



ივანე ჯავახიშვილის სახელობის თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტი

ზუსტ და საბუნებისმეტყველო მეცნიერებათა ფაკულტეტი

ქიმიური ექსპერტიზა

ალუდა ჭელიძე

**კეტოპროფენის ენანტიომერების ადსორბციის
ქრომატოგრაფიული კვლევა პოლისაქარიდული ბუნების
ზოგიერთ ქირალურ ადსორბენტზე**

ნაშრომი შესრულებულია ქიმიის მაგისტრის (ქიმიური ექსპერტიზის სპეციალობით) აკადემიური ხარისხის მოსაპოვებლად

ხელმძღვანელები:

ქიმიის მეცნიერებათა დოქტორი, საქართველოს მეცნიერებათა ეროვნული აკადემიის აკადემიკოსი, ფიზიკური და ანალიზური ქიმიის კათედრის გამგე, პროფ. - ბეჟან ჭანკვეტაძე

ქიმიის აკადემიური დოქტორი, ასისტენტ პროფესორი გიორგი ჯიბუტი

თბილისი

2021 წელი

სარჩევი

ანოტაცია	3
Summary	4
1.შესავალი	5
2. ლიტერატურული მიმოხილვა.....	6
2.1 ქირალური ნივთიერებების ენანტიომერების დაყოფის მნიშვნელობა.....	6
2.1.2 ენანტიომერები და მათი კლასიფიკაცია.....	7
2.2 ენანტიომერების დაყოფის ინსტრუმენტული მეთოდები.....	9
2.2.1 გაზური ქრომატოგრაფია.....	9
2.2.2 ზევრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფია	10
2.2.3 კაპილარული ელექტროფორეზი	10
2.2.4 ქრომატოგრაფიის ზოგადი მიმოხილვა	11
2.2.5 აპარატურა მაღალეფექტურ სითხურ ქრომატოგრაფიაში	13
2.2.6 ძირითადი ქრომატოგრაფიული მახასიათებლები	15
2.3. თერმოდინამიკა.....	19
2.3.1 ზოგადი მიმოხილვა.....	19
2.3.2 ენანტიომერული ნარევების თერმოდინამიკური პარამეტრები	20
3. ექსპერიმენტული ნაწილი	22
3.1 გამოყენებული ხელსაწყო	22
3.2 გამოყენებული სტაციონალური ფაზები:	23
3.3 საანალიზო ნივთიერება:.....	24
4.მიღებული შედეგები და განსჯა.....	25
5.დასკვნები	39
6.გამოყენებული ლიტერატურა.....	40

ანოტაცია

ჩვენი კვლევის მიზანი იყო ენანტიომერების დაყოფის თერმოდინამიკური პარამეტრების შესწავლა მაღალეფექტურ სითხურ ქრომატოგრაფიაში, რაც საშუალებას იძლევა მოცემული ნივთიერებისთვის, მოცემულ სვეტზე წინასწარ განისაზღვროს ანალიზისთვის საჭირო პირობები და მიღწეულ იქნას სასურველი სელექტიურობა და ელუირების რიგი.

ექსპერიმენტებისთვის შეირჩა მჟავა ბუნების ქირალური ნივთიერება, კერძოდ არილპროპიონის მჟავას ნაწარმი კეტოპროფენი. არილპროპიონის მჟავას ნაწარმები არასტეროიდული, ანთების საწინააღმდეგო საშუალებებია. ამ ჯგუფის წამლები გამოიყენება, როგორც ტკივილგამაყუჩებელი პრეპარატები. მათი სტერეოიზომერების დაყოფა მნიშვნელოვანია, რადგან ხშირად მხოლოდ ერთი ენანტიომერი ხასიათდება ფარმაკოლოგიური აქტიურობით, ხოლო მეორე უმოქმედო ან ტოქსიკურიც კი არის.

ექსპერიმენტში გამოვიყენეთ ამილოზა ტრის(3,5-დიმეთილფენილკარბამატის), ცელულოზა ტრის(3,5-დიმეთილფენილკარბამატის) და ცელულოზა ტრის(3-ქლორო-4-მეთილფენილკარბამატის) სილიკაგელზე დაფენით მომზადებული ქირალური სტაციონარული ფაზები. ანალიზები ჩატარდა სხვადასხვა ტემპერატურაზე და ერთი და იმავე მოძრავი ფაზის გამოყენებით. გაანალიზებული ნივთიერების დაყოფის ფაქტორის ნატურალური ლოგარითმის დამოკიდებულების გრაფიკის მიხედვით აბსოლუტური ტემპერატურის შებრუნებულ სიდიდეზე, გამოვთვალეთ ადსორბციის ენთალპიისა და ენტროპიის მნიშვნელობები და მათი სხვაობები ორივე ენანტიომერისთვის. შევისწავლეთ ენტროპიულ თუ ენთალპიურ ხასიათს ატარებს მოცემულ სვეტზე ენანტიომერების დაყოფა და როგორია ტემპერატურის გავლენა შეკავებისა და დაყოფის პროცესებზე.

ამავდროულად ჩვენ დავინახეთ, რომ ტემპერატურა მნიშვნელოვან გავლენას ახდენს ქირალურ გამოცნობის მექანიზმზე. ჩვენი ინტერესი მდგომარეობდა იმაში, რომ გაგვერკვია ქირალური გამოცნობის მექანიზმის ცვლილება ხომ არ იყო გამწვეული ქირალური სელექტორის სტრუქტურის შეუქცევადი ცვლილებით. ამისათვის კეტოპროფენის

ენანტიომერების ანალიზი ჩავატარეთ 10-60°C ტემპერატურულ შუალედში 5° ინტერვალით, შემდეგ კი სვეტი გავაცივეთ 60°C-დან 10°C-მდე.

Summary

Chromatographic study of ketoprofen absorption on polysaccharide-based chiral absorbents

The goal of our research was the calculation of thermodynamic parameters of enantioseparation in high-performance liquid chromatography. This can help to predict the suitable analytical conditions for the given compound on given column and to achieve the desired selectivity and enantiomer elution order.

For the experiment several weakly acidic compounds were chosen, particularly arylpropionic acid derivatives, which are nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSIDs). They are used as painkillers and antipyretics. It is important to separate their stereoisomers, as frequently only one enantiomer has pharmacological activity and the other one is inactive or even toxic.

In this thesis only the behavior of one chiral substance-Ketoprofen is described in detail.

Also we compared thermodynamic parameters using amylose tris(3,5-dimethylphenyl carbamate), cellulose tris(3,5-dimethylphenyl carbamate) and cellulose tris(3-chloro-4-methylphenyl carbamate) coated on silica gel as stationary phases. Analyses were performed at various temperatures. For analyzed compounds, the values of adsorption enthalpy and adsorption entropy between enantiomers were calculated using the plot of natural logarithm of the separation factor versus the reciprocal of the absolute temperature. The goal was to evaluate whether enantioseparation was controlled by enthalpic or entropic term and what was the influence of temperature on retention and separation.

