fundamentals and Instrumentation. Fanali S. Haddad P.R. Poole C. Schoenmakers P. Lloyd D. Waltham USA. Elsevier. 2013. 520.
- [16] Marttin A.J.P. Synge R.L.M. 151. 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. 1358-1368.
- [17] Fundamentals of preparative and nonlinear chromatography. 2nd edition. Guiochon G. Felinger A. Shirazi D.G. Katti A.M. Amsterdam. Academic Press. 2006. 975.
- [16] Wicke E. Empirische und theoretische Untersuchungen der Sorptionsgeschwindigkeit von Gasen an porösen Stoffen I. Kolloid-Zeitschrift. 1939. Volume 86 Issue 2. 167-186.
- [18] D. DeVault. The theory of chromatography. Journal of The American Chemical Society. 1943. Volume 65 Issue 4. 532-540
- [19] Götmar G. Fornstedt T. Guiochon G. Peak tailing and mass transfer kinetics in linear chromatography. Dependence on the column length and the linear velocity of the mobile phase. Journal of Chromatography A. 1999. Volume 831 Issue 1. 17-35
- [20] 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 Issue 6. 271-289
- [21] Kucera E. Contribution to the theory of chromatography: Linear non-equilibrium elution chromatography. Journal of Chromatography 1965. Volume 19. 237-248
- [22] Adsorption engineering. M. Suzuki. Tokyo. Kodansha Ltd 1990. 306
- [23] Lenhoff A.M. Significance and estimation of chromatographic parameters. Journal of Chromatography. 1987. Volume 384. 285-299
- [24] Felinger A. Guiochon G. Comparison of the kinetic models of linear chromatography. Chromatographia. 2004. Volume 60 Issue 1. S175-S180
- [25] Miyabe K. Guiochon G. The moment equations of chromatography for monolithic stationary phases. Journal of Physical Chemistry B. 2002. 106(34). 8898-8909
- [27] Purnell J.H. The correlation of separating power and efficiency of gas-chromatographic columns. Journal of the Chemical Society. 1960. Issue 0. 1268-1274
- [28] 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
- [29] Giddings J.C. Liquid Chromatography with Operating Conditions Analogous to Those of Gas Chromatography. Analytical Chemistry, 1963. Volume 35 Issue 13. 2215-2216

- [30] Knox J.H. Band dispersion in chromatography-a universal expression for the contribution from the mobile zone. *Journal of Chromatography A*. 2002. Volume 960 Issue 1-2. 7-18
- [31] Chankvetadze L. Ghibradze N. Karchkhadze M. Peng L. Farkas T. Chankvetadze B. Enantiomer elution order reversal of fluorenylmethoxycarbonyl-isoleucine in high-performance liquid chromatography by changing the mobile phase temperature and composition. *Journal of Chromatography A*. 2011. Volume 1218, Issue 37. 6554–6560
- [32] Chankvetadze B. Recent developments on polysaccharide-based chiral stationary phases for liquid-phase separation of enantiomers. *Journal of Chromatography A*. 2012. Volume 1269. 26-51
- [33] Willstätter R. Ueber einen Versuch zur Theorie des Färbens. *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*. 1904. Volume 37 Issue 3. 375-3760.
- [34] Henderson G.M. Rule H.G. A new method of resolving a racemic compound. *Journal of the Chemical Society*. 1939. Issue 0. 1568-1573
- [35] Prelog V. Wieland P. Über die Spaltung der Tröger'schen Base in optische Antipoden, ein Beitrag zur Stereochemie des dreiwertigen Stickstoffs. *Helvetica Chimica Acta*. 1944. Volume 27 Issue 1. 1127-1134
- [36] 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 Issue 6. 2973–2974
- [37] Mayer W., Merger F. Darstellung optisch aktiver Catechine durch Racemattrennung mit Hilfe der Adsorptionschromatographie an Cellulose. *Justus Liebigs Annalen der Chemie* .1961. Volume 644 Issue 1. 65-69
- [38] Lüttringhaus A. Hess U. Rosenbaum H.J. Naturforsch Z. Konformations-Enantiomerie. I. Mitt.: Optisch aktives 4.5.6.7-Dibenzo-1.2-dithiacyclooctadien. *Zeitschrift für Naturforschung*. 1967. Volume 22b. 1296-1300
- [39] Hesse G. Hagel R. Eine vollständige Racemattrennung durch elutions-chromatographie an cellulose-tri-acetat. *Chromatographia*. 1973. Volume 6 Issue 6. 277-280
- [40] Okamoto Y. Yashima E. Ishikura M. Hatada K. Synthesis, Methanolysis, and Asymmetric Polymerization of meta- and para-substituted Triphenylmethyl Methacrylates. *Polymer Journal*. 1987. Volume 19. 1183-1190
- [41] Francotte E. Wolf R.M. Lohmann D. Mueller R. Chromatographic resolution of racemates on chiral stationary phases: I. Influence of the supramolecular structure of cellulose triacetate. *Journal of Chromatography A*. 1985. Volume 347. 25-37

