ივანე ჯავახიშვილის სახელობის თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტი

ზუსტ და საბუნებისმეტყველო მეცნიერებათა ფაკულტეტი

ქიმიის დეპარტამენტი

ალექსანდრე დადიანიძე

ენანტიოსელექტიური მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფიის გამოყენება აგროქიმიური და ახალი ფსიქოაქტიური ნივთიერებების ანალიზში

ქიმიის დოქტორის აკადემიური ხარისხის მოსაპოვებლად წარმოდგენილი დისერტაცია

სამეცნიერო ხელმძღვანელი

საქართველოს მეცნიერებათა ეროვნული აკადემიის აკადემიკოსი, ივ. ჯავახიშვილის სახელობის თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტის ზუსტ და საბუნებისმეტყველო მეცნიერებათა ფაკულტეტის ფიზიკური და ანალიზური ქიმიის კათედრის გამგე, პროფ. ბეჟან ჭანკვეტაძე

თბილისი, საქართველო

2025

Ivane Javakhishvili Tbilisi State University

Faculty of Exact and Natural Sciences

Department of Chemistry

Aleksandre Dadianidze

Application of Enantioselective High-Performance Liquid Chromatography for the Analysis of Agrochemicals and New Psychoactive Substances

Presented to Obtain an Academic Degree of Doctor of Chemistry

Scientific Supervisor: Academician of the Georgian National Academy of Sciences,

Head of the Department of Physical and Analytical Chemistry at

Tbilisi State University

Prof. Bezhan Chankvetadze

Tbilisi, Georgia

2025

აბსტრაქტი

აგროქიმიური საშუალებების დაახლოებით 40%, რომლებიც დღეს გამოიყენება, შეცავს ქირალურ აქტიურ ინგრედიენტებს. პესტიციდის ენანტიომერებს იზოტროპულ გარემოში იდენტური ფიზიკურ-ქიმიური თვისებები აქვთ, თუმცა მათ შეიძლება ჰქონდეთ განსხვავებული აქტივობა და ტოქსიკურობა ფერმენტებთან ან გარემოში არსებულ ქირალურ მოლეკულებთან ურთიერთობის გამო. ამის გამო აგროქიმიური საშუალების ერთი ენანტიომერი გარემოში შეიძლება უფრო მდგრადი იყოს, ვიდრე მეორე.

წინამდებარე შრომაში შესწავლილი იქნა 10 ქირალური ანტიმიკოზური პრეპარატის ენანტიომერების დაყოფა პოლისაქარიდზე დაფუძნებულ ქირალურ სტაციონარულ ფაზებზე პოლარული ორგანული მოძრავი ფაზების გამოყენებით. განსაკუთრებული ყურადღება გამახვილდა ენანტიომერების ელუირების თანმიმდევრობის (EEO) ცვლილების საინტერესო მაგალითებზე, რაც დამოკიდებული იყო ქირალური სელექტორის ბუბებაზე, დაყოფის ტემპერატურაზე, მოძრავი ფაზის მთავარ კომპონენტსა და მცირე დანამატებზე. კერძოდ, აღმოჩნდა, რომ ქირალური პრეპარატ ტერკონაზოლის ენანტიომერების ელუირების თანმიმდევრობა შებრუნებული იყო ცელულოზასა და ამილოზაზე დაფუძნებულ სვეტებზე, მიუხედავად იმისა, რომ მათ ერთი და იგივე ჩამნაცვლებელი ჯგუფი ჰქონდათ. კიდევ ერთი ქირალური პრეპარატის, ბიფონაზოლის ენანტიომერების ელუირების რიგი შებრუნებული იყო ამილოზაზე დაფუძნებული ორი სელექტორის მიმართ, რომელთაც განსხვავებული ჩამნაცვლებლები ჰქონდათ. ასევე, ტერკონაზოლის ენანტიომერების ელუირების რიგი შეიცვალა რამდენიმე სვეტზე, როდესაც სპირტებზე დაფუძნებული მოძრავი ფაზა შეიცვალა აცეტონიტრილით. მოძრავ ფაზაში მჟავური დანამატის (ჭიანჭველმჟავა)გავლენა ტერკონაზოლის ენანტიომერების ელუირების მცირე რაოდენობის გავლენა ენანტიომერების ელუირების რიგზე შესწავლილი იქნა Lux Cellulose-2 და Lux Cellulose-4 სვეტებზე. გარდა ამისა, ბიფონაზოლის ენანტიომერების ელუირების თანმიმდევრობის შებრუნება დაფიქსირდა Lux Amylose-2 სვეტზე ტემპერატურის შეცვლით.

გარდა ანტიმიკოზური პრეპარატებისა სინთეზური ახალი ფსიქოაქტიური ნივთიერებების დიდი ნაწილი ქირალური ბუნებისაა. ნარკოდამოკიდებულება თანამედროვე საზოგადოებისთვის ერთ-ერთი უმნიშვნელოვანესი პრობლემაა. ხშირად, ახალი საშუალებები უფრო ძლიერი და მეტად სახიფათოა, ვიდრე ადრინდელი წარმოების ნარკოტიკული საშუალებები. ერთ-ერთი მთავარი პრობლემა მათი არაპროგნოზირებადი შემადგენლობაა: არსებული პროდუქტი შეიძლება არ შეიცავდეს იმ აქტიურ ნივთიერებებს, რომელთა შეძენასაც მომხმარებლები აპირებენ.

გასათვალისწინებელია, რომ ტრადიციული ნარკოტიკების (მაგალითად, ჰეროინისა და კოკაინების) მოპოვება და მოხმარება დადასტურებადია სპეციალური ანალიზებით, მაგრამ ახალი ფსიქოტროპული ნივთიერებებისა და მათი მეტაბოლიტების იდენტიფიცირებისთვის, ამ ეტაპზე, შესაბამისი სწრაფი კლინიკური ტესტები არ არსებობს. ამასთან, გამოკვლეული არ არის ეს ნივთიერებები და მათი მეტაბოლიტების ენანტიოსელექტიური მოქმედების მახასიათებლები.

ამ სადისერტაციო ნაშრომის მიზანია აგროქიმიკატების ენანტიომერული ნარევების დაყოფის მექანიზმების შესწავლა. ასევე ახალი ქირალური ფსიქოაქტიური საშუალებების, ნარკოტიკული საშუალებების დანამატებისა და მათი მეტაბოლიტების ენანტიოსელექტიური ანალიზის მეთოდების შემუშავება ბიოლოგიურ ნიმუშებში, რათა ამ მეთოდების პრაქტიკაში დანერგვა გახდეს შესაძლებელი.

კვლევის ფარგლებში, გამოყენებული იქნა სითხური ქრომატოგრაფია და ტანდემური მას-სპექტრომეტრია, ხოლო ქირალური სელექტორების სახით გამოყენებულ იქნა პოლისაქარიდული ბუნების ქირალური უძრავი ფაზები. ამ მიდგომამ შესაძლებელი გახადა არა მხოლოდ საკვლევი ნივთიერებების და მათი მეტაბოლიტების ქრომატოგრაფიული დაყოფა, არამედ მათი ენანტიომერების დიფერენცირება, ისევე როგორც მეტაბოლიზმის და ფარმაკოკინეტიკის ენანტიოსელექტიურად შესწავლა.

Abstract

Approximately 40% of plant protection agrochemicals currently in use contain chiral active ingredients. The enantiomers of pesticides exhibit identical physicochemical properties in isotropic environments, but they may have different activities and toxicities due to interactions with enzymes or asymmetric compounds present in the environment. This difference can also lead to variations in the rate of biotic degradation, making one enantiomer more resistant than the other.

In this study, the enantiomeric separation of 10 chiral antifungal drugs was investigated using polysaccharide-based chiral stationary phases and polar organic mobile phases. Special attention was given to interesting examples of changes in the enantiomeric elution order (EEO), which depended on the chiral selector type, the separation temperature, the main component of the mobile phase, and minor additives. Specifically, it was found that the elution order of the enantiomers of the chiral drug terconaazole was reversed on cellulose- and amylose-based columns, even though they had the same substituent group. Another chiral drug, bifonazole, showed a reversed elution order of its enantiomers on two amylose-based selectors with different substituents. Additionally, the elution order of terconazole enantiomers changed on several columns when the alcohol-based mobile phase was replaced with acetonitrile. The effect of minor acidic (formic acid) additives in the mobile phase on the elution order of terconazole enantiomers was studied on Lux Cellulose-2 and Lux Cellulose-4 columns. Furthermore, the reversal of the elution order of bifonazole enantiomers was observed on the Lux Amylose-2 column with a change of separation temperature.

Drug addiction is one of the major problems in modern society. Technological advancements have led to the increased accessibility of psychotropic substances. Often, new substances are stronger and more dangerous than traditional drugs of abuse. One of the main issues is their unpredictable composition: the existing product may not contain the active ingredients that users intend to purchase.

It is important to note that the acquisition and consumption of traditional drugs (such as heroin and cocaine) can be confirmed through specific rapid testkits, but there are currently no clinical tests available to identify new psychotropic substances and their metabolites. Additionally, these substances and their metabolites' enantioselective actions have not been thoroughly studied.

The aim of the present PhD work was to study the enantiomeric separation of chiral agrochemicals. Additionally, it focuses on developing enantioselective analytical methods for new chiral psychoactive substances, narcotic additives, and their metabolites in biological samples to enable the practical implementation of these methods.

In this research, liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry were utilized, while polysaccharide-based chiral columns were employed for separation of enantiomers. This approach allowed not only the chromatographic separation of the target compounds and their metabolites but also the differentiation of their enantiomers.

სარჩევი

აბსტრაქტი 3
Abstract 5
1. შესავალი 8
თემის აქტუალობა: 8
2. ლიტერატურული ნაწილი 15
2.1 ქირალური აგროქიმიური საშუალებები 15
2.2 ახალი ფსიქოაქტიური საშუალებები 16
2.2.1 აფნ-ის გამოყენება მსოფლიოში 18
2.2.2 ჯანმრთელობის რისკები და სოციალური შედეგები 19
2.2.3 აფნ-ის სამართლებრივი სტატუსი სხვადასხვა ქვეყანაში და საქართველოში 20
2.2.4 ქიმიური სტრუქტურა 23
2.2.5 ცრუ დადებითი შედეგები ნარკოტიკების ტესტებში 24
2.2.6 გავრცელებული ქირალური ფსიქოაქტიური საშუალებები 25
2.3 ქირალობა 27
2.4 გაზური ქრომატოგრაფია 30
2.5 მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფია 31
2.6 ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფია 32
2.7 ენანტიომერების დაყოფის თერმოდინამიკური მახასიათებლები 34
2.8 ქრომატოგრაფიული დაყოფის მახასიათებელი პარამეტრები 35
2.9 . ქირალურად სუფთა ნივთიერებათა მიღების მეთოდები 37
2.9.1 სუფთა ენანტიომერების მიღება რაცემატიდან 37
2.9.2 ქირალური ბუნებრივი ნივთიერებები 38
2.10 კაპილარული ელექტროფორეზი 38
2.11 მას-სპექტრომეტრია 39
2.12 სითხური ქრომატოგრაფია-მას სპექტრომეტრიის შეუღლება 41
2.12.1 პოლისაქარიდული ქირალური სელექტორების ოპტიმიზაცია 42
2.12.2 სარჩულის გავლენა პოლისაქარიდულ ქირალურ ფაზებზე 49
2.12.3 სტაციონარული ფაზების ოპტიმიზაცია 51
2.12.4 მოძრავი ფაზების ოპტიმიზაცია 54
2.12.5 ქირალური დაყოფის მექანიზმები 56

3. ექსპერიმენტული ნაწილი 61
3.1 ქირალური აგროქიმიკატების დაყოფა 61
3.1.1 გამოყენებული აგროქიმიკატები 61
3.1.2 გამოყენებული ქირალური სვეტები 61
3.1.3 გამოყენებული აპარატურა 61
3.2 ფუძე ბუნების სხვა მსგავსი ნივთიერებები (ბეტა ბლოკატორები) 63
3.3 ახალი ფსიქოაქტიური ნივთიერებები და ნარკოტიკული საშუალებების დანამატები 63
3.3.1 ექსპერიმენტში გამოყენებული აპარატურა და მასალები 63
3.3.2 საანალიზო ნიმუშების მომზადება 65
3.3.3 ექსპერიმენტში გამოყენებული ბიოლოგიური მასალა 66
3.3.4 ექსპერიმენტში გამოყენებული ქირალური სვეტები 66
3.4 ტეტრამიზოლი 73
4. შედეგები და მათი განსჯა 75
4.1 ანტიმიკოზური პრეპარატები 75
4.1.1 პოლისაქარიდული ქირალური სელექტორის გავლენა ენანტიომერების ელუირების რიგზე (EEO) 76
4.1.2 კარბამატისა და ბენზოატის გავლენა EEO-ზე 76
4.1.3 ფენილის ჯგუფების ჩამნაცვლებლების გავლენა EEO-ზე 77
4.1.4 მოძრავი ფაზის შემადგენლობის გავლენა EEO-ზე 78
4.1.5 ტემპერატურის გავლენა ენანტიომერების დაყოფაზე და EEO-ზე 81
4.2 ფუძე ბუნების სხვა მსგავსი ნივთიერებები (ბეტა ბლოკატორები) 83
4.3 სინთეზური კათინონები 85
4.4 ტეტრამიზოლი 89
5. დასკვნები 93
6. გამოყენებული ლიტერატურა 94

1. შესავალი

თემის აქტუალობა:

ბოლო წლებში სინთეზური ორგანული პესტიციდების მომეტებული გამოყენება ყურადღებას იქცევს ადამიანის ჯანმრთელობასა და გარემოზე მათი შესაძლო უარყოფითი ზემოქმედების გამო [1]. მავნებლების ტიპის მიხედვით, შეიძლება გამოყენებულ იქნას ინსექტიციდები, ჰერბიციდები, ფუნგიციდები, ბაქტერიციდები, ალგეციდები, ავიციდები, მიტიციდები, მოლუსციციდები, ნემატიციდები, პისკიციდები და როდენტიციდები. ამ მრავალფეროვან პროდუქტებში ყველაზე ხშირად გამოიყენება - ინსექტიციდები, ჰერბიციდები, ფუნგიციდები და მათი ნარევები. დღესდღეობით, პესტიციდების ქიმიის კვლევა ფოკუსირებულია მათთან სისტემატური ზემოქმედებით რისკების შემცირებაზე [2]. ამ მიზნისთვის განუწყვეტლივ მიმდინარეობს ახალი პროდუქტების შემუშავება, რომლებიც ხასიათდება კარგი ფიტოსანიტარული ეფექტურობით დაბალ დოზებზე, მაღალი სელექტივობით, შემცირებული უარყოფითი ზემოქმედებით გარემოზე და დაბალი ღირებულებით. ენანტიომერულად სუფთა ქირალური პესტიციდები შეიძლება აკმაყოფილებდეს ამ მოთხოვნებს. ფაქტობრივად, 2007 წლის შემდეგ ბაზარზე წარდგენილი მცენარეთა დაცვის ახალი პროდუქტების 40%-ზე მეტი შეიცავს ერთ ან უფრო მეტ ასიმეტრიულ ცენტრს მათ სტრუქტურაში [3]. მიუხედავად ამისა, მათი უმეტესობა იწარმოება როგორც რაცემატული ან რამდენიმე სტერეოიზომერის ნარევი, მაშინ როცა მხოლოდ 7% იყიდება როგორც სუფთა სტერეოიზომერი ან აქტიური სტერეოიზომერით გამდიდრებული ვარიანტი. ასეთი ტიპის პროდუქტების კომერციალიზაცია ხდება მხოლოდ მაშინ, როდესაც დადგენილია ენანტიომერების/სტერეოიზომერების განსხვავებული აქტივობა და/ან ტოქსიკურობა და მათი გამოყენება შეიძლება დაგვეხმაროს გარემოზე პესტიციდების არასასურველი გავლენების შესამცირებლად [4].

ფუნგიციდები, ანტიმიკოზური (სოკოს საწინააღმდეგო) პრეპარატები ხშირად მოიხმარება რაცემატული ნარევების სახით, რომელთა ენანტიომერები შეიძლება მნიშვნელოვნად განსხვავდებოდეს ერთმანეთისგან აქტივობით, ტოქსიკურობით და სტაბილურობით. ამიტომ, მნიშვნელოვანია რომ პროდუქტი შეიცავდეს მხოლოდ ერთ ენანტიომერს რათა მივაღწიოთ პრეპარატების ოპტიმალურ ეფექტურობას და უსაფრთხოებას [5].

ერთ-ერთი ყველაზე გავრცელებული მეთოდი ენანტიომერების დაყოფისთვის არის მაღალეფექტური სითხის ქრომატოგრაფია (HPLC). ენანტიომერების დასაყოფად HPLC-ში კი ყველაზე ფართოდ გამოიყენება პოლისაქარიდებზე დაფუძნებული ქირალური სვეტები, რომლებიც გამოირჩევა მაღალი სელექტიურობითა და გარჩევადობით.

ამ კვლევაში ჩვენ შევისწავლეთ რამდენიმე პოპულარული ანტიმიკოზური პრეპარატის ენანტიომერების დაყოფა პოლისაქარიდებზე დაფუძნებული ქირალური სვეტების გამოყენებით, ექსპერიმენტში შეფასდა მოძრავი ფაზის, ტემპერატურის და სხვა ექსპერიმენტული პარამეტრების გავლენა ენანტიომერების დაყოფასა და ელუირების რიგზე [6].

კვლევაში ასევე შესწავლილ იქნა მსგავს ფუძე ბუნების სხვა ნივთიერებები, კერძოდ ბეტა ბლოკატორები. საინტერესო იყო ანტიმიკოზური საშუალებების მსგავსად როგორი იქნებოდა ტემპერატურის და სხვა ექსპერიმენტული პარამეტრების გავლენა ენანტიომერების დაყოფასა და ელუირების რიგზე ბეტა ბლოკატორებისათვის. მიღებულ იქნა განსხვავებული შედეგი. კერძოდ ელუირების რიგის ცვლილება არ დაფიქსირდა სხვადასხვა ცელულოზურ სვეტზე და დაფიქსირდა მხოლოდ მოძრავ ფაზაში წყლის თანაობისას [7].

ახალი სინთეზური ფსიქოტროპული საშუალებების გავრცელება ერთ-ერთ მნიშვნელოვან გამოწვევას წარმოადგენს როგორც საქართველოში, ასევე მთელ მსოფლიოში. გამოწვევა აქტუალური გახდა მას შემდეგ, რაც „შავ ბაზარზე“ გამოჩნდა ახალი ნივთიერებები, რომლებიც არ იყო გაეროს კონვენციის სიებში. აქედან გამომდინარე ეს ნივთიერებები იყო დეკრიმინალიზებული და მათი ფლობა, შენახვა, შეძენა, გავრცელება და გაყიდვა ხდებოდა ყოველგვარი შეფერხებების გარეშე. როდესაც ხმარებაში არსებული ნარკოტიკული ნივთიერება ექცევა კონტროლირებული ნივთიერებების სიაში, როგორც წესი, აკრძალული ნივთიერების ნაცვლად ჩნდება რამდენიმე ახალი ნივთიერება, რომლებიც მცირე სტრუქტურული ცვლილებით ან ჩანაცვლებული რადიკალით არის განსხვავებული ზემოხსენებულისაგან. ასევე არის ფაქტები, როდესაც ნარკოტიკულ ნივთიერებებში გვხვდება შეუსაბამო დანამატები, მაგალითად ანტიჰელმინთური საშუალებები. ბოლო წლებში ყურადღება მიექცა კოკაინის დანამატს ლევამიზოლს. ლევამიზოლი არის ტეტრამიზოლის ერთ-ერთი ენანტიომერი, ხოლო მის სტერეოიზომერს წარმოადგენს დექსამიზოლი. აღნიშნულ კვლევაში ასევე შევისწავლეთ ტეტრამიზოლის დანამატის ენანტიომერული და მეტაბოლიტური დაყოფის შესაძლებლობები.

მსგავსი პრობლემის წინაშე დადგა საქართველოც. გამომდინარე მისი გეოპოლიტიკური მდებარეობისაგან და ქვეყანაში არსებული არასახარბიელო ნარკოვითარებიდან გამომდინარე, საქართველოს კანონში განხორციელებული ცვლილებები არ აღმოჩდა საკმარისი ახალი ფსიქოაქტიური ნივთიერებების გავრცელების ხელის შესაშლელად. როგორც ჩვენი ქვეყნისათვის, ასევე მთელი მსოფლიოსათვის საჭირო გახდა უფრო მიზანდასახული ქმედებების განხორციელება, რომ კანონში განხორციელებულიყო ისეთი ცვლილებები, რომლითაც რამდენიმე ნაბიჯით წინ გაუსწრებდა სამართალდამცველი ორგანოები და ჯანდაცვის სისტემები კრიმინალებს. მეცნიერთა ჯგუფებთან კონსულტაციებით და შესაბამისი საკანონმდებლო ცვლილებებით, რამდენიმე წარმატებულ ქვეყანაში მათ შორის საქართველოში, მიღებულ იქნა კანონი რომლითაც კრიმინალიზირებული იქნა სხვადასხვა ახალი ფსიქოაქტიური ნივთიერების ძირითადი ქიმიური სტრუქტურა მიუხედავად მათი ჩამნაცვლებილის და იზომერიისა. თუმცა აღნიშნული ნივთიერებების მოხმარება და გავრცელება დღეს მაინც დიდ პრობლემებს ქმნის. გამომდინარე იქედან, რომ თუ მედიცინას ქონდა დიდი გამოცდილება კლასიკური ნარკოტიკული საშუალებების ზედოზირების მკურნალობაზე, ახალი ნარკოტიკების მოხმარებით გამოწვეული ფსიქიური და სიცოცხლისათვის საშიში შედეგების მართვა მათთვის დღესაც გამოწვევას წარმოადგენს. სწორედ ახალი ფსიქოაქტიური ნივთიერებების გამოჩენის შემდეგ ფიქსირდება ჯანმრთელობის და სიცოცხლის მოსპობის მომატებული მაჩვენებელი. ყოველივე აღნიშნულ პრობლემას დღესაც ებრძვის გაეროს კონვენციის წევრი სახელმწიფოები, მათ შორის საქართველო.

მნიშვნელოვანია მეცნიერების თანადგომა ჯანდაცვისა და სამართალდამცავ ორგანიზაციებთან რათა უფრო დეტალურად იქნას შესწავლილი ახალი ფსიქოაქტიური ნივთიერებები და მათი გავლენა ადამიანის ორგანიზმზე.

წარმოდგენილი დისერტაციის მიზანია ანტიმიკოზური საშუალებებისა და ახალი ფსიქოაქტიური ნივთიერებების ენანტიოსელექტიური ანალიზის თანამედროვე და ინოვაციური მეთოდების შემუშავება სითხური ქრომატოგრაფია-მას სპექტრომეტრიის გამოყენებით, რაც მოახდენს, მათ ზუსტ იდენტიფიცირებას და გააუმჯობესებს კონტროლის მექანიზმებს ეროვნულ და საერთაშორისო დონეზე.

ხშირია შემთხვევები, როდესაც სხვადასხვა ნარკოტიკულ საშუალებებში დანამატის სახით გვხვდება ისეთი ნივთიერება, რომელიც თავისი ბუნებით და სტრუქტურით არ წარმოადგენს ნარკოტიკულ საშუალებას, არ გააჩნია ნარკოტიკული თრობის ეფექტი. თუმცა არის მოსაზრება, რომ შესაძლოა მოახდინოს ნარკოტიკული საშუალების ეფექტის გაძლიერება ან გახანგრძლივება. ასეთია ნივთიერება ლევამიზოლი, რომელიც განიხილება, როგორც კოკაინის ერთერთ პოპულარულ დანამატად. წყაროებზე დაყრდნობით უკანონო ბრუნვიდან ამოღებულ კოკაინთან ერთად ხშირად არის დანამატის სახით ლევამიზოლი. ასევე ხშირად ხდება მისი დეტექტირება ტოქსიკოლოგიურ ანალიზში. ლევამიზოლი წარმოადგენს ტეტრამიზოლის L-ენანტიომერს. ტეტრამიზოლი არის რაცემატი, რომელიც ასევე შეიცავს D- ენანტიომერს, დექსამიზოლს. ჩვენს მიერ შესწავლილ ერთ-ერთ ბიოლოგიურ ნიმუშში დაფიქსირდა ტეტრამიზოლის არსებობა. რაც დადასტურდა ექსპერიმენტებით. ასევე შევისწავლეთ ტეტრამიზოლის მეტაბოლიტური გარდაქმნები.

სამეცნიერო სიახლე: სადისერტაციო ნაშრომის სიახლეს წარმოადგენს ქირალური აგროქიმიური და ფარმაცევტული საშუალებების ენანტიომერების დაყოფის ახალი მეთოდების დამუშავება. ასევე ახალი ფსიქოაქტიური ნივთიერებების მეფედრონისა და კლეფედრონის, ნარკოტიკული საშუალებების დანამატების - ტეტრამიზოლის და მათი მეტაბოლიტების ენანტიოსელექტიური ანალიზის მეთოდების დამუშავება.

დამუშავდა მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფიისა და ტანდემური მას-სპექტრომეტრიის (HPLC-MS/MS) მეთოდი, რაც ერთდროულად მსგავსი ნივთიერებების დაყოფისთვის პირველი მცდელობაა, შევისწავლოთ ეს ნივთიერებები ენანტიოსელექტიურად და ასევე მათი იზომერები ბიოლოგიურ ნიმუშებში. შესწავლილ იქნა საქართველოს მაგალითზე გავრცელებული, პოპულარული კათინონები და მათი მოხმარების ფაქტები.

მთავარი სამეცნიერო სიახლეები მოიცავს:

ენანტიოსელექტიური ანალიზის მეთოდების დამუშავება: პოლისაქარიდული ბუნების ქირალური სვეტების (Lux Amylose-1; Lux Amylose-2; Lux Cellulose-1; Lux Cellulose-2; Lux Cellulose-3; Lux Cellulose-4; Lux-AMP) გამოყენებით შესაძლებელი გახდა, როგორც ანტიმიკოზური პრეპარატების, ასევე ახალი ფსიქოაქტიური ნივთიერებების (მეფედრონისა და კლეფედრონის) და ნარკოტიკული საშუალების დანამატის (ტეტრამიზოლის) ქრომატოგრაფიული და ენანტიომერული დაყოფა.

ჩატარებული კვლევებით მოხდა აგროქიმიაში ფართოდ გავრცელებული ანტიმიკოზური საშუალებების ენანტიომერული ნარევების დაყოფა, დაყოფის ეფექტურობის გაზრდა. ასევე შესწავლილ იქნა სხვადასხვა ფაქტორების ზეგავლენით (ტემპერატურა, მობილური ფაზის დანამატის) ელუირების რიგის ცვლილება. განხორციელდა ამ მეთოდების ოპტიმიზაცია. კვლევა მნიშვნელოვანია როგორც პრეპარატული შეგროვების ასევე ანალიზური თვალსაზრისით.

მეფედრონის, კლეფედრონისა და ტეტრამიზოლის ენანტიომერების და იზომერების დაყოფა, არსებითად ახალ ინფორმაციას იძლევა მისი ფარმაკოკინეტიკური თავისებურებების შესახებ. ჩატარებული კვლევებით პირველად დადასტურდა ნარკოტიკულ საშუალებაში დანამატის სახით ტეტრამიზოლის არსებობა (ადრინდელ გამოკვლევებში ძირითადად ითვლებოდა, რომ კოკაინის დანამატი არის ლევამიზოლი).

მეთოდის ვალიდაცია განხორციელდა თანამედროვე სტანდარტების შესაბამისად, ანალიზი არის სწრაფი და ეფექტური და ის მხოლოდ 15 წუთში გვაძლევს ინფორმაციას, რაც დიდ უპირატესობას წარმოადგენს სასამართლო სამედიცინო და ტოქსიკოლოგიური ექსპერტიზისათვის. პოზიციური იზომერებისა და ენანტიომერული ნარევების გამოცნობის მიზნით დღესდღეობით კვლევა საქართველოში (მათ შორის კრიმინალისტიკურ ლაბორატორიებში) არ ტარდება. თუმცა ამის აუცილებლობა არსებობს, ვინაიდან ევროპის ბაზარზე გამოჩენილი 2-, 3- მეფედრონის და კლეფედრონის იზომერების საქართველოში მოხვედრის ალბათობა არის დიდი.

აღსანიშნავია ის ფაქტი, რომ ბევრი კრიმინალისტიკური თუ ტოქსიკოლოგიური ლაბორატორია იყენებს ისეთ მეთოდებს, რომლითაც შეუძლებელია ნივთიერებების პოზიციური იზომერების და ენანტიომერული ნარევების გარჩევა. წინამდებარე კვლევის მიზანი იყო, რომ შეგვესწავლა საუკეთესო პრაქტიკა მსგავსი დაყოფების და იდენტიფიცირებისათვის.

სამუშაოს მიზნები: სადისერტაციო ნაშრომის მიზანი იყო ანტიმიკოზური საშუალებების ენანტიოსელექტიური ანალიზის მეთოდების დამუშავება და ოპტიმიზაცია. ასევე ახალი ფსიქოაქტიური ნივთიერებების მეფედრონისა და კლეფედრონის იზომერების იდენტიფიცირების მეთოდის ოპტიმიზაცია მისი შემდგომი პრაქტიკაში დანერგვის მიზნით. ასევე გვსურდა დაგვედგინა საქართველოში გავრცელებული მეთილმეთკათინონის და ქლორმეთკათინონის ზუსტი სტრუქტურა პოზიციური იზომერიის გათვალისწინებით

ენანტიოსელექტიური მეთოდის შემუშავება:

- სითხური ქრომატოგრაფიის საშუალებით (HPLC) აგროქიმიკატების ენანტიომერული ნარევების დაყოფა და მათი შეგრობვება. ენანტიომერული ნარევების დაყოფის ოპტიმიზაცია, სწორი ქირალური სელექტორის შერჩევა.
- სხვადასხვა ქირალური სელექტორის გამოყენებით დაყოფის და ელუირების რიგის ცვლილების შესწავლა.
- მობილურ ფაზებში დანამატების გავლენის შესწავლა. კვლევის პროცესში გამოიკვეთა, მცირე დანამატის გავლენა ელუირების რიგის ცვლილებაზე.

- ტემპერატურის გავლენა ანალიზის მსვლელობაზე. ანალიზის პროცესში ტემპერატურული რეჟიმი გავლენას ახდენს ენანტიომერულ სელექტიურობაზე ასევე ელუირების რიგის ცვლილებაზე.
- სითხური ქრომატოგრაფიისა და მას-სპექტრომეტრიის (HPLC-MS/MS) ტანდემური სისტემის გამოყენებით მეფედრონის და კლეფედრონის, ასევე მათი მეტაბოლიტების ქირალური ანალიზის პირობების ოპტიმიზაცია.
- პოლისაქარიდული ქირალური სელექტორების, მაგალითად, LUX AMYLOSE-1-1 (ADMPC); Lux Amylose-1; Lux Amylose-2; Lux Cellulose-1; Lux Cellulose-2; Lux Cellulose-3; Lux Cellulose-4;და Lux AMP გამოყენება, რათა უზრუნველყოფილიყო ნივთიერებების ენანტიომერული დაყოფა.

პუბლიკაციები:

1) **Enantioseparation of Chiral Antimycotic Drugs by HPLC with Polysaccharide-Based Chiral Columns and Polar Organic Mobile Phases with Emphasis on Enantiomer Elution Order** - Antonina Mskhiladze · Marina Karchkhadze · Alexandre Dadianidze · Salvatore Fanali · Tivadar Farkas · Bezhan Chankvetadze - *Chromatographia* (2013) 76:1449–1458 DOI 10.1007/s10337-013-2396-8.

2) **Separation of enantiomers of chiral basic drugs with amylose- and cellulose- phenylcarbamate-based chiral columns in acetonitrile and aqueous-acetonitrile in high-performance liquid chromatography with a focus on substituent electron-donor and electron-acceptor effects** - Iza Matarashvili, Aluda Chelidze, Gizo Dolidze, Giorgi Kobidze, Nino Zaqashvili, Alexandre Dadianidze, Ivett Bacskay, Attila Felinger, Tivadar Farkas, Bezhan Chankvetadze - *Journal of Chromatography A* Volume 1624, 2 August 2020, 461218.

3) **Investigation of the Positional Isomers of Mephedrone and Clephedrone in the Urine Samples of Drug Abusers in Georgia -** Dadianidze A*.,[1] Jorbenadze S.,[1] Tkemaladze V.,[1] Kobidze G.,[2] Jibuti G.,[1] Dolidze G.,[1] Lo Faro A.F.,[2] Busardo F.P.,[2] Chankvetadze B.[1]. *J. Georgian engineering News*. (2025) DOI: https//doi.org/10.36073/1512-0287, ISSN 1512-0287.

ნაშრომის აპრობაცია: კვლევის შედეგები წარმოდგენილი იყო შემდეგ კონფერენციებზე:

1. პირველი ყოველწლიური საფაკულტეტო კონფერენცია ზუსტ და საბუნებისმეტყველო მეცნიერებებში - 2013 წელი. თბილისი, საქართველო.

2. მეცამეტე ყოველწლიური საფაკულტეტო კონფერენცია ზუსტ და საბუნებისმეტყველო მეცნიერებებში - 2025 წელი. თბილისი, საქართველო.

ნაშრომის მოცულობა: სადისერტაციო ნაშრომი შედგება 6 თავისგან: შესავალი, ლიტერატურის მიმოხილვა, ექსპერიმენტული ნაწილი, მიღებული შედეგები და მათი განსჯა, დასკვნები და გამოყენებული ლიტერატურა. ნაშრომი განთავსებულია 102 გვერდზე, მოიცავს 72 ციტირებულ ლიტერატურას, 2 სურათს, 43 ნახაზს, 7 ფორმულას და 9 ცხრილს.

2. ლიტერატურული ნაწილი

2.1 ქირალური აგროქიმიური საშუალებები

ბოლო წლებში სინთეზური ორგანული პესტიციდების მომეტებული გამოყენება ყურადღებას იქცევს ადამიანის ჯანმრთელობასა და გარემოზე მათი შესაძლო უარყოფითი ზემოქმედების გამო [1]. მავნებლების ტიპის მიხედვით, შეიძლება გამოყენებულ იქნას ინსექტიციდები, ჰერბიციდები, ფუნგიციდები, ბაქტერიციდები, ალგეციდები, ავიციდები, მიტიციდები, მოლუსციციდები, ნემატიციდები, პისკიციდები და როდენტიციდები. ამ მრავალფეროვან პროდუქტებში ყველაზე ხშირად გამოიყენება - ინსექტიციდები, ჰერბიციდები, ფუნგიციდები და მათი ნარევები. დღესდღეობით, პესტიციდების ქიმიის კვლევა ფოკუსირებულია მათი სისტემატური ზემოქმედებით გამოწვეული რისკების შემცირებაზე [2]. ამ მიზნისთვის განუწყვეტლივ მიმდინარეობს ახალი პროდუქტების შემუშავება, რომლებიც ხასიათდება კარგი ფიტოსანიტარული ეფექტურობით დაბალ დოზებზე, მაღალი სელექტივობით, გარემოზე შემცირებული ზემოქმედებით და დაბალი ღირებულებით. ენანტიომერულად სუფთა ქირალური პესტიციდები შეიძლება აკმაყოფილებდეს ამ მოთხოვნებს.

რაცემატული ნარევების ენანტიომერულად სუფთა ნივთიერებით ჩანაცვლების სირთულე ძირითადად დაკავშირებულია მისი სინთეზისა და/ან გაწმენდის პროცესთან. პესტიციდების სტერეოიზომერები შეიძლება აჩვენებდეს არა მხოლოდ განსხვავებულ ეფექტურობას სამიზნე სახეობებზე, არამედ განსხვავებულ განაწილებას გარემოში, ასევე განსხვავებულ ფარმაკოკინეტიკას და ტოქსიკურობას სამიზნე და არასამიზნე ცხოველებსა და მცენარეებში. თუ მხოლოდ ერთი ენანტიომერი წარმოადგენს ბიოლოგიურად აქტიურ ფორმას სასურველი პესტიციდური თვისებით (ეუტომერი), მაშინ რაცემატული ფორმულაციის გამოყენება იმავე რაოდენობით ნიშნავს, რომ მინიმუმ ორი დოზით მეტ პროდუქტს გამოიყენებენ, ვიდრე საჭიროა. თუმცა, რაც უფრო მეტია სტერეოიზომერების რაოდენობა ნარევში, მით უფრო დიდია გარემოზე ზემოქმედება. ფაქტობრივად, თუ მოლეკულას აქვს *n* ქირალური ელემენტი, მაქსიმუმ 2^n სტერეოიზომერი შეიძლება არსებობდეს, მაგრამ მხოლოდ ერთი მათგანის შეიძლება ჰქონდეს ექსკლუზიური ან დომინანტური პესტიციდური აქტივობა. ეს ნიშნავს, რომ, რადგან $100 \times (2^n - 1) / 2^n$ არის მინიმალურად აქტიური ან არააქტიური სტერეოიზომერების (დისტომერების) პროცენტული შემცველობა ფორმულაციაში, 50%-იანი შემცველობა არის მაშინ, როდესაც N = 1, ხოლო 75%-იანი შემცველობა კი N = 2-ის დროს და ასე შემდეგ. გარდა ამისა, არაეფექტური პესტიციდური აქტივობის თვალსაზრისით, ნებისმიერი დისტომერს შეიძლება ჰქონდეს საზიანო ეფექტი ორგანიზმებზე. ამგვარად, რაცემატული ფორმულაციების ან სტერეოიზომერების ნარევების გამოყენება იწვევს "იზომერულ ბალასტს", შესაბამისად, გარემოს ზედმეტად დაბინძურებას. რამდენიმე ევროპულმა ქვეყანამ განახორციელა სტრატეგიული ინიციატივები იმისთვის, რომ შეამცირონ ასეთი იზომერული ბალასტის გარემოში მოხვედრა: შვეიცარიამ და ჰოლანდიამ სასოფლო სამეურნეო დანიშნულებით გამოყენებისათვის დაარეგისტრირა ზოგიერთი აგროქიმიური ნაწარმისათვის მხოლოდ ერთი ენანტიომერის შემცველი პროდუქტი (მაგალითად, mecoprop და dichlorprop), ხოლო საფრანგეთმა, ნორვეგიამ, შვედეთმა და დანიამ დააწესეს რაცემატულ პესტიციდების გამოყენებაზე დამატებითი გადასახადი, რათა მხოლოდ აქტიური სტერეოიზომერის გამოყენება წაახალისონ.