The results of this study have shown that temperature significantly affects chiral recognition pattern of polysaccharide phenylcarbamates. The question is if the change of chiral recognition pattern is caused by any chemical or structural change in the chiral selector, chiral analyte, both of them or, it

is the result of enthalpy-entropy compensation. In order to get some idea on this regard, the enantioseparation of ketoprofen was studied on Lux Amylose-1 column in the temperature range 10-60°C when increasing the column temperature with 5° increments and afterwards, when cooling of the same column with the same increments down to 10°C.

1. შესავალი

ქირალური ქიმიური ნივთიერებების ენანტიომერები ხშირ შემთხვევაში განსხვავდებიან ფიზიოლოგიური მოქმედებით. ამიტომაც მნიშვნელოვანია ასეთი ნივთიერებების ენანტიომერული სისუფთავის ანალიზი ან ქირალურად სუფთა სახით მიღება. ქირალურ ნივთიერებათა რიცხვს განეკუთვნება ქირალური სამკურნალო საშუალებები, სასოფლო-სამეურნეო შხამქიმიკატები, საკვები დანამატები და ასე შემდეგ. ასევე ენდოგენური ქირალური ნივთიერების ენანტიომერული შემადგენლობის ანალიზით მნიშვნელოვანი დასკვნები შეიძლება გაკეთდეს ნიმუშის ასაკის შესახებ, რაც მნიშვნელოვანია, როგორც კრიმინალისტიკაში, ასევე არქეოლოგიაში.

ენანტიომერები წარმოადგენს სივრცულ იზომერებს - ერთმანეთისგან განსხვავდება ატომთა ჯგუფების განლაგებით სივრცეში. ამიტომ აქირალურ გარემოში მათი ფიზიკური და ქიმიური თვისებები იდენტურია, გარდა ბრტყლად პოლარიზებული სინათლის ბრუნვის კუთხის ნიშნისა.

ფიზიკური და ქიმიური თვისებების იდენტურობის გამო ენანტიომერული ნივთიერებების დაყოფა აქირალურ გარემოში პრაქტიკულად შეუძლებელია. დიდი ხნის მანძილზეც მათი დაყოფა ქირალურ გარემოშიც გადაუჭრელ პრობლემას წარმოადგენდა. მხოლოდ გასული საუკუნის 60-იან წლებში მოხერხდა ენანტიომერული ნარევების ინსტრუმენტული მეთოდის გამოყენებით დაყოფა, კერძოდ გაზური ქრომატოგრაფიის გამოყენებით [1]. 1970-იანი წლებიდან განვითარდა ენანტიომერული ნარევების დაყოფის სითხურ-ქრომატოგრაფიული მეთოდები, ხოლო 80-იანი წლების ბოლოდან კაპილარული ელექტროფორეზული მეთოდები [2].

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

2. ლიტერატურული მიმოხილვა

2.1 ქირალური ნივთიერებების ენანტიომერების დაყოფის მნიშვნელობა

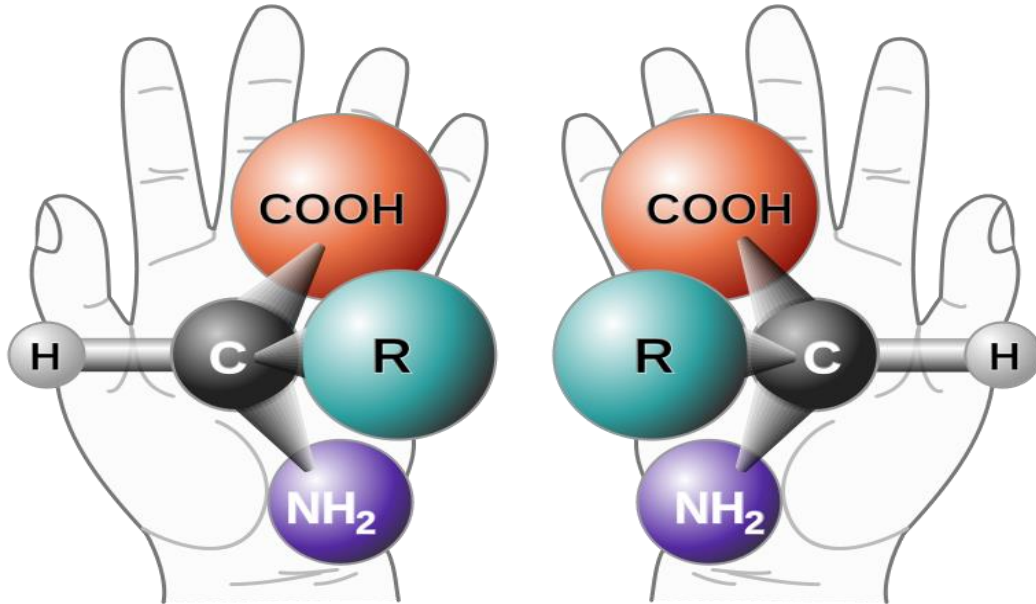
სამკურნალო საშუალებების ნახევარზე მეტი შეიცავს ერთი ქირალურ ცენტრს მაინც. ენანტიომერებმა ცოცხალ ორგანიზმში შეიძლება გამოავლინოს მკვეთრად განსხვავებული ბიოაქტივობა, როგორებიცაა ფარმაცოლოგიური, ტოქსიკოლოგიური, ფარმაცოკინეტიკური და მეტაბოლიტური აქტივობები. უკეთეს შემთხვევაში ერთი ენანტიომერის სასარგებლო აქტივობა გაცილებით მეტია ვიდრე მეორის. ხშირ შემთხვევებში ერთ ენანტიომერს არ გააჩნია შესამჩნევი ფიზიოლოგიური აქტივობა და მხოლოდ უსარგებლო მინარევია, ხოლო არის შემთხვევები, როდესაც მეორე ენანტიომერს გააჩნია ტოქსიკური ან სხვა ტიპის მავნე ზემოქმედება. ამის მაგალითია გასული საუკუნის 60- იან წლებში პრეპარატი თალიდომიდის შემთხვევა. ეს პრეპარატი რაცემული სახით ენიშნებოდათ ორსულ ქალებს როგორც დამამშვიდებელი საშუალება, თუმცა შემდეგ გაირკვა, რომ თალიდომიდის ერთ-ერთი ენანტიომერი იწვევდა ნაყოფში ფოკომელიას - კიდურების განუვითარებლობას. მსოფლიო მასშტაბით 10 000-მდე ასეთი შემთხვევაა რეგისტრირებული, სამწუხაროდ დაავადებული ახალშობილების მხოლოდ 50 % გადარჩა [3]. თუმცა შემდგომი კვლევებით გაირკვა, რომ თუნდაც სუფთა ენანტიომერული თალიდომიდის მიღების შემდეგ ორგანიზმში

მეტაბოლიზმის შედეგად ის განიცდის გარდაქმნას მის მავნე ქირალურ ანალოგში და წარმოადგენს საფრთხეს ნაყოფისათვის. ეს პრეპარატი დღეს-დღეობით აკრძალულია ფეხმძიმეებისთვის [4]. უკვე ოც წელიწადზე მეტია, რაც ამერიკის შეერთებული შტატების წამლისა და საკვები პროდუქტების სააგენტო -FDA რეკომენდაციას უწევს თითოეული ენანტიომერის ფარმაკოლოგიური თვისებების კვლევას ახალი სამკურნალო პრეპარატის დამუშავებისას, ან მხოლოდ ერთი ენანტიომერის გამოყენებას [5].