- [42] Koller H. Rimböck K.-H. Mannschreck A. High-pressure liquid chromatography on triacetylcellulose: Characterization of a sorbent for the separation of enantiomers. *Journal of Chromatography A*. 1983 .Volume 282. 89-94
- [43] Okamoto Y. Kawashima M. Hatada K. Chromatographic resolution. 7. Useful chiral packing materials for high-performance liquid chromatographic resolution of enantiomers: phenylcarbamates of polysaccharides coated on silica gel. *Journal of the American Chemical Society*. 1984. Volume 106 Issue 18. 5357–5359
- [44] C. Yamamoto, T. Hayashi, Y. Okamoto. Enantioseparation by using chitin phenylcarbamates as chiral stationary phases for high-performance liquid chromatography. *Chemistry Letters*. 2000. Volume 29 Issue 1. 12-13
- [45] Yamamoto C. Hayashi T. Okamoto Y. High-performance liquid chromatographic enantioseparation using chitin carbamate derivatives as chiral stationary phases. *Journal of Chromatography A*. 2003. Volume 1021 Issue 1-2. 83-91
- [46] Ikai T. Okamoto Y. Structure Control of Polysaccharide Derivatives for Efficient Separation of Enantiomers by Chromatography. *Chemical Reviews*. 2009. Volume 109 Issue 11. 6077–6101
- [47] Gübitz G. Schmid M. Chiral separation by chromatographic and electromigration techniques. A review. *Biopharmaceutics & Drug Disposition*. 2001. Volume 22 Issue 7-8. 291-336
- [48] Ikai T. Yamamoto C. Kamigaito M. Okamoto Y. Enantioseparation by HPLC using phenylcarbonate, benzoylformate, p-toluenesulfonylcarbamate and benzoylcarbamates of cellulose and amylose as chiral stationary phases. *Chirality*. 2005. Volume 17 Issue 6. 299-304
- [49] A. Ichida, T. Shibata, I. Okamoto, Y. Yuki, H. Namikoshi, Y. Toda. Resolution of enantiomers by HPLC on cellulose derivatives. *Chromatographia*. 1984. Volume 19 Issue 4. 280-284
- [50] Okamoto Y. Aburatani R. Hatada K. Chromatographic chiral resolution: XIV. Cellulose tribenzoate derivatives as chiral stationary phases for high-performance liquid chromatography, *Journal of Chromatography A*. 1987. Volume 389. 95-102
- [51] Okamoto Y. Kawashima M. Hatada K. Chromatographic resolution: XI. Controlled chiral recognition of cellulose triphenylcarbamate derivatives supported on silica gel. *Journal of Chromatography A*. 1986. Volume 363 Issue 2 173-186
- [52] Yamamoto C. Yamada K. Motoya K. Kamiya Y. Kamigaito M. Okamoto Y. Aratani T. Preparation of HPLC chiral packing materials using cellulose tris(4-methylbenzoate) for the separation of chrysanthemate isomers. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*. 2006. Volume 44 Issue 17. 5087–5097