პესტიციდების გარემოში განაწილების შესახებ ჩატარებულმა კვლევებმა აჩვენა, რომ ქირალური ნაერთების აბიოტიკური გარდაქმნები ძირითადად არ არის ენანტიოსელექტიური, ხოლო მიკრობული დაშლისა და ბიოლოგიური მეტაბოლიზმის მექანიზმები ჩვეულებრივ სტერეოსელექტიური ან ენანტიოსელექტიური გზებით მიმდინარეობს, რომლებიც პასუხისმგებლები არიან სტერეოიზომერების დაშლის სხვადასხვა სიჩქარეებზე. ბიოლოგიური დაშლის კარგი ინდიკატორები არიან ენანტიომერული თანაფარდობა (ER) და ენანტიომერული წილი (EF). ER, რომელიც გამოითვლება როგორც ორი ენანტიომერის კონცენტრაციის თანაფარდობა ($ER = A^+ / A^-$), არის პარამეტრი, რომელიც შეიძლება შეიცვალოს 0-დან ∞-მდე. ამიტომ, გარემოს ნიმუშებისთვის ენანტიომერული (ქირალური) მახასიათებლის უკეთესი აღწერა არის $EF = A^+ / (A^+ + A^-) = ER/(ER + 1)$. EF-ს მნიშვნელობები შეიძლება მერყეობდეს 0-დან 1-მდე, სადაც EF = 0.5 წარმოადგენს რაცემატს [5].

ფუნგიციდები, ანტიმიკოზური (სოკოს საწინააღმდეგო) პრეპარატები ხშირად წარმოდგენილია რაცემატულ ნარევებად, რომელთა ენანტიომერები შეიძლება მნიშვნელოვნად განსხვავდებოდეს ერთმანეთისგან აქტივობით, ტოქსიკურობით და სტაბილურობით. ამიტომ, მნიშვნელოვანია რომ პროდუქტი შეიცავდეს მხოლოდ ერთ ენანტიომერს რათა მივაღწიოთ პრეპარატების ოპტიმალურ ეფექტურობა და უსაფრთხოება [6].

2.2 ახალი ფსიქოაქტიური საშუალებები

ახალი ფსიქოაქტიური ნივთიერებები (აფნ) წარმოადგენს მზარდ გლობალურ პრობლემას, რომელიც მნიშვნელოვან გამოწვევებს უქმნის საზოგადოებრივ ჯანმრთელობას და ნარკოპოლიტიკას.

გაეროს ნარკოტიკებისა და დანაშაულის წინააღმდეგ ბრძოლის ოფისის (UNODC) თანახმად, ახალი ფსიქოაქტიური ნივთიერება (აფნ) განისაზღვრება, როგორც: „ბოროტად გამოყენებადი ნივთიერება, როგორც სუფთა სახით, ასევე პრეპარატში, რომელიც არ კონტროლდება ნარკოტიკული საშუალებების შესახებ 1961 წლის ერთიანი კონვენციით ან ფსიქოტროპული ნივთიერებების შესახებ 1971 წლის კონვენციით, მაგრამ რომელიც შეიძლება საფრთხეს უქმნიდეს საზოგადოებრივ ჯანმრთელობას“ [8].

ტერმინი „ახალი“ არ ნიშნავს მხოლოდ ახლად დასინთეზებულ ნივთიერებებს, არამედ ნივთიერებებს, რომლებიც ბოლო დროს გამოჩნდა ბაზარზე. აფნ ხშირად იყიდება როგორც „ლეგალური ნარკოტიკი“, „კვლევითი ქიმიკატები“ ან „აბაზანის მარილები“, რათა თავიდან აიცილონ ნარკოტიკების შესახებ ამკრძალავი კანონები და შექმნან უსაფრთხოების ცრუ შთაბეჭდილება. ეს ნივთიერებები განზრახ არასწორად არის ეტიკეტირებული, რათა შეცდომაში შეიყვანონ საბაჟო და მაკონტროლებელი სამსახურები და მომხმარებლები, რაც ზრდის ზიანის რისკს უცნობი სისუფთავისა და შემადგენლობის გამო.

ცხრილი 1.

ანფ-ის ტიპი	ეფექტები	მაგალითები
სინთეტური კანაბინოიდები	აქვს კანაბის მსგავსი ეფექტები; სტიმულანტური, დეპრესანტული და ჰალუცინოგენური ეფექტები.	Spice, K2, JWH-018, MDMB-FUBINACA, ADB-FUBINACA, AB-CHMINACA
სინთეზური კათინონები	ამფეტამინის მსგავის სტიმულანტები ; შეუძლია გამოიწვიოს ჰალუცინაციები, ტაქიკარდია, შფოთვა და სიკვდილი.	Bath salts, mephedrone, methylone, MDPV
ფენეთილამინები	სტიმულანტური და ჰალოცინოგენური ეფექტები	Amphetamine, MDMA, 2C series (2C-I, 2C-E, DOI)
ფენციკლიდინის ტიპის ნივთიერებები	დისოციაციური და ჰალუცინოგენური ეფექტები	PCP analogs, ketamine, MXE, 3-MeO-PCE
ტრიფტამინები	ფსიქოდელური ეფექტები	Psilocybin, DMT, alpha-methyltryptamine
პიპერაზინები	სტიმულანტური ეფექტები	BZP, TFMPP
სინთეზური ოპიოიდები	ოპიატების მსგავსი ეფექტები: აქვს ზედოზირების და სიკვდილის მაღალი რისკი	Fentanyl analogues, carfentanil
ბენზოდიაზეპინები	სედატიური და ანქსიოლიტური ეფექტები	Diclazepam, flubromazepam, pyrazolam, etizolam, phenazepam
ამინოინდანები	აქვს MDMA-ს მსგავსი ეფექტები	2-AI
მცენარეზე დაფუძნებული ნაერთები	განსხვავებული ეფექტი მცენარიდან გამომდინარე	Kratom, khat, Salvia divinorum, datura, ayahuasca

აფნ-ს აქვს მრავალფეროვანი ქიმიური სტრუქტურები, რომლებიც ხშირად ოდნავ შეცვლილია ნარკოტიკების შესახებ კანონების გვერდის ავლის მიზნით. ეს ართულებს მათ იდენტიფიცირებას და რეგულირებას. აფნ-ის ეფექტი ადამიანის სხეულსა და ტვინზე განსხვავდება ნივთიერებისა და მისი ქიმიური სტრუქტურის მიხედვით.

მაგალითად, სინთეზური კანაბინოიდები ურთიერთქმედებენ ენდოკანაბინოიდურ სისტემასთან, ძირითადად კანაბინოიდური რეცეპტორების ტიპი-1-თან (CB1). მათ აქვთ უფრო დიდი ეფექტურობა და რეცეპტორთან დაკავშირების უნარი, ვიდრე ტეტრაჰიდროკანაბინოლს (THC), კანაფის აქტიურ ინგრედიენტს, რამაც შეიძლება ახსნას მათი გაზრდილი ტოქსიკურობა და ფსიქიატრიული გართულებების მაღალი სიხშირე [8].

სინთეზური კათინონები ზრდის დოპამინის და ნორეპინეფრინის დონეს თავის ტვინში, რაც იწვევს მასტიმულირებელ ეფექტებს. მათ შეუძლიათ გამოიწვიონ არასასურველი ეფექტების მთელი რიგი, მათ შორის ჰალუცინაციები, გულისცემის აჩქარება, აგზნება და სიკვდილიც კი [9].

ოპიოიდური რეცეპტორების აგონისტები, როგორიცაა ფენტანილის ანალოგები, უკავშირდება ოპიოიდურ რეცეპტორებს თავის ტვინში, რაც იწვევს ტკივილის შემსუბუქებას და ეიფორიას. თუმცა, ისინი ასევე ქმნიან ჭარბი დოზირების და სიკვდილის მაღალ რისკს, მათი სიძლიერის და სუნთქვის დათრგუნვის პოტენციალის გამო

საერთო ჯამში, აფნ-ს შეუძლია ჰქონდეს მრავალფეროვანი ეფექტი სხეულსა და თავის ტვინზე, მათ შორის: მასტიმულირებელი, დამთრგუნველი, ჰალუცინოგენური, დისოციაციური და ოპიოიდური ეფექტები[10].

2.2.1 აფნ-ის გამოყენება მსოფლიოში

აფნ-ის გამოყენების მასშტაბები მსოფლიოში დიდწილად უცნობია საიმედო მონაცემების ნაკლებობის და აფნ-ის ბაზრის მუდმივად ცვალებადი ხასიათის გამო. თუმცა, არსებული მონაცემები მიუთითებს, რომ აფნ-ის გამოყენება მნიშვნელოვანი საზოგადოებრივი ჯანმრთელობის პრობლემაა, განსაკუთრებით ახალგაზრდებში.

ინტერნეტი მნიშვნელოვან როლს ასრულებს აფნ-ის ბაზარზე, როგორც მიწოდების ძირითადი წყარო და პოტენციურად ხელს უწყობს ამ ნივთიერებების იმპორტს და საბითუმო ვაჭრობას.

2011 წლის ევრობარომეტრის კვლევამ აჩვენა, რომ ევროკავშირში 15-24 წლის ასაკის ადამიანების თითქმის 5%-მა გამოცადა აფნ. ევროპაში, დიდი ბრიტანეთი, პოლონეთი, საფრანგეთი, გერმანია და ესპანეთი შეადგენდნენ აფნ-ის მომხმარებელთა უმრავლესობას. ირლანდიაში ჩატარებულმა კვლევამ აჩვენა, რომ მონაწილეთა 5%-მა განაცხადა აფნ-ის გამოყენების შესახებ, ხოლო უფროსი ასაკის რესპონდენტებს უფრო ხშირად სთავაზობდნენ აფნ-ს წვეულებებზე ან კლუბებში. ექსტაზის რეგულარულ მომხმარებლებს შორის მცირე ნაწილმა განაცხადა, რომ იყენებდა აფნ-ს, როგორიცაა სინთეზური კანაბინოიდები, სინთეზური კათინონები და ფენეთილამინები. მათი მიწოდების სასურველი წყარო იყო მეგობრები, წვეულებები/კლუბები და სპეციალიზებული მაღაზიები [9].

შეერთებულ შტატებში ასევე დაფიქსირდა აფნ-ის გამოყენების მაღალი პოპულარობა. 2012 წელს შეერთებულ შტატებში გამოვლინდა 158 აფნ, ორჯერ მეტი ვიდრე ევროკავშირში [11].

მიუხედავად იმისა, რომ ყველაზე გავრცელებულია ევროპასა და ჩრდილოეთ ამერიკაში, აფნ-ის გამოყენება დაფიქსირდა სხვადასხვა რეგიონში, მათ შორის აზიაში, ახლო აღმოსავლეთში და აფრიკაში. პაკისტანში, ახალგაზრდები, როგორც ქალები ისე კაცები, ხშირად იწყებენ ნარკოტიკების გამოყენებას ცნობისმოყვარეობის და თანატოლების ზეწოლის გამო [11].

ახალი ფსიქოაქტიურ ნივთიერებების, კერძოდ სინთეზური კათინონების მოხმარებისა და უკანონო მიმოქცევიდან ამოღების ფაქტებმა იმატა საქართველოშიც [12].

2.2.2 ჯანმრთელობის რისკები და სოციალური შედეგები

აფნ-ის გამოყენება დაკავშირებულია ჯანმრთელობის რისკების და სოციალური შედეგების მთელ რიგთან [13]. ზოგიერთი დაფიქსირებული არასასურველი ეფექტი მოიცავს:

ფიზიკური ეფექტები: კრუნჩხვები, გულის პრობლემები, თირკმელების პრობლემები, ღებინება და სიკვდილიც კი [13].

ფსიქოლოგიური ეფექტები: ფსიქოზი, პარანოია, შფოთვა, აგზნება, აგრესია და ჰალუცინაციები.

ექვს ევროპულ ქვეყანაში ჩატარებულმა კვლევამ აჩვენა, რომ აფნ-ის მარგინალიზებულმა მომხმარებლებმა განაცხადეს მნიშვნელოვნად მეტი მწვავე გვერდითი ეფექტის, გრძელვადიანი ფსიქიკური და ფიზიკური პრობლემების და სოციალური პრობლემების შესახებ, ვიდრე ღამის ცხოვრების და ონლაინ მომხმარებლებმა [14]. გულისცემის აჩქარება, თავბრუსხვევა, შფოთვა და თავის ტკივილი იყო ყველაზე ხშირად დაფიქსირებული მწვავე გვერდითი ეფექტები[14].

აფნ-ის გამოყენების სოციალური შედეგები შეიძლება მოიცავდეს:

დანაშაულის ზრდა: აფნ-ის გამოყენება დაკავშირებულია ნარკოტიკებით ვაჭრობასთან, ძალადობასთან და სხვა კრიმინალურ საქმიანობასთან [11].

სოციალური იზოლაცია: აფნ-ის გამოყენებამ შეიძლება გამოიწვიოს სოციალური იზოლაცია და ოჯახის და მეგობრებისგან განცალკევება [11].

ფსიქიკური ჯანმრთელობის პრობლემები: აფნ-ის გამოყენებამ შეიძლება გაამწვავოს არსებული ფსიქიკური ჯანმრთელობის პრობლემები და ხელი შეუწყოს ახლის განვითარებას [11].

ეკონომიკური ტვირთი: აფნ-ის გამოყენებამ შეიძლება მნიშვნელოვანი ეკონომიკური ტვირთი დააკისროს ინდივიდებს, ოჯახებს და ჯანდაცვის სისტემებს.

აფნ-ის გამოყენება მნიშვნელოვან გამოწვევებს უქმნის უსაფრთხო ფსიქიკური ჯანმრთელობის გარემოს. უსაფრთხო ფსიქიკური ჯანმრთელობის გარემოს მიმოხილვამ აჩვენა, რომ აფნ-ის გამოყენებამ შეიძლება გამოიწვიოს ფსიქიატრიული სიმპტომები იმ

პირებში, რომლებსაც ადრე არ ჰქონიათ ფსიქიკური ჯანმრთელობის დიაგნოზი და გაამწვავოს სიმპტომები მათში, ვისაც უკვე აქვს ფსიქიკური დაავადება [13]. მიმოხილვაში ასევე ხაზგასმულია გამოწვევები, რომლებიც დაკავშირებულია:

ადამიანური რესურსები: აფნ-ის გამოყენების ეფექტების მართვა და მწვავე ინციდენტებზე რეაგირება მოითხოვს პერსონალის მნიშვნელოვან რესურსებს.

ვაჭრობა და ექსპლუატაცია: აფნ-ის გამოყენებამ შეიძლება გამოიწვიოს ვაჭრობა და ექსპლუატაცია უსაფრთხო ფსიქიკური ჯანმრთელობის განყოფილებებში.

ძალადობა: აფნ-ის გამოყენებამ შეიძლება ხელი შეუწყოს ძალადობას და აგრესიას ამ გარემოში.

აფნ-ის ტესტირება: აფნ-ის იდენტიფიცირება და ტესტირება შეიძლება რთული იყოს ამ ნივთიერებების მუდმივად ცვალებადი ხასიათის გამო.

2.2.3 აფნ-ის სამართლებრივი სტატუსი სხვადასხვა ქვეყანაში და საქართველოში

აფნ-ის სამართლებრივი სტატუსი მნიშვნელოვნად განსხვავდება ქვეყნების მიხედვით. ვინაიდან აფნ არ კონტროლდება საერთაშორისო ნარკოტიკების კონვენციებით, თითოეულ ქვეყანას აქვს საკუთარი მიდგომა მათი რეგულირების მიმართ.

ზოგიერთმა ქვეყანამ განახორციელა სპეციფიკური კანონმდებლობა აფნ-ის კონტროლისთვის, ზოგიერთმა კი შეცვალა არსებული ნარკოტიკების შესახებ კანონები აფნ-ის ჩასართავად [14]. მაგალითად, დიდმა ბრიტანეთმა შემოიღო 2016 წლის ფსიქოაქტიური ნივთიერებების შესახებ კანონი, რომელიც აფნ-ის წარმოებას, მიწოდებას ან მიწოდების განზრახვით ფლობას დანაშაულად აქცევს [13].

თუმცა, აფნ-ის რეგულირება რთულია ახალი ნივთიერებების სწრაფი გაჩენის და იმ სიმარტივის გამო, რომლითაც მათი ქიმიური სტრუქტურების შეცვლა შესაძლებელია არსებული კანონების გვერდის ავლით. მაგალითად, 1971 წლის კონვენცია არეგულირებს ფენციკლიდინს (PCP) და მის ფენილ ციკლოჰექსილ ანალოგებს, მაგრამ მისი წარმოებულები, როგორიცაა 3-მეთოქსი ფენციკლიდინი (3-MeO-PCE), არ ექვემდებარება ტრანსნაციონალურ რეგულაციას [14].

საქართველოს მაგალითს თუ განვიხილავთ, კანონი ახალი ფსიქოაქტიური საშუალებების შესახებ [15] არეგულირებს მათ უკანონო მიმოქცევას, ფლობას, დამზადებას, გასაღებას, ვაჭრობას, გავრცელებას. აღნიშნულ კანონში კრიმინალიზირებულია სხვადასხვა ჯგუფები, სადაც გათვალისწინებულია რისკები, რომ თუ მოხდება, რომელიმე რადიკალის შეცვლა ის მაინც დარჩეს კონტროლს დაქვემდებარებული.

ახალი ფსიქოაქტიური ნივთიერებების ქიმიურ ნაერთთა კლასების სია

1. კანაბინომიმეტურად მოქმედი ნაერთები

შემდეგი ძირითადი ქიმიური სტრუქტურები:

ა) (Naphthalin-1-yl)(1H-indol-3-yl)methanon Naphthoyl-Indole-ის ჯგუფიდან;

ბ) (Naphthalin-1-yl)(1H-indol-3-yl)methan Napthtylmethyl-Indole-ის ჯგუფიდან;

გ) (Naphthalin-1-yl)(1H-pyrrol-3-yl)methanon Naphthoyl-Pyrrole-ის ჯგუფიდან;

დ) 1-(Naphthalin-1-ylmethylen)-1H-inden Naphthylmethyl-Indene-ის ჯგუფიდან;

ე) (Phenyl)(1H-indol-3-yl)methanon Benzoyl-Indole-ის ჯგუფიდან;

ვ) (2-Phenyl)(1H-indol-3-yl)ethanon Phenacetyl-Indole-ის ჯგუფიდან;

ზ) 2-(3-hydroxycyclohexyl)phenol Cyclohexyl-Phenole-ის ჯგუფიდან;

თ) Indolcarbon-2-acet-amide Indolcarboxamide-ის ჯგუფიდან;

ი) Tetrahydro-6H-benzo[c]chromen-1-ol Dibenzopyrane-ის ჯგუფიდან;

კ) 1H-carbazole-3-yl(napthalen-1-yl)-methanone Naphthoyl-Carbazole-ის ჯგუფიდან;

ლ) (Cycloalkyl)1H-indol-3-yl)methanone Cycloalkyl-Indole-ის ჯგუფიდან;

მ) (Adamantyl)(1H-indol-3-yl)methanone Adamantoylindole-ის ჯგუფიდან;

ნ) სინთეზური ჰიბრიდული კანაბინოიდები (კანაბინომიმეტურად მოქმედ ნაერთთა კლასის ძირითადი ქიმიური სტრუქტურებისა და მათი ანალოგების სტრუქტურული კომბინაციები) Hybrid cannabinoid-ის ჯგუფიდან.

აგრეთვე ყველა ის ნივთიერება ან მინარევი, რომელიც რომელიმე ზემოაღნიშნულ ძირითად ქიმიურ სტრუქტურას ან მის ანალოგს შეიცავს.

ანალოგია ის სტრუქტურა, რომელშიც:

ა) ინდოლის ბირთვი ან ინდოლის ბირთვის პიროლის ციკლი ჩანაცვლებულია აზოლის, ფურანის ან თიოლის ციკლით;

ბ) კარბოქსამიდის ჯგუფი ჩანაცვლებულია კარბოქსილატის, კარბოქსილის ან აცეტილის ჯგუფით.

2. დოფამინერგულად მოქმედი ნაერთები

შემდეგი ძირითადი ქიმიური სტრუქტურები:

ა) (2-methoxyphenyl)methyl]ethanamin Phenethylamin-ის ჯგუფიდან;

ბ) (thiophen-2-yl)-2-methylaminopropane Thiophenethylamin-ის ჯგუფიდან;

გ) α-phenyl-2-piperidine acetate Phenylpiperidin-ის ჯგუფიდან.

აგრეთვე ყველა ის ნივთიერება ან მინარევი, რომელიც ფენეთილამინის (Phenethylamin), თიოფენეთილამინის (Thiophenethylamin), ფენილპიპერიდინის (Phenylpiperidin) ძირითად ქიმიურ სტრუქტურას შეიცავს, იმ შემთხვევაშიც, როდესაც მათ ჰეტეროციკლური და პოლიციკლური წრიული/ციკლური? სისტემა – ნაფთილის (Naphthyl), ტეტრალინის (Tetralin), ინდოლის (Indol), ინდანის (Indan), მეთილენდიოქსის (Methylendioxy), ბენზოფურანის (Benzofuran), დიჰიდრო-ბენზოფურანის (Dihydro-Benzofuran) ან თიენილის (Thienyl) წრიული/ციკლური? სისტემა – აქვთ.

3. ამინო-ფენილ-ეთანონის (Amino-Phenyl-Ethanon) ნაერთები

ამინო-ფენილ-ეთანონი (Amino-Phenyl-Ethanon), აგრეთვე ყველა ის ნივთიერება ან მინარევი, რომელიც ამ ძირითად ქიმიურ სტრუქტურას შეიცავს, იმ შემთხვევაშიც, როდესაც მას ჰეტეროციკლური და პოლიციკლური წრიული სისტემა (ნაფთილის (Naphthyl), ტეტრალინის (Tetralin), ინდოლის (Indol), ინდანის (Indan), მეთილენდიოქსის (Methylendioxy), ბენზოფურანის (Benzofuran) ან დიჰიდრო-ბენზოფურანის (Dihydro-Benzofuran) წრიული სისტემა) აქვს.

4. ალფა-კეტო-ბენზილამინის (Alpha-Keto-Benzylamin) ნაერთები

ალფა-კეტო-ბენზილამინი (Alpha-Keto-Benzylamin), აგრეთვე ყველა ის ნივთიერება ან მინარევი, რომელიც ამ ძირითად ქიმიურ სტრუქტურას შეიცავს.

5. 2-ამინოინდანის (2-Aminoindan) და 2-ამინოტეტრალინის (2-Aminotetralin)

ნაერთები

2,3-Dihydro-1H-Inden-2-Amin ან 2-Aminotetralin, აგრეთვე ყველა ის ნივთიერება ან მინარევი, რომელიც ამ ძირითად ქიმიურ სტრუქტურას შეიცავს.

6. ტრიპტამინის (Tryptamin) ნაერთები

ტრიპტამინი (Tryptamin), აგრეთვე ყველა ის ნივთიერება ან მინარევი, რომელიც ამ ძირითად ქიმიურ სტრუქტურას შეიცავს.

7. (1-ფენილ (1-Phenyl) და 1-ბენზილ (1-Benzyl)) პიპერაზინის (Piperazin) ნაერთები

1-ფენილპიპერაზინი (1-Phenylpiperazin) ან 1-ბენზილპიპერაზინი (1-Benzylpiperazin), აგრეთვე ყველა ის ნივთიერება ან მინარევი, რომელიც ამ ძირითად ქიმიურ სტრუქტურას შეიცავს.

8. არილციკლოჰექსილამინის (Arylcyclohexylamin) ნაერთები

ყველა ის ნივთიერება ან მინარევი, რომელიც არილციკლოჰექსილამინის (Arylcyclohexylamin), არილციკლოჰექსილ-პიროლიდინის (Arylcyclohexyl-Pyrrolidin) ან არილციკლოჰექსილ-პიპერიდინის (Arylcyclohexyl-Piperidin) ძირითად ქიმიურ სტრუქტურას შეიცავს.

9. დიფენილმეთილპიპერიდინის (Diphenylmethylpiperidin) ნაერთები

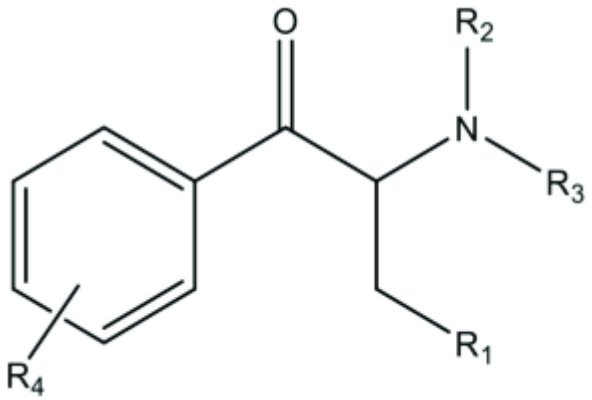
ყველა ის ნივთიერება ან მინარევი, რომელიც დიფენილმეთილპიპერიდინის (Diphenylmethylpiperidin), ფენილციკლოჰექსილ-მეთილპიროლიდინის (Phenylcyclohexyl-methylpyrrolidin) ან დიფენილმეთილპიროლიდინის (Diphenylmethylpyrrolidin) ძირითად ქიმიურ სტრუქტურას შეიცავს.

საქართველოს კანონმდებლობით ზოგიერთი აფნ კონტროლის გამკაცრების მიზნით გადატანილ იქნა ნარკოტიკულ საშუალებების ნუსხაში. ამ უკანასკნელს არეგულირებს საქართველოს კანონი ნარკოტიკული საშუალებების, ფსიქოტროპული ნივთირებების, პრეკურსორების და ნარკოლოგიური დახმარების შესახებ [16].

2.2.4 ქიმიური სტრუქტურა

სინთეზური კათინონები, ასევე ცნობილი როგორც ჩანაცვლებული კათინონები, მიიღება ბუნებრივად არსებული ნაერთის კათინონისგან, კათის მცენარის Catha edulis-ის ძირითადი ფსიქოაქტიური ინგრედიენტისგან [8]. კათინონი არის ამფეტამინის β-კეტო ანალოგი, და ყველა სინთეზური კათინონი შეიცავს β-კეტო ნაწილს მათ სტრუქტურაში. მათ აქვთ ფენეთილამინის ბირთვი, რომელსაც ალკილის ჯგუფი ერთვის ალფა ნახშირბადს, ხოლო კეტონის ჯგუფი ერთვის ბეტა ნახშირბადს, დამატებით ჩანაცვლებებთან ერთად [9].

წარმოებულები შეიძლება წარმოიქმნას კათინონის მოლეკულის ოთხ ადგილას ჩანაცვლებით (ნახაზი 1.) [9]:



ნახაზი 1. კათინონის ქიმიური სტრუქტურა და შესაძლო ჩანაცვლების პოზიციები.

- R1 = წყალბადი, ან ერთი ან მეტი ალკილის, ალკოქსის, ალკილენდიოქსის, ჰალოალკილის ან ჰალოიდის ჩანაცვლების ნებისმიერი კომბინაცია.
- R2 = წყალბადი ან ნებისმიერი ალკილის ჯგუფი.

- R3 = წყალბადი, ნებისმიერი ალკილის ჯგუფი, ან ციკლურ სტრუქტურაში ჩართვა.
- R4 = წყალბადი, ნებისმიერი ალკილის ჯგუფი, ან ციკლურ სტრუქტურაში ჩართვა.

ეს ჩანაცვლებები საშუალებას იძლევა სინთეზირდეს წარმოებულების ფართო სპექტრი, სხვადასხვა ეფექტებით და სიძლიერით [10].

ცხრილი 2.

Name	Chemical Formula	Street Names
Mephedrone	$C_{11}H_{15}NO$	4-MMC, M-CAT, Meow Meow, Drone
Methylone	$C_{12}H_{15}NO_3$	bk-MDMA, Explosion, M1
MDPV	$C_{16}H_{21}NO_3$	MDPK, Ivory Wa7ve, Energy 1
α-PVP	$C_{15}H_{21}NO$	A-PVP, Flakka, Gravel
Methcathinone	$C_{10}H_{13}NO$	Cat, Jeff, Ephedrone
Butylone	$C_{13}H_{17}NO_3$	bk-MBDB
Pentedrone	$C_{12}H_{17}NO$	α-methylaminovalerophenone
4-MEC	$C_{12}H_{17}NO$	4-methylethcathinone
4-MePPP	$C_{13}H_{19}NO$	4-methyl-α-pyrrolidinopropiophenone
Pentylone	$C_{14}H_{19}NO_3$	βk-MDEA
4-FMC	$C_{11}H_{14}FNO$	Flephedrone
3-FMC	$C_{11}H_{14}FNO$	3-Fluoromethcathinone
Naphyrone	$C_{19}H_{23}NO$	NRG-1, O-2482
α-PBP	$C_{14}H_{19}NO$	α-pyrrolidinobutiophenone

სინთეზური კათინონები მოყვანილია ცხრილი N2-ში.

2.2.5 ცრუ დადებითი შედეგები ნარკოტიკების ტესტებში

იმუნოქრომატოგრაფიული ტესტები, რომლებიც ასევე ცნობილია როგორც იმუნოანალიზები, ფართოდ გამოიყენება სხვადასხვა ნივთიერებების სწრაფი გამოვლენისათვის, მათ შორის სინთეზური კათინონებისთვის, რომლებიც ხშირად "აბაზანის მარილების" სახელით არის ცნობილი. თუმცა, ამ ტესტებს ზოგჯერ შეიძლება ჰქონდეს ცრუ დადებითი შედეგები, რაც გამოწვეულია სხვა ნივთიერებებთან ჯვარედინი რეაქციით ან ნიმუშის გარკვეული პირობებით.

მნიშვნელოვანია აღინიშნოს, რომ ბუპროპიონმა, სინთეზურმა კათინონმა, რომელიც გამოიყენება მოწევის შეწყვეტისთვის და დეპრესიის სამკურნალოდ, ზოგჯერ შეიძლება გამოიწვიოს ამფეტამინების ცრუ დადებითი შედეგები ნარკოტიკების ტესტებში. ამან შეიძლება გაართულოს ნარკოტიკის გამოყენების იდენტიფიცირება და ხაზს უსვამს უფრო სპეციფიკური და ზუსტი ტესტირების მეთოდების საჭიროებას [17].

ზოგიერთ სინთეზურ კათინონს აქვს სტრუქტურული მსგავსება სხვა ნივთიერებებთან, რაც იმუნოანალიზებს შესაძლოა უბიძგოს იმ ნივთიერებების ცრუ დადებითი შედეგებისკენ, რომლებიც რეალურად ნიმუშში არ არის. მაგალითად 3,4-

მეთილენდიოქსიპიროვალერონის (MDPV) და ფენციკლიდინის (PCP) მოხმარების შემდეგ დაფიქსირებულია, რომ MDPV იწვევს PCP-ის იმუნოანალიზებში ცრუ დადებით შედეგებს. ეს გამოწვეულია იმით, რომ MDPV-ის სტრუქტურა შეცდომით აღიქმება PCP-ის მიმართ შექმნილი ანტისხეულების მიერ.

ბუტილონი და ამფეტამინების შემთხვევაში, სინთეზურმა კათინონმა ბუტილონმა შესაძლოა გამოიწვიოს ამფეტამინებისა და ექსტაზის იმუნოანალიზებში დადებითი შედეგები, რადგან მისი სტრუქტურა ჰგავს ამ ნივთიერებებს [18].

გარდა ჯვარედინი რეაქციისა, ნიმუშის გარკვეულ პირობებსაც შეუძლია იმუნოანალიზის შედეგებზე გავლენის მოხდენა. მაგალითად: შარდის ნიმუშებში, სადაც pH 4-ზე ნაკლებია, დაფიქსირებულია ცრუ დადებითი შედეგები სინთეზური კათინონების იმუნოანალიზებში. ასევე შარდის ნიმუშებში, რომლებიც შეიცავს მათეთრებელს ან პეროქსიდს, შესაძლოა მოხდეს ტესტის შედეგების შეცვლა - ცრუ დადებითი ან ცრუ უარყოფითი პასუხების მიღება, რაც დამოკიდებულია კონკრეტულ იმუნოანალიზსა და სამიზნე ნივთიერებაზე. საბოლოოდ, მიუხედავად იმისა, რომ იმუნოქრომატოგრაფიული ტესტები სასარგებლოა საწყისი სკრინინგისთვის, მათი ჯვარედინი რეაქციებითა და ნიმუშის პირობებით გამოწვეული შეცდომების გამო აუცილებელია დადასტურებითი ტესტების გამოყენება სინთეზური კათინონების ზუსტი აღმოჩენისთვის [17, 18].

2.2.6 გავრცელებული ქირალური ფსიქოაქტიური საშუალებები

მეთილმეთკათინონი არსებობს სამი იზომერული ფორმით: 2-მეთილმეთკათინონი (2-MMC), 3-მეთილმეთკათინონი (3-MMC) და 4-მეთილმეთკათინონი (4-MMC, ასევე ცნობილი როგორც მეფედრონი). შეერთებულ შტატებში მეფედრონი კლასიფიცირდება როგორც გრაფიკი I ნივთიერება, ხოლო მისი პოზიციური იზომერები (2-MMC და 3-MMC) ასევე განიხილება გრაფიკი I-ში მათი სტრუქტურული მსგავსების გამო. საინტერესოა, რომ 3-MMC ამჟამად შესწავლის პროცესშია, როგორც დისკინეზიების სამკურნალო პოტენციური ფარმაცევტული პრეპარატი [19].

კლეფედრონი (4-ქლორომეთკათინონი, 4-CMC) არის კათინონის კლასის სინთეზური მასტიმულირებელი პრეპარატი [20]. ის სტრუქტურულად მსგავსია მეფედრონის, მთავარი განსხვავება არის ქლორის ატომი, რომელიც ცვლის მეთილის ჯგუფს არომატული რგოლის 4-პოზიციაზე. მეფედრონის მსგავსად, კლეფედრონი არის ფსიქოაქტიური ნივთიერება, რომელიც ონლაინ იყიდება როგორც დიზაინერული ნარკოტიკი.

კლეფედრონს, ანუ 4-ქლორომეთკათინონს (4-CMC), აქვს ორი პოზიციური იზომერი: 2-ქლორომეთკათინონი (2-CMC) და 3-ქლორომეთკათინონი (3-CMC). ეს იზომერები განსხვავდებიან ქლორის ატომის პოზიციით ბენზოლის ბირთვში [22]. 4-CMC-ს მსგავსად, როგორც 2-CMC, ასევე 3-CMC მოქმედებენ როგორც ნარკოტიკული საშუალებები. მეფედრონისა და კლეფედრონის (2010-2020 წლებში) კონტროლს დაქვემდებარების შემდგომ ბაზარზე თანდათან გამოჩნდა მათი პოზიციური იზომერები, 2-ქლორმეთკათინონი (2-CMC), 3-ქლორმეთკათინონი (3-CMC), 2-მეთილმეთკათინონი (2-MMC), 3-მეთილმეთკათინონი (3-MMC), რომლებიც არ იყო კრიმინალიზებული [23].

აღნიშნულ იზომერებს აღმოაჩნდათ მსგავსი ზემოქმედება ადამიანის ორგანიზმზე, იყო ადვილად ხელმისაწვდომი და გამომდინარე იქედან, კანონის მიხედვით ეს ნივთიერებები არ იყო აკრძალული იყო მიმზიდველი პროდუქტი რადგანაც არ ქმნიდა რისკს მათი გადატანა, შენახვა და გასაღება, ვინაიდან იყო ლეგალური. ხოლო მომხმარებლისათვის ხშირ შემთხვევაში იყო საერთოდ უცნობი თუ რა განსხვავება არის კლეფედრონისა და მეფედრონის პოზიციურ იზომერებს შორის [13].

სამართლებლივ პრაქტიკაში, ახალი ფსიქოაქტიური ნივთიერებების აკრძალვას ყოველთვის მოყვება შავ ბაზარზე მსგავსი სტრუქტურის მქონე ახალი ნივთიერების გამოჩენა. ამ კონკრეტულ სინთეზურ კათინონებსაც მსგავსი ანალოგი გამოუჩნდათ. მეფედრონის კონტროლს დაქვემდებარების შემდეგ ბაზარზე გამოჩნდა 3-MMC, ხოლო ამ უკანასკნელის აკრძალვის შემდეგ 2-MMC (რომელიც ევროპის უმეტეს ქვეყანაში ამ ეტაპზე არ არის აკრძალული [11].

ტეტრამიზოლი ლევამიზოლისა და მისი ენანტიომერის, დექსამიზოლის რაცემულ ნარევს წარმოადგენს. ლევამიზოლი არის ვეტერინარული ანტიჰელმინთური პრეპარატი, რომელიც 20-ე საუკუნის ბოლომდე გამოიყენებოდა ადამიანის სამკურნალოდაც, თუმცა მისი გამოყენება შეწყდა ისეთი გვერდითი მოვლენების გამო, როგორიცაა აგრანულოციტოზი, კანის ვასკულოპათია და ლეიკოენცეფალოპათია.

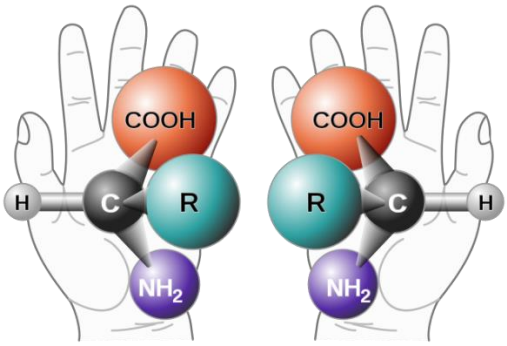
ლევამიზოლი ყურადღების ცენტრში მოექცა მას შემდეგ, რაც მისი გამოყენება კოკაინის არალეგალურ ნიმუშებში, როგორც დანამატის, გაიზარდა. ამჟამად, ლევამიზოლი აღმოჩენილია მსოფლიო მასშტაბით ამოღებული კოკაინის უმეტეს ნაწილში და ასოცირდება იმუნური სისტემის მძიმე და პოტენციურად ლეტალურ გართულებებთან კოკაინის მომხმარებლებში. დღესდღეობით არის ეჭვი, რომ რეალურად დანამატის სახით არა ლევამიზოლი არამედ ტეტრამიზოლი გამოიყენება, რომელიც შეიცავს ორივე ენანტიომერს.

ტეტრამიზოლის ადულტერანტად (დანამატად) გამოყენების მხოლოდ სავარაუდო მიზეზებია ცნობილი. მისი მოქმედების ზუსტი მექანიზმი ჯერ კიდევ ბოლომდე არ არის შესწავლილი. თუმცა არის ერთერთი ლოგიკური ახსნა იმის შესახებ, თუ რატომ აქვს ტეტრამიზოლს ნარკოტიკული თრობის ან მისი გაძლიერების ეფექტი. ტეტრამიზოლის ერთერთი მეტაბოლიტია ამინორექსი. ამინორექსი ზრდის დოპამინისა და ნორადრენალინის დონეს, რაც იწვევს ცენტრალური ნერვული სისტემის აღგზნებას.