2.1.2 ენანტიომერები და მათი კლასიფიკაცია

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

როდესაც მოლეკულა არათავსებადია საკუთარ სარკულ გამოსახულებასთან, მას ქირალურს უწოდებენ, ხოლო არათავსებად სარკულ გამოსახულებებს - ენანტიომერებს. ქირალურ მოლეკულაში შეიძლება გვექონდეს ქირალობის ცენტრი, იგივე ასიმეტრიული ცენტი. ორგანული ნივთიერებების შემთხვევაში ხშირად ასეთ ცენტრს წარმოადგენს ნახშირბადის ატომი, რომელსაც ოთხი სხვადასხვა ჩამნაცვლებელი გააჩნია [6]. ასეთ ატომს სტერეოგენულ ნახშირბადატომს უწოდებენ.



სურათი. 1. ნახშირბადატომი (ქირალური ცენტრი) ოთხი სხვადასხვა ჩამნაცვლებლით.

თუმცა ხშირია შემთხვევები, როდესაც ქირალური ცენტრის როლს გოგირდი, ფოსფორი და აზოტის ატომები ასრულებს, როგორც მაგალითად ომეპრაზოლის, ციკლოფოსფამიდის და მეტაქვალონის მოლეკულებში, შესაბამისად. ოპტიკური აქტიურობის გამო, ენანტიომერებს ხშირად ოპტიკურ იზომერებსაც უწოდებენ, თუმცა ეს ტერმინი მოძველებულია და უმჯობესია მის გამოყენებას თავი ავარიდოთ. ოპტიკურ თვისებაზე დაფუძნებული კლასიფიკაციის მიხედვით, ენანტიომერები იყოფა მარცხნივ მბრუნავ (levorotary- l იზომერი) და მარჯვნივ მბრუნავ (dextrorotary- d იზომერი) იზომერებად. მარცხნივ მბრუნავი ხშირად აღინიშნება „-“ ნიშნით, ხოლო მარჯვნივ მბრუნავი „+“ ნიშნით, ხოლო d და l იზომერების ექვიმოლური (50/50) ნარევის რაცემატი ეწოდება და აღინიშნება „±“ ნიშნით, ან (d,l). რაცემატს არ გააჩნია ოპტიკური აქტივობა [7].

თანამედროვე (კან-ინგოლდ-პრელოგის) ნომენკლატურის მიხედვით, ენანტიომერების კლასიფიკაცია ხდება ჩამნაცვლებელი ჯგუფების 3 განზომილებიანი სივრცული განლაგების მიხედვით ქირალური ცენტრის გარშემო მოლეკულაში. ეს კლასიფიკაცია დაფუძნებულია კან-ინგოლდ-პრელოგის პრიორიტეტების წესზე, რომელიც გამოიყენება ორგანულ ქიმიაში ჩამნაცვლებელი ჯგუფების პრიორიტეტების განსაზღვრისთვის. ასიმეტრიულ ნახშირბადთან

ჩანაცვლებული ჯგუფების პრიორიტეტების განსაზღვრა ხდება რამდენიმე წესის თანმიმდევრობით. არსებობს სხვადასხვა წესი, თუმცა მათ შორის უმარტივესი შემდეგია: მაღალი რიგობრივი ნომრის მქონე ჩანაცვლებელი წინ უძღვის ნაკლები რიგობრივი ნომრის მქონე ჩანაცვლებელ ჯგუფს. თუკი ყველაზე მაღალი პრიორიტეტის ჯგუფიდან ყველაზე დაბალი პრიორიტეტის ჯგუფისკენ ათვლა მიმდინარეობს საათის ისრის მიმართულებით, მაშინ ენანტიომერის კონფიგურაციაა R (ლათინურიდან rectus- მარჯვნივ), ხოლო თუ ათვლა მიმდინარეობს საათის ისრის საწინააღმდეგო მიმართულებით, მაშინ ენანტიომერის კონფიგურაციაა S (ლათინურიდან sinistra - მარცხენა), რაცემული ნარევი აღინიშნება როგორც R,S. პირდაპირი კავშირი ამ ნომეკლატურასა და ბრტყლად პოლარიზებული სინათლის ბრუნვის ნიშანს შორის არ არსებობს. კონკრეტული მოლეკულის თვისებებიდან გამომდინარე შეიძლება გვექონდეს R(+) ან R(-) და S(+) ან S(-). მოლეკულის ოპტიკური აქტიურობა განისაზღვრება პოლარიმეტრის, ან წრიული დიქროიზმის ხელსაწყოს მეშვეობით, ხოლო ჩანაცვლებელი ჯგუფების სივრცული განლაგება ბირთვულ-მაგნიტური რეზონანსის, ანდა რენტგენოსტრუქტურული ანალიზით. R/S სამგანზომილებიანი კონფიგურაცია საშუალებას გვაძლევს ავხსნათ ენანტიომერების ურთიერთქმედება მათ ბიოლოგიურ რეცეპტორებთან [7].

თუ მოლეკულაში არის რამდენიმე ქირალური ცენტრი, ამ შემთხვევაში გვექნება სტერეოიზომერები, რომელთაგანაც ზოგიერთი წყვილი ენანტიომერულ თანაფარდობაში იქნება ერთმანეთთან (ერთმანეთის ენანტიომერი იქნება)

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

2.2 ენანტიომერების დაყოფის ინსტრუმენტული მეთოდები

2.2.1 გაზური ქრომატოგრაფია

ენანტიომერების ინსტრუმენტული მეთოდებით დაყოფა პირველად გასული საუკუნის 60-იან წლებში განხორციელდა გაზური ქრომატოგრაფიის მეთოდით და ქირალური სტაციონალური ფაზის გამოყენებით. გაზური ქრომატოგრაფია ანალიზის თეორიულად

ყველაზე უფრო ჩამოყალიბებული მეთოდია. გაზურ ქრომატოგრაფიაში მოძრავი ფაზა გაზია, მოძრავი ფაზის აგრეგატული მდგომარეობის მიხედვით განასხვავებენ გაზურ-ადსორბციულ და გაზურ-თხევად ქრომატოგრაფიას. დღესდღეობით გაზური ქრომატოგრაფიით ენანტიომერების დასაყოფად ორი მიდგომა არის გამოყენებული: პირდაპირი მიდგომისას ოპტიკური იზომერების დაყოფა ქირალური სტაციონალური ფაზების გამოყენებით ხდება, ხოლო არაპირდაპირი მიდგომის დროს ხდება საანალიზო ენანტიომერული ნარევის დერივატიზაცია ენანტიომერულად სუფთა ქიმიური დანამატებით და ხდება მიღებული დიასტერეომერების ანალიზი აქირალური სტაციონალური ფაზების გამოყენებით. გაზური ქრომატოგრაფია წარმატებით გამოიყენება დაბალი მოლეკულური მასის მქონე აქროლადი ნივთიერებებისთვის [7].