- [53] Okamoto Y. Aburatani R. Fukumoto T. Hatada K. Useful chiral stationary phases for HPLC. Amylose tris(3,5-dimethylphenylcarbamate) and tris(3,5-dichlorophenylcarbamate) supported on silica gel, *Chemistry Letters*. 1987. Volume 16. 1857-1860
- [54] Chankvetadze B. Yashima E. Okamoto Y. Tris(chloro- and methyl-disubstituted phenylcarbamate)s of cellulose as chiral stationary phases for chromatographic enantioseparation. *Chemistry Letters*. 1993. Volume 22. 617-620
- [55] Chankvetadze B. Yashima E. Okamoto Y. Chloromethylphenylcarbamate derivatives of cellulose as chiral stationary phases for high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*. 1994. Volume 670 Issue 1-2. 39-49
- [56] B. Chankvetadze, E. Yashima, Y. Okamoto. Dimethyl-, dichloro- and chloromethylphenylcarbamates of amylose as chiral stationary phases for high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*. 1995. Volume 694 Issue 1. 101-109
- [57] Chankvetadze B. Chankvetadze L. Sidamonidze Sh. Kasashima E. Yashima E. Okamoto Y. 3-Fluoro-, 3-chloro- and 3-bromo-5-methylphenylcarbamates of cellulose and amylose as chiral stationary phases for high-performance liquid chromatographic enantioseparation. *Journal of Chromatography A*. Volume 787 Issue 1-2. 67-77
- [58] Yamamoto C. Okamoto Y. Optically active polymers for chiral separation. *Bulletin of the Chemical Society of Japan*. 2004. Volume 77. 227-257
- [59] Chankvetadze B. Chankvetadze L. Sidamonidze Sh. Yashima E. Okamoto Y. High performance liquid chromatography enantioseparation of chiral pharmaceuticals using tris(chloro-methylphenylcarbamate)s of cellulose. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 1996. Volume 14 Issue 8-10. 1295-1303
- [60] Kaida Y. Okamoto Y. Optical resolution on regioselectively carbamoylated cellulose and amylose with 3,5-dimethylphenyl and 3,5-dichlorophenyl isocyanates. *Bulletin of the Chemical Society of Japan*. 1993. Volume 66. 2225-2232
- [61] Felix G. Regioselectively modified polysaccharide derivatives as chiral stationary phases in high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*. 2001. Volume 906 Issue 1-2. 171-184.
- [62] Kondo S. Yamamoto C. Kamigaito M. Okamoto Y. Synthesis and chiral recognition of novel regioselectively substituted amylose derivatives. *Chemistry Letters*. 2008. Volume 37 Issue 5. 558-559
- [63] Lindner K.R. Mannschreck A. Separation of enantiomers by high-performance liquid chromatography on triacetylcellulose. *Journal of Chromatography A*. 1980. Volume 193 Issue 2. 308-310