ამინორექსი ითვლება ლევამიზოლის მეტაბოლიტური დაშლის პროდუქტად. ვინაიდან მიიჩნევა, რომ ტეტრამიზოლის ენანტიომერებიდან დექსამიზოლი ნაკლებად აქტიურია და კვლევა იმის შესახებ, რომ დექსამიზოლის მეტაბოლიტური დაშლის შედეგად შეიძლება ამინორექსი წარმოიქმნას ორგანიზმში არ იძებნება [24].

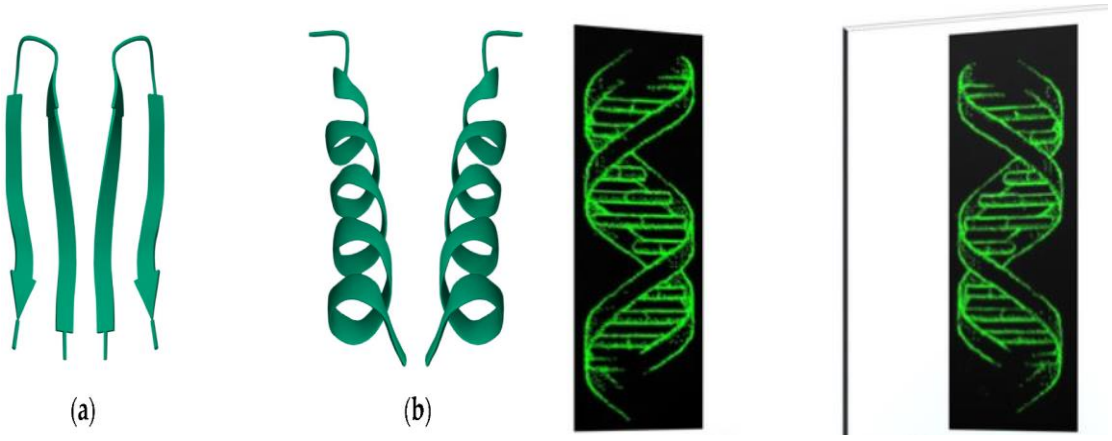
2.3 ქირალობა

“ხიროს” (χείρος) ძველბერძნული სიტყვაა და ხელს ნიშნავს. ის აღნიშნავს, რომ ობიექტი ან მოლეკულა არათავსებადია თავის სარკულ გამოსახულებასთან (სურათი 1.). ქირალური შეიძლება იყოს ნივთიერება, რომლის მოლეკულაში არის ოთხი განსხვავებული ჩამნაცვლების მქონე ნახშირბადატომი, თუმცა არსებობს სხვა ატომებით (აზოტი, გოგირდის და ფოსფორი) ან ქირალობის სხვა ელემენტებით (ღერძი, სიბრტყე) განპირობებული ქირალობის შემთხვევებიც. ენანტიომერებს აქირალურ გარემოში ერთნაირი ფიზიკური და ქიმიური თვისებები გააჩნიათ, თუმცა ისინი ბრტყლად პოლარიზებად სინათლეს სხვადასხვა მხარეს აბრუნებს.



სურათი 1. ქირალობის მაგალითი.

ცოცხალი ორგანიზმები არის ჰომოქირალური, რაც იმას ნიშნავს, რომ მოლეკულები, რომლებისგანაც შედგება ცოცხალი ორგანიზმები RNA, DNA, ამინომჟავები, ცილები და შაქრები არის ქირალური და ორგანიზმში არსებობს ძირითადად ერთი ენანტიომერის სახით (სურათი 2.) [25]. ცოცხლ ორგანზმებში ისინი მხოლოდ ერთი ენანტიომერის სახით არსებობს, (თუმცა ამ ბოლო ათწლეულის მანძილზე ცოცხალ ორგანიზმებში L-ამინომჟავებთან ერთად აღმოჩენილია აგრეთვე მცირე რაოდენობებით ზოგიერთი D-ამინომჟავაც).



სურათი. 2 ჰომოქირალობის მაგალითები ცოცხალ ორგანიზმებში

ცოცხალი ორგანიზმების ჰომოქირალობა განაპირობებს მათ განსხვავებულ დამოკიდებულებას ერთი და იმავე საკვები დანამატის, არომატიზატორის და

სამკურნალწამლო საშუალების ორი განსხვავებული ენანტიომერის მიმართ. საუკეთესო მაგალითად გამოდგება ასპარგინის შემთხვევა: S-ასპარგინი არის მწარე გემოსი, ხოლო R-ასპარგინი ტკბილია. ცოცხალი ორგანიზმის ასეთი განხსვავებული აღქმა ერთი და იმავე ნაერთის ცალკეულ ენანტიომერის მიმართ განაპირობებს, რომელი ენანტიომერი არის უფრო მისაღები ცოცხალი ორგანიზმისთვის [25].

ქირალური ნივთიერების მიერ ბრტყლად პოლარიზებული სინათლის სხივის მობრუნების მოვლენას ოპტიკური ბრუნვა ეწოდება. სინათლის სხივის მობრუნება შესაძლებელია როგორც მარცხენა, ასევე მარჯვენა მხარეს, იმის მიხედვით, თუ რომელ სტერეოიზომერზე ხდება მისი მოქმედება ან რომელი სტერეოიზომერია დომინანტი. ქირალური ნივთიერების მიერ ბრტყლად პოლარიზებული სინათლის მობრუნების კუთხე კი პირდაპირპროპორციულ დამოკიდებულებაშია ნიმუშში გავლილი სინათლის გზის სიგრძესთან, ნიმუშში ქირალური ნივთიერების კონცენტრაციასთან, ასევე იგი დამოკიდებულია საკვლევი ნივთიერების სტრუქტურაზე და ექსპერიმენტის ჩატარების პირობებზე. რადგან პოლარიზებული სინათლის მობრუნების კუთხის მნიშვნელობაზე გავლენას ბევრი სხვადასხვა პარამეტრი ახდენს, აუცილებელი გახდა ხვედრითი ბრუნვის კუთხის [α] ცნების შემოტანა.

ენანტიომერების თანამედროვე კლასიფიკაცია შეიქმნა სამი მეცნიერის კანის, ინგოლდის და პრელოგის მიერ და ეწოდა კან-ინგოლდ-პრელოგის ნომენკლატურა, რომლის მიხედვითაც, ენანტიომერების კლასიფიკაცია ხდება ქირალური ცენტრის გარშემო არსებული ჯგუფების განლაგების მიხედვით სივრცეში. ეს კლასიფიკაცია დაფუძნებულია პრიორიტეტების წესზე, პრიორიტეტობის ბევრი წესი არსებობს, მაგალითად რიგობრივი ნომრის, ბმების ჯერადობის, და ა.შ. დალაგება, რომელიც გამოიყენება ორგანულ ქიმიაში ჩამნაცვლებელი ჯგუფების პრიორიტეტების განსაზღვრისთვის [26].

უნდა აღინიშნოს, რომ არ არსებობს პირდაპირი კორელაცია კონკრეტული ენანტიომერის აბსოლუტურ სტერეოქიმიურ კონფიგურაციასა და ბრტყლად პოლარიზებული სინათლის ბრუნვის მიმართულებას შორის. კონკრეტული მოლეკულის თვისებებიდან გამომდინარე შეიძლება გვქონდეს R-(+) ან R-(-) და S-(+) ან S-(-).უნდა აღინიშნოს, რომ მოლეკულების აბსოლუტური სტერეოქიმიური კონფიგურაციის პირდაპირი დადგენა მხოლოდ რენტგენოსტრუქტურული ანალიზის სპეციალური მეთოდის, ანომალური დისპერსიის მეთოდის გამოყენებით არის შესაძლებელი. დღეისთვის ამ მიზნით გამოიყენება აგრეთვე რხევითი წრიული დიქროიზმი და ცალკეულ შემთხვევებში ელექტრონული წრიული დიქროიზმი მოლეკულური მოდელირების მეთოდებთან (ძირითადად სიმკვრივის ფუნაციონალზე დამყარებული) კომბინაციაში. მოლეკულის ოპტიკური აქტიურობა განისაზღვრება პოლარიმეტრის ან წრიული დიქროიზმის სპექტრომეტრის მეშვეობით, ხოლო ჩამნაცვლებელი ჯგუფების ფარდობითი სივრცული განლაგება ბირთვულ-მაგნიტურ რეზონანსული სპექტროსკოპიის და რენტგენოსტრუქტურული ანალიზის გამოყენებით. ქირალური მოლეკულების სამგანზომილებიანი კონფიგურაცია საშუალებას გვაძლევს ავხსნათ ენანტიომერების განსხვავებული ურთიერთქმედება ცოცხალ ორგანიზმებში არსებულ რეცეპტორებთან [27].

როდესაც მოლეკულაში არის ერთი ან რამდენიმე ქირალური ცენტრი, ადგილი აქვს სტერეოიზომერიის მოვლენას. სტერეოიზომერები ერთმანეთისგან განსხვავდება

ჩამნაცვლებლების სივრცული ორიენტაციით. ორი ქირალური ცენტრის შემთხვევაში გვექნება დიასტერეომერები. ენანტიომერები და დიასტერეომერები წარმოადგენენ სტერეოიზომერების ოჯახს. დიასტერეომერებისგან განსხვავებით, ენანტიომერებს აქვთ ერთნაირი ფიზიკური და ქიმიური თვისებები, მაგრამ შეიძლება ჰქონდეთ განსხვავებული ბიოლოგიური მოქმედება. სასურველი ფარმაკოლოგიური აქტივობის მქონე ენანტიომერს ეწოდება ეუტომერი, ხოლო ენანტიომერს რომელსაც არ გააჩნია ბიოლოგიური აქტივობა ან არასასურველი აქტივობა გააჩნია დისტომერი ეწოდება [26].

ენანტიომერების თანაბარი რაოდენობის ნარევს ეწოდება რაცემატი ან რაცემატული ნარევი და ნივთიერების დასახელებასთან წინ პრეფიქსით გამოისახება. ვინაიდან, ენანტიომერების მიერ ბრტყლად პოლარიზებული სინათლის სხივის ბრუნვის კუთხის სიდიდე ტოლია, მაგრამ განსხვავებული ნიშნისაა, რაცემატს ოპტიკური აქტივობა არ გააჩნია [27].

დღეისათვის გამოყენებული სინთეზურ ფარმაცევტულ მოქმედ საფუძველთა უმეტესობა წარმოადგენს ქირალურ ნივთიერებებს და ხშირ შემთხვევაში რაცემატული ნარევის (ორი ენანტიომერის ნარევი 50/50-ზე) სახით გამოიყენება. ენანტიომერები ერთმანეთისგან განსხვავდება ბიოლოგიური შეთვისების, განაწილების, ცილებთან შეკავშირების და რეცეპტორებთან ურთიერთქმედების უნარით და ხშირ შემთხვევაში მათ განსხვავებული მეტაბოლიზმი ახასიათებთ [27].

ძირითადად ენანტიომერები სამი განსხვავებული მიმართულებით მოქმედებს ცოცხალ გარემოში:

1) მხოლოდ ერთ ენანტიომერს აქვს დადებითი ფარმაკოლოგიური ეფექტი, მეორე ენანტიომერი ან ბალასტია, ან უარეს შემთხვევაში, შეიძლება ჰქონდეს უარყოფითი გვერდითი ეფექტიც. მაგალითად ნაპროქსენის და ომეპრაზოლის შემთხვევებში მხოლოდ ერთ ენანტიომერს (S ფორმა) აქვს სამკურნალო მოქმედება;
2) ერთი ენანტიომერის ფარმაკოლოგიური მოქმედება ბევრად აღემატება მეორე ენანტიომერისას, როგორც კეტოპროფენის შემთხვევაში, კერძოდ, კეტოპროფენის S-ენანტიომერს გააჩნია ბევრად ძლიერი ფარმაკოლოგიური მოქმედება, ვიდრე R-ენანტიომერს;
3) მესამე შემთხვევაში შეიძლება მხოლოდ ერთ ენანტიომერს ჰქონდეს დადებითი ფარმაკოლოგიური ეფექტი, მაგრამ ორგანიზმში ენზიმების მოქმედების შედეგად მეორე ფარმაკოლოგიურად არააქტიური ენანტიომერი ასევე გარდაიქმნებოდეს აქტიურ ენანტიომერად, ანუ ადგილი ჰქონდეს რაცემიზაციის ან ენანტიომერიზაციის მოვლენას [10]. ამის მაგალითად გამოდგება იბუპროფენის შემთხვევა, რომლის (R-ფორმა)- ს არ აქვს დადებითი ფარმალოგიური მოქმედება, მაგრამ ცოცხალ ორგანიზმში მეტაბოლიზმის შედეგად გარდაიქმნება R-CoA-თიოეთერად, რომელიც შემდეგ განიცდის ეპიმერიზაციას S-CoA-თიოეთერად და საბოლოოდ გარდაიქმნება S-იბუპროფენად, რომელსაც გააჩნია დადებითი ფარმაკოლოგიური მოქმედება.

სწორედ აღნიშნულის გამო ფარმაცევტულ მრეწველობაში ძალიან მნიშვნელოვანი არის რაცემატული ნარევების ენანტიომერებად დაყოფა. ენანტიომერების დაყოფის

განსაკუთრებით ეფექტურ მეთოდებს წარმოადგენს დაყოფის ინსტრუმენტული მეთოდები თხევად ფაზაში, როგორებიც არის: მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფია (HPLC) და ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფია (SFC). ენანტიომერების დაყოფა მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფიით და ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფიით დამყარებულია ქირალური სტაციონარული ფაზების (ქსფ) გამოყენებაზე. ქსფ-ები შესაძლებელია გამოყენებული იქნას ანალიზური მიზნებით ენანტიომერების დასაყოფად აგრეთვე ნანოქრომატოგრაფიასა და კაპილარულ ელექტროქრომატოგრაფიაში (CEC). ქსფ-ები წარმოადგენს სპეციალურად მომზადებულ ქირალურ მასალებს, რომელებიც შეიცავს დაბალი ან მაღალი მოლეკულური მასის მქონე ქირალურ მოლეკულებს, ე.წ. ქირალურ სელექტორებს (ქს), როლებიც აკმაყოფილებს მთელ რიგ სპეციფიურ მოთხოვნებს, რათა მათი გამოყენება შესაძლებელი იყოს ენანტიომერების დასაყოფად თხევად ფაზაში [25].

გასული საუკუნის ოთხმოციანი წლების შემდეგ სამეცნიერო ლიტერატურაში აღწერილია მრავალი ქსფ. მათ შორის პოლისაქარიდების საფუძველზე მომზადებული ქსფ-ები აღიარებულია როგორც ყველაზე უფრო ეფექტური მასალები ენანტიომერების დასაყოფად. აღნიშნული მასალები ხასიათდება საკმაოდ უნივერსალური ქირალური გამოცნობის უნარით სხვადასხვა ბუნების, ქიმიური კლასის და ფარმაკოლოგიური ჯგუფის ნითიერებების მიმართ. გარდა ამისა აღსანიშნავია ისიც, რომ ამ კლასის ქსფ-ები შესაძლებელია გამოვიყენოთ ყველა თხევადფაზურ ტექნიკებში, როგორიც არის HPLC, SFC, ნანოქრომატოგრაფია და CEC, ისევე როგორც მოძრავი ფაზების სხვადასხვა ვარიაციების შემთხვევაში.

2.4 გაზური ქრომატოგრაფია

პირველად ინსტრუმენტული მეთოდებიდან ენანტიომერების დასაყოფად გაზური ქრომატოგრაფია გამოიყენეს 1966 წელს, გილ-ავის ჯგუფში.

გაზურ ქრომატოგრაფიაში ქირალური დაყოფა დაფუძნებულია ქირალური სტაციონარული ფაზის გამოყენებაზე [28].

დღეისათვის, გაზური ქრომატოგრაფიის მეთოდის გამოყენებით ენანტიომერების დასაყოფად ორი მიდგომა გამოიყენება, კერძოდ:

1) პირდაპირი მეთოდის დროს ენანტიომერების დაყოფა ხდება ქირალური სტაციონარული ფაზების გამოყენებით.
2) არაპირდაპირი მეთოდის დროს ხდება საანალიზო ენანტიომერების ნარევის დერივატიზაცია ენანტიომერულად სუფთა ქირალური დანამატით და შემდეგ ხდება მიღებული დიასტერეომერების დაყოფა არაქირალური სტაციონარული ფაზების გამოყენებით.

გაზური ქრომატოგრაფიის მაღალი ეფექტურობა საშუალებას იძლევა ერთ ანალიზში მოხდეს როგორც ქირალური, ასევე აქირალური ქიმიური დაყოფაც.

გაზური ქრომატოგრაფიის უპირატესობას წარმოადგენს გამოყენებული სვეტების მაღალი ეფექტურობა, ანალიზის სისწრაფე, სვეტის გაწონასწორების მცირე დრო, ასევე

შესაძლებელია გაზური ქრომატოგრაფის შეუღლება მას-სპექტრომეტრულ დეტექტორთან. ეს უკანასკნელი დეტექტორი კი გამოირჩევა განსაკუთრებით მგრძნობიარობით [28] .

გაზური ქრომატოგრაფია წარმატებით გამოიყენება დაბალმოლეკულური აქროლადი ნივთიერებების საანალიზოდ, ხოლო მაღალმოლეკულური არააქროლადი ნივთიერებებისთვის მისი გამოყენება შეზღუდულია, თუმცა ზოგჯერ შესაძლებელია საკვლევი ნივთიერების დერივატიზაცია და აქროლად ფორმაში გადაყვანა.

გაზური ქრომატოგრაფი შეუღლებული მას-სპექტრომეტრულ დეტექტორთან წარმოადგენს ერთ-ერთ უნიკალურ ხელსაწყოს კრიმინალისტიკურ ლაბორატორიაში. მისი საშუალებით შესაძლებელია უცნობი ნივთიერებების სწრაფი დაყოფა და იდენტიფიცირება.

2.5 მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფია

ქრომატოგრაფია წარმოადგენს ნარევების ცალკეულ კომპონენტებად დაყოფის მეთოდს, რომელიც დაფუძნებულია კომპონენტების განსხვავებულ წონასწორულ განაწილებაზე ორ ერთმანეთთან შეურევად ფაზაში. ერთ-ერთი ამ ფაზებიდან მოძრავია, ხოლო მეორე უძრავი. ნიმუშის კომპონენტების მოძრაობა ქრომატოგრაფიულ სისტემაში და მოძრაობის სწორხაზოვანი სიჩქარე წარმოადგენს მოძრავ და უძრავ ფაზაში წონასწორული განაწილების ფუნქციას. კომპონენტები, რომლებიც ძირითადად განაწილებულნი არიან უძრავ ფაზაში, მოძრაობენ უფრო ნელა, ვიდრე კომპონენტები, რომლებიც ძირითადად განაწილებულნი არიან მოძრავ ფაზაში. ამგვარად დაყოფა გამოწვეულია მათი მოძრაობის სწორხაზოვან სიჩქარეებს შორის სხვაობით, რაც გამოწვეულია მათ წონასწორულ განაწილებათა შორის სხვაობით[29].

ბოლო ათწლეულის განმავლობაში მნიშვნელოვნად განვითარდა ენანტიომერული ნარევების დაყოფა მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფიული მეთოდით. დღესდღეობით ეს მეთოდი წარმოადგენს ყველაზე ფართოდ გამოყენებად მეთოდს ისეთ სფეროებში, რომლებიც მოიცავენ წამლების, ბუნებრივი პროდუქტების, სასოფლო-სამეურნეო ქიმიკატების ანალიზს. მეთოდი საშუალებას იძლევა დავადგინოთ არა მარტო ნაერთების ოპტიკური სისუფთავე არამედ მივიღოთ და შევაგროვოთ ოპტიკური იზომერების ფართო სპექტრი. ფარმაცევტულ მრეწველობაში ქირალური მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფია წარმოადგენს ძირითად მეთოდს ქირალური სამკურნაწამლო საშუალებების ფარმაკოკინეტიკის, ფიზიოლოგიური, ტოქსიკოლოგიური და მეტაბოლიტური აქტივობის დეტალურ კვლევასა და შემდგომ განვითარებაში. ამ ტენდენციამ გამოიწვია წამლების რაოდენობის ზრდა ფარმაცევტულ ბაზარზე რომლებიც შეიცავენ მხოლოდ ერთ ოპტიკურ იზომერს [30].

დაყოფის ეფექტური და ენანტიომერთა დიდი რაოდენობის მომცველი ქირალური სტაციონარული ფაზების შემუშავება წარმოადგენს ქირალური მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფიის ერთ-ერთ ძირითად ამოცანას. ქირალური სტაციონარული ფაზები ძირითადად შედგებიან მცირე ზომის ქირალური მოლეკულების ან ქირალური პოლიმერებისგან, რომლებიც იმობილიზებულია შემავსებელზე.

2.6 ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფია

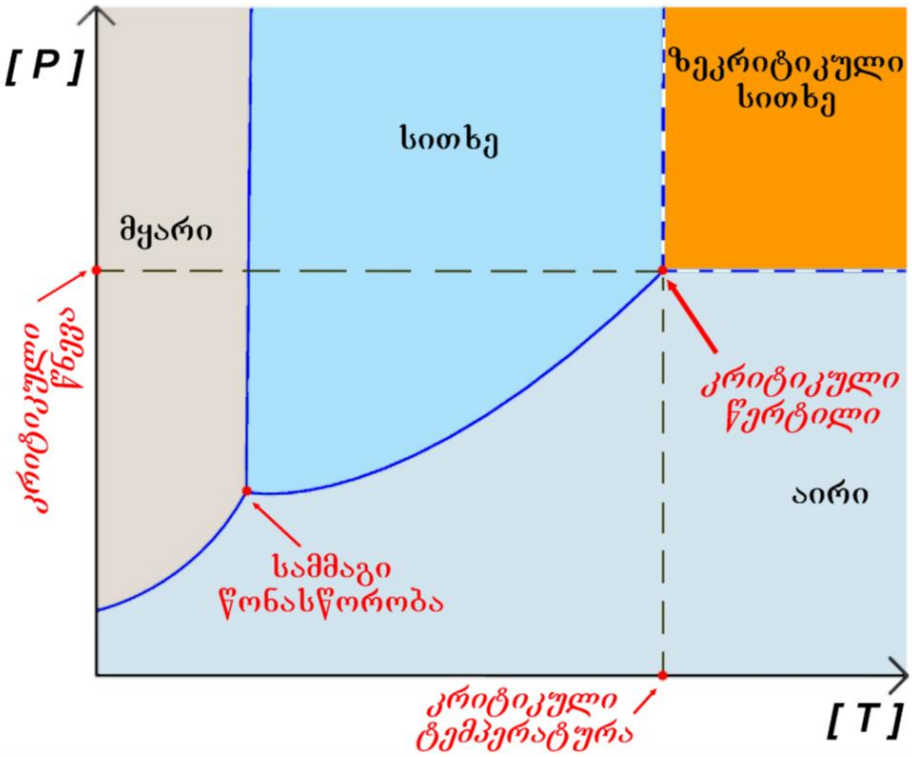
ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფიის განვითარება დაიწყო 1960-იანი წლებიდან და იგი მოიაზრებოდა როგორც გაზური ქრომატოგრაფიის, ან მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფიის ჩამნაცვლებელი, თუმცა დღესდღეობით წარმოადგენს დამოუკიდებელ მეთოდს და აერთიანებს როგორც გაზური, ისე სითხური ქრომატოგრაფიის უპირატესობებს [30].

1980-იანი წლებიდან განვითარდა მეთოდები, რომლებიც იყენებდა კაპილარულ სვეტებს და დეტექტორებს, რომლებიც გადმოღებული იყო გაზური ქრომატოგრაფიიდან, ხოლო ინჟექტირების და მოძრავი ფაზის მიწოდების სისტემებს სითხური ქრომატოგრაფიიდან. განსაკუთრებული გამოყენება ამ მეთოდმა მოიპოვა დაბალი პოლარობის მქონე ნივთიერებების ანალიზში (როგორებიცაა ნახშირწყალბადური და სილოქსანური პოლიმერები, ნავთობპროდუქტები, ცხიმები და ზეთები). ამ ნივთიერებების გაზ-ქრომატოგრაფიული დაყოფა გართულებული იყო, რადგანაც საჭირო აქროლადობის მისაღწევად ძალზე მაღალი ტემპერატურები იყო საჭირო. თუმცა ამავდროულად კაპილარული ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფია არ იყო მისაღები პოლარული ნივთიერებების ანალიზისთვის [31].

1990-იანი წლებიდან განვითარდა ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფია შევსებული სვეტებისთვის (ანალოგიური სითხურ ქრომატოგრაფიაში გამოყენებული სვეტებისა) პოლარული ნივთიერებების დასაყოფად. ამ მეთოდის განვითარებას ხელი შეუწყო აპარატურის დახვეწამ და მისმა გადანაცვლებამ გაზური ქრომატოგრაფიის მსგავსი ხელსაწყოებიდან სითხური ქრომატოგრაფიის მსგავსი ხელსაწყოებისკენ. დღესდღეობით ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფიაში შესაძლოა გამოყენებული იქნას სტანდარტული მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფები ერთი დამატებითი მოდულით და მცირე მოდიფიკაციებით, სპექტრომეტრულ დეტექტორებში დაიწყეს მაღალი წნევის კიუვეტების გამოყენება, გაუმჯობესდა სვეტის შემავსებელი მასალები, შესაძლებელი გახდა ზეკრიტიკულ სითხეში ორგანული მოდიფიკატორების მაღალი სიზუსტით შერევა, რამაც თავის მხრივ შესაძლებელი გახადა სელექტიურობის კონტროლი მოძრავი ფაზის შემადგენლობის, და არა მარტო სიმკვრივის მიხედვით.

ზეკრიტიკული სითხე, ეს არის ნივთიერება მის კრიტიკულ ტემპერატურაზე მაღლა, როდესაც ამავდროულად ის შეკუმშულია მის კრიტიკულ წნევაზე მაღლა. კრიტიკული ტემპერატურის გამო სითხე უნდა გადავიდეს აირში, თუმცა კრიტიკული წნევის გამო ეს არ ხდება, მიიღება მდგომარეობა, როდესაც შეუძლებელია მოხდეს ფაზათა გაყოფა სითხესა და აირს შორის, ამიტომ ეს არ არის ნივთიერების ახალი აგრეგატული მდგომარება [29].

ზეკრიტიკული სითხე შესაძლოა გამოვსახოთ ფაზათა დიაგრამაზე (სურ. 3), კრიტიკული წნევისა და ტემპერატურის მაღლა გვექნება ზეკრიტიკული სითხის რეგიონი:



ნახაზი 2. ფაზათა დიაგრამა ზეკრიტიკული სითხეებისათვის.

ფლუიდი (ინგლისურად - fluid) ნიშნავს ნივთიერების ისეთ მდგომარეობას, როდესაც ნივთიერების მოლეკულები თავისუფლად გადაადგილდება, სითხეში მოლეკულები თავისუფლად გადაადგილდებიან, თუმცა შეზღუდული არიან მოცულობით, რადგან სითხის მოცულობა მუდმივია, ან თითქმის მუდმივი, ხოლო აირში მოლეკულები გადაადგილდებიან თავისუფლად, ამავდროულად არ აქვთ შეზღუდული მოცულობა - ამიტომაც აირი ყოველთვის ავსებს ჭურჭელს, რომელშიც ის მოთავსებულია, ანუ აირი და სითხე არის ფლუიდის ზღვრული შემთხვევები [30].

აირადი თუ თხევადი ფაზიდან ზეკრიტიკულ ფაზაში გადასვლა უფრო რბილია და მას თან არ ახლავს ისეთი რადიკალური ცვლილებები, რომლებიც როგორც წესი თან სდევს ფაზურ გადასვლას (აგრეგატული მდგომარეობის ცვლილებას). ზეკრიტიკული სითხის ფიზიკური თვისებები, როგორებიცაა სიმკვრივე, სიბლანტე, დიფუზიის უნარი და ა.შ. ადვილად იცვლება კრიტიკული წერტილის ზემოთ წნევის ან/და ტემპერატურის ცვლილებით. ზეკრიტიკული სითხე შესაძლოა იქცეოდეს როგორც სითხე, ან აირი, თუკი პირობები ახლოსაა ზღვართან [30] (წყვეტილი ხაზები ნახაზ 2-ზე კრიტიკული წერტილის მაღლა და მარჯვნივ). ზეკრიტიკული სითხის მახასიათებლები იცვლება ზეკრიტიკულ რეგიონში კოორდინატებზე (ტემპერატურა-T, წნევა-P) დამოკიდებულებით.

ნახშირორჟანგის ზეკრიტიკული სითხისთვის პრაქტიკულად შესაძლებელია სიმკვრივის დიდი ზღვარის-0.1-დან 1.0-მდე მიღება შედარებით „რბილ“ პირობებში, რაც ნიშნავს ზეკრიტიკული სითხის თვისებების ფართო ვარიაციებს და შესაბამისად CO_2 არის პრაქტიკულად შეუცვლელი მოძრავი ფაზა ზეკრიტიკული სითხის ქრომატოგრაფიაში. ამასთან, ის იაფია, ეკოლოგიურად სუფთა, არატოქსიკური და ინერტული.

ნივთიერებათა დაყოფის მიზნით გამოსაყენებელი ზეკრიტიკული სითხის სასურველი თვისებებია: დაბალი კრიტიკული მუდმივები (T და P- რბილი პირობები), დაბალი ქიმიური აქტივობა (მაღალი ინერტულობა), დაბალი ტოქსიკურობა და აალებადობა, მისაღები ფასი მაღალი სისუფთავისას, თავსებადობა გაზურ და სითხურ ქრომატოგრაფიაში გამოყენებულ აპარატურასთან. აქ ჩამოთვლილ პირობებს საუკეთესოდ შეესაბამება ნახშირორჟანგი [31].

2.7 ენანტიომერების დაყოფის თერმოდინამიკური მახასიათებლები

ქვემოთ ხსენებულ გამოკვლევაში აღწერილია ენანტიომერული ნარევების დაყოფის თერმოდინამიკური გამოკვლევა სითხურ ქრომატოგრაფიაში პოლისაქარიდული სელექტორების გამოყენებით. ბიოლოგიურ და ქიმიურ სისტემებში ენანტიომერების ძირითადი განმასხვავებელია წონასწორობა ენანტიომერსა (სელექტანტი) და რეცეპტორს (სელექტორი) შორის. ეს წონასწორული პროცესი სელექტანტსა და სელექტორს შორის შეიძლება აღიწეროს თერმოდინამიკური განტოლებებით. თერმოდინამიკური წონასწორული სიდიდეები, ენანტიომერების დაყოფისთვის ქირალურ სტაციონარულ ფაზაზე შესაძლოა აღიწეროს ქრომატოგრაფიული პარამეტრების განსაზღვრით. თერმოდინამიკური პარამეტრებიდან განისაზღვრება ცალკეული ენანტიომერის ენტროპიებსა და ენთალპიებს შორის სხვაობის ცვლილება, (ΔΔS; ΔΔH) და იზოენანტიოსელექტური ტემპერატურა (T_{iso}).

ენანტიომერების დაყოფა მაღალეფექტურ სითხურ ქრომატოგრაფიაში ქირალურ სტაციონარულ ფაზებზე თერმოდინამიკურად მართული პროცესია. როდესაც დაიკვირვება ენანტიომერების დაყოფა ენატიოსელექტიურობის ფაქტორი ($\boldsymbol{\alpha}$) პირველადი მიახლოებით შეიძლება დავუკავშიროთ სვეტის ტემპერატურას შემდეგი განტოლებით:

$$\ln \boldsymbol{\alpha} = -\frac{\boldsymbol{\Delta_{j,i}\Delta H^0}}{\boldsymbol{RT}} + \frac{\boldsymbol{\Delta_{j,i}\Delta S^0}}{\boldsymbol{R}} \quad (1)$$

სადაც j და i განსაზღვრავს მეტად და ნაკლებად დაყოვნებულ ენანტიომერებს, ხოლო $\Delta_{j,i}\Delta H^0$ და $\Delta_{j,i}\Delta S^0$ ენანტიომერების ენთალპიებს და ენტროპიებს შორის ცვლილების სხვაობებია. R - აირების მუდმივა, T-აბსოლუტური ტემპერატურა.

პროცესები რომლის შედეგადაც ხდება ენანტიომერების დაყოფა წარმოადგენს დროის მიხედვით გასაშუალებულ ყველა ენერგეტიკულად დასაშვებ მოლეკულათშორისი (სელექტორ-სელექტანტი) ურთიერთქმედებების ჯამს. თითოეულ მათგანს შესაძლოა ჰქონდეს განსხვავებული გეომეტრიული მოთხოვნები და ენერგეტიკული წილი. იმ შემთხვევაში როდესაც საანალიზო ნივთიერების მოლეკულების ურთიერთქმედების ენერგია სწორხაზოვნადაა დამოკიდებული ტემპერტურის ცვლილებაზე ვანთ-ჰოფის მრუდი (lnα-ს დამოკიდებულება 1/T-ზე) იღებს სწორხაზოვან ფორმას, რომლის დახრის კუთხის ტანგენსი არის - $\frac{\Delta_{j,i}\Delta H^0}{R}$ ხოლო Y ღერძთან გადაკვეთა წარმოადგენს $\frac{\Delta_{j,i}\Delta S^0}{R}$. უმეტესობა ქირალურ ნივთიერებების რომლებიც დაყოფილია მონომერულ ან პოლიმერულ სტაციონარულ ფაზებზე $\Delta\Delta H^0$ და $\Delta\Delta S^0$ წევრებს აქვთ უარყოფითი ნიშანი და ენანტიომერების დაყოფა მიმდინარეობს ენთალპიური კონტროლით. ეს მიუთითებს, რომ

ა) უფრო მჭიდრო სტრუქტურის მქონე ქირალურ სტაციონარულ ფაზებს აქვს უფრო მცირე მოლეკულური უწესრიგობები.

ბ) ენანტიომერების ამოცნობა არის შედეგი მათ დაყოფაზე მოქმედი ენთალპიური და არასასურველი ენტროპიული ფაქტორის წილების გადანაწილებაზე.

გ) ენანტიოსელექტიურობა მცირდება ტემპერატურის გაზრდით, $\Delta\Delta H^0$ წევრის მაღალი უარყოფითი მნიშვნელობები მიუთითებს ენანტიოსელექიურობის ტემპერატურაზე დამოკიდებულებას.

იზოენანტიოსელექტიური ტემპერატურა წარმოადგენს ტემპერატურის ისეთ მნიშვნელობას რომლის დროსაც ენანტიომერების დაყოფა არ ხდება.

ტოლობიდან გამომდინარე როცა α=1 იზოენანტიოსელექტიური ტემპერატურა Tiso შეიძლება გამოითვალოს შემდეგი ფორმულით

$$\boldsymbol{T_{iso}} = \frac{\boldsymbol{\Delta_{j,i}\Delta H^0}}{\boldsymbol{\Delta_{j,i}\Delta S^0}} \quad (2)$$

T_{iso} ტემპერატურაზე მაღლა პროცესი ენტროპიულად მართვადია და შესაძლოა დაფიქსირდეს ენანტიომერების ელუირების რიგის შებრუნება, თუმცა ეს მოვლენა საკმაოდ იშვიათ შემთხვევაში ფიქსირდება.

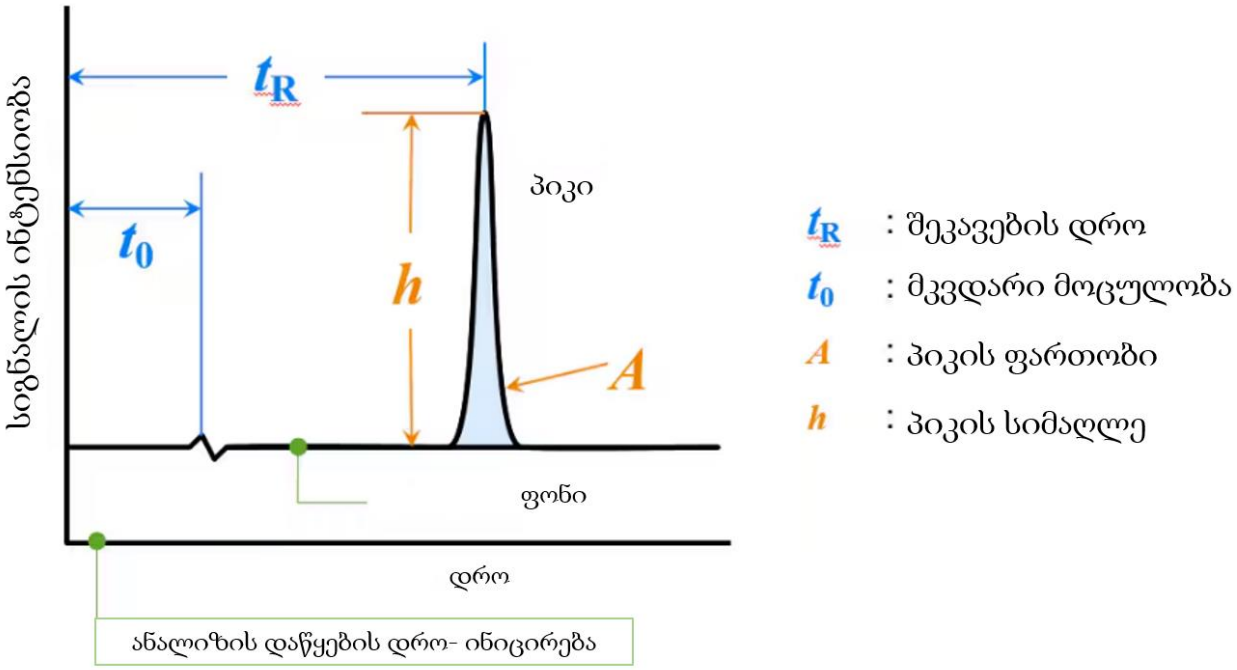
გამომდინარე იქიდან, რომ მაღალეფექტურ სითხურ ქრომატოგრაფიაში მაღალი ტემპერატურების გამოყენება შეზღუდულია, ენანტიომერული დაყოფების ძირითადი განმაპირობებელი ფაქტორია ენთალპიური კონტროლი და როგორც წესი ენანტიოსელექტიურობა უმჯობესდება დაბალ ტემპერატურაზე [32].

2.8 ქრომატოგრაფიული დაყოფის მახასიათებელი პარამეტრები

შეკავების ფაქტორი k გამოითვლება ფორმულით:

$$k_A = \frac{t_R - t_M}{t_M} \quad (3)$$

t_R და t_M იზომება ქრომატოგრამიდან. t_R არის შეკავების დრო მოცემული ნივთიერებისათვის, ხოლო t_M მკვდარი მოცულობის შეკავების დრო, ანუ დრო, როდესაც ნიმუში ელუირდება ელუენტთან ერთად.