2.2.2 ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფია

ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფიის მეთოდის განვითარება 1960-იანი წლებიდან დაიწყო და მოიაზრებოდა როგორც გაზური ან მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფიის ჩამნაცვლებელი, თუმცა იგი დამოუკიდებელ მეთოდს წარმოადგენს, რომელიც ორივე ქრომატოგრაფიული მეთოდის უპირატესობებს აერთიანებს. ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფიაში ელუენტის როლს ძირითადად ასრულებს აირი, ან სითხე, რომლის წნევა და ტემპერატურა თერმოდინამიკური კრიტიკული წერტილის მაღლაა.

ყველაზე ფართოდ გამოყენებად ელუენტს ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფიაში CO₂ წარმოადგენს. რადგან ადვილია მისი ზეკრიტიკულ მდგომარეობაში მოყვანა, იგი იაფია, ეკოლოგიურად სუფთა, გამოსაყენებლად უსაფრთხო ინერტული აირია [7].

2.2.3 კაპილარული ელექტროფორეზი

კაპილარული ელექტროფორეზი ნივთიერებათა დაყოფის მძლავრი მეთოდია. ენანტიომერების დაყოფა კაპილარული ელექტროფორეზის მეშვეობით პირველად მე-20 საუკუნის 80-იან წლებში განხორციელდა. აღნიშნულ მეთოდს მნიშვნელოვანი უპირატესობები გააჩნია გაზურ და სითხურ ქრომატოგრაფიასთან შედარებით. კაპილარული

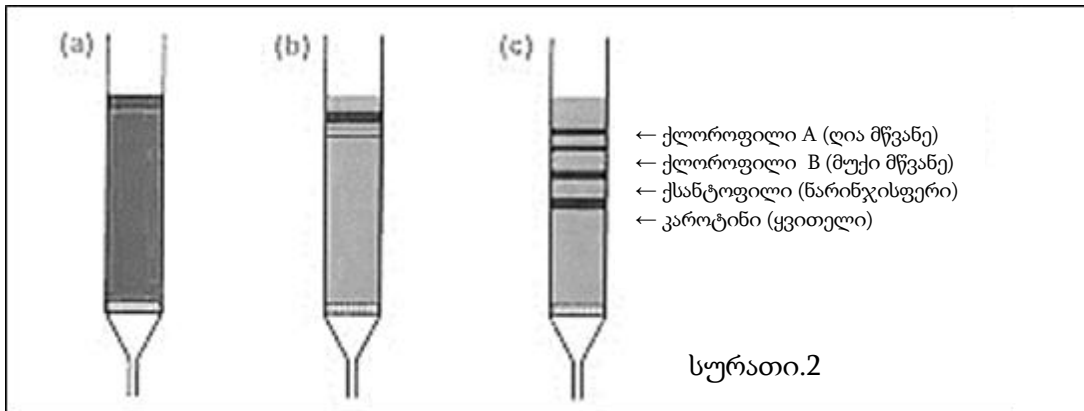
ელექტროფორეზის მეთოდით შეიძლება დაიყოს ისეთი ნივთიერებები, რომელთა დაყოფა საერთოდ არ ხერხდება გაზური და სითხური ქრომატოგრაფიის მეთოდებით. მის უპირატესობებს წარმოადგენს ანალიზის მცირე დრო, ნიმუშებისა და რეაგენტების მცირე რაოდენობა, ეფექტური დაყოფა, მოქნილობა და სხვა. ასევე კაპილარულ ელექტროფორეზული მეთოდი უფრო იაფია და ეკოლოგიურად სუფთაა, რადგან არ იყენებს ტოქსიკურ ორგანულ გამხსნელებს. მეთოდის ნაკლი შედარებით დაბალი მგრძობიარობა არის.

თანამედროვე კაპილარული ელექტროფორეზის ხელსაწყოები საშუალებას იძლევა ჩატარდეს არა მარტო ელექტროფორეზული, არამედ კაპილარული ელექტროქრომატოგრაფიული ექსპერიმენტები, რომელიც წარმოადგენს კაპილარულ სითხურ ქრომატოგრაფიის და კაპილარულ ელექტროფორეზის კომბინაციას [8].

2.2.4 ქრომატოგრაფიის ზოგადი მიმოხილვა

ქრომატოგრაფია ნარევთა შემადგენელ კომპონენტებად დაყოფის მეთოდია, რომელიც დამყარებულია კომპონენტების არათანაბარ განაწილებაზე ორ შეურევად ფაზას შორის. ამ ორი ფაზიდან ერთი მოძრავია და მეორე უძრავი-სტაციონალური [9]. გამოყენებული აპარატურისა და ფაზების მიხედვით განარჩევენ ქრომატოგრაფიის მრავალ სახეობას (ქაღალდის ქრომატოგრაფია, გაზური ქრომატოგრაფია, სითხური ქრომატოგრაფია, იონგაცვლითი ქრომატოგრაფია).

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



მე-20 საუკუნის პირველ ნახევარში მეცნიერების არჩერ ჯ.კ. მარტინის და რიჩარდ ლ.მ. სინჯის შრომებმა საფუძველი ჩაუყარა გაზური ქრომატოგრაფიის და ქაღალდის ქრომატოგრაფიის ტექნიკას, ასევე სითხურ ქრომატოგრაფიას, რომელიც მე-20 საუკუნის მეორე ნახევარში განვითარდა როგორც მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფია (HPLC). მკვლევარებმა აღმოაჩინეს, რომ ცვეტის მიერ მიღებული ქრომატოგრაფიული პრინციპები შეგვიძლია მრავალნაირად გამოვიყენოთ, ზოგად ტექნოლოგიურ პროგრესთან ერთად ქრომატოგრაფიული მეთოდები და აპარატურა ძალზე მრავალფეროვანი გახდა [10].

მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფია არის ქრომატოგრაფიის ტიპი, სადაც უძრავი ფაზა მოთავსებულია მეტალის მილში-ქრომატოგრაფიულ სვეტში, ხოლო მოძრავი ფაზა მაღალი წნევის ტუმბოს საშუალებით გადაადგილდება და გადაიტანს ნარევის კომპონენტებს, რომლებიც შეჰყავთ ინჟექტორის საშუალებით. კომპონენტების განსხვავებული სწრაფვის გამო მოძრავი და უძრავი ფაზის მიმართ იყოფიან ქრომატოგრაფიულ სვეტში და დატოვებენ სვეტს, რის შემდეგაც ხდება მათი რეგისტრაცია ულტრაიისფერი დეტექტორით [11]. დეტექტორში ხდება მასში გამავალი ნაკადის ფიზიკური, ან ქიმიური პარამეტრის გაზომვა, რომლის შედეგადაც აიგება სიგნალის დროზე დამოკიდებულების გრაფიკი - ქრომატოგრამა. ქრომატოგრამაზე კომპონენტები წარმოდგენილია პიკების სახით, პიკის გამოსვლის დროის მიხედვით ხდება ნივთიერების იდენტიფიკაცია და ვიღებთ კითხვაზე პასუხს თუ რა გვაქვს, ხოლო პიკის ფართობის მიხედვით ნივთიერების რაოდენობის დადგენა ანუ კითხვაზე პასუხი - რამდენი გვაქვს .

სითხურ ქრომატოგრაფიაში მოძრავ ფაზას ასევე უწოდებენ ელუენტს, ასევე გამხსნელსაც, რადგანაც გამოიყენება ისეთი ნვითიერებები როგორებიცაა ჰექსანი, მეთანოლი, იზოპროპანოლი, აცეტონიტრილი, ტეტრაჰიდროფურანი, წყალი და ა.შ. [11].

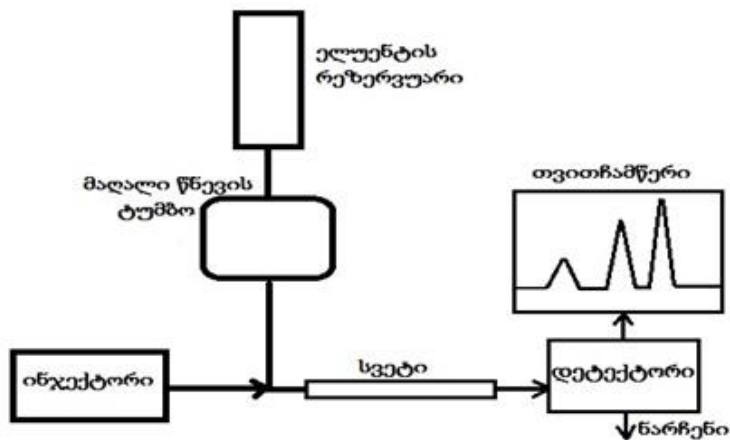
მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფია გამოყენებული ფაზების მიხედვით იყოფა რამდენიმე ქვეჯგუფად, ფაზების პოლარობის მიხედვით განარჩევენ ნორმალურფაზიან (ანუ პირდაპირ) და შებრუნებულფაზიან სითხურ ქრომატოგრაფიას.

ნორმალურფაზიან სითხურ ქრომატოგრაფიაში სტაციონარული ფაზა არის პოლარული, ხოლო მოძრავი ფაზა არაპოლარული (ხშირად ჰექსანი, ან ჰექსანის და მცირედ პოლარული ორგანული გამხსნელის ნარევი). რადგანაც უძრავი ფაზა პოლარულია, მასზე უფრო ძლიერად შეკავდება პოლარული ნვითიერებები, შესაბამისად ისინი უფრო გვიან დატოვებენ სვეტს, ხოლო სვეტს პირველად დატოვებს არაპოლარული ნვითიერებები.

შებრუნებულ ფაზიან სითხურ ქრომატოგრაფიაში კი სტაციონარული ფაზა არის არაპოლარული (სილიკაგელი, რომლის ზედაპირი მოდიფიცირებულია სწორჯაჭვიანი ალკანებით, ხშირად ესენია C18H37 და C8H17 ჯგუფები, შესაბამისად ამ ფაზებს C18 და C8 ფაზები ეწოდებათ) ხოლო მოძრავი ფაზა არის პოლარული, ხშირად წყალი და ორგანული ნვითიერების ნარევი, მაგალითად წყალი- იზოპროპანოლი. ასევე გამოიყენება ბუფერული ხსნარებიც (ფოსფატური და აცეტატური ბუფერები). ამ დროს სტაციონარულ ფაზაზე ძლიერად შეკავდება არაპოლარული ნვითიერებები, ხოლო პოლარული ნვითიერებები პირველები დატოვებენ სვეტს [11].

2.2.5 აპარატურა მაღალეფექტურ სითხურ ქრომატოგრაფიაში

მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფი შედგება ხუთი ძირითადი ნაწილისგან, თუმცა შესაძლებელია დამატებით სხვა ბლოკების გამოყენებაც.



ნახაზი.1 სითხური ქრომატოგრაფის სქემა

ძირითადი ნაწილებია:

ტუმბო

ინჯექტორი

სვეტი

დეტექტორი

მონაცემების ჩამწერი მოწყობილობა

ტუმბოს მეშვეობით ქრომატოგრაფიულ სვეტს მიეწოდება მოძრავი ფაზა. ტუმბოები, რომელიც მაღალეფექტურ სითხურ ქრომატოგრაფიაში გამოიყენება ორ კლასად იყოფა, არსებობს გრადიენტული და იზოკრატული ტუმბოები, ეს უკანასკნელი გამოიყენება იმ შემთხვევაში, როცა არა არის საჭირო მოძრავი ფაზის შემადგენლობის გრადიენტული ცვლილება, ხოლო ქრომატოგრაფიულ ექსპერიმენტში, როდესაც მოძრავი ფაზის შემადგენლობის ცვლილებაა საჭირო, გამოიყენება გრადიენტული ტუმბო. რაც შეეხება ინჯექტორს, იგი ნიმუშის ქრომატოგრაფიულ სვეტში შემყვანი მოწყობილობაა, იგი ორი სახისაა: ხელის და ავტომატური ინჯექტორი. ავტომატური ინჯექტორები უზრუნველყოფენ

ნიმუშების ზუსტი რაოდენობით შეყვანას რაც შეიძლება მცირე დაბინძურებით, ხოლო ხელის ინჟექტორის ერთადერთი უპირატესობა მისი სიიაფია.

შემდეგი ბლოკი ქრომატოგრაფიული სვეტია, რომელშიც ხდება ნივთიერებების ნარევის ცალკეულ კომპონენტებად დაყოფა. გამოიყენება სხვადასხვა ზომის სვეტები, როგორც წესი ქრომატოგრაფიული სვეტი წარმოადგენს მეტალის მილს, რომელიც შევსებულია სტაციონალური ფაზით. მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფიის განვითარებასთან ერთად განვითარება განიცადა სვეტებმა და დღესდღეობით სულ უფრო ფართოდ გამოიყენება მცირე ზომის სვეტები. დეტექტორის საშუალებით ხდება დაყოფილი კომპონენტების რეგისტრაცია, ყველაზე ფართო გამოყენება აქვს ულტრაისფერ-ხილულ დეტექტორებს, რომლებიც კიუვეტაში გამავალი ხსნარის მიერ სინათლის აბსორბციას აფიქსირებენ. ამ ტიპის დეტექტორების მრავალი ვარიანტი არსებობს : ერთტალღიანი, მრავალტალღიანი, დიოდური დეტექტორები. ბოლო ნაწილი არის ჩამწერი, რომელიც დეტექტორიდან მიწოდებულ ინფორმაციას ჩაწერს ქრომატოგრამის სახით [11].

მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფია მრავალ დარგში გამოიყენება. სამკურნალწამლო საშუალებათა უმრავლესობა ქირალური ბუნების არის, ამის გამო ბაზარზე გატანამდე უნდა იქნას შემოწმებული და საფუძვლიანად შესწავლილი. საჭიროების შემთხვევაში ქირალური ბუნების სამკურნალწამლო საშუალების ენანტიომერები უნდა დაიყოს და მანვე ზემოქმედების ენანტიომერი მოცილდეს. ბოლო დროს ენანტიომერულად სუფთა პრეპარატების დამზადება მნიშვნელოვნად გაიზარდა.

2.2.6 ძირითადი ქრომატოგრაფიული მახასიათებლები

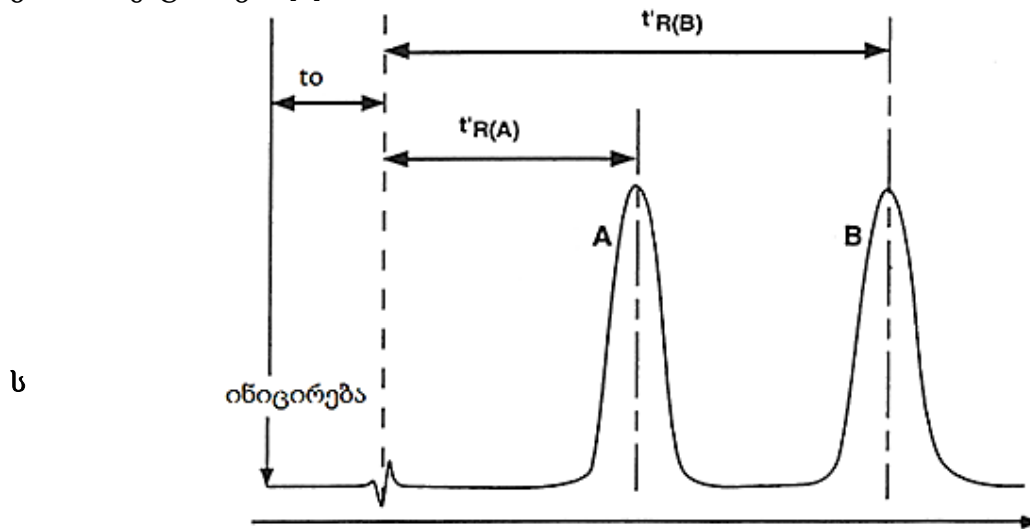
ქრომატოგრამა წარმოადგენს ორგანოზომილებიან ჩანაწერს, რომლის ერთ ღერძზე გადაზომილი არის საანალიზო ნივთიერებათა შეკავების დრო (t_R), ხოლო მეორეზე სიგნალის ინტენსივობა. ნივთიერების შეკავების დრო ანალიზის მოცემულ პირობებში დამოკიდებულია მის თერმოდინამიკურ მახასიათებელზე - განაწილების კოეფიციენტზე (K_d) მოძრავ და უძრავ ფაზებს შორის. ანუ შეკავების დრო წარმოადგენს ნივთიერების თვისებრივ მახასიათებელს და შესაძლებელია გამოვიყენოთ მის გამოსაცნობად, ხოლო სიგნალის ინტენსივობა

დამოკიდებულია ნიმუშში არსებული მოცემული კომპონენტის რაოდენობაზე და შეიძლება გამოვიყენოთ მისი რაოდენობის საზომად [11]. ქრომატოგრამის ძირითადი მახასიათებლებია:

- **შეკავების დრო t_R** – არის დროის მონაკვეთი ნიმუშის სვეტში შეყვანის მომენტიდან ქრომატოგრამაზე პიკის მაქსიმუმის მიღწევამდე. თუ პიკი სიმეტრიულია, შეკავების დრო არ არის დამოკიდებული ნიმუშის რაოდენობაზე. მისი გამოთვლა შეიძლება ფორმულით:

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

სადაც t_0 არის არააადსორბირებადი კომპონენტის ელუირების დრო; t'_R არის შესწორებული შეკავების დრო და გამოხატავს სტაციონალურ ფაზაზე ყოფნის დრო კომპონენტისთვის [4]:



ნახაზი. 2 ქრომატოგრაფიული პარამეტრები

t_R მოძრავი ფაზის წრფივი სიჩქარის ფუნქციაა, იგი სვეტის სიგრძეზეა დამოკიდებული, ამიტომ შეკავების უფრო ზოგადი პარამეტრია:

- **შეკავების მოცულობა V_R** - შეკავების ზოგადი პარამეტრია, ის მოძრავი ფაზის მილილიტრების რიცხვია, რომელიც უნდა გავატაროთ სვეტში, რათა ნიმუში ელუირდეს. იგი გამოითვლება ფორმულით [12]:

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

სადაც F - მოძრავი ფაზის მოცულობითი სიჩქარეა [მლ/წთ]. სვეტის მკვდარი მოცულობა V_M - არის სვეტში მოძრავი ფაზის საერთო მოცულობა დეტექტორის ფანჯრამდე [12].

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

- **შეკავების ფაქტორი k** - არის შეკავების ძირითადი პარამეტრი, ის არ არის დამოკიდებული მოძრავი ფაზის სიჩქარეზე და სვეტის სიგრძეზე. თუ მოძრავი ფაზა ნელა გადაადგილდება ან სვეტი გრძელია მაშინ ერთნაირად იზრდება t_0 და შესაბამისად t_R -იც.

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

k წარმოადგენს ნივთიერების მოლური კონცენტრაციების ფარდობას სტაციონალურ და მოძრავ ფაზებში.

$$k = \frac{n_{სტაგ.}}{n_{მოძრ.}} \quad (5)$$

სასურველია პარამეტრი k იყოს 1÷5 შუალედში, თუ $k < 1$ ნიშნავს, რომ ნიმუშმა სვეტი ძალიან მალე გაიარა ანუ არ შეკავდა სტაციონალურ ფაზაზე, ხოლო თუ $k > 5$ ნიშნავს, რომ ანალიზს სჭირდება დიდი დრო. თუ ადსორბენტი წვრილფოროვანია მაშინ k -ს აქვს უფრო დიდი მნიშვნელობა ნაკლებად ფოროვან და უფრო ადსორბენტებთან შედარებით.