- [64] Francotte E.R. Wolf W. Benzoyl cellulose beads in the pure polymeric form as a new powerful sorbent for the chromatographic resolution of racemates. *Chirality*. 1991. Volume 3. 43-55
- [65] Ikai T. Muraki R. Yamamoto C. Kamigaito M. Okamoto Y. Cellulose derivative-based beads as chiral stationary phase for HPLC. *Chemistry Letters*. 2004. Volume 33 Issue 4. 1188-1189
- [66] Ikai T. Yamamoto C. Kamigaito M. Okamoto Y. Organic-inorganic hybrid materials for efficient enantioseparation using cellulose 3,5-dimethylphenylcarbamate and tetraethyl orthosilicate. *Chemistry – An Asian Journal*. 2008. Volume 3 Issue 8-9. 1494-1499
- [67] J.H. Park, Y.-C. Whang, Y.-J. Jung, Y. Okamoto, C. Yamamoto, P.W. Carr, C.V. McNeff. Separation of racemic compounds on amylose and cellulose dimethylphenylcarbamate-coated zirconia in HPLC. *Journal of Separation Science*. 2003. Volume 26. Issue 15-16. 1331-1336.
- [68] Xu H. Zhang Y. Lu Q. Covalently bound polysaccharide-based chiral stationary phases and method for their preparation. US Patent application number: US 2009/0216006 A1. Filed: February 19, 2009. Publication Date: August 27, 2009.
- [69] Seo Y.-J. Kang G.-W. Park S.-T. Moon M. Park J.-H. Cheong W.-J. Titanized or zirconized porous silica modified with a cellulose derivative as new chiral stationary phases. 2007. *Bulletin of the Korean Chemical Society*. Volume 28 Issue 6. 999-1004
- [70] Ling F. Brahmachary E. Xu M. Svec F. Fréchet J.M.J. Polymer-bound cellulose phenylcarbamate derivatives as chiral stationary phases for enantioselective HPLC. *Journal of Separation Science*. Volume 26 Issue 15-16. 1337-1346.
- [71] B. Chankvetadze, C. Yamamoto, Y. Okamoto. Very Fast Enantioseparation in High-performance Liquid Chromatography Using Cellulose Tris(3,5-dimethylphenylcarbamate) Coated on Monolithic Silica Support. *Chemistry Letters*. 2003. Volume 32. 240-241
- [72] B. Chankvetadze, T. Ikai, C. Yamamoto, Y. Okamoto. High-performance liquid chromatographic enantioseparations on monolithic silica columns containing a covalently attached 3,5-dimethylphenylcarbamate derivative of cellulose. *Journal of Chromatography A*. 2004. Volume 1042 Issue 1-2. 55-60
- [73] B. Chankvetadze. Monolithic chiral stationary phases for liquid-phase enantioseparation techniques. *Journal of Separation Science*. 2010. Volume 33 Issue 3. 305-314
- [74] G. Guiochon, F. Gritti. Shell particles, trials, tribulations and triumphs, *Journal of Chromatography A*. 2011. Volume 1218 Issue 15. 1915-1938
- [75] Lomsadze K. Jibuti G. Farkas T. Chankvetadze B. Comparative high-performance liquid chromatography enantioseparations on polysaccharide based chiral stationary phases prepared by coating totally porous and core-shell silica particles. *Journal of Chromatography A*. 2012. Volume 1234. 50-55

- [76] Okamoto Y. Aburatani R. Miura S. Hatada K. Chiral stationary phases for HPLC: Cellulose tris(3,5-dimethylphenylcarbamate) and tris(3,5-dichlorophenylcarbamate) chemically bonded to silica gel. *Journal of Liquid Chromatography*. 1987. Volume 10 Issue 8-9. 1613-1628
- [77] Franco P. Senso A. Oliveros L. Minguillon C. Covalently bonded polysaccharide derivatives as chiral stationary phases in high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*. 2001. Volume 906. 155-170
- [78] Yashima E. Fukaya H. Okamoto Y. 3,5-Dimethylphenylcarbamates of cellulose and amylose regioselectively bonded to silica gel as chiral stationary phases for high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*. 1994. Volume 677 Issue 1 (1994) 11-19
- [79] Kimata K. Tsuboi R. Hosoya K. Tanaka N. Chemically bonded chiral stationary phase prepared by the polymerization of cellulose p-vinylbenzoate. *Analytical Methods and Instrumentation*. 1993. Volume 1 Issue 1. 23-29
- [80] Oliveros L. Lopez P. Minguillon C. Franco P. Chiral chromatographic discrimination ability of a cellulose 3,5-dimethylphenylcarbamate/10-undecenoate mixed derivative fixed on several chromatographic matrices. *Journal of Liquid Chromatography*. 1995. Volume 18. 1521-1532
- [81] Chen X. Jin W. Qin F. Liu Y. Zou H. Guo B. Capillary electrochromatographic separation of enantiomers on chemically bonded type of cellulose derivative chiral stationary phases with a positively charged spacer. *Electrophoresis*. 2003. Volume 24 Issue 15. 2559-2566.
- [82] Enomoto N. Furukawa S. Ogasawara Y. Akano H. Kawamura Y. Yashima E. Okamoto Y. Preparation of silica gel-bonded amylose through enzyme-catalyzed polymerization and chiral recognition ability of its phenylcarbamate derivative in HPLC. *Analytical Chemistry*. 1996 Volume 68 Issue 17. 2798-2804
- [83] 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
- [84] 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
- [85] 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
- [86] 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