ნახაზი 3. ქრომატოგრაფიული მახასიათებლები

სელექტიურობა(α), არის დაყოფის ხარისხის რაოდენობრივი მახასიათებელი და წარმოადგენს ორი ნიმუშის (მოცემულ შემთხვევაში ენანტიომერების) შეკავების ფაქტორთა ფარდობას:

$$\alpha = \frac{k_2'}{k_1'} \quad (4)$$

α დამოკიდებულია მხოლოდ საანალიზო კომპონენტების ბუნებაზე, ელუენტის ტიპზე, მის შემადგენლობაზე და ადსორბენტის ბუნებაზე, ასევე მისი ზედაპირის ქიმიაზე.

სვეტის ეფექტურობა ხასიათდება თეორიული თეფშების რიცხვით N

$$N = 16(\frac{t_R}{W})^2 \quad (5)$$

tR მოცემული ნიმუშის შეკავების დროა, ხოლო W-პიკის სიგანე.

გარჩევითობა (R) წარმოადგენს ტევადობის ფაქტორის, სელექტიურობის და სვეტის ეფექტურობის გაერთიანებულ გამოსახულებას.

$$R_s = \frac{(t_2 - t_1)}{0.5(W_1 + W_2)} \quad (6)$$

t_1 და t_2 - პირველი და მეორე ნიმუშის (ენანტიომერის) შეკავების დროებია, ხოლო W_1 და W_2 პირველი და მეორე ნიმუშის პიკის სიგანეები ფუძესთან [32].

2.9 . ქირალურად სუფთა ნივთიერებათა მიღების მეთოდები

ძირითადად არსებობს სუფთა ენანტიომერების მიღების სამი წყარო: რაცემატის დაყოფით, ბუნებაში არსებული სუფთა ქირალური ნივთიერებების შეგროვებით, პროქირალური ნივთიერებებიდან.

2.9.1 სუფთა ენანტიომერების მიღება რაცემატიდან

რაცემატიდან ენანტიომერულად სუფთა ბიოლოგიურად აქტიური მოლეკულების მიღება ყველაზე უფრო ძველი და დღესდღეობით სამრეწველო მასშტაბით ყველაზე გავრცელებული მეთოდია. სუფთა ენანტიომერის ან ენანტიომერულად გამდიდრებული ნაერთის რაცემატიდან მიღება შეიძლება სპონტანური კრისტალიზაციით, დიასტერეომერული კრისტალიზაციით, კინეტიკური დაყოფით ან მემბრანული ტექნოლოგიით.

დიასტერეომერული კრისტალიზაციის ჩასატარებლად აუცილებელია ენანტიომერული ნარევების გადაყვანა დიასტერეომერულ ნარევში. ამ მიზნით რაცემატს უმატებენ ენანტიომერულად სუფთა აგენტს, რის შედეგადაც ხდება რაცემატის დერივატიზაცია და დიასტერეომერული ნარევის მიღება. წარმოქმნილი დიასტერეომერები წარმოადგენენ არაკოვალენტურად ბმულ კომპლექსურ ნაერთებს. დიასტერეომერული კრისტალიზაცია წარმატებით გამოიყენება სუფთა ენანტიომერების მისაღებად, თუმცა ამ მეთოდის ნაკლს წარმოადგენს დაბალი გამოსავლიანობა. ენანტიომერის გამოსავალი 50%-ს არ აღემატება.

კინეტიკური დაყოფა არის პროცესი, რომლის დროსაც მიმდინარეობს ქიმიური რეაქცია რაცემატში შემავალი ენანტიომერების ენანტიოსელექტიური გარდაქმნა კატალიზატორის გამოყენებით. კატალიზატორი შეიძლება იყოს ბიოლოგიური ან ქიმიური წარმოშობის. კატალიზატორი შეიძლება იყოს სპეციფიური ან სელექტიური. თუ კატალიზატორი სპეციფიურია, მაშინ მისი საშუალებით ხდება ერთ-ერთი ენანტიომერის გარდაქმნა. სელექტიური კატალიზატორის შემთხვევაში ხდება ერთი ენანტიომერის უპირატესი გარდაქმნა მეორესთან შედარებით. ბიოლოგიურ კატალიზატორებს (ენზიმებს) გააჩნიათ რიგი უპირატესობანი ქიმიურ კატალიზატორებთან შედარებით. ბიოლოგიური კატალიზატორები მოქმედებენ ზომიერ პირობებში, არ მოითხოვენ ორგანულ გამხსნელებს,

მათთვის დამახასიათებელია მაღალი ეფექტურობა, მაღალი ქიმიური სელექტივობა და ენანტიოსელექტივობა [33].

კინეტიკური დაყოფის ნაკლს წარმოადგენს ის, რომ დიასტერეომული კრისტალიზაციის მსგავსად, სუფთა ენანტიომერის გამოსავალი ამ მეთოდშიც არ აღემატება 50%-ს. გარდა ამისა, ენზიმური დაყოფა ტარდება მხოლოდ წყალხნარებში. თუმცა უკანასკნელ ხანებში შესაძლებელი გახდა ენზიმების გამოყენება ცალკეულ ორგანულ გამხსნელებშიც.

აღსანიშნავია, რომ ზოგიერთ შემთხვევაში ენანტიომერების ნარევი (იშვიათად რაცემატიც) ყოველგვარი აგენტის დამატების გარეშე თავისთავად გამოკრისტალდება სუფთა ენანტიომერების სახით. ასეთ კრისტალიზაციას უწოდებენ სპონტანურ კრისტალიზაციას. სპონტანური კრისტალიზაცია დამახასიათებელია მხოლოდ კონგლომერატებისთვის [34].

რაც შეეხება მემბრანულ ტექნოლოგიას, იგი შედარებით ახალი მეთოდია და დაფუძნებულია მემბრანების გამოყენებაზე. მემბრანული პროცესი შეიძლება გავყოთ ორ ჯგუფად: - 1. პირდაპირი დაყოფა ენანტიოსელექტიურ მემბრანაზე (ენანტიოსელექტიური პოლიმერი ან სითხე); - 2. დაყოფა, რომლის დროსაც მემბრანა ხელს უწყობს ენანტიოსელექტიურ პროცესს. პირველ შემთხვევაში მემბრანას სელექტიური აფინობა გააჩნია ერთ-ერთი ენანტიომერის მიმართ, რის გამოც ამ ენანტიომერის მოლეკულებს საკუთარ ზედაპირზე შეაკავებს. ხოლო მეორე შემთხვევაში მემბრანა ასრულებს სარჩულის როლს. მის ზედაპირზე ხდება ქირალური სელექტორის დაფენა ან ქიმიური დამაგრება [35].

2.9.2 ქირალური ბუნებრივი ნივთიერებები

ბუნებაში ქირალური ნივთიერებები უმრავლეს შემთხვევაში არსებობენ სუფთა ენანტიომერების სახით. ბევრი მათგანი შეიძლება გამოყენებულ იქნას სასურველი ენანტიომერული მოლეკულის მისაღებად, რაც მიიღწევა შესაბამისი ქიმიური გარდაქმნით. ასეთი გარდაქმნა ხშირ შემთხვევაში ზომიერ პირობებში მიმდინარეობს, თუმცა ზოგიერთი ენანტიომერისათვის იგი არახელსაყრელია.

ისეთი ბუნებრივი ქირალური ნივთიერებები, როგორიცაა ამინომჟავები, ტერპენები, ნახშირწყლები, ალკალოიდები და ა.შ. ფართოდ გამოიყენება სუფთა ენანტიომერების მისაღებად ფარმაცევტულ მრეწველობასა და ნატიფ ქიმიურ სინთეზში [25].

2.10 კაპილარული ელექტროფორეზი

1965 წელს შეიქმნა კაპილარული ელექტროფორეზის სისტემა ცილების, ნუკლეინის მჟავებისა და სხვადასხვა არაორგანული იონების დასაყოფად. 1980 წელს ჯორგენსონის და ლუკასის მაღალეფექტური დაყოფების გამოქვეყნების შემდეგ ამ მეთოდს დიდ პოპულარულობა მოუტანა .

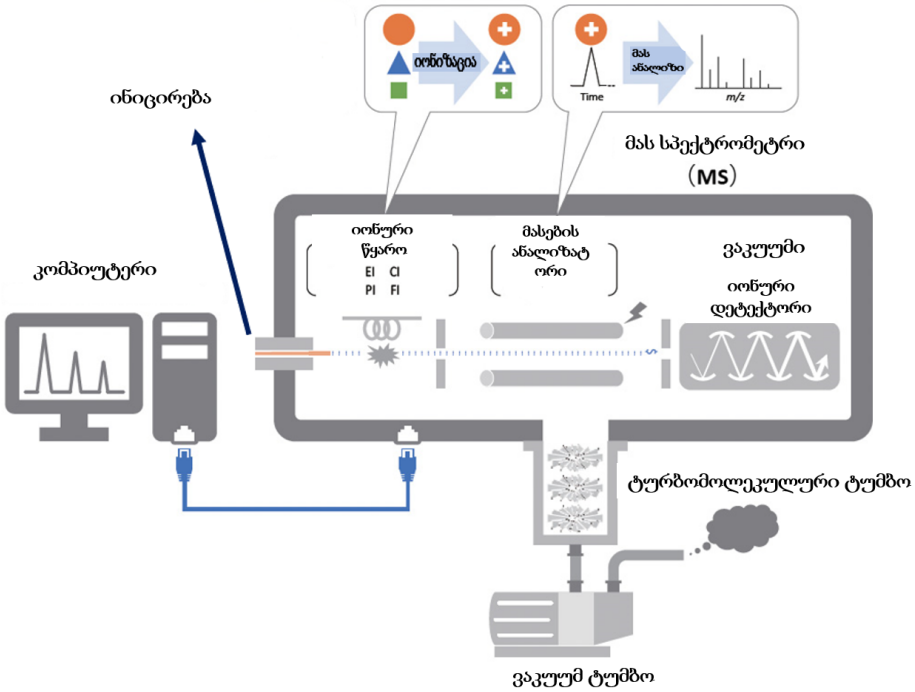
მე-20 საუკუნის ბოლოდან გამოიყენება კაპილარული ელექტროფორეზის მეთოდი ფარმაცევტულ ანალიზში. მეთოდის უპირატესობას, ინსტრუმენტული ანალიზის სხვა მეთოდებთან შედარებით წარმოადგენს ის, რომ ამ მეთოდის გამოყენებით შესაძლოა გაანალიზდეს დაწყებული მცირე ზომის ორგანულ და არაორგანული ნივთიერებები და დამთავრებული დიდი ზომის მოლეკულები [36]. კაპილარულმა ელექტროფორეზმა ზოგიერთ ანალიზში ჩაანაცვლა ტრადიციული გელ-ელექტროფორეზი და ქრომატოგრაფიული ანალიზის მეთოდები. აღნიშნული მეთოდი განსაკუთრებით წარმატებით გამოიყენება მცირე ზომის ქირალური მოლეკულებისათვის, აქირალური მინარევების განსაზღვრისათვის სამკურნალო საშუალებებში, მეტალების იონებისა განსაზღვრისათვის და ა.შ.. კაპილარული ელექტროფორეზი დაფუძნებულია ნარევის შემადგენელი კომპონენტების განსხვავებულ ეფექტურ ძვრადობაზე ელექტრულ ველში. საკვლევი ნიმუშის თითოეულ დამუხტულ კომპონენტში ელექტროფორეტული ძვრადობა აღიძვრება და იწვევს ელექტრულ ველში მათ გადაადგილებას. მუხტის სიმკვრივე კომპონენტების pK სიდიდეზეა დამოკიდებული, შესაბამისად საჭიროა ისეთი pH-ის შერჩევა, რომელზეც საკვლევი ნიმუშის ყველა კომპონენტს მუხტის განსხვავებული სიმკვრივე ექნებათ [36].

2.11 მას-სპექტრომეტრია

მას-სპექტრომეტრიას საფუძველი ჩაეყარა ჯოზეფ ტომპსონის ექსპერიმენტებით 1890-იან წლებში, მოგვიანებით მსგავსი ექპრტიმენტები გააგრძელა ფრენსის ვ. ასტონმა, რომელსაც მიენიჭა ნობელის პრემია ქიმიაში აღნიშნული კვლევისთის. აღნიშნული მეთოდი გახდა თითქმის შეუცვლელი ტექნიკა მრავალი დარგის მეცნიერისთვის.

მას-სპექტრომეტრია ქიმიური ნივთიერებების იდენტიფიკაციის ერთ-ერთი მძლავრი მეთოდია. მის ფართო გამოყენებას ხელს უწყობს ისიც, რომ მას-სპექტრომეტრიაში არსებობს ე.წ. ბიბლიოთეკები, რომელიც ნივთიერებების სწრაფი იდენტიფიცერების საშუალებას იძლევა. მას-სპექტრომეტრი წარმოადგენს მოკლე იონურ ოპტიკური სისტემებს, რომლიც შედგება ელექტროსტატიკური ლინზებისგან მაღალი ვაკუუმის პირობებში, რომელსაც შეუძლია ფოკუსირება, გადაცემა, ფილტრაცია და იონური სიგნალის გაზომვა. მას-სპექტრომეტრიით ხდება იონების დაყოფა მათი მასის მუხტთან ფარდობის მიხედვით m/z, თუმცა დაყოფამდე აუცილებელია მოხდეს იონიზაცია, რომელიც იონიზაციის წყაროში ხდება. როგორც იონიზაციის, ასევე მას-ანალიზატორების ტიპის მიხედვით, განასხვავებენ რამდენიმე ტიპის მას-სპექტრომეტრებს. მას-სპექტრომეტრული მეთოდებით პრობლემურია ისეთი ნივთიერებების გაანალიზება, რომლებიც იონიზაციის პროცესის მიმართ არამდგრადია. მას-სპექტრომეტრიაში სხვა მსგავსი (სპექტრალური) მეთოდებისაგან განსხვავებით ანალიზის პროცესში ელექტრომაგნიტური გამოსხივების უშუალო ურთიერთქმედება საკვლევი ნივთიერების მოლეკულებთან არ ხდება. ამის გამო, მას არ მიაკუთვნებენ სპექტროსკოპულ მეთოდებს. მას-სპექტრომეტრი შედგება ხუთი ძირითადი ბლოკისაგან: ინიცირების ბლოკი, იონიზაციის წყარო, მას-ანალიზატორი, დეტექტორი და მონაცემთა დამუშავების ბლოკი (კომპიუტერი). მას-სპექტრომეტრიაში თითოეული ზემოაღნიშნული ბლოკი მნიშვნელოვან ფუნქციას ასრულებს, რაც თავის მხრივ ანალიზის პასუხის სისწორესა და სიზუსტეს უზრუნველყოფს (ნახაზი 4).

1) **ნიმუშის ინიცირება:** ნიმუშის მომზადების წესი დამოკიდებულია საანალიზო ნივთიერების ბუნებაზე, ხელსაწყოს ტიპსა და კვლევის მიზანზე. ნიმუშის ინიცირება შეიძლება მოხდეს როგორც გაზურ, ასევე თხევად ფაზაში.
2) **იონიზაცია:** ნიმუშის იონიზაცია ხდება იონურ წყაროში. იონიზაციის პროცესი შეიძლება იყოს ძლიერი, რის შედეგადაც საკვლევი ნიმუშების მოლეკულებისგან ფორმირებული მოლეკულური იონების დიდი ნაწილი განიცდის ფრაგმენტაციას და წარმოქმნის ფრაგმენტ-იონებს. არსებობს ასევე მეორე ტიპის იონიზაციის მეთოდიც, რომელსაც „რბილი“ იონიზაციის მეთოდი ეწოდება, რომლის დროსაც ფრაგმენტ-იონების წარმოქმნა ნაკლებად ხდება. იონიზაციის პროცესის შემდეგ, ელექტრული ლინზების საშუალებით ხდება იონურ წყაროში წარმოქმნილი იონების დაყოფა, დაჩქარება და ფოკუსირება მას-ანალიზატორის მიმართულებით;



ნახაზი 4. მას-სპექტრომეტრის ძირითადი ბლოკები.

იონური წყაროები

- ელექტრონებით იონიზაცია (EI)
- ქიმიური იონიზაცია (CI)
- პირდაპირი ანალიზი რეალურ დროში (DART)
- ინდუქციურად შეწყვილებული პლაზმა (ICP)

იონური წყაროები - დესორბციის მეთოდები

- მატრიცით სტიმულირებული ლაზერულ-დესორბციული იონიზაცია (MALDI)
- სწრაფი ატომებით ბომბარდირების მეთოდი (FAB)
- თერმული იონიზაციის წყაროები

- პლაზმის იონიზაციის წყაროები
- თხევადი ლითონის იონის წყაროები (LMIS)

იონის წყაროები - სპრეი მეთოდები

- ელექტროსპრეის იონიზაცია (ESI)
- დესორბციული ელექტროსპრეის იონიზაცია (DESI)

3) **მას-ანალიზატორი** ფორმირებული იონების დაყოფა მიმდინარეობს მას-ანალიზატორში. არსებობს სხვადასხვა ტიპის მას-ანალიზატორი, რომლებიც ერთმანეთისაგან განსხვავდება მოქმედების პრინციპით, თუმცა, ნებისმიერი მას-ანალიზატორის ფუნქცია არის იონების დაყოფა მათი მასის მუხტთან ფარდობის მიხედვით. მას-სპექტრომეტრი ზოგჯერ მოიცავს ორი ან მეტი მას-ანალიზატორის კომბინაციას. თითოეულ მას-ანალიზატორს აქვს განსხვავებული m/z სამუშაო დიაპაზონი, მასის სიზუსტე და განსაკუთრებით მასის გარჩევადობა. MS გარჩევადობა არის მთავარი პარამეტრი. ძირითადად გამოარჩევენ რამდენიმე ტიპის მა-ანალიზატორებს:
   - ფრენის დროის მას-ანალიზატორები (TOF)
   - სექტორული მას-ანალიზატორები (B)
   - კვადრუპოლური მას-ანალიზატორი (Q)
   - სამგანზომილებიანი მას-ანალიზატორი
   - ორგანზომილებიანი მას-ანალიზატორი
   - ფურიე-გარდაქმნის იონურ-ციკლოტრონული რეზონანსი (FT-ICR)
   - ორბიტალური იონური მახე (Orbitrap)

4) **დეტექტორი-** რაც შეეხება დეტექტირებას, ამ მხრივაც მას-სპექტრომეტრული ტექნიკა გამოირჩევა თავისი მრავალფეროვნებით, შესაბამისად საკვლევი ნივთიერების და ანალიზის მიზნების მიხედვით შესაძლებელია შეირჩეს ის დეტექტირების მეთოდი, რომელიც ყველაზე კარგად მოერგება კონკრეტულ ექსპერიმენტს.
   დეტექტორები:
   - ფარადეის ჯამი
   - მეორეული ელექტრონების გამრავლების დეტექტორი
   - არხის ტიპის დეტექტორები
   - მიკროარხული თეფში
   - დეტექტორი ფოკალური სიბრტყით
   - კრიოგენური დეტექტორები.
5) **მონაცემთა დამუშავების ბლოკი-** მონაცემთა დამუშავებისთვის გამოიყენება კომპიუტერი, სპეციალიზირებული პროგრამების გამოყენებით შესაძლებელია, როგორც რაოდენობრივი, ასევე თვისობრივი ანალიზი და შედეგების დამუშავება, ასევე სწორედ ამ საფეხურზე ხდება ნივთიერებათა იდენტიფიკაციისათვის არსებული ბიბლიოთეკების გამოყენება [37].

2.12 სითხური ქრომატოგრაფია-მას სპექტრომეტრიის შეუღლება

სითხური ქრომატოგრაფია-მას სპექტრომეტრიის ტექნიკა გულისხმობს სითხურ ქრომატოგრაფიას, როგორც კომპონენტების დასაყოფ საშუალებას, ხოლო მას სპექტრომეტრია, როგორც კომპონენტების დეტექტირებისთვის. იგი შეიძლება ჩაითვალოს

ჰიბრიდულ მეთოდად და შემუშავებულია იმისათვის, რომ გაერთიანდეს თითოეული მათგანის საუკეთესო თვისებები ერთ ინსტრუმენტში.

ამ მეთოდის მრავალფეროვანი გამოყენება განპირობებულია რამდენიმე ფაქტორით, როგორიცაა ეფექტურობა, საიმედოობა, გამძლეობა და მრავალფეროვნება [32]. ამ მეთოდით შესაძლებელია გაანალიზდეს სხვადასხვა კლასის ნივთიერებები, მათ შორის ფარმაცევტული და ვეტერინარული სამკურნალო საშუალებები, კოსმეტიკური დანიშნულების პროდუქტები, პესტიციდები, ენდოგენური ბიომოლეკულები.

კომერციულად ხელმისაწვდომი უძრავი ფაზები და ხელსაწყოს განსხვავებული კონფიგურაციები აადვილებს თითქმის ნებისმიერი ხსნადი ნაერთის ანალიზს სხვადასხვა კომპლექსურ მატრიცაში [35].

სითხური ქრომატოგრაფი მას-სპექტრომეტრიის ინსტრუმენტებს აქვთ გარკვეული კრიტიკული მოთხოვნები შესაბამისი მუშაობისთვის:

რადგან სითხური ქრომატოგრაფი მუშაობს მაღალი წნევის პირობებში, ხოლო მას-სპექტრომეტრი მოითხოვს მაღალ ვაკუუმს, MS რეგიონში შეყვანილი მოძრავი ფაზის მოცულობა უნდა იყოს კონტროლირებადი;

მოძრავი ფაზის შემადგენლობა - სასურველია არ შეიცავდეს არააქროლად დანამატებს, როგორიცაა ფოსფატური ბუფერები, რადგან ამან შეიძლება გამოიწვიოს სიგნალის ჩახშობა ან დააზიანოს MS-ის იონიზაციის წყარო;

მნიშვნელოვანია ასევე მატრიცის ბუნება და გასაანალიზებელი ნივთიერებები.

სითხური ქრომატოგრაფი მას-სპექტრომეტრის ანალიზისთვის აუცილებელია სითხის ან მყარი ნეიტრალური საკვლევი ნივთიერების აირად ფაზაში მყოფ იონებში გადაყვანა. ეს კონვერტაცია ხდება მას-სპექტრომეტრის იონიზაციის წყაროში და შეიძლება განხორციელდეს სხვადასხვა იონიზაციის მექანიზმების მეშვეობით, რომლებიც დამოკიდებულია გამოყენებულ მეთოდზე. ამჟამად არსებობს მრავალი იონიზაციის წყარო LC–MS-სთვის. მოლეკულების იონიზაციისთვის, იონური წყარო შეიძლება იყოს APCI (ატმოსფერული წნევის ქიმიური იონიზაცია), ESI (ელექტრონსპრეის იონიზაცია) და ა.შ. იონიზაციის წყაროს შერჩევა დამოკიდებულია საკვლევი ნივთიერებების ქიმიურ ბუნებაზე.

2.12.1 პოლისაქარიდული ქირალური სელექტორების ოპტიმიზაცია

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 [38]. 1939 წელს გ. ჰენდერსონმა და ჰ. რულმა აჩვენეს ენანტიომერების პირველი ნაწილობრივი დაყოფა დისაქარიდ ლაქტოზას ქირალურ ადსორბენტად გამოყენებით სვეტურ ქრომატოგრაფიაში. 1944 წელს ვ. პრელოგმა და პ.

ვილანდმა გამოიყენეს ტროგერის ფუძის დაყოფა ლაქტოზის ადსორბენტზე, რათა ეპასუხათ 3 ვალენტიანი აზოტის ატომის ასიმეტრიულობის კრიტიკულ შეკითხვაზე. 1951 წელს კოტაკემ გამოაქვეყნა შრომა, ენანტიომერების დაყოფის შესახებ ქირალურ სელექტორად ცელულოზის გამოყენებით ქაღალდის ქრომატოგრაფიაში. ეს იყო პოლისაქარიდის ქირალურ სელექტრორად გამოყენების პირველი მაგალითი. ათი წლის შემდეგ, აღწერილი იქნა ცელულოზის გამოყენება ქირალური კატეხინების დასაყოფად სვეტურ ქრომატოგრაფიაში [38]. 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 შეუმჩნეველი რჩება ლიტერატურულ მიმოხილვებში, რადგან ყურადღება გამახვილებულია მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფიაში ცელულოზის ტრიაცეტატზე (ცტა), 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 სამკურნალწამლო საშუალებების ენანტიომერების დასაყოფად, რომელთა მიღება სხვა გზით გართულებული იყო. 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 [35]. 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, 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 [39].

1980-იან წლებში შრომები პოლისაქარიდული ქირალური სელექტორების ოპტიმიზაციაზე ძირითადად მიმდინარეობდა ორ ჯგუფში, რომლებიც მჭიდროდ თანამშრომლობდნენ ერთმანეთთან, ესენი იყო ი. ოკამოტოს ჯგუფი ოსაკას უნივერიტეტში და კომპანია „დაიცელი“ (Daicel), ორივე ჯგუფი მოღვაწეობდა იაპონიაში, მის საზღვრებს გარეთ მხოლოდ რამდენიმე კვლევა ჩატარდა [42; 49]

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. 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 აჩვენეს მნიშვნელოვანი ქირალური გამოცნობის უნარი ქირალური საანალიზო ნივთიერებების გარკვეული ჯგუფის მიმართ, თუმცა მხოლოდ ცელულოზის და ამილოზის ნაწარმების კომერციალიზაცია მოხდა ენანტიომერების დასაყოფად ანალიზური და პრეპარატული

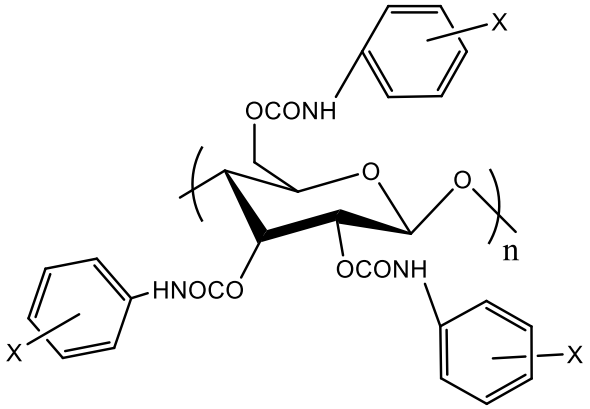
მიზნებისთვის მესქ-ში [39]. ცელულოზის შემთხვევაში, ქირალური სელექტორის მოსამზადებლად ძირითადად გამოიყენება მიკროკრისტალური ცელულოზა სავაჭრო სახელით „ავიცელი“(Avicel), ხოლო ამილოზის შემთხვევაში ის შეიძლება იყოს ბუნებრივი ან სინთეზური/ნახვრადსინთეზური ამილოზა. ბუნებრივი ამილოზის წყარო შეიძლება იყოს კარტოფილის, 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 [39].

პოლისაქარიდების სხვადასხვა ნაწარმებიდან ძირითადად შესწავლილი იქნა რთულ-ეთერული და კარბამატული ნაწარმები. აღმოჩნდა, რომ ორივე მათგანი მისაღებია, როგორც ქირალური სელექტორები მესქ-ში [38-40]. 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. ასევე სინთეზირებული იქნა ცელულოზის ფენილ- კარბონატული ბენზოილფორმატული ნაწარმები, მაგრამ მათი ქირალური გამოცნობის უნარი ნაკლებია ვიდრე ეთერული და ფენილკარბამატული ნაწარმების.

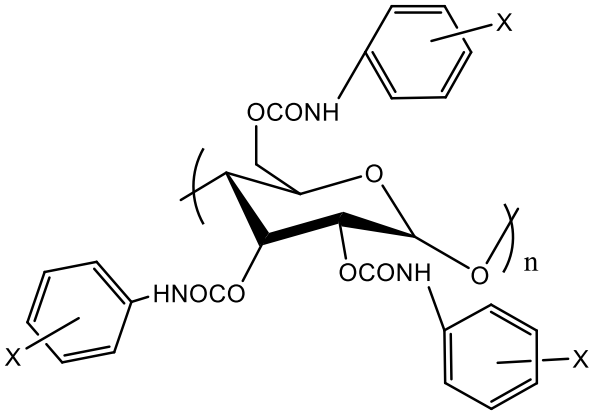
უკანასკნელი სამი ათწლეულის განმავლობაში მესქ-ში გამოყენებული პოლისაქარიდული ქირალური სელექტორების ოპტიმიზაცია ფოკუსირებული იქნა პოლისაქარიდების ნაწარმებში ფენილის ჯგუფის ჩამნაცვლებლების ოპტიმიზაციაზე. როგორც ი. ოკამოტოს და მისი ჯგუფის ადრეულ შრომებში იქნა აღწერილი, პოლისაქარიდების არომატული ეთერები და ფენილკარბამატები ავლენენ ქირალური გამოცნობის მაღალ უნარს, მაგრამ ეს თვისებები მკვეთრად უმჯობესდება, თუკი ფენილის ნაშთში შესაბამის ადგილას ჩანაცვლებული იქნება ელექტრონ-დონორული, ან ელექტრონ-აქცეპტორული ჯგუფები [42]. ბენზოატური ნაწარმები, რომლებშიც დამატებულია ელექტრონ-დონორული ჩამნაცვლებლები, როგორიცაა მაგალითად ალკილის ჯგუფი, ავლენენ უფრო მაღალი ქირალური გამოცნობის უნარს, ვიდრე ნაწარმები, რომელებშიც 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 პრეპარატული 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 [38]. ცოტა ხნის წინ, ნაჩვენები იქნა, რომ ცელულოზა 4-მეთილბენზოატის ქირალური გამოცნობის უნარი შეიძლება გაკონტროლებული იქნეს დანამატებით, რომლებიც ემატება ქირალური სელექტორის სილიკაგელზე დაფენის ეტაპზეა [39].

ცელულოზის და ამილოზის კარბამატების ქირალური სელექტორების სტრუქტურები შეჯამებულია ნახ.5და 6-ზე., ხოლო ცხრილი 3-ში მითითებულია ჩამნაცვლებლები.



ნახაზი 5. ცელულოზას კარბამატები



ნახაზი 6. ამილოზას კარბამატები

X= ნავენებია ცხრილი N3-ში:

ცხრილი 3. ჩამნაცვლებლები ცელულოზას და ამილოზას კარბამატებში [38]

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_2H_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_2H_5	y: 3-OC2H_5	

ქრომატოგრაფიულმა სკრინინგმა აჩვენა, რომ ცელულოზას ფენილკარბამატები აჩვენებს უკეთეს ქირალური გამოცნობის უნარს, თუ ფენილის ნაშთის მე-4 პოზიციაში ჩანაცვლებულია ელექტრონ-აქცეპტორული, ან ელექტრონ-დონორული ჩამნაცვლებლები [38]. 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. 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 ჩანაცვლებულია 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. 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. თუმცაღა ურთიერთქმედება საანალიზო ქირალურ ნივთიერებასა და სელქტორს შორის არის (ქირალური) გამოცნობის წინაპირობა. ასევე დაიკვირვება გარკვეული კორელაცია ქირალური ნივთიერებების პოლისაქარიდების ფენილკარბამატების მიმართ აფინობასა და მასალის ქირალურური გამოცნობის უნარს შორის [40].

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 ჩანაცვლებული მასალები ავლენენ ქირალური გამოცნობის ნაკლებ უნარს, ვიდრე მეტა- და პარა-მგომარეობაში მყოფი ჩამნაცვლებლები.

ამილოზას ნაწარმებისთვის მეთილის ან ქლორის ჩამნაცვლებლების შეტანა აუმჯობესებს ქირალური გამოცნობის უნარს. 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 [38].

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) [40], 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 [40].

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 ნარევებში.

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. ცხრილი 4-ში მოცემულია ამ მიზნებისთვის გამოყენებული ჩამნაცვლებლები:

ცხრილი 4. ჩამნაცვლებლები ცელულოზას და ამილოზას ტრის-ჰალოგენ-მეთილფენილკარბამატების ნაწარმებში [32]

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**	

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. 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.

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. 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.

ზოგიერთი ამ მასალის ადრეულმა სკრინიგმა აჩვენა მათი უკეთესი ქირალური გამოცნობის უნარი არსებულ მასალებთან შედარებით. 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 [40]. 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[41]. 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 [41]. 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 [41].

2.12.2 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 [38].

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 ეფექტურება 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 [38].

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 სვეტებისთის. ლიტერატურაში აღწერილია პოლისაქარიდული ქირალური მასალები სხვა სარჩულებით, მაგალითად ცირკონიუმის, ტიტანის ოქსიდის, მაგნიუმის ოქსიდის, ცირკონირებული და ტიტანირებული სილიკაგელის, ასევე ორგანული პოლიმერებით, თუმცა ამ მასალებს არ გააჩნიათ სილიკაგელთან შედარებით რაიმე ცალსახა უპირატესობა.

გარდა ნაწილაკური სარჩულისა, შესაძლებელია სილიკაგელზე დაფუძნებული მონოლითური სარჩულების [41] და ფორიანი ზედაპირის მქონე გლუვი სილიკაგელის გამოყენება ქირალური სტაციონარული ფაზების მოსამზადებლად. მონოლითური სილიკაგელის მასალებს აქვთ ისეთი უპირატესობები, როგორიცაა დაბალი უკუწნევა, ასევე თეორიული თეფშების რიცხვის მოძრავი ფაზის ხაზოვან სიჩქარეზე ნაკლები დამოკიდებულება. ეს კომბინაცია კი სწრაფი დაყოფების საშუალებას გვაძლევს. პოლისაქარიდის ნაწარმის პირველი მონოლითური სვეტი აღწერილი იყო ლიტერატურაში 2003 წელს. 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. პოლისიაქარიდების დაფენით მომზადებულ მონოლითურ სვეტებს აქვთ ნაკლი, რომელიც მდგომარეობს მათ შედარებით ნაკლებ სტაბილურობაში და შეუთავსებლობაში ზოგიერთ მოძრავ ფაზასთან. მოგვიანებით შესაძლებელი გახდა ცელულოზა (3,-5დიმეთილფენილკარბამატის) კოვალენტური დამაგრება მონოლითურ სარჩულზე. 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 [38].

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). ამ ტიპის პირველი პოლისაქარიდული ქირალური სტაციონარული ფაზა აღწერილი იყო ჩვენი ჯგუფის მიერ ცოტა ხნის წინ. 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 [40].

2.12.3 სტაციონარული ფაზების ოპტიმიზაცია

ქირალური სტაციონარული ფაზის ორი ყველაზე მნიშვნელოვანი კომპონენტის, ქირალური სელექტორის და ინერტული სარჩულის ოპტიმიზაცია სხვადასხვა გზით შეიძლება მოხდეს. საწყისი მეთოდი იყო პოლისქარიდის ნაწარმების დაფენა სარჩულის ზედაპირზე (ხშირ შემთხვევაში სარჩული ფორიანი სილიკაგელი იყო). 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 [38].

პოლისაქარიდის ნაწარმების სილიკაგელის ზედაპირზე კოვალენტური იმობილიზაციის პირველი მეთოდი აღწერილი იქნა 1987 წელს [40]. 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 [41].

ი. ოკამოტომ და მისმა თანამშრომლებმა აჩვენეს, რომ დიიზოციანატით პოლისაქარიდების ნაწარმის რეგიოსელექტიური იმობილიზაცია იძლევა გაუმჯობესებულ ქირალური გამოცნობის უნარს არარეგიოსელექტიურად იმობილიზებულ ქირალურ სტაციონალურ ფაზებთან შედარებით. 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. 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, რომელიც დაფუძნებულია პოლისაქარიდის სტრუქტურაში ფენილკარბამატის ჯგუფებთან ერთად 10-უნდეკანოილის ჯგუფების შეყვანაზე. კოვალენტური იმობილიზაცია მიიღწევა გაცხელებით α,α'-აზობისისობუტირონიტრილის (აიბნ) 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 მომამზადეს კოვალენტურად იმობილიზებული პოლისაქარიდული ნაწარმები ბიფუნქციონალური რეაგენტების, როგორიცაა ტოლილენ-2,4-დიიზოციანატის გამოყენებით. 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. 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 სტაციონალურ ფაზებს აქვთ მსგავსი ენანტიოსელექტიურობა დაფენილი ქირალური სტაციონარული ფაზების ენანტიოსელექტიურობასთან შედარებით.

ფრანკოტემ აღწერა პოლისაქარიდების ტრის-ნაწარმების სილიკაგელზე იმობილიზაციის მეთოდი ულტრაიისფერი სინათლის დასხივებით, თუმცა პოლისაქარიდების ნაწარმებში არ იყო დამატებული ფოტოპოლიმერიზებადი ჯგუფები. 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 .

ბ. ჭანკვეტაძის მიერ შემოთავაზებული იქნა ცელულოზას ნაწარმების იმობილიზაცია, რომლებსაც გააჩნდათ თავისუფალი ჰიდროქსილების მცირე ჯგუფი Υ-გლიციდოქსიპროპილსილანით მოდიფიცირებულ სილიკაგელზე. 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. 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 (3,5დიმეთილფენილკარბამატი) 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 [38]. ეს არის მნიშვნელოვანი უპირატესობების ანალიზური და განსაკუთრებით პრეპარატული მასშტაბებით გამოყენებისთვის. მიუხედავად იმისა, რომ ამ ფაზების ენანტიოსელექტიურობა მაღალია, არის რაცემატული ნივთიერებები, რომლებიც იყოფა დაფენილ ქირალურ სტაციონალურ ფაზებზე და არ იყოფა „იგივე“ ქირალური სელექტორით მომზადებულ კოვალენტურად იმობილიზებულ ფაზებზე და პირიქით. უფრო მეტიც, ნაჩვენებია ენანტიომერების ელუირების თანმიმდევრობას ცვლილება დაფენილ და კოვალენტურად იმობილიზებულ ცელულოზის და ამილოზის (3,5-დიმეთილფენილკარბამატებს) შორის. დაფენილი და კოვალენტურად ბმული პოლისაქარიდის ნაწარმების განსხვავებული ქირალური გამოცნობის უნარი უნდა უკავშირდებიდეს მათ განსხვავებულ მოქნილობას, თუმცა ამ განსხვავების ასევე სავარაუდო მიზეზია ამ ორი ტიპის ქირალური სტაციონარული ფაზის განსხვავებული ქიმიური შედგენილობა [42-45].

2.12.4 მოძრავი ფაზების ოპტიმიზაცია

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

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, თუმცა ამ მასალის საფუძველზე დამზადებული ქირალური სვეტების კომერციალიზაცია დიდი ხნის განმავლობაში ვერ მოხერხდა, ცელულოზას ნაწარმის ნ-ჰექსანი - იზოპროპანოლის ნარევში ხსნადობის გამო. ეს ფაზა კი მიჩნეული იყო ძირითად მოძრავ ფაზად პოლისაქარიდული ქირალური სვეტებისათვის. მოგვიანებით, შებრუნებულ-ფაზიანი ელუენტების და პოლარულ-ორგანული ელუენტების შესწავლისას 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. 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 და პოლარულ-ორგანული ფაზის 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 [46].