- **დაყოფის ფაქტორი ანუ სელექტივობა α** - შეკავების ფაქტორების ფარდობაა, შესაბამისად თუ კომპონენტებს აქვთ ერთნაირი k -ს მნიშვნელობა ისინი ვერ დაიყოფა.

$$\alpha = \frac{k_2}{k_1} = \frac{(t_{R_2} - t_0)}{(t_{R_1} - t_0)} \quad (6)$$

სადაც $k_2 > k_1$ თუ $\alpha = 1$, ნიშნავს რომ ნარევი არ დაიყო. α -ზე გავლენას ახდენს სტაციონალური და მოძრავი ფაზები, მათი ცვლილებით α იცვლება.[12]

- **გარჩევითობა Rs** - ნივთიერებათა ქრომატოგრაფიული დაყოფის ხარისხის დასახასიათებლად საუკეთესო პარამეტრს წარმოადგენს, რადგან შედის როგორც პიკებს შორის დაშორების დამახასიათებელი პარამეტრი $(t_{R_2} - t_{R_1})$, ასევე პიკების სიგანეები. Rs გამოითვლება მეზობელი პიკების მაქსიმუმებს შორის მანძილის ფარდობით პიკების სიგანეების ჯამთან [12]:

$$Rs = 2 \frac{(t_{R2} - t_{R1})}{(W_1 - W_2)} \quad (7)$$

$$Rs = 1.18 \frac{(t_{R2} - t_{R1})}{(W_{(1/2)1} - W_{(1/2)2})} \quad (8)$$

სადაც W არის პიკის სიგანე ფუძესთან ხოლო $W_{(1/2)}$ არის პიკის სიგანე პიკის ნახევარ სიგანეზე. თუ $Rs = 1.25$ მაშინ დაყოფა სრულია, თუ $Rs > 1.5$ ნიშნავს, რომ ანალიზს სჭირდება დიდი დრო.

- **თეორიული თევშების რიცხვი N** - ამ პარამეტრით ქრომატოგრაფიული პიკის ეფექტურობა ხასიათდება. ქრომატოგრაფიული სვეტის მათემატიკურ ეკვივალენტს წარმოადგენს სვეტს თევშებით, რომელთაგან თითოეულზე ხდება კომპონენტის წონასწორული განაწილება თევშსა და მოძრავ ფაზას შორის.

$$N = 16 \left(\frac{t_R}{W} \right)^2 \quad (9)$$

$$N = 5.54 \left(\frac{t_R}{W_{(1/2)}} \right)^2 \quad (10)$$

თეორიული თევშების რიცხვი დაკავშირებულია ქრომატოგრაფიულ სვეტში ზონის გაფართოებასთან. მიგრაციის დროის გაზრდით ზონა ფართოვდება, ანუ თეორიული თევშების რიცხვი სვეტის სიგრძის პროპორციულია. რაც უფრო გრძელია სვეტი, უკეთესია გარჩევითობა, მაგრამ ხანგრძლივდება ანალიზი.

- **თეორიული თევშების ეკვივალენტური სიმაღლე H** - არის მანძილი, რომელზედაც მიიღწევა ქრომატოგრაფიული წონასწორობა. გამოითვლება ფორმულით [12]:

$$H = L/N \quad (11)$$

თეორიული თევშების ეკვივალენტური სიმაღლე H უკავშირდება ვან-დეემტერის განტოლებას:

$$H = A + B/U + CU \quad (12)$$

სადაც U არის მოძრავი ფაზის სიჩქარე, A - გრიგალისებური დიფუზია; B - დიფუზია ქრომატოგრაფიული სვეტის გასწვრივ (ლონგიტუდინალური დიფუზია); C - მასის გადატანა.

მოძრავი ფაზის ნაკადის ოპტიმალური მნიშვნელობის პოვნა შესაძლებელია ვან-დეემტერის განტოლების დიფერენციალური ფორმიდან:

$$\frac{dH}{dU} = -\frac{B}{U^2} + C \quad (13)$$

ოპტიუმის პირობიდან გამომდინარე, ოპტიუმის წერტილში: $dH/dU = 0$, ანუ

$$U^2 = B/C \quad (14)$$

2.3. თერმოდინამიკა

2.3.1 ზოგადი მიმოხილვა [13,14]

ენერჯის სხვადასხვა სახეების ურთიერთგარდაქმნის კანონებს შეისწავლის თეორიული ფიზიკის დარგი - თერმოდინამიკა. თუნდაც ერთი თერმოდინამიკური პარამეტრის (წნევა, მოცულობა, ტემპერატურა, ქიმიური შედგენილობა და სხვა) მნიშვნელობის შეცვლა ნიშნავს სისტემის მდგომარეობის ცვლილებას.

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

$$\delta q = dU + \delta A \quad (15)$$

სადაც, q არის სისტემის მიერ გარემოდან მიღებული სითბო

A - სისტემის მიერ შესრულებული მუშაობა

იზობარულ პროცესებში. ანუ როცა $P = const$, მაშინ

$$\delta q = dU + d(PdV) = d(U + PV) \quad (16)$$

სადაც:

- $PdV=A_{\text{გზ}}, A_{\text{გზ}}$ - მექანიკური გაფართოება.
- სიდიდე $U + PV$ -ს ეწოდება **ენტალპია** და აღინიშნება H სიმბოლოთი, SI სისტემაში მისი ერთეულია ჯოული.
- **დაყვანილი სითბო** - სისტემის მიერ მიღებული სითბოს შეფარდებაა იმ ტემპერატურასთან, რომელზედაც მოხდა სითბოს მიღება.
- **ენტროპია** S - სისტემის მოუწესრიგებლობის გარკვეული საზომია, რომელიც შექცევადი პროცესების დროს უტოლდება დაყვანილ სითბოთა ჯამს.

$$dS \equiv \left(\frac{\delta q}{T} \right)_{\text{შეც.}} \quad (17)$$

SI სისტემაში მისი ერთეულია ჯოული/გრადუსი. თუ განიხილება ერთი ინდივიდუალური ნივთიერება, მაშინ ენტროპიას ხშირად ანგარიშობენ 1 მოლის მიმართ და მისი ერთეული იქნება ჯოული/(მოლი·გრადუსი).

2.3.2 ენანტიომერული ნარევების თერმოდინამიკური პარამეტრები

გიბს-ჰელმჰოლცის განტოლების მიხედვით:

$$\Delta G^0 = \Delta H^0 - T\Delta S^0 = -RT \ln K \quad (18)$$

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

$$k = K\phi \quad (19)$$

ვანტ-ჰოფის განტოლების გამოყენებით შეიძლება აღიწეროს შეკავების ფაქტორის ტემპერატურაზე დამოკიდებულება [15] :

$$\ln k = -\frac{\Delta H^0}{R} \cdot \frac{1}{T} + \frac{\Delta S^0}{R} + \ln \phi \quad (20)$$

თუ ფორმულის მიხედვით ავაგებთ $\ln k$ -ს $1/T$ -სთან დამოკიდებულების გრაფიკს, მაშინ საანალიზო ნივთიერების ადსორბციის (მოძრავი ფაზიდან სტაციონარულ ფაზაში გადასვლის) სტანდარტული მოლური ენთალპიის ცვლილება გამოითვლება წრფის დახრის კუთხის მიხედვით, ხოლო ადსორბციის მოლური ენტროპიის ცვლილება - ორდინატთა ღერძთან გადაკვეთის მიხედვით და ფაზური თანაფარდობის გათვალისწინებით.