- [87] 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. Issue 1010 Volume 2. 185-194
- [88] Ikai T. Yamamoto C. Kamigaito M. Okamoto Y. Efficient immobilization of cellulose phenylcarbamate bearing alkoxysilyl Group onto Silica Gel by Intermolecular Polycondensation and Its Chiral Recognition. *Chemistry Letters*. 2006. Volume 35 Issue 11. 1250-1251
- [89] 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
- [90] 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
- [91] Venthuyne 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.
- [92] 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
- [93] 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
- [94] 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
- [95] 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
- [96] 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

- [97] Peng L. Jayapalan S. Chankvetadze B. Farkas T. Reversed-phase chiral HPLC and LC/MS analysis with tris(chloromethylphenylcarbamate) derivatives of cellulose and amylose as chiral stationary phases. *Journal of Chromatography A*. 2010. Volume 1217 Issue 44. 6942-6955
- [98] Ates H. Mangelings D. Vander Heyden Y. Chiral separations in polar organic solvent chromatography: Updating a screening strategy with new chlorine-containing polysaccharide-based selectors. *Journal of Chromatography B*. 2008. Volume 875 Issue 1. 57-64
- [99] Ates H. Desmedt B. Vander Heyden Y. Test-set reduction in the screening step definition of a chiral separation strategy in polar organic solvents chromatography. *Journal of Chromatography B*. 2012. Volume 910. 95-102
- [100] Dossou K.S.S. Chiap P. Chankvetadze B. Servais A.-C. Fillet M. Crommen J. Enantioresolution of basic pharmaceuticals using cellulose tris(4-chloro-3-methylphenylcarbamate) as chiral stationary phase and polar organic mobile phases. *Journal of Chromatography A*. 2009. Volume 1216 Issue 44. 7450-7455
- [101] Dossou K.S.S. Chiap P. Chankvetadze B. Servais A.-C. Fillet M. Crommen J. Optimization of the LC enantioseparation of chiral pharmaceuticals using cellulose tris(4-chloro-3-methylphenylcarbamate) as chiral selector and polar non-aqueous mobile phases. *Journal of Separation Science*. 2010. Volume 33. 1699-1707
- [102] L. Zhou, V. Antonucci, M. Biba, X. Gong, Z. Ge. 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 Issue 1. 153-157
- [103] Okamoto Y. Yashima E. Polysaccharide derivatives for chromatographic separation of enantiomers. *Angewandte Chemie International Edition*. 1998. Volume 37 Issue 8. 1020-1043
- [104] Yashima E. Yamamoto C. Okamoto Y. Polysaccharide-based chiral LC columns. *Synlett*. 1998. Volume 4. 344-360
- [105] Cavazzini A. Pasti L. Massi A. Marchetti N. Dondi F. Recent applications in chiral high performance liquid chromatography: A review. *Analytica Chimica Acta*. 2011. Volume 706 Issue 2. 205-222
- [106] Gaffney M.H. Stiffin R.M. Wainer I.W. The effect of alcoholic mobile phase modifiers on retention and stereoselectivity on a commercially available cellulose-based HPLC chiral stationary phase: An unexpected reversal in enantiometric elution order. *Chromatographia*. 1989. Volume 27 Issue 1-2. 15-18
- [107] Okamoto M. Nakazawa H. Reversal of elution order during direct enantiomeric separation of pyriproxyfen on a cellulose-based chiral stationary phase. *Journal of Chromatography A*. 1991. Volume 588 Issue 1-2. 177-180