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 [46-48], 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 იმობილიზებულ 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 დაყოფების გასაუმჯობესებლად. ზოგ შემთხვევაში ამ დანამატებს ძლიერი გავლენა აქვთ ენანტიოსელექტიურობაზე [39,46,47,48].

2.12.5 ქირალური დაყოფის მექანიზმები

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

ენანტიომერების ელუირების თანმიმდევრობის ცვლილება პოლისაქარიდულ სვეტებზე პირველად დაფიქსირდა 1989 წელს რ. ვაინერისა და მისი თანამშრომლების მიერ მოძრავ ფაზაში სპირტული მოდიფიკატორის შემცველობის ცვლილებით [12]. ავტორებმა ეს დაკვირვება ახსნეს იმ ჰიპოთეზით, რომ არსებობს მინიმუმ ორი ტიპის ადსორბციული ურთიერთქმედების ცენტრი ქირალურ ფაზასა და ქირალურ საანალიზო ნივთიერებას შორის. ამ ცენტრებზე კი სხვადასხვა მოლეკულური მასისა და მოლეკულის ფორმის მქონე სპირტული ტიპის მოდიფიკატორებს სხვადასხვანაირი გავლენა უნდა მოეხდინა.

მსგავსი ეფექტი დაფიქსირდა ცელულოზას ეთერულ ქირალურ სტაციონარულ ფაზაზე [13], და ავტორები შეეცადნენ ენანტიომერების ელუირების თანმიმდევრობის ცვლილების მექანიზმის ახსნას ბირთვული ოვერჰაუზერის ეფექტის გამოყენებით ბირთვულ მაგნიტურ რეზონანსში და წრიული დიქროიზმის მეთოდების გამოყენებით [13,14]. ისინი მივიდნენ იმ დასკვნამდე, რომ საანალიზო ნივთიერების ან ქირალური სელექტორის კონფორმაციები სხვადასხვა სპირტული მოდიფიკატორების ზეგავლენით არ იცვლება, ხოლო დანამატები გავლენას ახდენენ ენანტიოსელექტიური ურთიერთქმედების ცენტრების ხელმისაწვდომობაზე.

სპირტული დანამატების გავლენით ელუირების თანმიმდევრობის ცვლილების კიდევ ერთი მაგალითი დაფიქსირდა ომეპრაზოლის ენანტიომერებისთვის კ. ბალმერის მიერ [15]. ავტორებმა ამ შემთხვევაშიც შეეცადნენ მექანიზმის ახსნას და წამოაყენეს ჰიპოთეზა, რომ სპირტების გავლენით ქირალური სელექტორი განიცდის შექცევად კონფორმაციულ ცვლილებას, რაც ენანტიომერების რიგის ცვლილების საფუძველია.

გარდა ამისა, ო. გილენჰაალმა და მ. სტეფანსონმა გამოაქვეყნეს ნაშრომი, სადაც აღწერილი იყო იბუპროფენისა და ნუშის მჟავას ენანტიომერების ელუირების თანმიმდევრობის ცვლილება ნორმალურ ფაზაში სპირტული დანამატის გავლენით [16]. 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 გახდეს არაპროგნოზირებადი.

იბუპროფენის შემთხვევაში ამ ფაქტორების არაწრფივი დამოკიდებულება ტემპერატურაზე მიუთითებს იმაზე, რომ შესაძლებელია ადგილი ჰქონდეს კონფორმაციულ ცვლილებებს. ხოლო ნუშის მჟავას შემთხვევაში, მიუხედავად გამოვლენილი ხაზოვანი

დამოკიდებულებისა, ორ ენანტიომერს ადსორბციულ ცენტრებთან ურთიერთქმედების განსხვავებული გიბსის თავისუფალი ენერგიები გააჩნიათ. აქედან გამომდინარე, მოძრავი ფაზის შემადგენლობის ან ტემპერატურის მცირე ცვლილებამ შესაძლოა გამოიწვიოს ერთი ან რამდენიმე ბმის სელექტიური ბლოკირება ქირალური სელექტორის კონფორმაციული ცვლილების გარეშე.

ვ. ვენგმა და მისმა თანამშრომლებმა დააფიქსირეს ენანტიომერების ელუირების თანმიმდევრობის ცვლილება სპირტის შემცველობაზე დამოკიდებულებით 1,1'-ბინაფტოლისთვის Chiralpak AD სვეტზე და ნაპროქსენისთვის მის იმობილიზებულ ანალოგზე [17].

ზემოთხსენებული ეფექტი ასევე შემჩნეულ იქნა შევსებული სვეტზე ზეკრიტიკული სითხის ქრომატოგრაფიაში Chiralpack 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 [50].

ენანტიომერების ელუირების თანმიმდევრობაზე გავლენას ახდენს არა მხოლოდ სპირტული მოდიფიკატორი, არამედი მისი რაოდენობა მოძრავ ფაზაში[49, 51-54]. რამდენადაც ეს არის უფრო ნატიფი ცვლილებაა (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 [51]. თუმცა უნდა აღინიშნოს, რომ მოძრავი ფაზა შეიცავდა მცირე რაოდენობით წყალს, ხოლო იგივე ეფექტი უწყლო ელუენტებით აღარ გამოვლინდა. ავტორებმა ეს ეფექტი, მსგავსად ადრე გამოქვეყნებული შრომებისა, 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. ეს ჰიპოთეზა ძალზე ელეგანტურია, 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 დაფუძვნებული ქირალური სტაციონარული ფაზის შემთხვევაში [52]. 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. 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 [54]. ამ დაყოფების მექანიზმების გასარკვევად საჭიროა კვლევები სხვადასხვა ინსტრუმენტული მეთოდების გამოყენებით.

რამდენადაც პოლისაქარიდების ნაწარმები (განსაკუთრებით კი ისინი, რომლებიც შეიცავს არომატულ ჩამნაცვლებლებს) 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 [52-54]. 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 შებრუნებულფაზიან მესქ ქცევას. ეს ნაჩვენები იყო ქირალური სულფოქიდების ენანტიომერების დაყოფებისათვის და დადასტურებული იყო ამლოდიპინის ენანტიომერების კვლევისას. 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 გამსხსნელების ელუენტების შემთხვევაშიც, თუმცა წყლის შემცველობის გარკვეულ მნიშვნელობამდე.

სუფთა ეთანოლი, როგორც მოძრავი ფაზა, პოლისაქარიდულ ქირალურ სელექტორთან კომბინაციაში გამოყენებულ იქნა ჯერ კიდევ 1973 წელს ჰესეს და ჰაგელის მიერ, თუმცა ამ ქირალური სელექტორების კომერციალიზაციის შემდეგ, სუფთა პოლარულ-ორგანული გამხსნელები, როგორებიცაა მეთანოლი, ეთანოლი, იზოპროპანოლი, აცეტონიტრილი, მიჩნეული იქნა პოტენციურად საშიშ გამხსნელებად

სვეტებისთვის და რეკომენდირებული არ იყო მათი გამოყენება ენანტიომერების დასაყოფად პოლისაქარიდულ სვეტებზე. 2000 წლამდე პოლარულ-ორგანული გამხსნელების გამოყენების შესახებ პოლისაქარიდულ ქირალურ სელექტორებთან კომბინაციაში გამოქვეყნებული იყო მხოლოდ რამდენიმე ნაშრომში[55-58], თუმცა 2000 წელს ნაჩვენები იქნა ამ კომბინაციის ეფექტურობა ენანტიომერულ ნარევთა ფართო ჯგუფის დასაყოფად 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 გამხსნელებში. რაღაც პერიოდის განმავლობაში მიიჩნეოდა, რომ პოლარულ-ორგანული ფაზების გამოყენებას ენანტიომერების დასაყოფად, ნაკლები წარმატება აქვს ვიდრე პირდაპირ და შებრუნებულ ფაზებს, თუმცა ამ ბოლო წლებში გამოქვეყნებულ შრომებში ნაჩვენები იქნა ენანტიომერთა დაყოფის ბევრი მაგალითი პოლარულ-ორგანული მოძრავი ფაზების გამოყენებით, რამაც ბიძგი მისცა შემდგომ კვლევებს ამ სფეროში. 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. 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.

როგორც წესი, ზეკრიტიკული სითხის ქრომატოგრაფია (ზსქ) 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 [39]. 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 ამავდროულად იაფი ნახშირორჟანგის, როგორც მოძრავი ფაზის ადვილი მოშორება. ქირალური ზსქ სწრაფად იმკვიდრებს ადგილს, განსაკუთრებით როგორც „მწვანე“ ტექნოლოგია პრეპარატული მასშტაბის გამოყენებისას. რამდენადაც გათხევადებული ნახშირორჟანგის მაელუირებელი ძალა ხშირად საკმარისი არ არის საანალიზო ნივთიერებების სვეტებიდან ელუირებისთვის, დანამატის სახით გამოიყენება პოლარული მოდიფიკატორები, როგორებიცა არის მეთანოლი, ეთანოლი, და აცეტონიტრილი. ამ შემთხვევაში ხშირად საჭიროა კრიტიკულიდან გადახრილ პირობებში ოპერირება, თუმცა ამ დროსაც ნათელია ზსქ-ს ზემოთ ხსენებული უპირატესობები. გ.გუიოშონმა ბოლოს გამოქვეყნებულ ნაშრომებში განიხილა წნევის და სიმკვრივის გავლენა ქვეკრიტიკულ და ზეკრიტიკულ პირობებში. 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. ფუძე ბუნების რაცემატებისთვის ამატებენ ფუძე დანამატს, მაგალითად დიეთილამინს. მ. ვენტურამ აღწერა ამიაკის, როგორც დანამატის გამოყენება ფუძე ბუნების რაცემატების დაყოფისათვის. კ. ჰამანის მიერ აღწერილია ამონიუმის ჰიდროქსიდის დანამატის გამოყენება იგივე ტიპის დაყოფებისთვის. გამოქვეყნებულია ასევე ნაშრომი, სადაც აღწერილია მჟავა ბუნების დანამატით ფუძე ბუნების რაცემატების დაყოფების გაუმჯობესება საანალიზო ნივთიერებასა და დანამატს შორის მარილების წარმოქმნის ხარჯზე. მჟავა ბუნების რაცემატებისთვის იყენებენ მცირე რაოდენობით მჟავა ბუნების დანამატებს როგორებიცაა ძმარმჟავა, ჭიანჭველმჟავა და ტრიფტორძმარმჟავა. შემჩნეულია, რომ ხშირ შემთხვევაში არაა საჭირო მჟავა ბუნების დანამატების გამოყენება მჟაური რაცემატების დასაყოფად, რადგან თვითონ ნახშირორჟანგს აქვს „მჟავა“ ბუნება. ეს მნიშვნელოვანი უპირატესობაა მაღალ ეფექტურ სითხურ ქრომატოგრაფთან (მესქ) 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 ტრიფტორძმარმჟავის დანამატით მეთანოლშემცველ ზსქ ფაზებში [59-63].

ვ. დავანკოვის მიერ წამყენებულ ჰიპოთეზაში აღწერილია, რომ ქირალურ სელექტორს ენანტიომერის გამოსაცნობად ესაჭიროება მინიმუმ სამი კონფიგურაციაზე დამოკიდებული წერტილი [63], თუმცა ეს მაინც ვერ ხსნის ენანტიომერების დაყოფის ყველა მაგალითს [64].

დღეისათვის შექმნილია ენანტიომერების დაყოფის მაღალი უნარის მქონე პოლისაქარიდული ქირალური სელექტორები. თუმცა ქირალური ნივთიერებების ფართო ჯგუფის დასაყოფად საჭიროა ამ სვეტების გამოცდა ნორმალურ, პოლარულ-ორგანულ და შებრუნებულ მოძრავ ფაზებზე, საჭიროა მცირე რაოდენობით დანამატების გავლენის შესწავლა ამ ფაზებზე. დაწყებულია ზედაპირულად ფორიანი გლუვი სილიკაგელის სარჩულების გამოყენება ქირალური სვეტების მოსამზადებლად, 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.

ნაშრომებში ყურადღება არის გამახვილებული პოლისაქარიდული ბუნების ქირალური სელექტორების განსაკუთრებით მაღალ უნარზე, როგორც სტერეოიზომერების ასევე პოციზიური იზომერების დასაყოფად. ხოლო საკითხი პოციზიური იზომერების დაყოფა ამ ტიპის მასალებით აქამდე ნაკლებად იყო შესწავლილი. ასევე ანტიმიკოზური პრეპარატების ენანტიომერული ნარევების დაყოფა პოლისაქარიდული სელექტორებით წარმოადგენს სიახლეს. მნიშვნელოვანია ელუირების რიგის ცვლილების შესწავლა, როგორც პრეპარატული დაყოფის ასევე ანალიზური დაყოფის თვალსაზრისით.

3. ექსპერიმენტული ნაწილი

3.1 ქირალური აგროქიმიკატების დაყოფა

3.1.1 გამოყენებული აგროქიმიკატები

კომერციულად ხელმისაწვდომი ქირალური იმიდაზოლისა და ტრიაზოლის ნაწარმები - ბიფონაზოლი, ეკონაზოლი, ენილკონაზოლი, იტრაკონაზოლი, კეტოკონაზოლი, მეტომიდატი, მიკონაზოლი, ორნიდაზოლი, სულკონაზოლი და ტერკონაზოლი (სტრუქტურები ნაჩვენებია ნახაზ 7-ზე) - შეძენილი იქნა Sigma Aldrich-ისგან (ტაუფკირხენი, გერმანია). ზემოთ აღნიშნული ნაერთების ენანტიომერულად სუფთა ფრაქციები მიღებულ იქნა ნიმუშების მრავალჯერადი ინიცირებით ქირალურ სვეტებზე, შემდგომ შესაბამისი ფრაქციების შეგროვებით და გამხსნელის აორთქლებით. ეს გამოყენებულ იქნა ენანტიომერების არარაცემატული ნარევების დასამზადებლად, (დაახლოებით ენანტიომერების 1:2 თანაფარდობის ნარევების მისაღებად, რომლებიც გამოიყენებოდა შემდგომი კვლევებისთვის). HPLC ხარისხის გამხსნელები, როგორიცაა მეთანოლი, ეთანოლი, 2-პროპანოლი (პროპან-2-ოლი), დიეთილამინი და ჭიანჭველმჟავა შეძენილი იყო Carl Roth-ისგან (კარლსრუე, გერმანია).

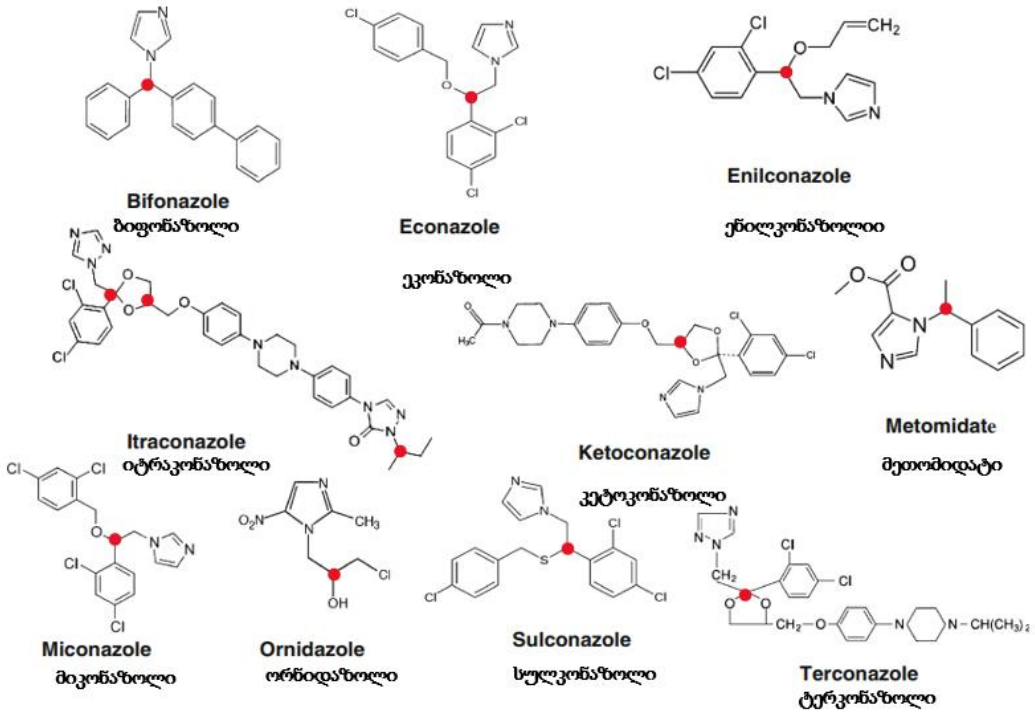
3.1.2 გამოყენებული ქირალური სვეტები

ამილოზა ტრის(3,5-დიმეთილფენილკარბამატი)-ზე დაფუძნებული სვეტი Lux Amylose-1 იყო ექსპერიმენტული სვეტი, მოწოდებული Enantiosep GmbH-ისგან (მიუნსტერი, გერმანია), ხოლო სხვა ქირალური სვეტები - Lux Amylose-2, Lux Cellulose-1, Lux Cellulose-2, Lux Cellulose-3 და Lux Cellulose-4 - მოწოდებული იყო Phenomenex-ისგან (ტორანსი, კალიფორნია, აშშ). მათი ქირალური სელექტორების სქემატური სტრუქტურები ნაჩვენებია ნახაზი 7-ზე. ყველა სვეტის ზომები იყო 4.6 × 250 მმ და სვეტები შევსებული იყო 5 მიკრომეტრი ნომინალური ზომის მქონე ნაწილაკებით.

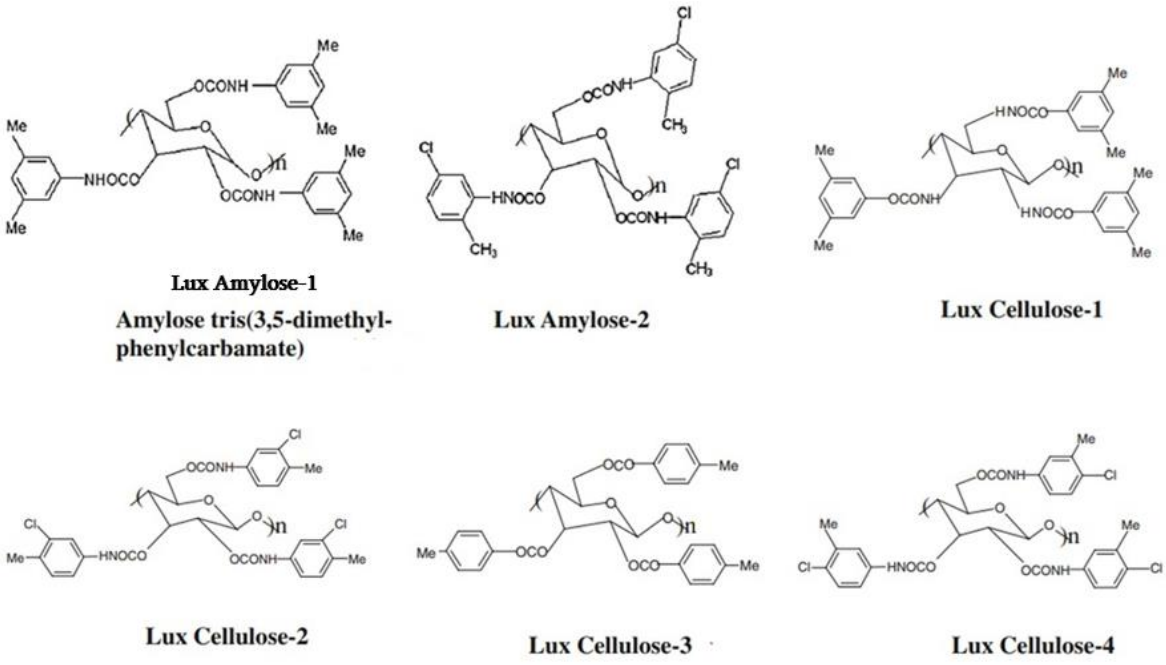
3.1.3 გამოყენებული აპარატურა

მაღალი ეფექტური სითხური ქრომატოგრაფია (HPLC) ექსპერიმენტი ჩატარდა **Agilent 1200 HPLC** ინსტრუმენტით (Agilent Technologies, ვალდბრონი, გერმანია), რომელიც აღჭურვილი იყო **G1367C HiP ALS-SL** ავტომატური ინჯექტორით, **G1316B TCC-SL** სვეტების თერმოსტატით, **G1311A** ოთხარხიანი ტუმბოთი და **G1314D VWD** ულტრაიისფერ-ხილული სინათლის შთანთქმის დეტექტორით. ინსტრუმენტის კონტროლი, მონაცემთა ჩაწერა და დამუშავება ხორციელდებოდა **Agilent Chemstation** პროგრამული უზრუნველყოფით (B.03.02-SR2 ვერსია). ნიმუშები იხსნებოდა შესაბამის მოძრავ ფაზაში, 0.2 მგ/მლ კონცენტრაციით.

HPLC დაყოფები ჩატარდა ოთახის ტემპერატურაზე (თუ სხვა ტემპერატურა არ არის მითითებული), მოძრავი ფაზის 1 მლ/წთ ნაკადის სიჩქარით, ხოლო დეტექტირება ხორციელდებოდა 220 ნმ ტალღის სიგრძეზე [6].



ნახაზი 7. ქირალური ანტიმიკოზური საშუალებების სტრუქტურული ფორმულები.



ნახაზი 8. გამოყენებული ქირალური სელექტორები.

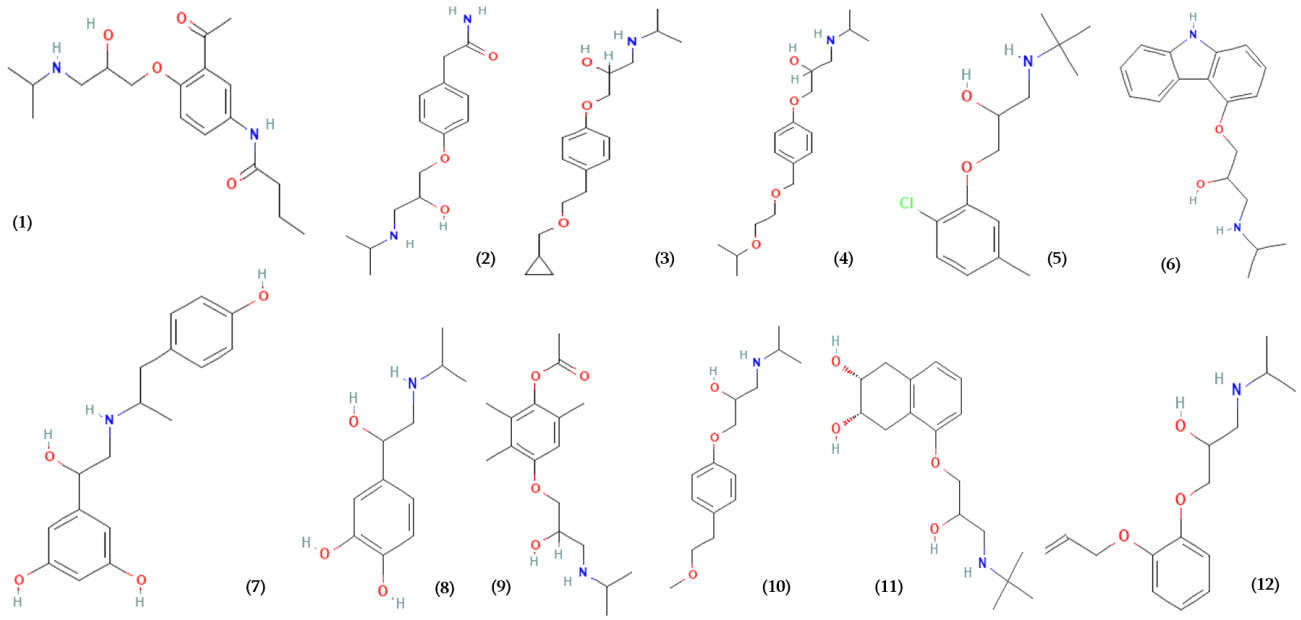
ყველა სვეტის ზომები იყო 4.6 × 250 მმ და შევსებული იყო 5 მიკრომეტრიანი ნაწილაკებით [52].

3.2 ფუძე ბუნების სხვა მსგავსი ნივთიერებები (ბეტა ბლოკატორები)

მსგავსი ფუძე ბუნების სხვა ნივთიერებებისათვის, კერძოდ ბეტა ბლოკატორების დაყოფის მექანიზმი შესწავლილ იქნა ანალოგიურ ცელულოზაზე დაფუძვნებულ სვეტებზე. გამოყენებულ იქნა იგივე მეთოდები, რაც აღნიშნულია ანტიმიკოზური საშუალებების გამოკვლევის დროს.

აცებუტოლოლი, ატენოლოლი, ბეტაქსოლოლი, ბისოპროლოლი, ბუპრანოლოლი, კარაზოლოლი, ფენეტეროლი, იზოპროტერენოლი, მეტიპრანოლოლი, მეტოპროლოლი, ოქსპრენოლოლი და სხვა (ნახაზი 9.) შეძენილი იყო კომპანია Sigma-Aldrich-ისგან (სენტ-ლუისი, მისური, აშშ).

ენანტიომერულად სუფთა ფრაქციები შეგროვებულ იქნა რაცემატულ სვეტებზე და შემდგომ გამოყენებული იყო ენანტიომერულად მონიშნული ნარევების მოსამზადებლად ენანტიომერების ელუირების თანმიმდევრობის განსაზღვრისათვის.



ნახაზი 9. ექსპერიმენტის დროს გამოყენებული ბეტა ბლოკატორები: 1 - აცებუტოლოლი, 2 - ატენოლოლი, 3 - ბეტაქსოლოლი, 4 - ბისოპროლოლი, 5 - ბუპრანოლოლი, 6 - კარაზოლოლი, 7 - ფენეტეროლი, 8 - იზოპროტერენოლი, 9 - მეტიპრანოლოლი, 10 - მეტოპროლოლი, 11 - ნადოლოლი, 12 - ოქსპრენოლოლი.

3.3 ახალი ფსიქოაქტიური ნივთიერებები და ნარკოტიკული საშუალებების დანამატები

3.3.1 ექსპერიმენტში გამოყენებული აპარატურა და მასალები

ექსპერიმენტში გამოყენებული იყო შემდეგი ნივთიერებები:

3-მეთილმეთკათინონი (3-MMC), 4-მეთილმეთკათინონი (4-MMC), 2-მეთილმეთკათინონი (2-MMC) სტანდარტები შეძენილი იყო Honeywell Fluka™ (Morristown, NJ, USA). სტანდარტები გამოყენებამდე ინახებოდა -20-დან -25-მდე °C-ზე. 2-ქლორმეთკათინონი (2-CMC), 3-ქლორმეთკათინონი (3-CMC), 4-ქლორმეთკათინონი (4-CMC) სტანდარტები (ნახაზი 10) შეძენილი იყო Lipomed-ისგან (ბაზელი, შვეიცარია). სტანდარტები გამოყენებამდე ინახებოდა -20-დან -25-მდე °C-ზე.

კვლევაში გამოყენებული რეაგენტები ქრომატოგრაფიული სისუფთავის (HPLC grade): მეთანოლი, ფოსფატური ბუფერი, კალიუმის ჰიდროქსიდი, ძმარმჟავა, დიქლორმეთანი იზო-პროპანოლი, ამონიუმის ჰიდროქსიდი, ამონიუმის ბიკარბონატი, წყალი, დიმეთილფორმამიდი, ჭიანჭველმჟავა და აცეტონიტრილი მოწოდებული იყო Roth GmbH-დან (კარლსრუე, გერმანია).

ექსპერიმენტი ჩატარდა HPLC-MS/MS საშუალებით:

Agilent 1260-6410 სითხური ქრომატოგრაფი მასსპექტრომეტრი, რომელიც შედგებოდა შემდეგი მოდულებისგან: G4220A ბინარული ტუმბო; G1329B ნიმუშების ავტომატური მიმწოდებლი ავტომატური ინიცირების სისტემით; G1316A სვეტების თერმოსტატი; G1314D ცვლად ტალღიანი დეტექტორი. Agilent 6410B მოდელის მას-სპექტრომეტრი.

ხელსაწყოს მართვა და მონაცემთა დამუშავება ხდებოდა პროგრამა Agilent Mass hunter B.03.01-ის გამოყენებით [19-23].

გამოყენებული სვეტი: Lux-AMP 250x4.6mm; ნაწილაკების ზომა: 3µm. ქირალური სვეტი მოწოდებული იყო Phenomenex Inc.-ის (Torrance, CA, USA) მიერ.

ანალიზის პირობები მეფედრონისათვის:

სვეტი: Lux-AMP 250x4.6მმ;

მოძრავი ფაზა: მეთანოლი/5 მილი მოლი ამონიუმის ბიკარბონატი/წყალი (pH11.67)

ტემპერატურა: 20 °C

ცხრილი 5. გრადიენტის რეჟიმი[19,21]

დრო (წუთი)	გამხსნელი A (%)	გამხსნელი B (%)	ნაკადის სიჩქარე (მლ/წთ)	მაქსიმალური წნევის ლიმიტი (ბარი)
0	40	60	1	130
21	40	60	1	130
22	20	80	1	130
33	40	60	1	130
43	40	60	1	130

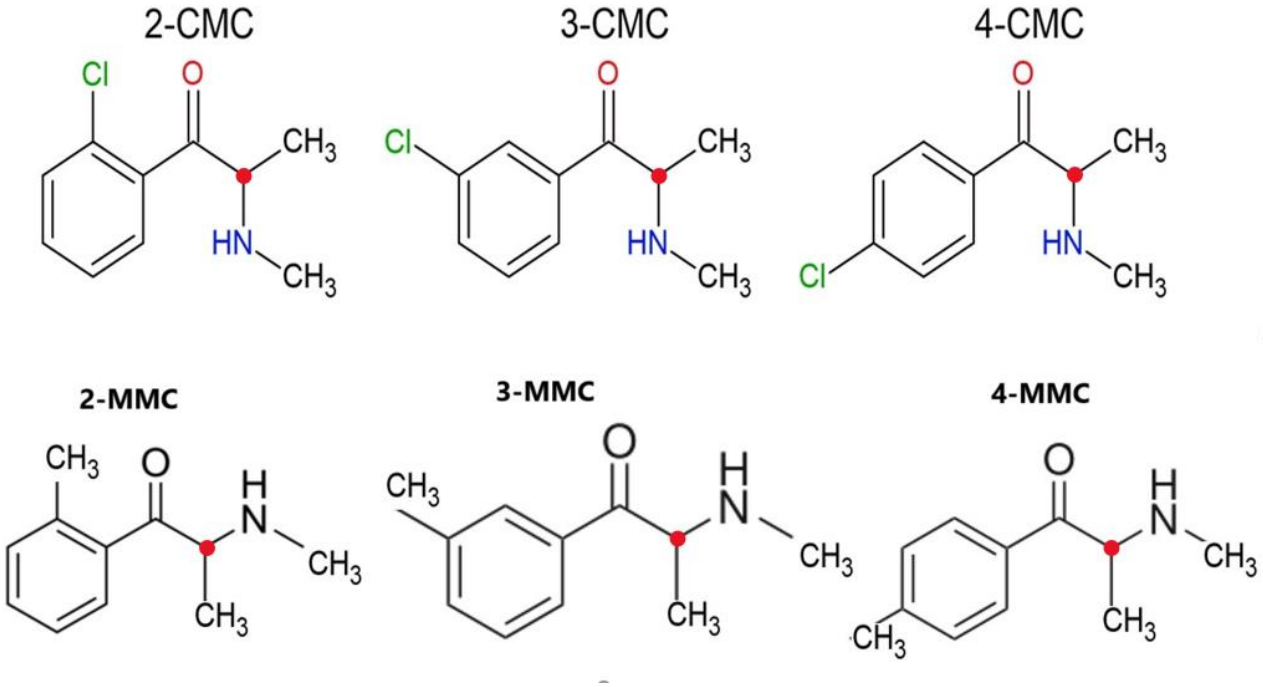
კლეფედრონისათვის:

სვეტი: Lux-AMP 250x4.6mm;

მოძრავი ფაზა: აცეტონიტრილი35/65–5 მილი მოლი (mM) ამონიუმის ბიკარბონატი : წყალი (pH 11.54)

ტემპერატურა: 20 °C

ნაკადის სიჩქარე 1 მლ/წთ.



ნახაზი 10. 2-CMC, 3-CMC, 4-CMC, 2-MMC, 3-MMC და 4-MMC-ის სტრუქტურული ფორმულები.

3.3.2 საანალიზო ნიმუშების მომზადება

ევროკავშირის ქვეყნებიდან მოწოდებული ბიოლოგიური ნიმუშები ექსტრაგირდა თხევად-თხევადი ექსტრაქციის მეთოდით: 200 მიკროლიტრ შარდის ნიმუშს დაემატა 5 მლ. ქლოროფორმი / ეთილაცეტატის (9:1) მოცულობითი ნარევი. 5 წუთის განმავლობაში ხდებოდა ხელით შენჯღრევა, რის შემდეგაც 5 წუთი თავსდება ულტრაბგერით აბაზანაში. შემდეგ ეტაპზე 12 წთ. 6000 ბრუნი წუთზე ვაცენტრიფუგირებთ. ორგანული ფაზით ექსტრაგირებული ნიმუში გადაგვაქვს ჭურჭელში და ემატება 100 მკლ შემჟავებული მეთანოლი (1%HCl). ეს უკანასკნელი შრება ჰაერის მშრალი ნაკადით, რის შემდეგაც ემატება 100 მკლ მეთანოლი და გადაგვაქვს მშრალ ჭურჭელში [19-23].

ანალოგიური თანმიმდებრობით ხდება ნერწყვის ექსტრაქცია, მხოლოდ საანალიზო ნერწყვს ვიღებთ 100 მიკროლიტრს.

საქართველოში შეგროვებული ბიოლოგიური ნიმუშების ექსტრაქცია: შარდის ნიმუშების დამუშავება მოხდა მყარფაზური ექსტრაქციით. Agilent Technologies, Agilent Bound Elut certify and certify II method manual M2707B მეთოდით.[71]

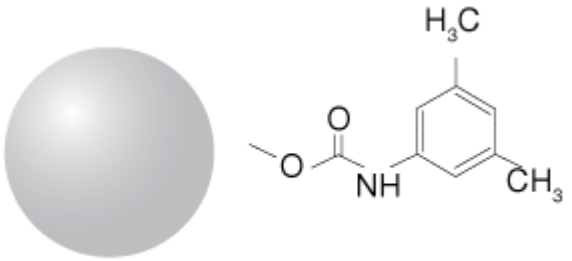
3.3.3 ექსპერიმენტში გამოყენებული ბიოლოგიური მასალა

საქართველოში შეგროვებული ბიოლოგიურ ნიმუშები: კლინიკურ კვლევაში მონაწილეობას იღებდა 15 მონაწილე. კვლევისთვის ბიოლოგიური ნიმუშები შეგროვებული იქნა სქართველოში. პაციენტების საშუალო ასაკი იყო 25 წელი, ხოლო წონა 75 კგ. ყველა მათგანს კვლევის დაწყებამდე ჰქონდა ნარკოტიკული საშუალებების (კლეფედრონი, მეფედრონი, ალფა-პვპ, კოკაინი, ამფეტამინი, MDMA და სხვა.) მოხმარების ეპიზოდი (იყო ნარკოტიკული საშუალებების მომხმარებელი). მასში მონაწილე მოხალისეები იღებდნენ მეფედრონსა და კლეფედრონს სხვადასხვა დოზა 100, 150, და 200 მილიგრამს. შარდისა ნიმუშის აღება ხდებოდა ერთჯერადად დაახლოებით მიღებიდან 3-4 საათში. ნიმუშის შენახვა ხდებოდა -20^{0}C გრადუსზე.

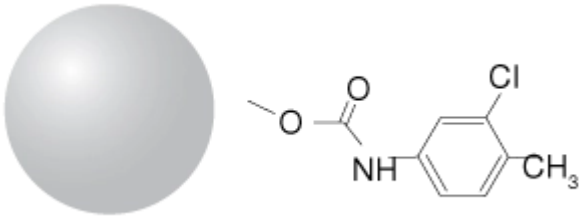
ასევე ევროკავშირის ქვეყნებში, ესპანეთსა და ბელგიაში შესაბამისი სტიმულატორების მოხმარების შემდეგ, ნარკოდამოკიდებულ მომხმარებლისაგან, შეგროვებული შარდისა და ნერწყვის ნიმუშები მოწოდებული იქნა საქართველოში [19-23].

3.3.4 ექსპერიმენტში გამოყენებული ქირალური სვეტები

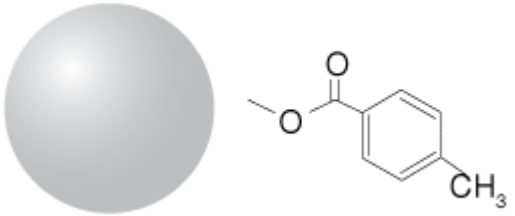
კვლევებში გამოვიყენეთ 9 სხვადასხვა პოლისაქარიდული ქირალური სვეტი. ეს სვეტები დაფუძნებულია შემდეგ ქირალურ სელექტორებზე: ცელულოზა ტრის (3,5-დიმეთილფენილკარბამატი) (Lux Cellulose-1), ცელულოზა ტრის (3-ქლორ-4-მეთილფენილკარბამატი) (Lux Cellulose-2), ცელულოზა ტრის (4-მეთილბენზოატი) (Lux Cellulose-3), ცელულოზა ტრის (4-ქლორ-3-მეთილფენილკარბამატი) (Lux Cellulose-4), ცელულოზა ტრის (3,5-დიქლორფენილკარბამატი) (Lux i-Cellulose-5), ამილოზა ტრის (3,5-დიმეთილფენილკარბამატი) (Lux Amylose-1 და Lux i-Amylose-1), ამილოზა ტრის (5-ქლორ2-მეთილფენილკარბამატი) (Lux Amylose-2), ამილოზა ტრის (3-ქლორ-5-მეთილფენილკარბამატი) (Lux i-Amylose-3) და სპეციალურად ფსიქოტროპული ნივთერებების დასაყოფად შექმნილი სვეტი, რომლის კომერციული სახელწოდება **არის Lux AMP.**



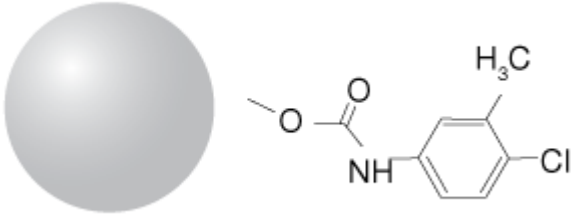
ნახაზი 11. ცელულოზა ტრის (3,5- დიმეთილფენილკარბამატი) (Lux Cellulose-1).



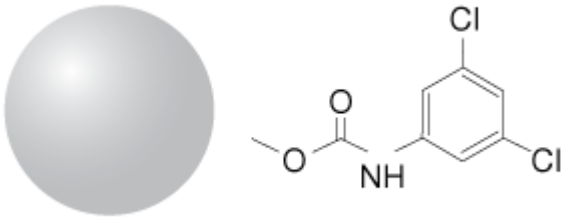
ნახაზი 12. ცელულოზა ტრის (3-ქლორ-4-მეთილფენილკარბამატი) (Lux Cellulose-2).



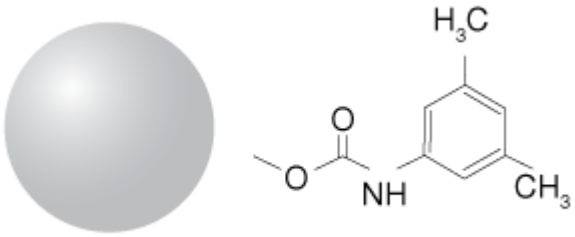
ნახაზი 13. ცელულოზა ტრის (4-მეთილბენზოატი) (Lux Cellulose-3)



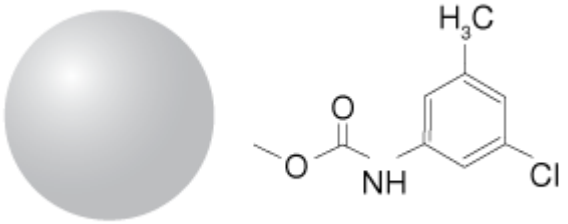
ნახაზი 14. ცელულოზა ტრის (4-ქლორ-3-მეთილფენილკარბამატი) (Lux Cellulose-4)



ნახაზი 15. ცელულოზა ტრის (3,5-დიქლორფენილკარბამატი) (Lux i-Cellulose-5)

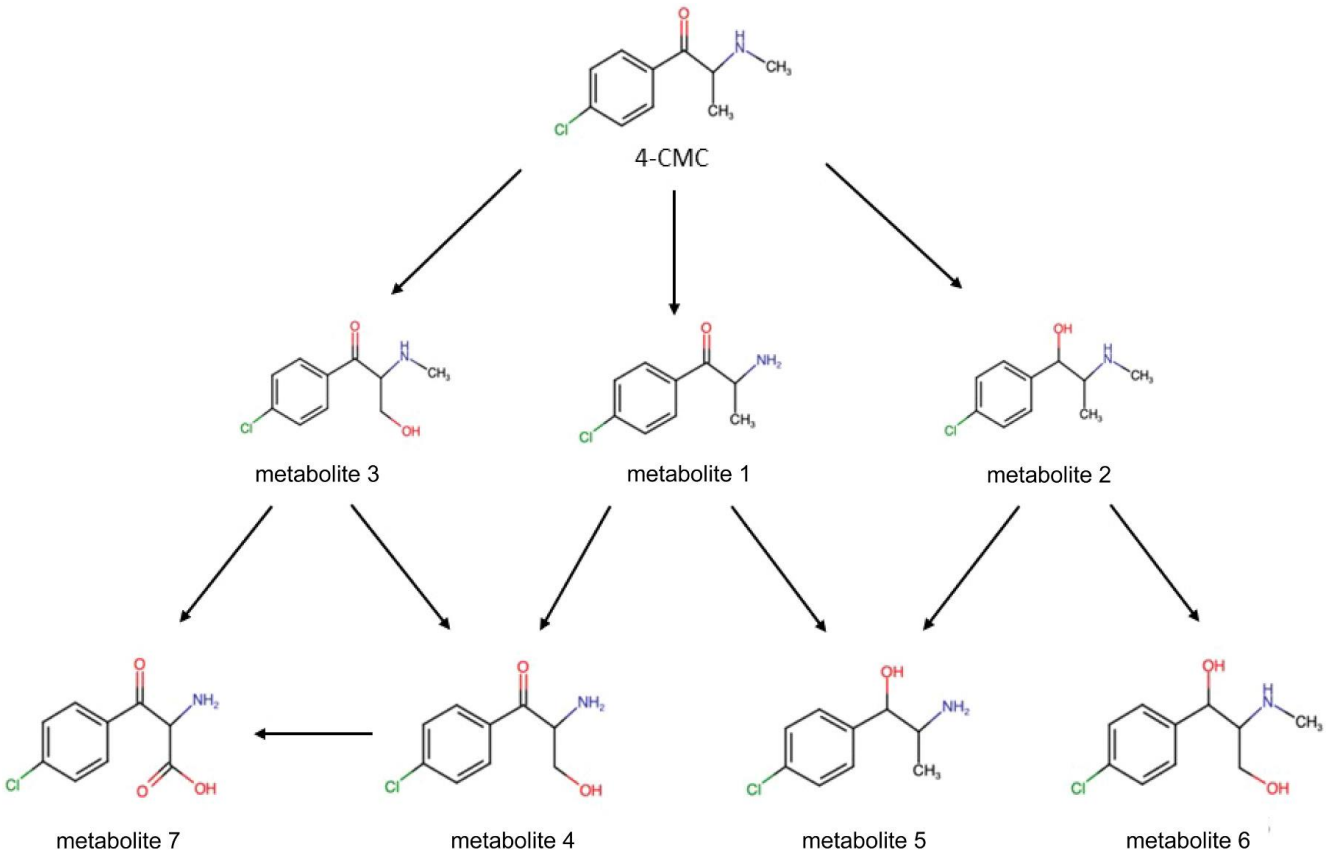


ნახაზი 16. ამილოზა ტრის (3,5-დიმეთილფენილკარბამატი) (Lux Amylose-1 და Lux i-Amylose-1)



ნახაზი 17. ამილოზა ტრის (3-ქლორ-5-მეთილფენილკარბამატი) (Lux i-Amylose-3).

მეტაბოლიზმის სქემა



ნახაზი 18. კლეფედრონის მეტაბოლიზმის სქემა.

1 – 2-ამინო-1-(4-ქლოროფენილ)პროპანონი

2 - 1-(4-ქლოროფენილ)-2-(მეთილამინო) პროპანოლი

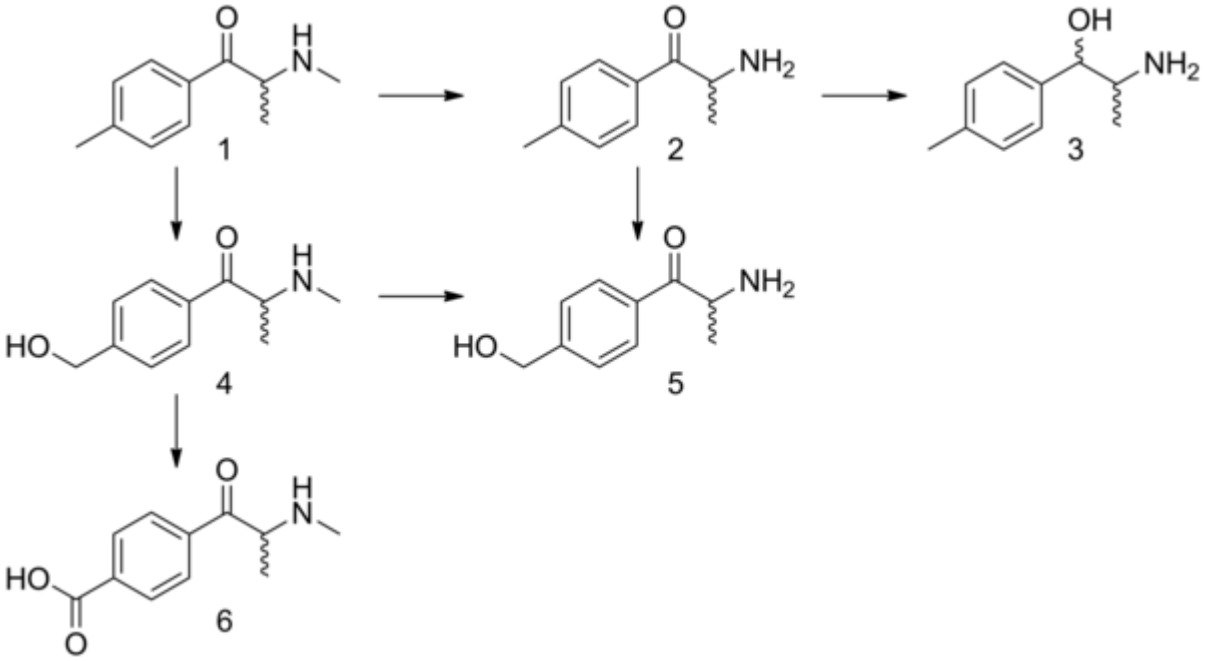
3 - 1-(4-ქლოროფენილ)-3-ჰიდროქსი-2-(მეთილამინო) პროპანონი

4 - 2-ამინო-1-(4-ქლოროფენილ)-3-ჰიდროქსიპროპანონი

5 - 2-ამინო-1-(4-ქლოროფენილ)პროპანოლი

6 - 1-(4-ქლოროფენილ)-2-(მეთილამინო) პროპანონ-1,3-დიოლი

7 – 2-ამინო-3-(4-ქლოროფენილ)-3-ოქსი პროპანონის მჟავა



ნახაზი 19. მეფედრონის მეტაბოლიზმის სქემა

1- 2-(მეთილამინო)-1-(პ-ტოლილ)პროპანონი

2- 2-ამინო-1-(პ-ტოლილ)პროპანონი

3- 2-ამინო-1-(პ-ტოლილ)პროპანოლი

4- 2-ამინო-1-(4-(ჰიდროქსიმეთილ)ფენილ)პროპანონი

5- 1-(4-(ჰიდროქსიმეთილ)ფენილ)-2-(მეთილამინო) პროპანონი

6- 4-(მეთილალანილ)ბენზოის მჟავა

ექსპერიმენტში გამოყენებული მას-სპექტრომეტრული მონაცემებით საშუალება გვეძლევა მოვახდინოთ მეტაბოლიტების ზუსტი იდენტიფიცირება. ხოლო იზომერების იდენტიფიცირება ხორციელდება გამოსვლის დროის ან რიგის შებრუნების მექანიზმებით.

<u>მას-სპექტრომეტრული პარამეტრები:</u>

მას-სპექტრომეტრი ოპერირება ხდებოდა MRM რეჟიმში, სადაც თითოეული მთავარი ნაერთისთვის (2-, 3-, 4-MMC და CMC) ორი გარდამავალი სიგნალი გამოიყენებოდა. ასევე, ორი გარდამავალი სიგნალი იყო გამოყოფილი MMC და CMC-ების შესაძლო მეტაბოლიტებისთვის [19-23]. (ცხრილი 6-7).

ცხრილი 6. მას-სპექტრომეტრული პარამეტრები 2, 3 და 4-MMC და მისი მეტაბოლიტების დეტექტირებისათვის [19,21].

ნივთიერება	მოლეკულური მასა, g/mol	პრეკურსორი იონი m/z	პროდუქტ იონი, m/z	CE, eV
2, 3 and 4-MMC	177.4	178.4	160.4	15
			145.4	15
Mephedrone-d3	180.4	181.4	163.3	15
Nor-MMC	163.0	164.0	146.0	15
			131.0	15
Dihydro-MMC	179.0	180.0	162.0	15
			147.0	15
Hydroxy-MMC	193.1	194.1	176.1	15
			146.1	15
Hydroxy-nor-MMC	165.0	166.0	148.0	15
			133.0	15
Carboxy-MMC	207.0	208.0	146.0	15
			121.0	15
Succinic-nor-MMC	263.0	264.0	164.0	15
			146.0	15
Methamfepramone	177.01	178.01	105.1	20
			72.2	20

ცხრილი 7. მას-სპექტრომეტრული პარამეტრები 2, 3 და 4-CMC და მისი მეტაბოლიტების დეტექტირებისათვის [20, 21].

ნივთიერება	მოლეკულური მასა, g/mol	პრეკურსორ იონი, m/z	პროდუქტ იონი, m/z	CE, eV
2, 3 and 4-CMC	197.6	198.61	181.1	12
			146,1	8
Mephedrone-d3	180.4	181.4	163.3	14
Metabolite N-1	183.05	184.05	166.04	14
			138.99	14
			131.05	14
Metabolite N-2	199.06	200.06	182.07	14
			167.04	14
Metabolite N-3	213.06	214.06	138.9	14
			128.8	14
Metabolite N-4	199.06	200.06	182.03	14
			164.02	14
			147.06	14
Metabolite N-5	185.06	186.06	168.06	14
			116.05	14
			115.05	14
Metabolite N-6	215.67	216.67	125.01	14
			103.03	14
Metabolite N-7	213.02	214.02	128.9	14
			90.9	14

3.4 ტეტრამიზოლი

ექსპერიმენტი ჩატარდა HPLC-MS/MS საშუალებით:

Agilent 1260-6410 სითხური ქრომატოგრაფი მას-სპექტრომეტრი, რომელიც შედგებოდა შემდეგი მოდულებისგან: G4220A ბინარული ტუმბო; G1329B ნიმუშების ავტომატური მიმწოდებლი ავტომატური ინიცირების სისტემით; G1316A სვეტების თერმოსტატი; G1314D ცვლად ტალღიანი დეტექტორი. Agilent 6410B მოდელის მას-სპექტრომეტრი.

ხელსაწყოს მართვა და მონაცემთა დამუშავება ხდებოდა პროგრამა Agilent Mass hunter B.03.01-ის გამოყენებით.

100 მიკროლიტრ ნერწყვის ნიმუშს დაემატა 5 მლ. ქლოროფორმი / ეთილაცეტატის (9:1) მოცულობითი ნარევი. 5 წუთის განმავლობაში ხდებოდა ხელით შენჯღრევა, რის შემდეგაც 5 წუთი თავსდება ულტრაბგერით აბაზანაში. შემდეგ ეტაპზე 12 წთ. 6000 ბრუნი წუთზე ვაცენტრიფუგირებთ. ორგანული ფაზით ექსტრაგირებული ნიმუში გადაგვქონდა ჭურჭელში და ვამატებდით 100 მკლ შემჟავებულ მეთანოლს (1%HCl). ამ უკანასკნელ შრეს ვაშრობდით ჰაერის მშრალი ნაკადით, რის შემდეგაც ვამატებდით 100 მკლ მეთანოლი და გადაგვაქვს მშრალ ჭურჭელში [19-23].

ტეტრამიზოლის რაცემული სტანდარტები შეძენილი იყო Lipomed-ისგან (ბაზელი, შვეიცარია). ხოლო ლევამიზოლის სტანდარტი შექმნილ იქნა ლაბორატორიაში, კერძოდ მოვახდინეთ ტაბლეტიდან მისი ექსტრაგირება. სტანდარტები გამოყენებამდე ინახებოდა -20-დან -25-მდე °C-ზე.

ანალიზის პირობები ტეტრამიზოლისათვის:

სვეტი: Lux Amylose-1, Lux Cellulose-1, Lux Cellulose-2, Lux Cellulose-3 და Lux Cellulose-4

მოძრავი ფაზა: MeOH:H2O 90:10 +5 mM Am. Acetate +0.1% DEA

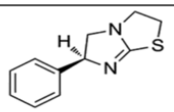
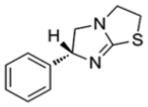
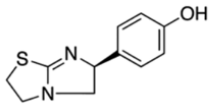
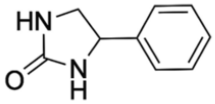
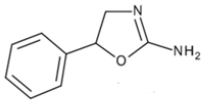
Temp: 20 °C

ნაკადის სიჩქარე 1 ml/min.

კვლევაში გამოყენებული რეაგენტები (HPLC grade): მეთთანოლი, ფოსფატური ბუფერი, კალიუმის ჰიდროქსიდი, ძმარმჟავა, დიქლორმეთანი, იზო-პროპანოლი, ამონიუმის ჰიდროქსიდი, ამონიუმის ბიკარბონატი, წყალი, დიმეთილფორმამიდი, ჭიანჭველმჟავა, და აცეტონიტრილი, რომლებიც მოწოდებული იყო Roth GmbH-დან (კარლსრუე, გერმანია).

კვლევის პროცესში შესწავლილი იქნა ტეტრამიზოლის ენანტიომერების არსებობა ბიოლოგიურ ნიმუშებში და ასევე დეტექტირდა მათი მეტაბოლიტები (ცხრილი 8).

ცხრილი 8. სტრუქტურული ფორმულები

ტეტრამიზოლის ენანტიომერები და მეტაბოლიტები	
ლევამიზოლი	
დექსამიზოლი	
4-პარაჰიდროქსიტეტრამიზოლი	
4-ფენილ-2-იმიდაზოლიდინონი	
ამინორექსი	

4. შედეგები და მათი განსჯა

4.1 ანტიმიკოზური პრეპარატები

გარკვეული ტენდენციები შეიძლება გამოვლინდეს ცხრილში მოყვანილი დაყოფების შედეგების საფუძველზე. ყველა სვეტის გამოყენებით, ეთანოლმა, როგორც მოძრავმა ფაზამ, მცირედი უპირატესობა აჩვენა მეთანოლსა და აცეტონიტრილთან (ACN) შედარებით, კერძოდ კი **60** კომბინაციიდან ენანტიომერები დაიყო **38** შემთხვევში მაშინ, როდესაც მეთანოლით ან ACN-ით მხოლოდ **36** შემთხვევში მოხდა ენანტიომერების დაყოფა. ქირალურ სვეტებს შორის Lux Cellulose-4 გამოირჩეოდა, რომელიც **30** კომბინაციიდან **24** შემთხვევაში აჩვენებდა ნაწილობრივ დაყოფას (80%-იანი წარმატების მაჩვენებელი). მას მოსდევდა Lux Cellulose-2 , Lux Amylose-2 და Lux Amylose-1-1 (ADMPC).

ცხრილი 9. მეთანოლიან ფაზაში იმიდაზოლისა და ტრიაზოლის წარმოებულების დაყოფა.

Table 1 Separation of enantiomers of chiral imidazole and triazole derivatives using methanol as a mobile phase

Analyte	Cellulose-1			Cellulose-2			Cellulose-3			Cellulose-4			Amylose-2			ADMPC		
	k_1'	α	Rs	k_1'	α	Rs	k_1'	α	Rs	k_1'	α	Rs	k_1'	α	Rs	k_1'	α	Rs
Bifonazole	2.29	1.00	ns	2.01	1.04	0.52	4.17	1.00	ns	1.34	1.13	1.82	1.42	1.22	0.84	1.61	1.20	2.15
Econazole	3.55	1.03	0.57	1.74	1.53	5.28	4.66	1.43	9.01	1.41	1.19	2.20	0.97	1.00	ns	1.33	1.07	0.62
Enilconazole	2.95	1.06	1.60	0.90	1.13	0.63	2.95	1.06	1.60	1.23	1.10	0.90	0.92	1.14	1.16	0.93	1.00	ns
Itraconazole	22.37	1.85[a]	9.50	ne	–	–	ne	–	–	ne	–	–	ne	–	–	ne	–	–
		1.05	0.97															
Ketoconazole	9.64	1.16	2.72	7.97	1.54	3.92	15.39	1.72	6.01	8.50	1.10	1.66	8.23	1.58	4.25	4.92	1.32	2.03
Metomidate	3.18	1.00	ns	1.06	1.00	ns	3.17	1.00	ns	1.03	1.00	ns	1.06	1.00	ns	1.35	1.43	4.42
Miconazole	1.75	1.06	0.52	1.74	1.29	2.51	4.61	1.20	4.90	1.84	1.19	2.36	1.73	1.29	2.78	1.47	1.00	ns
Ornidazole	2.62	1.24	4.03	0.85	1.0	ns	2.61	1.00	ns	0.93	1.00	ns	0.84	1.00	ns	2.99	1.00	ns
Sulconazole	1.99	1.00	ns	2.01	1.07	0.75	2.45	1.14	1.56	2.08	1.11	1.60	0.99	1.00	ns	1.62	1.20	2.17
Terconazole	2.41	1.16	0.70	7.42	1.00	ns	7.04	1.43	4.03	6.27	1.42	3.05	2.67	1.03	0.41	4.44	1.06	0.52

"ne" means no elution, "ns" means no separation

[a] Itraconazole was present as a mixture of 4 stereoisomers

Table 2 Separation of enantiomers of chiral imidazole and triazole derivatives using ethanol as a mobile phase

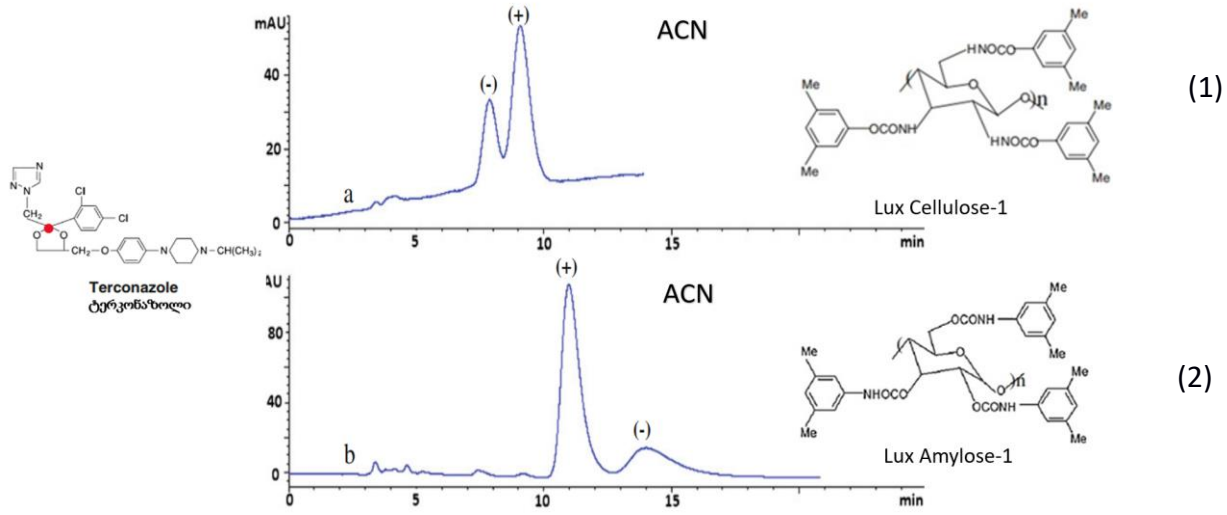
Analyte	Cellulose-1			Cellulose-2			Cellulose-3			Cellulose-4			Amylose-2			ADMPC		
	k_1'	α	Rs	k_1'	α	Rs	k_1'	α	Rs	k_1'	α	Rs	k_1'	α	Rs	k_1'	α	Rs
Bifonazole	1.81	1.00	ns	1.71	1.20	1.41	2.29	1.00	ns	1.38	1.20	2.46	1.84	1.20	1.00	4.49	1.48	3.72
Econazole	1.55	1.08	0.60	1.73	1.20	1.39	2.71	2.51	5.77	1.52	1.27	3.09	0.562	1.00	ns	3.05	1.00	ns
Enilconazole	1.03	1.00	ns	0.89	1.15	2.36	0.91	1.18	2.18	1.31	1.14	1.60	1.27	1.00	ns	1.50	1.00	ns
Itraconazole	3.84	1.65	3.85	ne	–	–	11.92	1.30	1.63	41.76	0.55	1.07	11.65	1.00	ns	ne	–	–
								1.22	1.07		0.88	1.12						
Ketoconazole	ne	–	–	ne	–	–	ne	–	–	11.4	1.06	0.54	ne	–	–	5.35	1.38	2.50
Metomidate	1.21	1.00	ns	1.68	1.22	2.25	1.05	1.27	2.86	1.01	1.04	0.52	1.04	1.12	1.01	1.61	1.20	1.80
Miconazole	1.75	1.07	0.58	1.86	1.44	5.98	1.76	1.88	6.06	1.85	1.23	2.69	0.73	1.00	ns	3.27	1.07	0.60
Ornidazole	0.88	1.00	ns	0.79	1.00	ns	0.83	1.00	ns	24.17	1.08	0.54	0.59	1.59	5.79	4.41	1.00	ns
Sulconazole	1.92	1.00	ns	1.96	1.16	0.55	1.01	1.33	1.56	2.22	1.04	0.51	1.45	1.08	1.15	3.67	1.19	1.79
Terconazole	2.43	1.30	3.08	5.75	1.00	ns	5.06	1.28	1.46	7.51	1.06	0.66	2.33	1.07	0.52	6.03	1.09	0.63

Table 3 Separation of enantiomers of chiral imidazole and triazole derivatives using acetonitrile as a mobile phase

Analyte	Cellulose-1			Cellulose-2			Cellulose-3			Cellulose-4			Amylose-2			ADMPC		
	k_1'	α	Rs	k_1'	α	Rs	k_1'	α	Rs	k_1'	α	Rs	k_1'	α	Rs	k_1'	α	Rs
Bifonazole	3.61	1.00	ns	2.95	1.23	1.63	0.65	1.00	ns	3.95	1.21	2.60	4.65	2.64	6.46	4.62	3.55	8.18
Econazole	5.06	1.04	0.84	5.71	1.31	2.99	5.37	1.00	ns	4.61	1.46	8.26	2.74	1.07	0.92	2.86	1.36	2.98
Enilconazole	4.30	1.00	ns	4.17	1.17	1.81	4.36	1.00	ns	8.12	1.18	4.67	1.86	1.21	3.36	2.03	1.00	ns
Itraconazole	6.64	1.00	ns	ne	–	–	6.76	1.00	ns	ne	–	–	6.11	1.00	ns	6.97	1.00	ns
Ketoconazole	9.16	1.06	0.85	ne	–	–	9.62	1.05	0.55	ne	–	–	8.61	1.40	2.04	ne	–	–
Metomidate	2.90	1.00	ns	1.75	1.08	0.72	2.92	1.00	ns	4.54	1.00	ns	1.10	1.26	3.49	1.31	1.26	2.14
Miconazole	5.75	1.00	ns	7.95	1.22	2.34	5.94	1.00	ns	5.91	1.24	4.82	3.53	1.20	1.75	3.02	1.53	4.23
Ornidazole	2.52	1.00	0.16	1.01	1.11	0.73	2.55	1.00	ns	1.15	1.08	1.29	0.90	1.80	7.09	2.96	1.00	ns
Sulconazole	3.50	1.10	0.52	6.81	1.14	1.53	0.68	1.51	3.86	6.73	1.10	1.47	2.78	1.12	1.51	2.94	1.07	0.62
Terconazole	6.48	1.13	1.04	9.27	1.14	1.45	1.53	1.14	0.94	21.08	1.03	0.70	2.96	1.00	ns	4.55	1.38	1.10

4.1.1 პოლისაქარიდული ქირალური სელექტორის გავლენა ენანტიომერების ელუირების რიგზე (EEO)

პოლისაქარიდული ქირალური სელექტორის გავლენას ახდენს EEO-ზე [53, 54]. ელუირების რიგის შებრუნების მაგალითი აცეტონიტრილიან მოძრავ ფაზაში Lux Cellulose-1 და Lux Amylose-1 ქირალურ სვეტებზე დაფიქსირდა ტერკონაზოლისთვის. როგორც ნახაზი 8-ზე ჩანს, ამ სვეტების ქირალური სელექტორები შეიცავს ერთსა და იმავე ჩამნაცვლებელ ჯგუფებსა და D-გლუკოპირანოზის ერთეულებს, მაგრამ ამილოზში ეს ერთეულები ერთმანეთთან დაკავშირებულია α-1,4-კავშირებით, ხოლო ცელულოზაში β-1,4-კავშირებით.

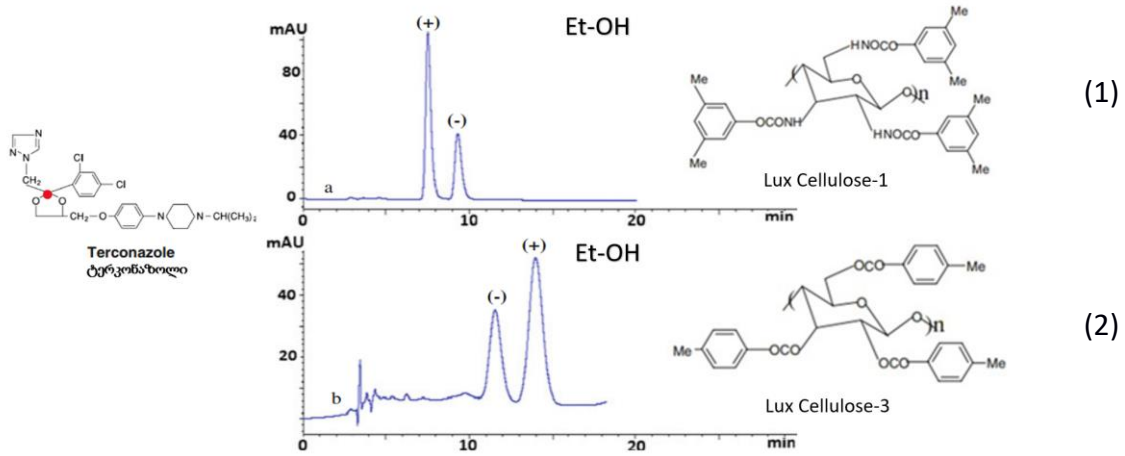


ნახაზი 20. ტერკონაზოლის ენანტიომერის რიგის შებრუნება აცეტონიტრილიან ფაზაში Lux Cellulose-1 (1) და Lux Amylose-1 (2) სვეტებზე.

4.1.2 კარბამატისა და ბენზოატის გავლენა EEO-ზე

ქირალური სვეტები, რომლებიც შეიცავს ფენილის ერთსა და იმავე ჩამნაცვლებელს მაგრამ განსხვავებულ (ბენზოატი ან კარბამატი) კავშირს ჩამნაცვლებელსა და პოლისაქარიდს შორის, კომერციულად არ არის ხელმისაწვდომი. ამიტომ, Lux Cellulose-1 და

Lux Cellulose-3 სვეტებზე ტერკონაზოლისთვის დაფიქსირებული EEO-ს განსხვავება შეიძლება დაკავშირებული იყოს როგორც კავშირის ტიპთან, ასევე ფენილის ბირთვში ჩამნაცვლებლის მდებარეობასთან (ნახაზი 21).



ნახაზი 21. ქირალური სელექტორის გავლენა

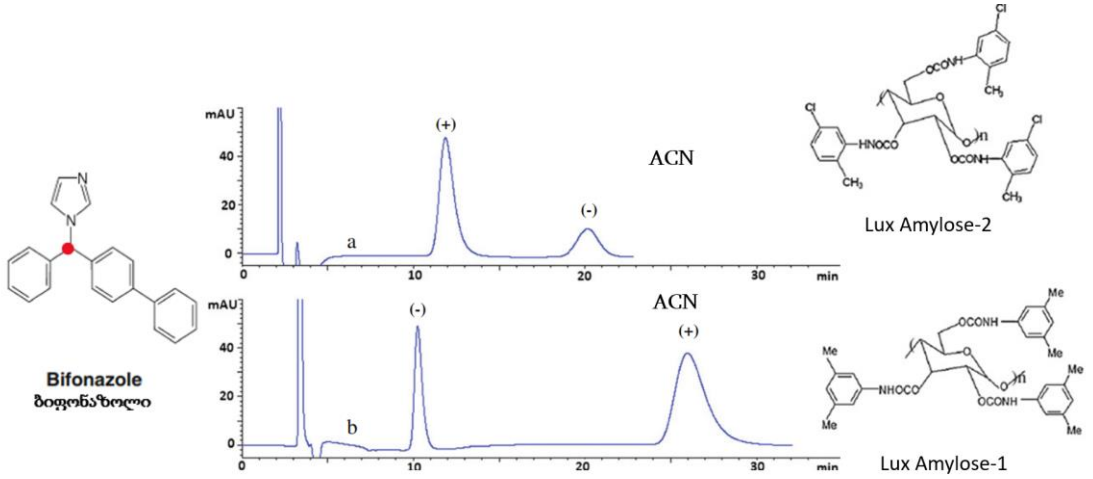
4.1.3 ფენილის ჯგუფების ჩამნაცვლებლების გავლენა EEO-ზე

ფენილის ჯგუფების ჩამნაცვლებლის ბუნება და პოზიცია პოლისაქარიდული ფენილკარბამატების შემთხვევაში გავლენას ახდენს როგორც ენანტიომერების დაყოფის სელექტივობაზე ასევე EEO-ზე [53, 54]. შესაბამისად, შეიძლება მოხდეს ენანტიომერების დაყოფის შემცირება, გაზრდა, გამოჩენა ან გაქრობა, ასევე EEO-ის შებრუნება, რაც დამოკიდებულია ჩამნაცვლებლის ბუნებაზე. ორი ამილოზური ანალიზური სვეტის Lux Amylose-2 და LUX AMYLOSE-1-1 (ADMPC)-ის შემთხვევაში ბიფონაზოლის ენანტიომერების ელუირების რიგის ცვლილება დაფიქსირდა აცეტონიტრილის მოძრავი ფაზის შემთხვევაში (ნახაზი 22). მიუხედავად იმისა, რომ ორივე ქირალური სელექტორი დაფუძვნებულია ამილოზაზე, ფენილის ბირთვში განსხვავებულია ჩამნაცვლებლები და მათი პოზიცია: LUX AMYLOSE-1-1 (ADMPC)-ის შემთხვევაში ორი მეთილის ჩანაცვლებული ჯგუფი მიერთებულია 3 და 5 პოზიციებზე, ხოლო Lux Amylose-2-ის შემთხვევაში ჯგუფები არიან ქლორისა და მეთილის, რომლებიც მდებარეობენ 5 და 2 პოზიციებზე ფენილის ჯგუფში, შესაბამისად.

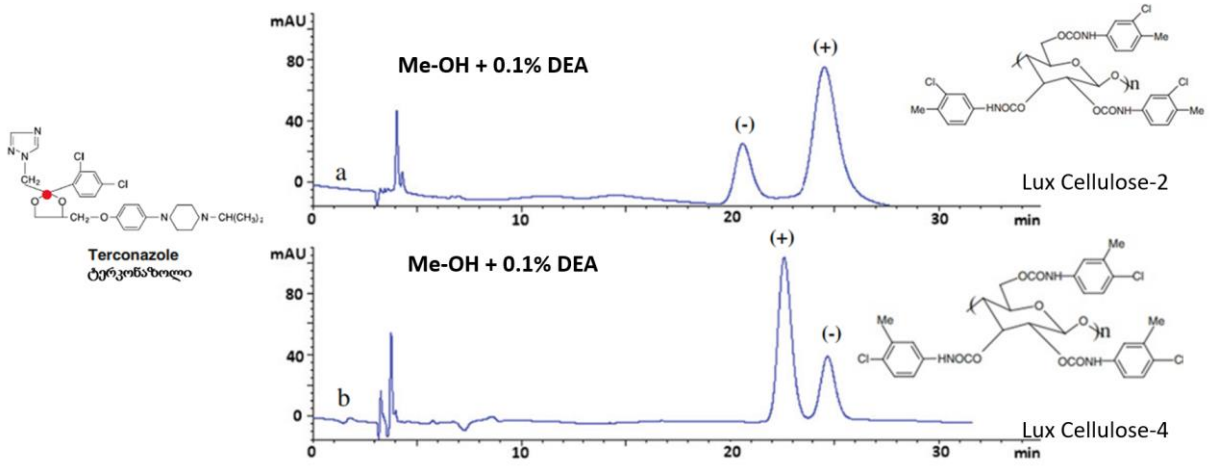
Lux Cellulose-2 და Lux Cellulose-4 შემთხვევაში, მათი სტრუქტურები უფრო მსგავსია, მხოლოდ განსხვავდებიან ქლორის და მეთილის ჩამნაცვლებლების პოზიციებით (3, 4 და 4, 3, შესაბამისად) მიუხედავად ამ საკმაოდ "მცირე" სტრუქტურული განსხვავებისა, ტერკონაზოლის ენანტიომერები ამ ორი ქირალური სელექტორის მიმართ საპირისპირო ელუირების რიგს აჩვენებენ მეთანოლის მოძრავი ფაზის შემთხვევაში, თუმცა ეს ეფექტი არ იქნა შენიშნული აცეტონიტრილში (ნახაზი 23). ლიტერატურაში ძალიან ცოტა მაგალითია აღწერილი ამ ორი სტრუქტურულად ახლო ქირალურ სელექტორებს შორის ენანტიომერების ელუირების რიგის ცვლილების შესახებ [6, 65].

4.1.4 მოძრავი ფაზის შემადგენლობის გავლენა EEO-ზე

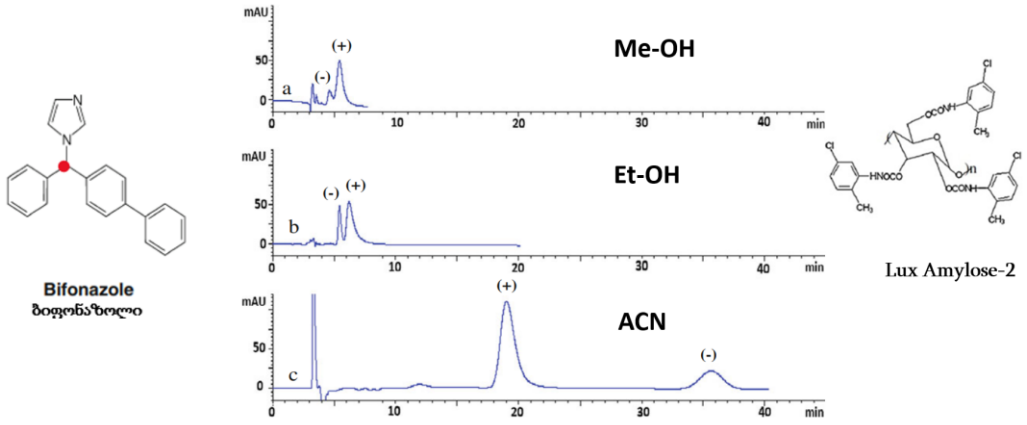
როგორც რამდენიმე წინა გამოკვლევაშია ნაჩვენები, მოძრავი ფაზები მნიშვნელოვან გავლენას ახდენს ენანტიომერების დაყოფაზე პოლისაქარიდული ქირალური სელექტორების გამოყენებისას [32–36]. მოძრავი ფაზის წვლილი ენანტიომერების ელუირების რიგის ცვლილებაში ჯერ არ არის სრულად ახნილი და საჭიროა მეტი ფუნდამენტური კვლევები ამ მოვლების ასახსნელად. ამჟამად ჩატარებულ კვლევაში, ბიფონაზოლის EEO-ის ელუირება დაფიქსირდა როდესაც სპირტზე დაფუძნებული მოძრავი ფაზა (მაგალითად, მეთანოლი ან ეთანოლი) შეიცვალა ACN-ით (ნახაზი24). საინტერესოა, რომ ეს ეფექტი შენიშნული იყო მხოლოდ Lux Amylose-2 სვეტზე და არ დაფიქსირდა ამ კვლევაში გამოყენებულ არც ერთ სხვა სვეტზე. როგორც ჩანს, არა მხოლოდ EEO შეიცვალა, არამედ ენანტიომერების დაყოფაც მნიშვნელოვნად გაუმჯობესდა სპირტზე დაფუძნებული მოძრავი ფაზის შეცვლის შედეგად ACN-ით.