- [108] Balmér K. Persson B.-A. Lagerström P.-O. Stereoselective effects in the separation of enantiomers of omeprazole and other substituted benzimidazoles on different chiral stationary phases. *Journal of Chromatography A*. 1994. Volume 660 Issue 1-2. 269-273
- [109] Gyllenhaal O. Stefansson M. Reversal of elution order for profen acid enantiomers in normal phase LC on Chiralpak AD. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2008. Volume 46 Issue 5. 860-865
- [110] Zhan F. Yu G. Yao B. Guo X. Liang T. Yu M. Zeng Q. Weng W. Solvent effect in the chromatographic enantioseparation of 1,1'-bi-2-naphthol on a polysaccharide-based chiral stationary phase. *Journal of Chromatography A*. 2010. Volume 1217 Issue 26. 4278-4284
- [111] Xiang C. Liu G. Kang S. Guo X. Yao B. Weng W. Zeng Q. Unusual chromatographic enantioseparation behavior of naproxen on an immobilized polysaccharide-based chiral stationary phase. *Journal of Chromatography A*. 2011. Volume 1218 Issue 48. 8718-8721.
- [112] Gyllenhaal O. Stefansson M. Reversal of elution order for profen acid enantiomers in packed-column SFC on Chiralpak AD. *Chirality*. 2005. Volume 17 Issue 5. 257-265
- [113] Balmer K. Lagerström P.-O. Persson Persson B.-A. Reversed retention order and other stereoselective effects in the separation of amino alcohols on Chiralcel OD. *Journal of Chromatography A*. 1992. Volume 592 Issue 1-2. 331-337
- [114] Ma S. Shen S. Lee H. Eriksson M. Zeng X. Xu J. Fandrick K. Yee N. Senanayake C. Grinberg N. Mechanistic studies on the chiral recognition of polysaccharide-based chiral stationary phases using liquid chromatography and vibrational circular dichroism: Reversal of elution order of N-substituted alpha-methyl phenylalanine esters. *Journal of Chromatography A*. 2009. Volume 1216 Issue 18. 3784-3793
- [115] Matarashvili I. Chankvetadze L. Fanali S. Farkas T. Chankvetadze B. HPLC separation of enantiomers of chiral arylpropionic acid derivatives using polysaccharide-based chiral columns and normal-phase eluents with emphasis on elution order. *Journal of Separation Sciences*. 2013. Volume 36 Issue 1. 140-147
- [116] Pirkle W.H. Hyun M.H. α -arylalkylamine-derived chiral stationary phases : Evaluation of urea linkages. *Journal of Chromatography A*. 1985. Volume 322. 295-307
- [117] Jibuti G. Mskhiladze A. Takaishvili N. Chankvetadze L. Karchkhadze M. Farkas T. Chankvetadze B. HPLC separation of dihydropyridine derivatives enantiomers with emphasis on elution order using polysaccharide-based chiral columns. *Journal of Separation Science*. 2012. Volume 35 Issue 19. 2529-2537
- [118] Ikeda K. Hamasaki T. Kohno H. Ogawa T. Matsumoto T. Sakai J. Direct separation of enantiomers by reversed-phase high performance liquid chromatography on cellulose tris(3,5-dimethylphenylcarbamate). *Chemistry Letters*. 1989. Volume 18 Issue 6. 1089-1090

- [119] Ishikawa A. Shibata T. Cellulosic chiral stationary phase under reversed-phase condition, *Journal of Liquid Chromatography*. 1993. Volume 16 Issue 4. 859-878
- [120] Zhang T. Nguyen D. Franco P. Reversed-phase screening strategies for liquid chromatography on polysaccharide-derived chiral stationary phases. *Journal of Chromatography A*. 2010. Volume 1217 Issue 7. 1048-1055
- [121] Chankvetadze B. Yamamoto C. Okamoto Y. Enantioseparation of selected chiral sulfoxides using polysaccharide-type chiral stationary phases and polar organic, polar aqueous-organic and normal-phase eluents. *Journal of Chromatography A*. 2001. Volume 922 Issue 1-2. 127-137
- [122] Krstulovic A.M. Rossey G. Porziemsky J.P. Long D. Chekrum I. Direct determination of the enantiomeric purity of (5S)-3-isopropyl-5-p-toluenesulphonyloxymethylloxazolidin-2-one on a cellulose-based chiral stationary phase: In-process control of a chiral intermediate used in the synthesis of enantiomerically pure β -blocking agents. *Journal of Chromatography A*. 1987. Volume 411. 461-465
- [123] Aboul-Enein H.Y. Serignese V. Bojarski J. Simple chiral liquid chromatographic enantioseparation of some racemic antiepileptic drugs. *Journal of Liquid Chromatography*. 1993. Volume 16 Issue 13. 2741-2749
- [124] A Practical Approach to Chiral Separation by Liquid Chromatography. Subramanian G. (Editor). New York USA. VCH. 1994. 405
- [125] Weinz C. Blaschke G. Schiebel H-M. Investigation of the stereoselective in vitro biotransformation of glutethimide by high-performance liquid chromatography and capillary electrophoresis. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*. 1997. Volume 690 Issue 1-2. 233-242
- [126] Lynam K.G. Stringham R.W. Chiral separations on polysaccharide stationary phases using polar organic mobile phases. *Chirality*. 2006. Volume 18 Issue 1. 1-9
- [127] Ates H. Younes A.A. Mangelings D. Vander Heyden Y. Enantioselectivity of polysaccharide-based chiral selectors in polar organic solvents chromatography: Implementation of chlorinated selectors in a separation strategy. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. Issue 74. 1-13
- [128] Dossou K.S.S. Farcas E. Servais A.-C. Chiap P. Chankvetadze B. Crommen J. Fillet M. Evaluation of chlorine containing cellulose-based chiral stationary phases for the LC enantioseparation of basic pharmaceuticals using polar non-aqueous mobile phases. *Journal of Separation Science*. 2011. Volume 34 Issue 6. 617-622
- [129] Dossou K.S.S. Chiap P. Servais A.-C. Fillet M. Crommen J. Development and validation of a LC method for the enantiomeric purity determination of S-ropivacaine in a pharmaceutical formulation using a recently commercialized cellulose-based chiral stationary phase and polar

non-aqueous mobile phase. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2011. Volume 54 Issue 4. 687-693

[130] Dossou K.S.S. Farcas E. Servais A.-C. Chiap P. Chankvetadze B. Crommen J. Fillet M. Optimization of the liquid chromatography enantioseparation of chiral acidic compounds using cellulose tris(3-chloro-4-methylphenylcarbamate) as chiral selector and polar organic mobile phases. *Journal of Chromatography A*. 2012. Volume 1234. 56-63

[131] Dossou K.S.S. Edorh P.A. Chiap P. Chankvetadze B. Servais A.-C. Fillet M. Crommen J. Determination of enantiomeric purity of S-amlodipine by chiral LC with emphasis on reversal of enantiomer elution order. *Journal of Separation Science*. 2011. Volume 34 Issue 15. 1772-1780.

[132] Terfloth G. Enantioseparations in super- and subcritical fluid chromatography. *Journal of Chromatography A*. 2001. Volume 906 Issue 1-2. 301-307

[133] Packed Column SFC. Berger T.A. Newark USA. The Royal Society of Chemistry. 1995. 266

[134] Tarafder A. Kaczmariski K. Ranger M. Poe D.P. Guiochon G. Use of the isopycnic plots in designing operations of supercritical fluid chromatography: IV. Pressure and density drops along columns. *Journal of Chromatography A*. 2012. Volume 1238. 132-145

[135] Tarafder A. Guiochon G. Use of isopycnic plots in designing operations of supercritical fluid chromatography. III: Reason for the low column efficiency in the critical region. *Journal of Chromatography A*. 2011. Volume 1218 Issue 40. 7189-7195

[136] Tarafder A. Guiochon G. Use of isopycnic plots in designing operations of supercritical fluid chromatography: II. The isopycnic plots and the selection of the operating pressure-temperature zone in supercritical fluid chromatography. *Journal of Chromatography A*. 2011. Volume 1218 Issue 28. 4576-4585

[137] Tarafder A. Guiochon G. Use of isopycnic plots in designing operations of supercritical fluid chromatography: I. The critical role of density in determining the characteristics of the mobile phase in supercritical fluid chromatography. *Journal of Chromatography A*. 2011. Volume 1218 Issue 28. 4569-4575

[138] Guiochon G. Tarafder A. Fundamental challenges and opportunities for preparative supercritical fluid chromatography. *Journal of Chromatography A*. 2011 Volume 1218 Issue 28. 1037-1114

[139] Ye Y.K. Lynam K.G. Stringham R.W. Effect of amine mobile phase additives on chiral subcritical fluid chromatography using polysaccharide stationary phases. *Journal of Chromatography A*. 2004. Volume 1041 Issue 1-2. 211-217