ნახაზი 22. ჩამნაცვლებლის გავლენა



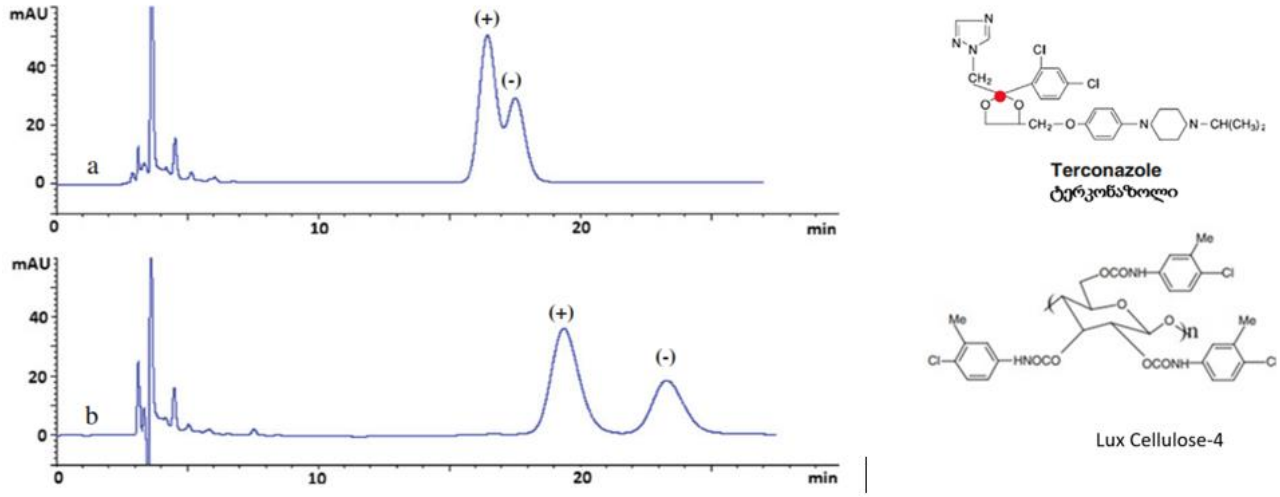
ნახაზი 23. ჩამნაცვლებლის გავლენა



ნახაზი 24. მოძრავი ფაზის შემადგენლობის გავლენა რიგის ცვლილებაზე

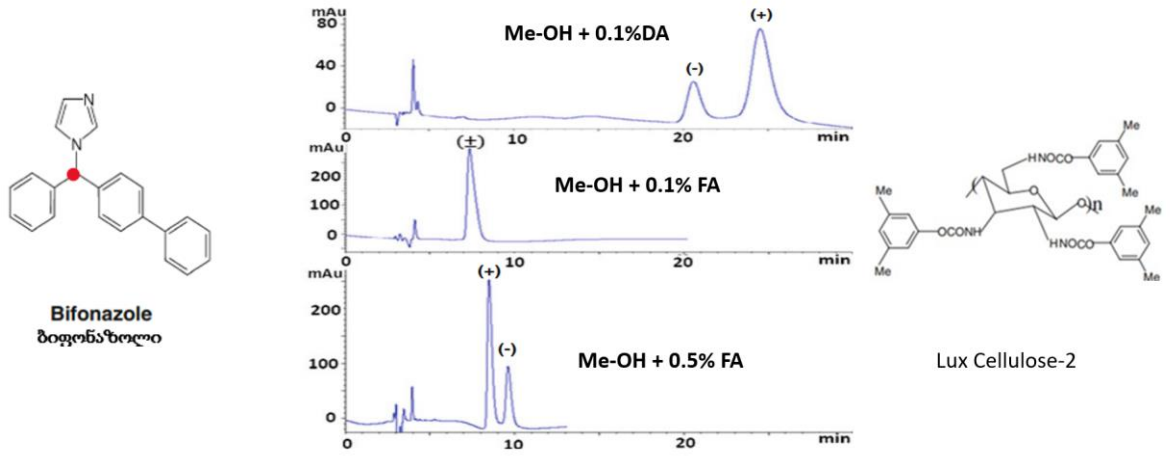
ცნობილია, რომ მოძრავი ფაზის შემადგენლობაში ფუძე ან მჟავა ბუნების დანამატები აუმჯობესებს ფუძე ან მჟავა ქირალური ნაერთების ენანტიომერების დაყოფას [59]. ამ კვლევაში დიეთილამინი, როგორც ფუძე ბუნების დანამატი, ვერ უზრუნველყოფდა ტერკონაზოლის ენანტიომერების საკმარის დაყოფას Lux Cellulose-4 სვეტზე. თუმცა, 0.1% ჭიანჭველმჟავას დამატებამ მოძრავ ფაზაში მნიშვნელოვნად გააუმჯობესა დაყოფა.

საინტერესო იყო 0.1% (v/v) მ ჭიანჭველმჟავის დამატება ეთანოლიან მოძრავ ფაზაში, რომელიც უკვე შეიცავდა დიეთილამინს, მნიშვნელოვნად გაუმჯობესდა ენანტიომერების დაყოფა (ნახაზი 25). კიდევ უფრო ძლიერი იყო ჭიანჭველმჟავის (FA) დამატების ეფექტი იმავე შემადგენლობის ენანტიომერების ნარევის დაყოფაზე Lux Cellulose-4 სვეტზე. თუმცა აღნიშნულით რიგის ცვლილება არ დაფიქსირდა.



ნახაზი 25. რიგის ცვლილება არ დაფიქსირდა.

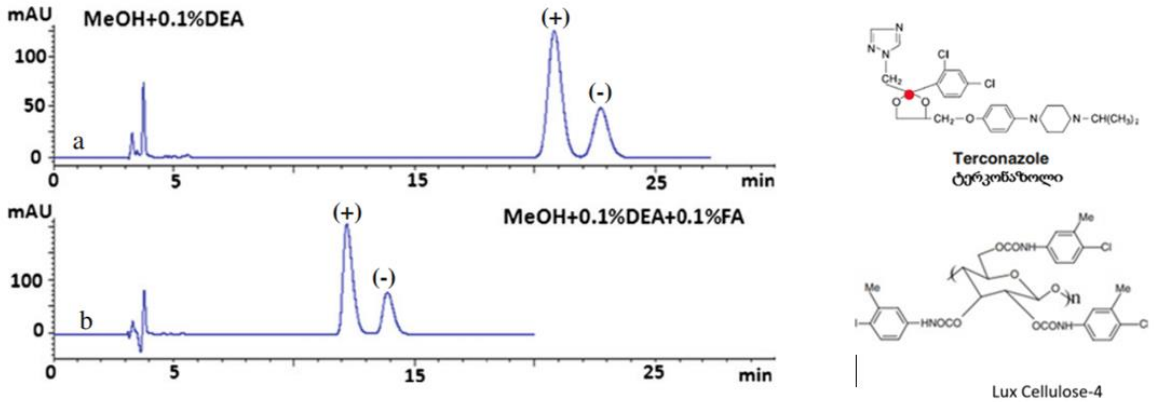
ბიფონაზოლის ენანტიომერების ფუძისეული დაყოფა, რომელიც დაფიქსირებული იქნა იყო 0.1% DEA-ით მეთანოლში, კოელუირების პროცესი მოხდა 0.1% FA-ის დამატების დროს, იგივე ელუენტში. თუმცა, დაყოფა კვლავ გამოჩნდა საპირისპირო EEO-ით, როდესაც FA-ის კონცენტრაცია გაზრდილიყო 0.5% (v/v)-მდე (ნახაზი 26).



ნახაზი 26. დანამატის გავლენა დაყოფასა და ელუირების რიგის ცვლილება.

იგივე ეფექტი იყო დამზერილი ეთანოლზე დაფუძნებული მოძრავი ფაზების შემთხვევაშიც (მონაცემები არ არის ნაჩვენები), მაგრამ იგივე ეფექტი არ დაფიქსირებულა სტრუქტურულად ახლოს მდგომ Lux Cellulose-4 სვეტზე. როგორც ამ, ასევე ადრე მოყვანილი მაგალითები სხვადასხვა ქირალური ნაერთების EEO-ის შეცვლის შესახებ პოლისაქარიდებზე დაფუძნებულ ქირალურ სვეტებზე გვაფიქრებს, რომ ჭიანჭველმჟავა ძლიერ მოქმედებს პოლისაქარიდების ფენილკარბამატებთან, რაც მნიშვნელოვნად ცვლის მათი ქირალური გამოცნობის უნარს გარკვეული ნაერთების მიმართ და ზოგჯერ იწვევს EEO-ს ცვლილებასაც. რადგან ჭიანჭველმჟავის დამატება უმეტეს შემთხვევებში მნიშვნელოვნად ამცირებს საანალიზო ნივთიერებების შეკავებას ქირალურ სვეტებზე, შეიძლება ვივარაუდოთ, რომ ეს დანამატი ბლოკავს გარკვეულ მოლეკულათაშორისი ურთიერთქმედების ცენტრებს საანალიზო ნივთიერების სტერეოიზომერებსა და ქირალურ სელექტორს შორის. თუმცა, საჭიროა დამატებითი კვლევები ამ ჰიპოთეზის დაზუსტების მიზნით.

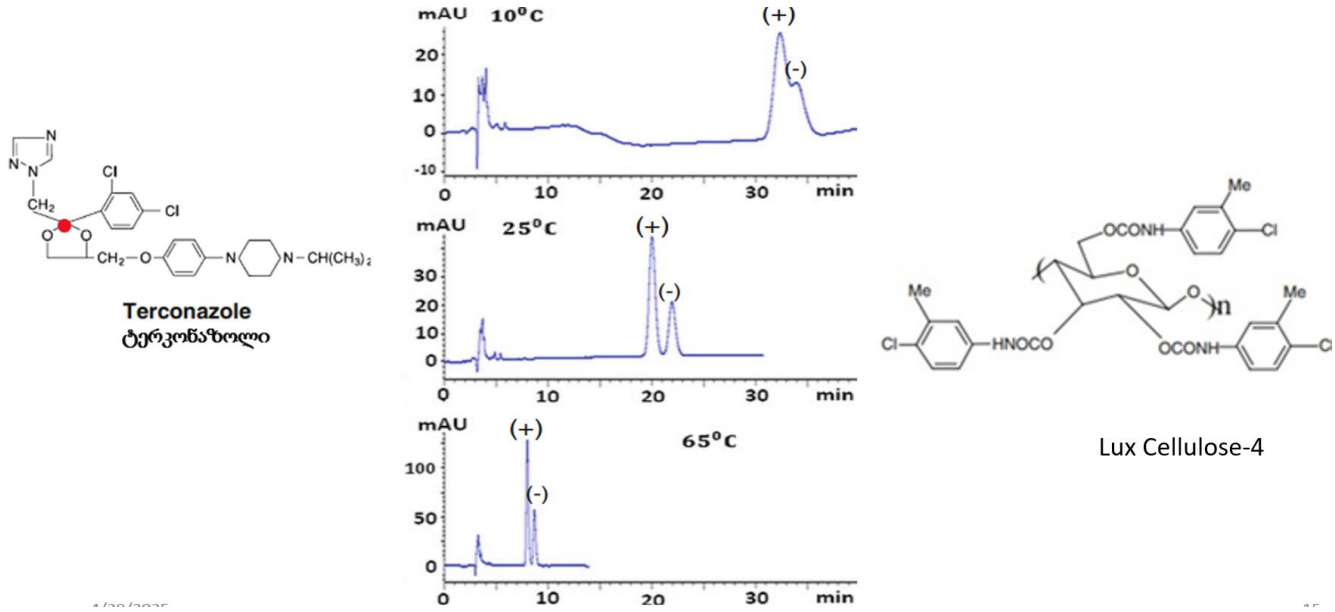
ცელულოზა 4 სვეტზე ეთანოლიანი ელუენტისაგან განსხვავებით მეთანოლიან ფაზაში დიეთილამინისა და ჭიანჭველმჟავას დანამატით მოხდა დაყოფის დროის შემცირება. თუმცა რიგის ცვლილება აქაც არ დაფიქსირებულა.



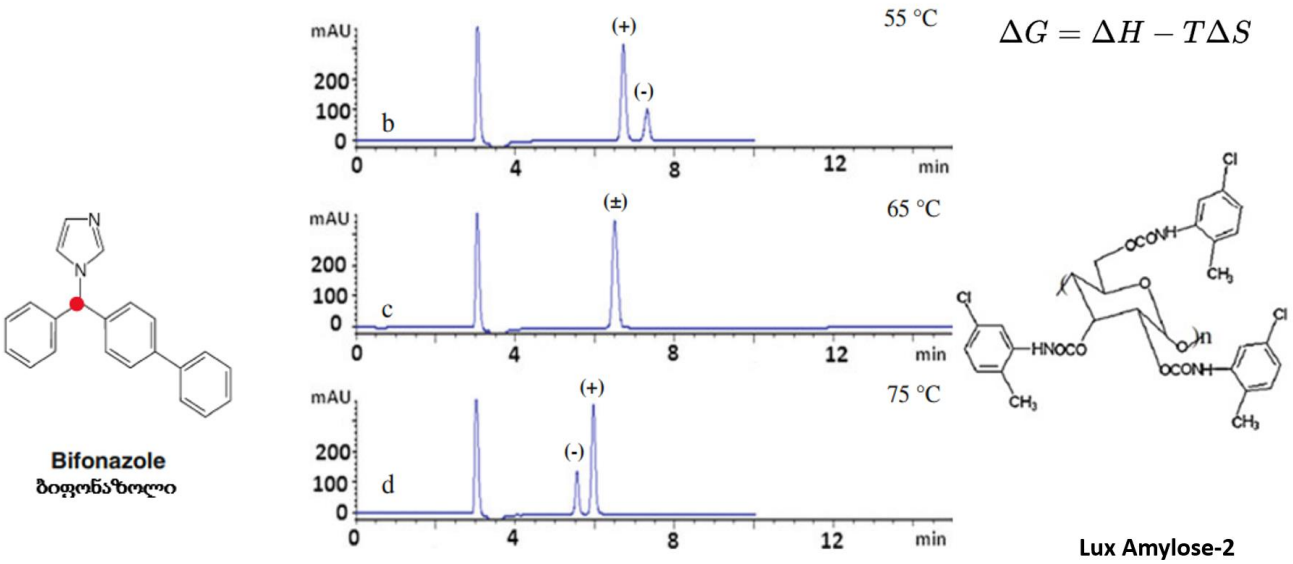
ნახაზი 27. შემცირდა ანალიზის დრო

4.1.5 ტემპერატურის გავლენა ენანტიომერების დაყოფაზე და EEO-ზე

თეორიულად დასაბუთებულია ენთალპიურ–ენთროპიული კომპენსაციის გავლენა ქირალურ დაყოფებზე. ლიტერატურაში აღწერილია EEO-ის შებრუნების საინტერესო მაგალითები ტემპერატურის გავლენით [53, 54]. ე.წ. "ენთალპიის მიერ კონტროლირებულ" დაყოფების შემთხვევაში, გარჩევადობა ჩვეულებრივ მცირდება ტემპერატურის ზრდასთან ერთად. თუმცა, როდესაც საანალიზო ნივთიერებასა და ქირალურ სელექტორს შორის ნელი ურთიერთობები განსაზღვრავს დაყოფების ეფექტურობას, გარჩევადობა შეიძლება გაუმჯობესდეს ტემპერატურის გაზრდისას, თუნდაც ენთალპიის კონტროლირებად ტემპერატურულ დიაპაზონში. ასეთი შემთხვევა დადასტურდა ტეროკონაზოლის ენანტიომერებისთვის თითქმის ყველა სვეტსა და ელუენტზე, რომლებიც ამ კვლევაში შეისწავლებოდა. მაგალითები ნაჩვენებია ნახ. 8-ზე LUX AMYLOSE-1-1 (ADMPC), Lux Cellulose-3 და Lux Cellulose-4 სვეტებზე მეთანოლის მოძრავი ფაზით. ტემპერატურაზე დამოკიდებული EEO-ს ცვლილების საინტერესო მაგალითი გამოვლინდა ბიფონაზოლის შემთხვევაში Lux Amylose-2 სვეტზე ACN-ის დაფუძნებული მოძრავი ფაზით [6, 65] (ნახაზი 28).



ნახაზი 28. ტემპერატურის გავლენა



ნახაზი 29. ტემპერატურის გავლენა რიგის ცვლილებაზე. დაფიქსირდა კოელუირება.

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S \quad (7)$$

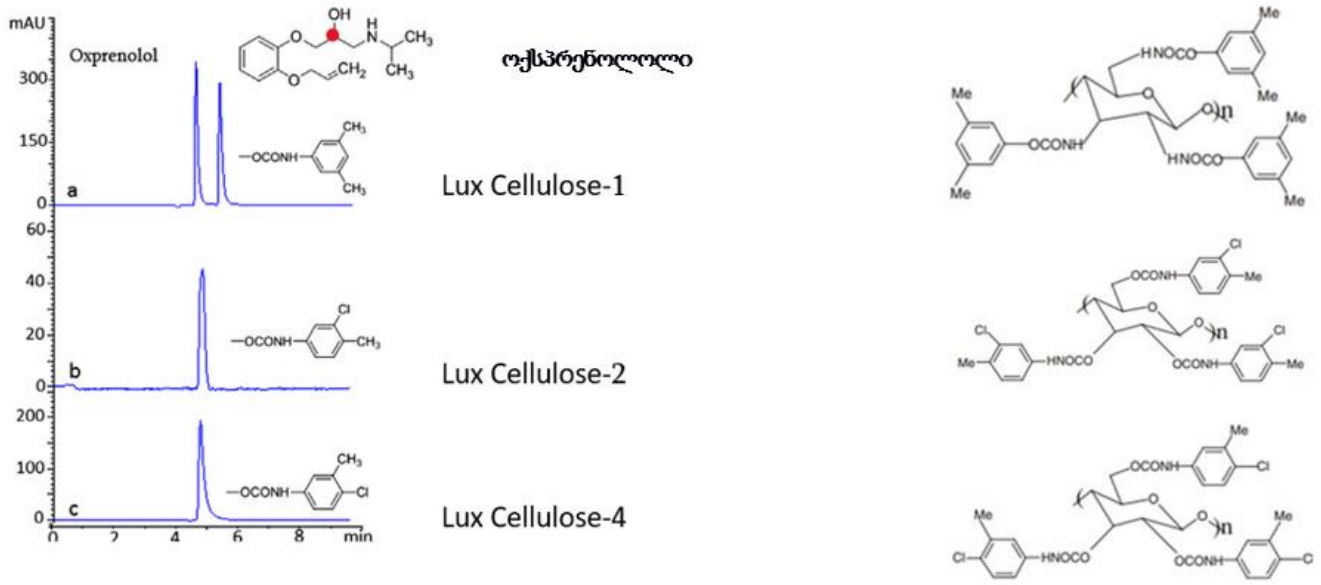
ტემპერატურის გავლენით რიგის ცვლილება დაფიქსირდა ბიფონაზოლის შემთხვევაში Amylose-2 სვეტზე ACN-ის მოძრავი ფაზით .
გიბსის (7) თავისუფალი ენერგიის გათვალისწინებით: პროცესის მიმდინარეობას დაბალ ტემპერატურაზე მიმდინარეობს უმეტესწილად ენთალპიის გავლენით, ხოლო მაღალ ტემპერატურაზე ენტროპიის გავლენით. რაც იწვევს თანდათან დაყოფის გაუარესებას კოელუირებას და შემდეგ რიგის შებრუნებას (ნახაზი 29).

როგორც ეს კვლევა აჩვენებს, ენანტიომერების არაკოვალენტური მოლეკულათშორისი ურთიერთმოქმედება პოლისაქარიდებზე დაფუძნებულ ქირალურ სტაციონარულ ფაზებთან დამოკიდებულია მრავალ ფაქტორზე, როგორიცაა ქირალური ნაერთის ბუნება, მოძრავი ფაზის შემადგენლობა და დაყოფის პირობები. ხშირად "მცირე" ცვლილებებმა ქირალური სტაციონარული ფაზის, ან მოძრავი ფაზის შემადგენლობაში შეიძლება გამოიწვიოს სელექტორ-სელექტანდის ურთიერმოქმედების მნიშვნელოვანი ცვლილება. განსაკუთრებით საინტერესოა მოძრავი ფაზის ძირითადი და ნაკლებად მნიშვნელოვანი კომპონენტების გავლენა EEO-ზე. აღნიშნული ფენომენის შესახებ შემდგომმა კვლევებმა შეიძლება მოგვაწოდოს მნიშვნელოვანი ინფორმაცია პოლისაქარიდებზე დაფუძნებულ ქირალურ სტაციონარულ ფაზების ქირალური გამოცნობის მექანიზმების უკეთ გასაგებად და მათი გამოყენებით დაყოფების ოპტიმიზაციისთვის.

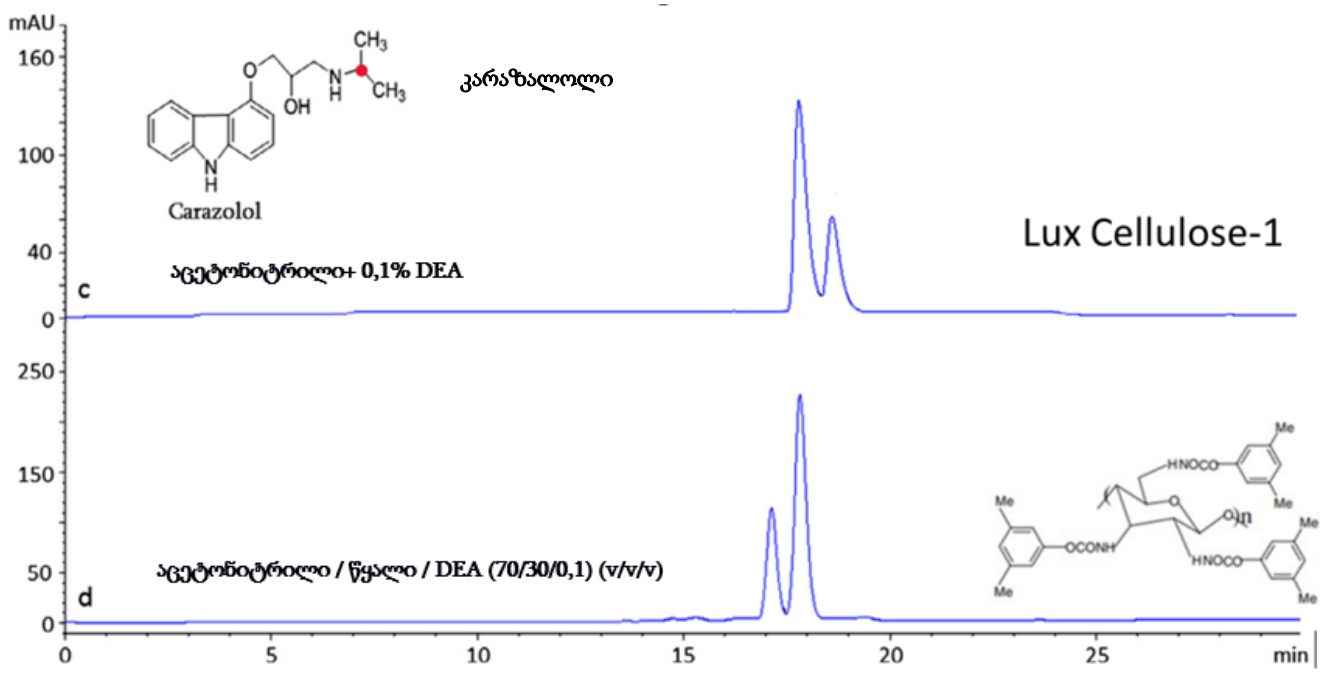
მოცემული მონაცემები ხაზს უსვამს ქირალური სელექტორების მგრძნობიარობას მოძრავი ფაზის ცვლილებებისადმი, რაც მნიშვნელოვან გავლენას ახდენს ენანტომერების დაყოფაზე.

4.2 ფუძე ბუნების სხვა მსგავსი ნივთიერებები (ბეტა ბლოკატორები)

მსგავსი ფუძე ბუნების სხვა ნივთიერებებისათვის, კერძოდ ბეტა ბლოკატორების დაყოფის მექანიზმი შესწავლილ იქნა ანალოგიურ ცელულოზაზე დაფუძვნებულ სვეტებზე. გამოყენებულ იქნა იგივე მეთოდები, რაც აღნიშნულია ანტიმიკოზური საშუალებების გამოკვლევის დროს. ელუირების რიგის ცვლილება არ დაფიქსირდებოდა ცელულოზურ სვეტებზე [7] (ნახაზი 30).



ნახაზი 30. ბეტა ბლოკატორები სხვადასხვა ქირალური სელექტორების გავლენა.

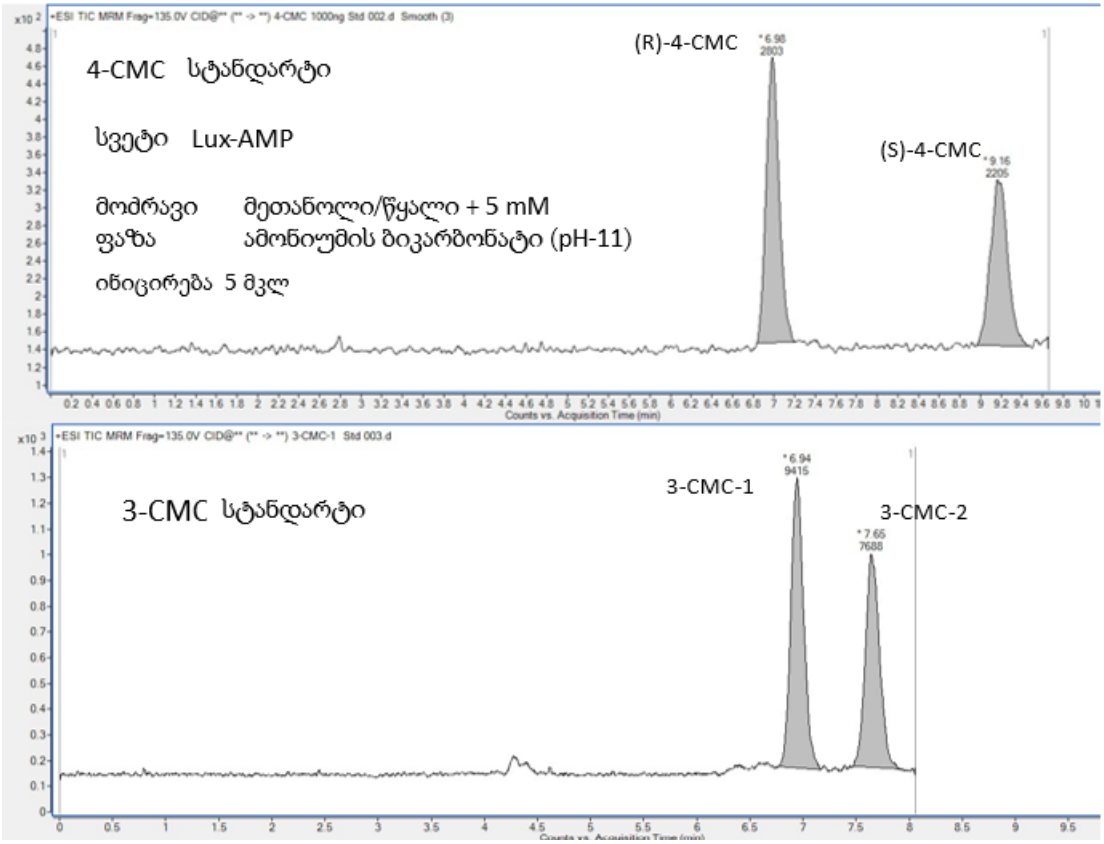


ნახაზი 31. რიგის ცვლილება კარაზალოლის შემთხვევაში

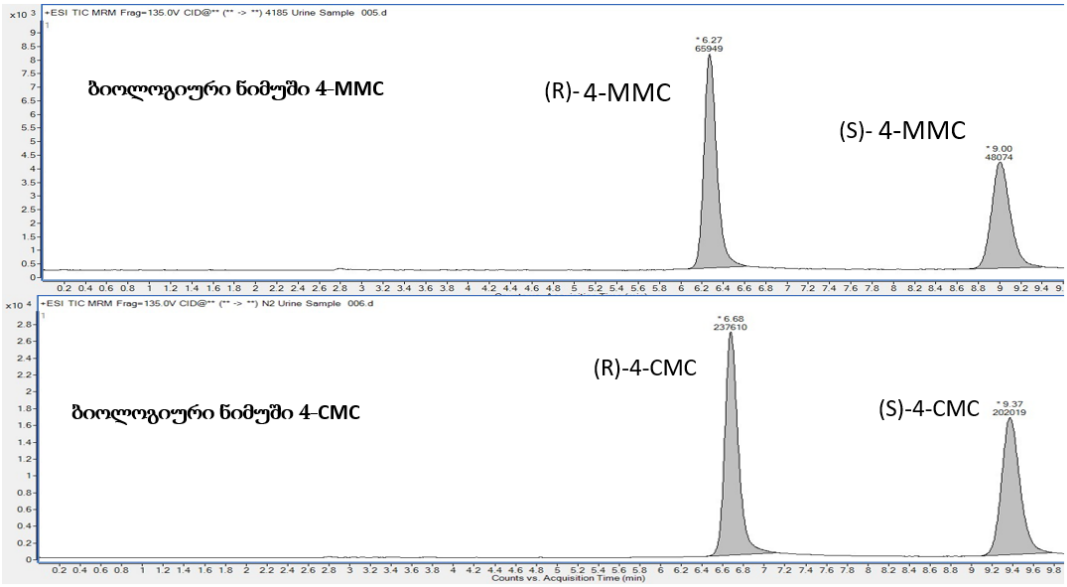
კარაზოლოლის ელუირების რიგის ცვლილება მოხდა მხოლოდ წყლის თანაობისას (ნახაზი 31). აცეტონიტრილი, როგორც აპროტონული პოლარული გამხსნელი, ხელს არ უშლის სელექტორის და სელექტანდის ურთიერთქმედებას წყალბადური ბმის საფუძველზე. მოძრავ ფაზაში წყლის შემცველობის ზრდასთან ერთად, წყალი საანალიზო ნივთიერებასა და ქირალურ სელექტორს შორის წყალბადური ბმის ხარჯზე განხორციელებული ურთიერთქმედების ჩახშობას იწვევს, ხოლო ჰიდროფობური და არომატული (π–π ტიპის) ურთიერთმოქმედებას აძლიერებს [7].

4.3 სინთეზური კათინონები

3- ქლორმეთკათინონის და 4- ქლორმეთკათინონის სტანდარტული ნიმუშებით შემოწმდა მეთოდის ეფექტურობა. მიღებული იქნა ენანტიომერების ფუძისეული დაყოფა (ნახაზი 32).

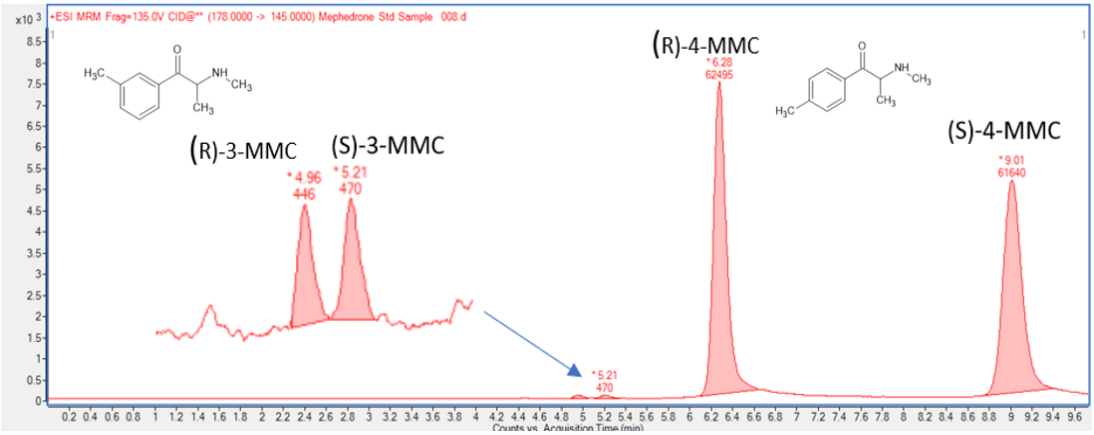


ნახაზი 32. 3-CMC და 4-CMC სტანდარტული ნიმუშები, ენანტიოსელექტიური ანალიზი



ნახაზი 33. სხვადასხვა ტიპის ბიოლოგიური ნიმუშების შესაბამისი ქრომატოგრამები

იმისათვის, რომ გადამოწმებულიყო მეთოდი, რომელიც აღწერილია წყაროში [9] 4-MMC-ის სტანდარტი დაემატა ბიოლოგიურ ნიმუშს (შარდს). საკონტროლო ნიმუშის ექსტრაქცია განხორციელდა იგივე პირობებში, რაც ნარკომომხმარებლების ბიოლოგიური ნიმუშების დამუშავებისას [9].
ანალიზის შედეგად გამოვლინდა, როგორც მცირე რაოდენობით 3-MMC და მისი ენანტიომერები, ასევე 4-MMC და მისი ენანტიომერები (ნახაზი 34).
ეს მიუთითებს იმაზე, რომ აღნიშნულ კვლევაში გამოყენებული 4-MMC-ის სტანდარტი მცირე რაოდენობით შეიცავდა 3-MMC-ის მინარევებს, რომლებიც „დამალული“ დარჩა, რადგან მსოფლიოს მასშტაბით სასამართლო-სამედიცინო ლაბორატორიების მიერ გამოყენებული მეთოდების უმეტესობას არ შეუძლია მეფედრონის (4-MMC) და მისი პოზიციური იზომერების გარჩევა [21].

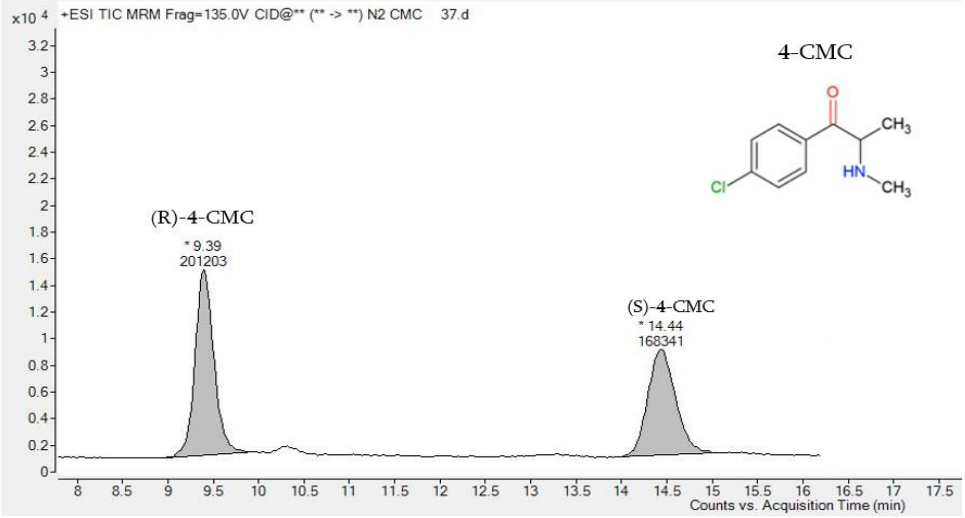


ნახაზი 34. ერთ-ერთი საერთაშორისო მომწოდებლის მიერ მოწოდებული „4-MMC“-ის სტანდარტის ენანტიომერული დაყოფა. გარჩევისა და დეტექციის პირობები აღწერილია წყაროში [19,21].

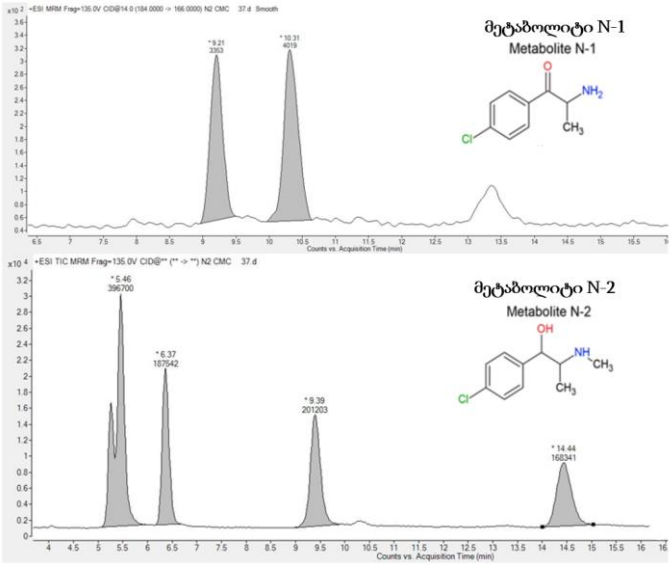
კლეფედრონის შვიდი მომხმარებლის შარდის ნიმუშებში გამოვლინდა მხოლოდ 4-CMC (ნახაზები 35), მისი ენანტიომერები და მეტაბოლიტები (ნახაზები 36 და 37).

საინტერესოა, რომ შარდის ნიმუშებში ზოგიერთი მეტაბოლიტი შედარებით მარტივად გამოვლინდა, მაშინ როცა წინა კვლევაში მისი გამოვლენა რთული აღმოჩნდა პირის ღრუს სითხის (ნერწყვის) ნიმუშებში. იმავე წინა კვლევის დასტურად, 4-CMC-ის ბიოტრანსფორმაციასა და ფარმაკოკინეტიკაში ენანტიოშერჩევითობა არ დაფიქსირდა [19]. თუმცა, ეს შესაძლოა დაკავშირებული იყოს 4-CMC-ის [19, 21] და სავარაუდოდ, მისი ფაზა-1 მეტაბოლიტების სტერეოქიმიურ არასტაბილურობასთან.

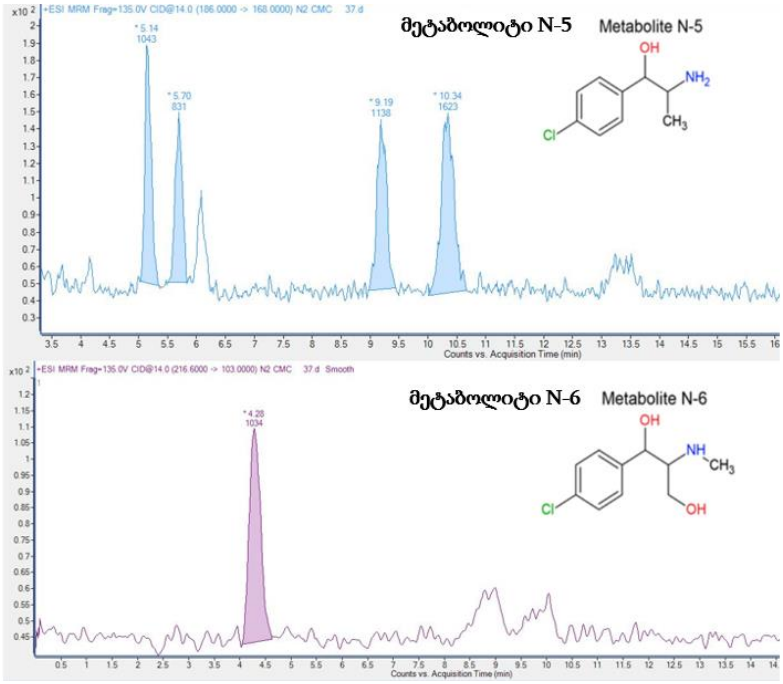
4-CMC-ის პოზიციური იზომერების, კერძოდ, 2-CMC-ის და 3-CMC-ის არსებობა არც ერთ ნიმუშში არ დაფიქსირდა [21].



ნახაზი 35. 4-CMC-ის ენანტიომერული დაყოფა ნარკომომხმარებლის შარდის ნიმუშში [21].

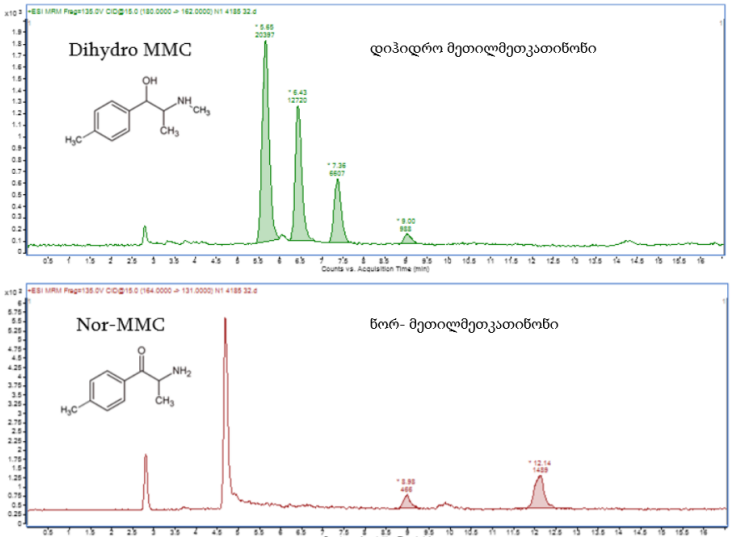


ნახაზი 36. 4-CMC-ის მეტაბოლიტების (N 1 და 2) ენანტიოშერჩევითი HPLC-MS/MS ანალიზი ნარკოტიკის მომხმარებლის შარდის ნიმუშში. გარჩევისა და დეტექციის პირობები აღწერილია წყაროში [8].



ნახაზი 37. 4-CMC-ის მეტაბოლიტების (N 5 და 6) ენანტიოშერჩევითი HPLC-MS/MS ანალიზი ნარკოტიკის მომხმარებლის შარდის ნიმუშში. გარჩევისა და დეტექციის პირობები აღწერილია წყაროში [8].

ნარკოტიკის მომხმარებელთა 5 შარდის ნიმუშის ექსტრაქციისა და ანალიზის შედეგად დადგინდა, რომ მეფედრონის მომხმარებლების ბიოლოგიურ ნიმუშებში მხოლოდ 4-MMC, მისი ენანტიომერები და მეტაბოლიტები დაფიქსირდა (ნახაზი 38).

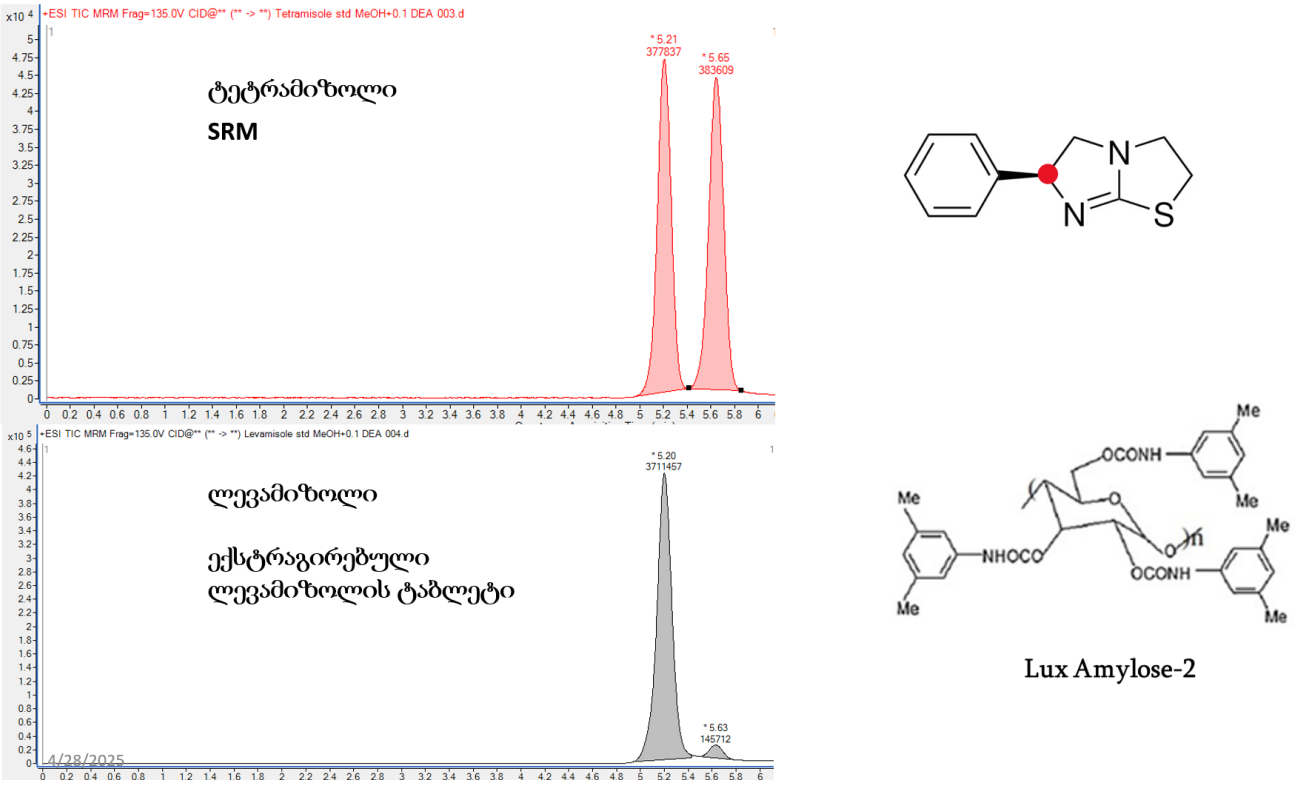


ნახაზი 38. 4-MMC-ის მეტაბოლიტების ენანტიოშერჩევითი HPLC-MS/MS ანალიზი ნარკოტიკის მომხმარებლის შარდის ნიმუშში. გარჩევისა და დეტექციის პირობები აღწერილია წყაროში [19].
4-MMC-ის პოზიციური იზომერები, კერძოდ 2-MMC და 3-MMC, არც ერთ ნიმუშში არ დაფიქსირდა [21].

ჩვენი კვლევისთვის ხელმისაწვდომი ნიმუშების რაოდენობა საკმაოდ შეზღუდული იყო, რათა სტატისტიკურად სრულად საიმედო დასკვნები გაკეთებულიყო თუმცა შესწავლილი იქნა საქართველოში არსებული ნარკოვითარება. დაფიქსირდა მხოლოდდ ნარკოტიკული საშუალებების 4-MMC და 4-CMC-ს მოხმარება. კვლევის მეთოდის გამოყენება სასურველია სამომავლოდ დაინერგოს პრაქტიკაში რათა სწორად მოხდეს იდენტიფიცირება კლეფედრონისა და მეფედრონის პოზიციურ იზომერების ბაზარზე გამოჩენის შემთხვევაში.

4.4 ტეტრამიზოლი

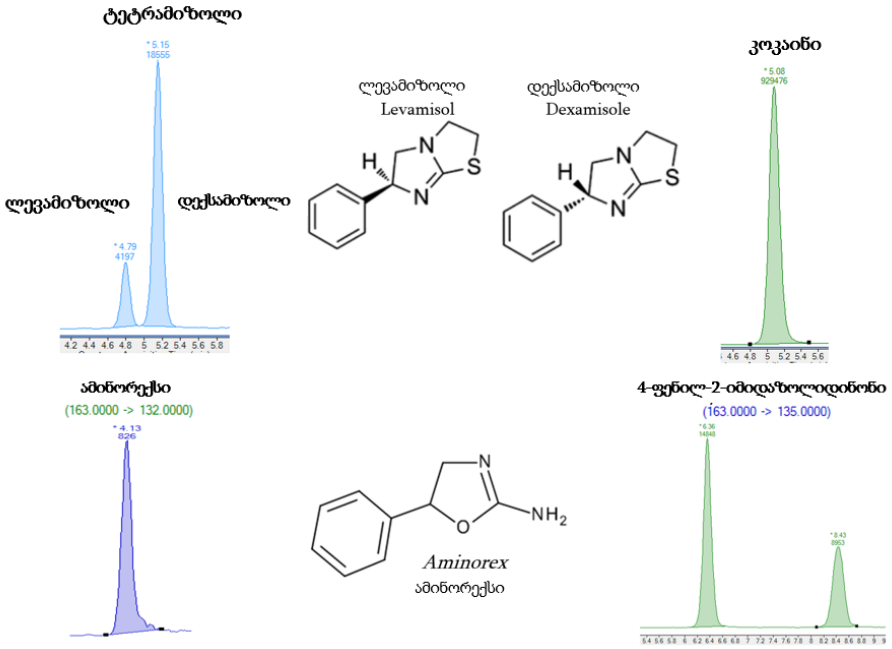
ჩატარებული ექსპერიმენტით თავდაპირველად შემოწმდა არსებული მეთოდის ვარგისიანობა. ტეტრამიზოლის რაცემატითა და ლევამიზოლის ენანტიომერული სტანდარტული ნიმუშის გამოყენებით (ნახაზი 39.).



ნახაზი 39. ტეტრამიზოლის ენანტიომერული ნარევების გამორჩევა ლევამიზოლის ენანტიომერის საშუალებით.

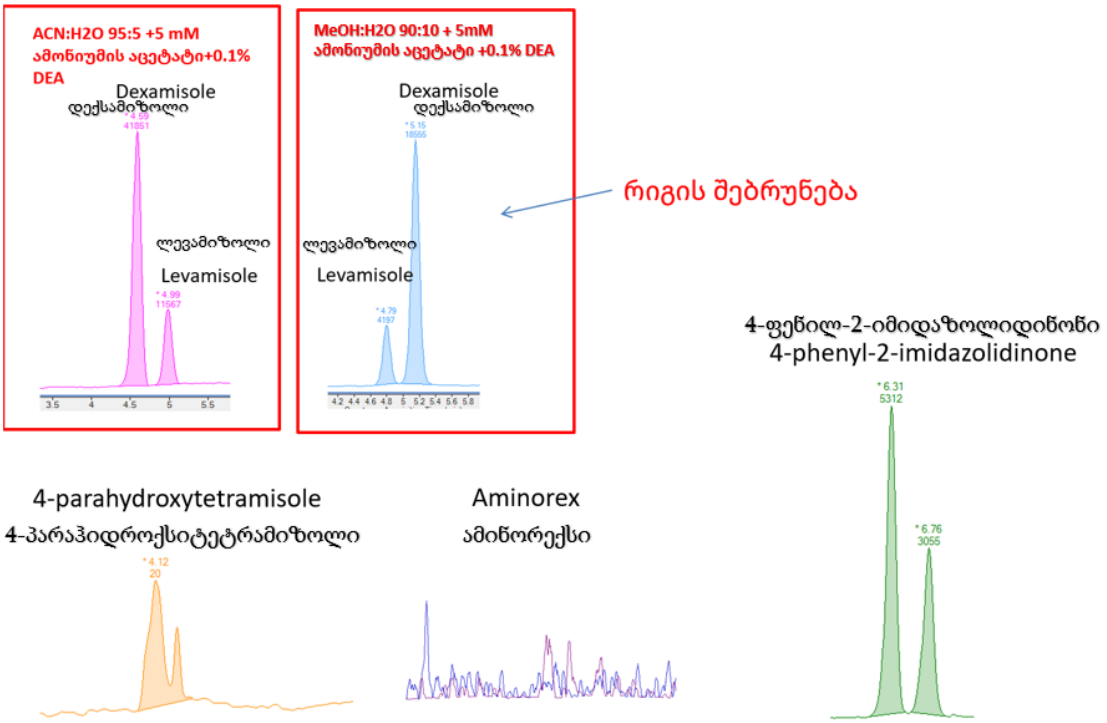
შესწავლილი იქნა მეტაბოლიტები ბიოლოგიურ ნიმუშებში, სადაც მოხდა ამინორექსის დეტექტირება, რომელიც სავარაუდოდ წარმოადგენს ნარკოტიკული ეფექტის გამახანგრძლივებელ საშუალებას, ვინაიდან ის შეიძლება მოქმედებდეს ამფეტამინის მსგავსად (ცხრილი 8).

ყურადსაღები იყო ის ფაქტი, სადაც ზოგიერთ ნიმუშში აღმოჩნდა ტეტრამიზოლი (რაცემატი) და არა L-ენანტიომერი. ასევე ნიმუშებში ფიქსირდება დექსამიზოლის არსებობა ბევრად დიდი რაოდენობით, ვიდრე ლევამიზოლი (ნახაზი 40).



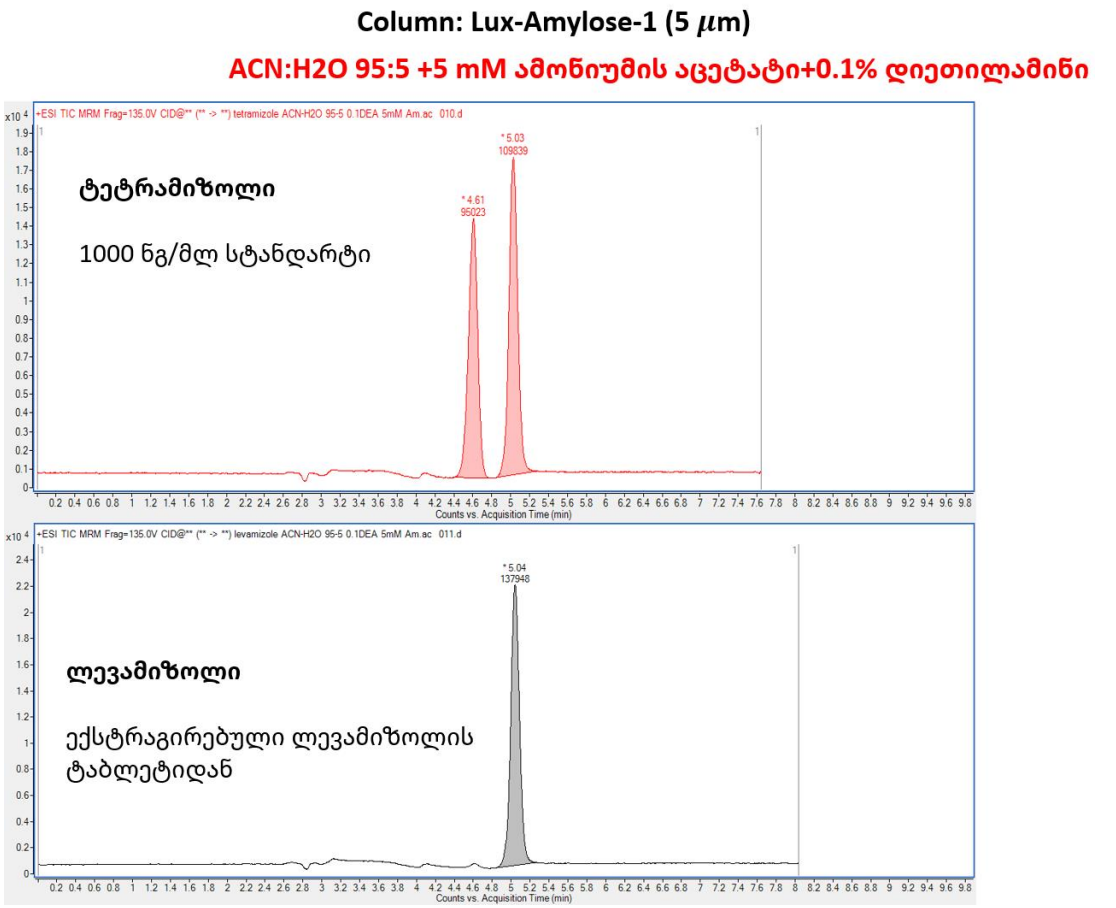
ნახაზი 40. ბიოლოგიურ ნიმუშში (ნერწყვში) ტეტრამიზოლის და მისი მეტაბოლიტების ენანტიოსელექტიური დაყოფა.

შესწავლილ იქნა ელუენტის გავლენა მეტაბოლიტების და ენანტიომერების დაყოფაზე. მოძრავ ფაზაში წყლის კონცენტრაციის 30% მდე გაზრდით 4-პარაჰიდროქსიტეტრამიზოლი ენანტიომერულად დაიყო (ნახაზი 41).



ნახაზი 41. რიგის ცვლილების მაგალითი ელუენტის ცვლილების დროს.

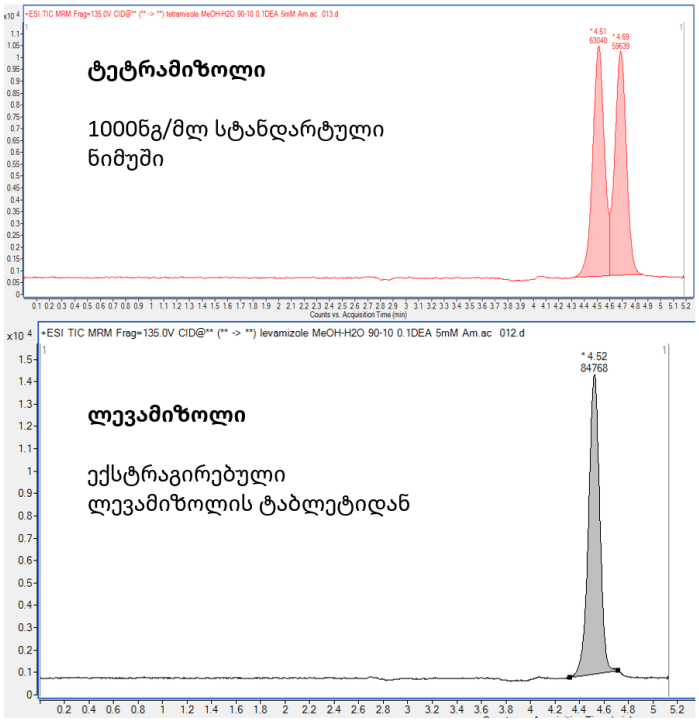
მომდევნო ექსპერიმენტით შევამოწმეთ რიგის ცვლილება. კერძოდ მოძრავ ფაზაში მეთანოლის აცეტონიტრილით ჩანაცვლების შედეგად მივიღეთ შებრუნებული რიგის დაყოფა.(ნახაზი 42 - 43)[72].



ნახაზი 42. აცეტონიტრილიანი მოძრავი ფაზა.

სვეტი Lux-Amylose-1 (5 μm)

MeOH:H2O 90:10 +5 mM ამონიუმიუს აცეტატი+0.1% დიეთილამინი



აცეტონიტრილის შემცველ მოძრავ ფაზაში ლევამიზოლი მეორე ელუირდება, ხოლო მეთანოლის შემცველ ფაზაში პირველი

ნახაზი 43. რიგის ცვლილების შემოწმება მეთანოლიანი მოძრავი ფაზით.

კოკაინთან ერთად დანამატის სახით ტეტრამიზოლის არსებობის შესწავლა არის მნიშვნელოვანი და წინგადადგმული ნაბიჯი. გავრცელებული ინფორმაციით ბევრი კვლევა ადასტურებდა რომ ეს დანამატი იყო ლევამზოლი. თუმცა ჩვენს მიერ გამოკვლეულ ბიოლოგიურ ნიმუშში დაფიქსირდა ტეტრამიზოლის არსებობა, იგი შეიცავდა ორივე მეტაბოლიტს, როგორც ლევამიზოლს ასევე დექსამიზოლს. უმეტეს ნიმუშებში დექსამიზოლის რაოდენობა (პიკის ფართობის მიხედვით) აღემატებოდა ლევამიზოლს მოხდა მეტბოლიტების იდენტიფიცირება. კოკაინთან ერთად დაფქსირდა დანამატის სახით ტეტრამიზოლი და არა ლევამზოლი. მოხდა მეტბოლიტების იდენტიფიცირება, კერძოდ მნიშვნელოვანი იყო ამინორექსის დეტექტირება. ვინაიდან ამ უკანასკნელი მეტაბოლიტის არსებობით ორგანიზმში შესაძლოა აიხსნას ამ პროდუქტში ნარკოტიკში დამატების არსი. საალბათოა, რომ ტეტრამიზოლი დანამატის სახით გამოიყენება ნარკოტიკული თრობის ეფექტის გასაძლიერებლად ან გასახანგრძლივებლად, ამ ეფექტს ქმნის მეტაბოლიტი ამინორექსი. როგოც ცნობილია ამინორექსი ლევამიზოლის მეტაბოლიტური დაშლის პროდუქტია და არ იძებნება ინფორმაცია იმის შესახებ, რომ აღნიშნული მეტაბოლიტი შესაძლოა დექსამიზოლის დაშლის პროდუქტიც იყოს.[72]

5. დასკვნები

1) ქირალური სვეტების ეფექტურობა მნიშვნელოვნადაა დამოკიდებული მოძრავი ფაზის შემადგენლობაზე.
   მოძრავი ფაზის შემადგენლობა გავლენას ახდენს ენანტიომერულ ნარევების დაყოფაზე და მათ რიგის ცვლილებაზე.
   ტემპერატურის ცვლილება გავლენას ახდენს ენანტიომერული ნარევების ელუირების რიგის ცვლილებაზე და მოცემული შედეგები ხაზს უსვამს ქირალური სელექტორების მგრძნობიარობას მოძრავი ფაზის ცვლილებებისადმი, რაც მნიშვნელოვან გავლენას ახდენს ენანტომერების დაყოფაზე.
   პირველად დაფიქსირდა ტერკონაზოლისა და ბიფონაზოლის ანტიმიკოზური საშუალებების რიგის ცვლილებები ქირალური სელექტორის, მოძრავი ფაზის, მისი დანამატის და ტემპერატურის გავლენით პოლისაქარიდულ სვეტებზე.

2) ევროპისაგან განსხვავებით 2-MMC, 3-MMC, 2-CMC და 3-CMC არ დაფიქსირდა საქართველოში შეგროვებულ ნიმუშებში , რაც მიუთითებს იმაზე, რომ საქართველოში მოხმარების პროდუქტებს წარმოადგენს 4-CMC და 4-MMC
   შეიძლება დავასკვნათ, რომ ევროპული ქვეყნებისგან განსხვავებით, ამჟამად არ არსებობს მტკიცებულება 4-MMC-ისა და 4-CMC-ის პოზიციური იზომერების გამოყენების შესახებ საქართველოში. ეს შესაძლოა გამოწვეული იყოს იმ ფაქტით, რომ საქართველოს ნარკოტიკული საშუალებების, ფსიქოტროპული ნივთიერებების, პრეკურსორებისა და ნარკოლოგიური დახმარების შესახებ კანონმდებლობის [4], ასევე ახალი ფსიქოაქტიური ნივთიერებების შესახებ კანონმდებლობის [5] მიხედვით, აღნიშნულ სიაში შეტანილი ნივთიერებების იზომერებიც (როგორიცაა მეფედრონი და კლეფედრონი) კონტროლს ექვემდებარებიან.
3) კოკაინთან ერთად დაფქსირდა დანამატის სახით ტეტრამიზოლი და არა ლევამზოლი. მოხდა მეტბოლიტების იდენტიფიცირება, კერძოდ მნიშვნელივანი იყო ამინორექსის დეტექტირება. ვინაიდან ამ უკანასკნელი მეტაბოლიტის არსებობით ორგანიზმში შესაძლოა აიხსნას ტეტრამიზოლის ნარკოტიკში დამატების არსი. საალბათოა რომ ტეტრამიზოლი დანამატის სახით გამოიყენება ნარკოტიკული თრობის ეფექტის გასაძლიერებლად ან გასახანგრძლივებლად. თრობის გაძლიერების ეფექტს იწვევს ლევამიზოლის მეტაბოლიტი თუმცა შესაძლოა, დექსამიზოლის მეტაბოლიტური პროდუქტიც იყოს ამინორექსი.
4) კვლევებით დგინდება რომ სითხური ქრომატოგრაფია/მას-სპექტრომეტრია წარმოადგენს მძლავრ და უტყუარ მეთოდს ნივთიერებათა ანალიზში მისი გამოყენებით შესაძლოა ნივთიერებების ფუნდამენტალური და დეტალური განსხვავება. როგორც ქირალური ბუნებით ასევე პოზიციურ ჩანაცვლებით. მნიშვნელოვანი ფაქტორია კონკრეტული ანალიზისათვის სწორად იქნას შერჩეული უძრავი და მოძრავი ფაზები.

6. გამოყენებული ლიტერატურა

[1] A. Sharma, A. Shukla, K. Attri, M. Kumar, P. Kumar, A. Suttee, G. Singh, R.P. Barnwal, N. Singla, Global trends in pesticides: a looming threat and viable alternatives, Ecotoxicol. Environ. Saf. 201 (2020) 110812, doi:10.1016/j. ecoenv.2020.110812.

[2] V. Gallo, P. Tomai, M. Gherardi, C. Fanali, L. De Gara, G. D'Orazio, A. Gentili, Dispersive liquid-liquid microextraction using a low transition temperature mixture and liquid chromatography-mass spectrometry analysis of pesticides in urine samples, J. Chromatogr. A 1642 (2021) 462036, doi:10.1016/j.chroma. 2021.462036.

[3] P. Jeschke, Current status of chirality in agrochemicals, Pest Manag. Sci. 74 (2018) 2389–2404, doi:10.1002/ps.5052.

[4] A.W. Garrison, W.L.A.W. Garrison, J. Gan, An Introduction to pesticide chirality and the consequences of stereoselectivity, in: Chiral Pesticides: Stereoselectivity and its Consequences, American Chemical Society, Washington, 2011, pp. 1–7

[5] E. Lucci, C. Dal Bosco, L. Antonelli, C. Fanali, S. Fanali, A. Gentili, B. Chankvetadze, Enantioselective high-performance liquid chromatographic separations to study occurrence and fate of chiral pesticides in soil, water, and agricultural products, Journal of Chromatography A 1685 (2022) 463595, doi: 10.1016/j.chroma.2022.463595.

[6] A. Mskhiladze, M. Karchkhadze, A. Dadianidze, S. Fanali, T. Farkas, B. Chankvetadze, Enantioseparation of Chiral Antimycotic Drugs by HPLC with Polysaccharide-Based Chiral Columns and Polar Organic Mobile Phases with Emphasis on Enantiomer Elution Order - Chromatographia (2013) 76:1449–1458 DOI 10.1007/s10337-013-2396-8.

[7] Separation of enantiomers of chiral basic drugs with amylose- and cellulose- phenylcarbamate-based chiral columns in acetonitrile and aqueous-acetonitrile in high-performance liquid chromatography with a focus on substituent electron-donor and electron-acceptor effects – I. Matarashvili, A. Chelidze, G. Dolidzea, G. Kobidzea, N. Zaqashvili, A. Dadianidze, I. Bacskay , A. Felinger, T. Farkas, B. Chankvetadzea, - Journal of Chromatography A Volume 1624, 2 August 2020, 461218.

[8] SINGLE CONVENTION ON NARCOTIC DRUGS , 1961 As amended by the 1972 Protocol amending the Single Convention on Narcotic Drugs, 1961, https://www.unodc.org/pdf/convention_1961_en.pdf

[9] Synthetic cathinones drug profile, https://www.euda.europa.eu/publications/drug-profiles/synthetic-cathinones_en

[10] The challenge of new psychoactive substances, UNODC, A Report from the Global SMART Programme March 2013, https://www.unodc.org/documents/scientific/NPS_Report.pdf

[11] New psychoactive substances (NPS) - United Nations Office on Drugs and Crime, accessed January 29, 2025, https://www.unodc.org/wdr2013/en/nps.html

[12] National Drug Situation Monitoring Center, Ministry of Justice of Georgia, "Annual Report on the Drug Situation 2022," Tbilisi, 2022. [Online]. Available: https://justice.gov.ge/files/iz7zjVX7E2Nb.pdf.

[13] European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction, "Synthetic stimulants – the current situation in Europe," *European Drug Report*, 11 June 2024. [Online]. Available: https://www.euda.europa.eu/publications/european-drug-report/2024/synthetic-stimulants_en.

[14] European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction, "Synthetic cathinones drug profile," *European Drug Report*, 11 June 2024. [Online]. Available: https://www.euda.europa.eu/publications/drug-profiles/synthetic-cathinones_en#publications

[15] Legislative Herald of Georgia, "Law of Georgia on New Psychoactive Substances." [Online]. Available: https://matsne.gov.ge/en/document/view/2330479?publication=3.

[16] Legislative Herald of Georgia, "Law of Georgia on Narcotic Drugs, Psychotropic Substances and Precursors and Narcological Assistance." [Online]. Available: https://matsne.gov.ge/en/document/view/1670322?publication=23

[17] One Hundred False-Positive Amphetamine Specimens Characterized by Liquid Chromatography Time-of-Flight Mass Spectrometry. Marin SJ, Doyle K, Chang A, Concheiro-Guisan M, Huestis MA, Johnson-Davis KL. J Anal Toxicol. 2016 Jan-Feb;40(1):37-42. doi: 10.1093/jat/bkv101. Epub 2015 Sep 4. PMID: 26342055; PMCID: PMC4731401.

[18] False-positive phencyclidine immunoassay results caused by 3,4-methylenedioxypyrovalerone (MDPV). Macher AM, Penders TM. Drug Test Anal. 2013 Feb;5(2):130-2. doi: 10.1002/dta.1371. Epub 2012 May 20. PMID: 22611039.

[19] G. Kobidze, A. F. Lo Faro, A. Balloni, G. Sprega, M. Massano, S. M. R. Wille, G. Basile, T. Farkas, A. Tini, F. P. Busardo, and B. Chankvetadze, "Simultaneous enantioselective determination of 2-, 3- and 4-methylmethcathinones, their isomers and major phase-1 metabolites in oral fluid of drug abusers using enantioselective high-performance liquid chromatography tandem mass-spectrometry," *Anal. Bioanal. Chem.*, vol. ABC-00021-2025, accepted for publication.

[20] G. Kobidze, G. Sprega, A. Balloni, A. F. Lo Faro, G. Basile, S. M. R. Wille, T. Farkas, F. P. Busardo, and B. Chankvetadze, "Simultaneous chemo- and enantio-separation of 2-, 3- and 4-

chloro-methcathinones by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry and its application to oral fluid samples," *J. Pharm. Biomed. Anal.*, vol. 248, p. 116293, 2024.

[21] Investigation of the Positional Isomers of Mephedrone and Clephedrone in the Urine Samples of Drug Abusers in Georgia - Dadianidze A*., Jorbenadze S., Tkemaladze V., Kobidze G., Jibuti G., Dolidze G., Lo Faro A.F., Busardo F.P., Chankvetadze B.. *J. Georgian engineering News*. (2025) DOI: https//doi.org/10.36073/1512-0287, ISSN 1512-0287

[22] S. Jorbenadze, T. Khatiashvili, L. Giunashvili, A. Chelidze, A. F. Lo Faro, S. Pichini, M. Farré, E. Papaseit, M. Nuñez-Montero, T. Farkas, J. Carlier, F. P. Busardo, and B. Chankvetadze, "Challenges encountered in the enantioselective analysis of new psychoactive substances exemplified by clephedrone (4-CMC)," *J. Pharm. Biomed. Anal.*, vol. 248, p. 116275, 2024.

[23] S. Jorbenadze, L. Giunashvili, T. Khatiashvili, A. Chelidze, V. Tkemaladze, G. Sprega, A. F. Lo Faro, G. Basile, T. Farkas, F. P. Busardo, and B. Chankvetadze, "Investigation of stereochemical stability of 2-, 3- and 4-chloromethcathinones in various biological matrices," *J. Pharm. Biomed. Anal.*, vol. 249, p. 116350, 2024.

[24] Chiral pharmacokinetics of tetramisole stereoisomers—Enantioselective quantification of levamisole and dexamisole in serum samples from users of adulterated cocaine. M.Losacker, M.Hundertmark, S.Zörntlein, J.Röhrich, C.Hess. First published: 20 January 2022. https://doi.org/10.1002/dta.3227

[25] Donna Blackmond, The origin of biological homochirality, https://www.researchgate.net/publication/51654839_The_origin_of_biological_homochirality#fullTextFileContent

[26] 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

[27] 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

[28] Schurig, V., Ossig, J., & Link, R. (1989). Evidence for a temperature dependent reversal of the enantioselectivity in complexation gas chromatography on chiral phases. Angewandte Chemie, 28(2), 194–196. https://doi.org/10.1002/anie.198901941;

[29] 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

[30] 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

[31] Ettre L.S. M.S. Tswett and the invention of chromatography. LCGC North America. 2003. Volume 21 Issue 5. 458-467

[32] Liquid Chromatography Fundamentals and Instrumentation. Fanali S. Haddad P.R. Poole C. Schoenmakers P. Lloyd D. Waltham USA. Elsevier. 2013. 520.

[33] Rogozhin S.V. Davankov V.A. Ligand xchange chromatography on asymetric complex-forming sorbents as a new method for resolution racemates. Journal of the Chemical Society D Chemical Communications. 1971. Issue 10. 490a-490a.

[34] Pirkle W.H. Finn J.M. Schreiner J.L. Hamper B.C. A wiedely usefull chiral stationary phase for high performance liquid chromatography separation of enantiomers. Journal of The American Chemical Society. 1981. Issue 103. 3964-3966.

[35] Blaschke G. Chromatographyc resolution of racemates. New analytical methods. Angewandte Chemie, International Edition in English. 1980. Issue 19. 13-24.

[36] Capillary Electrophoresis in Chiral Analysis. B. Chankvetadze. West Sussex, England. Wiley & Sons L.T.D. 1997. 561.

[37] ქეთევან ლომსაძე, მას-სპექტრომეტრია, ძირითადი პრინციპები და გამოყენება.

[38] 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

[39] Lomsadze K. Jibuti G. Farkas T. Chankvetadze B. Comparative high-performance liquid chromatgraphy 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

[40] 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

[41] 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

[42] 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

[43] 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

[44] 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

[45] 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

[46] 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

[47] 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

[48] 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

[49] 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.

[50] 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

[51] 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

[52] 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

[53] 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

[54] 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

[55] Krstulovic A.M. Rossey G. Porziemsky J.P. Long D. Chekrum I. Direct determination of the enantiomeric purity of (5S)-3-isopropyl-5-p-toluenesulphonyloxymethyloxazolidin-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

[56] 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

[57] A Practical Approach to Chiral Separation by Liquid Chromatography. Subramanian G. (Editor). New York USA. VCH. 1994. 405

[58] 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

[59] 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

[60] 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

[61] 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

[62] Davankov V.A. The nature of chiral recognition: Is it a three-point interaction. Chirality. 1997. Volume 9 Issue 2. 99-102

[63] 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

[64] 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

[65] A.F. Lo Faro, D. Berardinelli, G. Sprega, A. Tini, L. Poyatos, S. Pichini, M. Farrè, T. Farkas, F.P. Busardò, L. Giunashvili, B. Chankvetadze, Development of enantioselective high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for quantitative determination of methylone and some of its metabolites in oral fluid, J. Chromatogr. B. 1228 (2023) 123824. DOI: 10.1016/j.jchromb.2023.123824.

[66] 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

[67] 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

[68] 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

[69] 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.

[70] STAYING FREE FROM NEW PSYCHOACTIVE SUBSTANCES - Central Narcotics Bureau, accessed January 29, 2025, https://www.cnb.gov.sg/docs/default-source/educational-resources-documents/cnb_nps_fa_interactive.pdf

[71] Agilent Technologies, Inc., Agilent Bound Elut Certify and Certify II Method Manual M2707B, Printed in USA, Aug. 7, 2014, doc. 5991-4939EN.

[72] Chiral pharmacokinetics of tetramisole stereoisomers—Enantioselective quantification of levamisole and dexamisole in serum samples from users of adulterated cocaine. M.Losacker, M.Hundertmark, S.Zörntlein, J.Röhrich, C.Hess. First published: 20 January 2022. https://doi.org/10.1002/dta.3227.

პუბლიკაციები:

1) Enantioseparation of Chiral Antimycotic Drugs by HPLC with Polysaccharide-Based Chiral Columns and Polar Organic Mobile Phases with Emphasis on Enantiomer Elution Order - Antonina Mskhiladze · Marina Karchkhadze · Alexandre Dadianidze · Salvatore Fanali · Tivadar Farkas · Bezhan Chankvetadze - Chromatographia (2013) 76:1449–1458 DOI 10.1007/s10337-013-2396-8.

2) Separation of enantiomers of chiral basic drugs with amylose- and cellulose-phenylcarbamate-based chiral columns in acetonitrile and aqueous-acetonitrile in high-performance liquid chromatography with a focus on substituent electron-donor and electron-acceptor effects - Iza Matarashvili, Aluda Chelidze, Gizo Dolidze, Giorgi Kobidze, Nino Zaqashvili, Alexandre Dadianidze, Ivett Bacskay, Attila Felinger, Tivadar Farkas, Bezhan Chankvetadze - Journal of Chromatography A, Volume 1624, 2 August 2020, 461218.

3) Investigation of the Positional Isomers of Mephedrone and Clephedrone in the Urine Samples of Drug Abusers in Georgia - Dadianidze A*.,Jorbenadze S., Tkemaladze V., Kobidze G., Jibuti G., Dolidze G.,Lo Faro A.F., Busardo F.P., Chankvetadze B.. J. Georgian Engineering News. (2025) DOI: https//doi.org/10.36073/1512-0287, ISSN 1512-0287.