- [140] Ventura M. Murphy B. Goetzinger W. Ammonia as a preferred additive in chiral and achiral applications of supercritical fluid chromatography for small, drug-like molecules. *Journal of Chromatography A*. 2012. Volume 1220. 147-155
- [141] Hamman C. Schmidt Jr D.E. Wong M. Hayes M. The use of ammonium hydroxide as an additive in supercritical fluid chromatography for achiral and chiral separations and purifications of small, basic medicinal molecules. *Journal of Chromatography A*. 2011. Volume 1218 Issue 43. 7886-7894
- [142] 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
- [143] De Klerk K. Mangelings D. Clicq D. De Boever F. Vander Heyden Y. Combined use of isopropylamine and trifluoroacetic acid in methanol-containing mobile phases for chiral supercritical fluid chromatography. *Journal of Chromatography A*. 2012. Volume 1234. 72-79
- [144] Davankov V.A. The nature of chiral recognition: Is it a three-point interaction? *Chirality*. 1997. Volume 9 Issue 2. 99-102
- [145] Francotte E. Jung M. Enantiomer separation by open-tubular liquid chromatography and electrochromatography in cellulose-coated capillaries. *Chromatographia*. 1996. Volume 42 Issue 9. 521-527
- [146] Jibuti G. Crommen J. Chankvetadze B. Mechanistic study on the reversal of enantiomer elution order of amlodipine on selected polysaccharide-based chiral stationary phases in HPLC. Poster presentation on 18th International Symposium on Electro and Liquid phase Separation Techniques (ITP 2011). Tbilisi, Georgia. August 28-31, 2011
- [147] Jibuti G. Chankvetadze B. Mechanistic study on the reversal of enantiomer elution order of amlodipine on selected polysaccharide-based chiral stationary phases in HPLC. Poster presentation on 2-nd International Conference of Young Scientist Chemistry Today – 2012 (ISC 2012) Tbilisi, Georgia, April 21-23, 2012.
- [148] ჯიბუტი გ. ჭანკვეტაძე ბ. მოძრავი და უძრავი ფაზების ოპტიმიზაცია ენანტიომერების დასაყოფად მაღალეფექტურ სითხურ ქრომატოგრაფიაში პოლისაქარიდული ქირალური სელექტორების გამოყენებით. ზეპირი მოხსენება საერთაშორისო სამეცნიერო-პრაქტიკული კონფერენციაზე "ინოვაციური ტექნოლოგიები და გარემოს დაცვა IETP 2013". ქუთაისი, საქართველო 6-7 ივნისი; 2013 წ.
- [149] ჯიბუტი გ. ლომსაძე ქ. ჭანკვეტაძე ბ. ფოროვანი და ფოროვანი ზედაპირის მქონე ქირალური ადსორბენტების გამოყენება ენანტიომერების დასაყოფად სითხურ ქრომატოგრაფიაში. საერთაშორისო სამეცნიერო-პრაქტიკული კონფერენცია "ინოვაციური ტექნოლოგიები და გარემოს დაცვა". შრომების კრებული. 2012. გვ 347-350

[150] Lomsadze K. Jibuti G. Farkas T. Chankvetadze B. Comparative high-performance liquid chromatography enantioseparations on polysaccharide based chiral stationary phases prepared by coating totally porous and core-shell silica particles. Oral Presentation on 3-rd International Conference of Young Scientists Chemistry Today 2013 (ISC 2013). Tbilisi, Georgia, May 17-19; 2013.

[151] Lomsadze K. Jibuti G. Farkas T. Chankvetadze B. Comparative high-performance liquid chromatography enantioseparations on polysaccharide based chiral stationary phases prepared by coating totally porous and core-shell silica particles. Poster presentation on Pharmaceutical and Biomedical Analysis (PBA 2013). Bologna, Italy June 30-July 4, 2013.

[152] Jibuti G. Chankvetadze B. Comparative high-performance liquid chromatography enantioseparations on polysaccharide based chiral stationary phases prepared by coating totally porous and core-shell silica particles. Poster presentation on 6th Georgian-German School and Workshop in Basic Science: Georgian-German Science Bridge GGSB 2014. Tbilisi, Georgia. July 7-8 2014.