ენანტიომერების დაყოფისას ადსორბციის თავისუფალი ენერგიის ცვლილება ჩაიწერება, როგორც:

$$\Delta_{S,R}\Delta G^0 = \Delta_{S,R}\Delta H^0 - T\Delta_{S,R}\Delta S^0 = -RT \ln \frac{K_S}{K_R} \quad (21)$$

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

ტემპერატურის ზრდისას ნელ-ნელა იზრდება ენტროპიული წილი და რაღაც ტემპერატურაზე, რომელსაც იზოენანტიოსელექტიურ ტემპერატურას უწოდებენ (T_{iso}), ენთალპიური ნაწილი და ენტროპიული ნაწილი ერთმანეთს გაუტოლდება:

$$\Delta_{S,R}\Delta H^0 = T\Delta_{S,R}\Delta S^0 \quad (22)$$

ამ დროს ადსორბციის თავისუფალი ენერგიის ცვლილება იქნება ნული

$$\Delta_{S,R}\Delta G^0 = 0 \quad (23)$$

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

დაყოფის ფაქტორის α -ს მნიშვნელობის გათვალისწინებით ($\alpha = K_S/K_R$ (24)), შეიძლება ჩაიწეროს დაყოფის ფაქტორის ლოგარითმის დამოკიდებულება აბსოლუტური ტემპერატურის შერბრუნებულ სიდიდეზე და აგებული გრაფიკიდან გამოითვალოს ადსორბციის ენთალპიის და ადსორბციის ენტროპიის სხვაობები ორ ენანტიომერს შორის:

$$\ln \alpha = -\frac{\Delta_{S,R}\Delta H^0}{R} \cdot \frac{1}{T} + \frac{\Delta_{S,R}\Delta S^0}{R} \quad (25)$$

3. ექსპერიმენტული ნაწილი

3.1 გამოყენებული ხელსაწყო

ჩვენ მიერ გამოყენებული ხელსაწყო იყო Agilent 1200 სერიის მაღალეფექტური

სითხური ქრომატოგრაფი. მისი ძირითადი ნაწილებია: ტუმბო, ინჯექტორი, თერმოსტატი, და ულტრაიისფერი დეტექტორი. ხელსაწყო უკავშირდება კომპიუტერს, რომელშიც სპეციალური პროგრამის დახმარებით შესაძლებელია ხელსაწყოს მართვა და შედეგების დამუშავება. იგი აღჭურვილია Quaternary 0491-0131 ტუმბოთი, რომელიც საშუალებას იძლევა განავითაროს ნაკადის სიჩქარის 5 მლ/წთ-მდე და 400 ბარ წნევამდე. ინჯექტორის ფანჯარაში თავსდება ვიალების ორი თარო, ჯამში $n \times 9 \times 2 = 96$ ვიალით; ინჯექტორების მოცულობა 100 მკლ-მდეა. სვეტი თავსდება თერმოსტატის ბლოკში, აღნიშნულ ხელსაწყოზე თერმოსტატი მუშაობს - 5 °C-დან 100 °C-მდე. რაც შეეხება დეტექტორს, მისი დიაპაზონი 190-600 ნმ-ია, ანუ მოიცავს ულტრაიისფერ უბანს და ხილული უბნის ნაწილს. კომპიუტერული სისტემის მეშვეობით, Agilent ChemStation for LC & LC/MS Systems პროგრამის დახმარებით ხდება ხელსაწყოს მართვა და შედეგების დამუშავება.



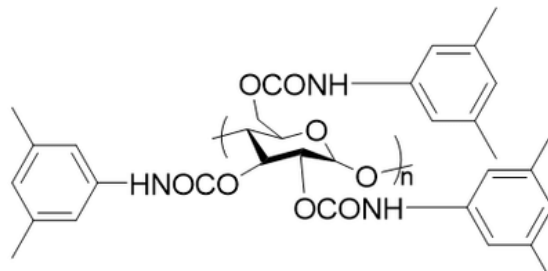
- ბინარული ტუმბო
- ნიმუშების ავტომატური მიმწოდებელი
- სვეტების თერმოსტატი
- დეტექტორი

სურათი. 3 მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფი

3.2 გამოყენებული სტაციონალური ფაზები:

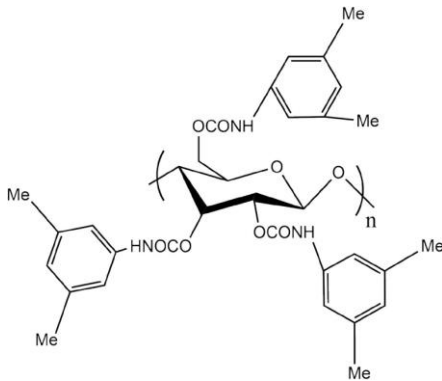
ექსპერიმენტში გამოვიყენეთ სილიკაგელზე დაფენით მომზადებული შემდეგი სტაციონალური ფაზები:

- ✓ ამილოზა ტრის(3,5-დიმეთილფენილკარბამატი) (ამილოზა-1)
- ✓ ცელულოზა ტრის(3,5-დიმეთილფენილკარბამატი) (ცელულოზა-1)
- ✓ ცელულოზა ტრის(3-ქლორო-4-მეთილფენილკარბამატი) (ცელულოზა-2)



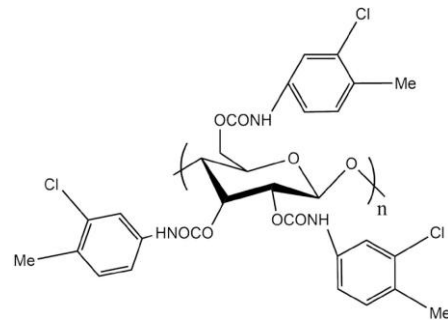
ამილოზა ტრის (3,5- დიმეთილფენილკარბამატი)

Lux Amylose 1



ცელულოზა ტრის (3,5- დიმეთილფენილკარბამატი)

Lux Cellulose 1



ცელულოზა ტრის 3-ქლორო-4-მეთილფენილკარბამატი)

Lux Cellulose 2

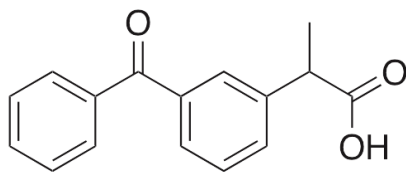
გამოყენებული მოძრავი ფაზა:

ექსპერიმენტში მოძრავ ფაზად გამოვიყენეთ ნ-ჰექსანისა და ეთანოლის ნარევი 98.5/1.5 მოცულობითი თანაფარდობით. გარდა ამისა, გამოვიყენეთ მჟავა დანამატი - ჭიანჭველამჟავა, მოძრავ ფაზის მთელი მოცულობის 0.1 %-ის ოდენობით. საერთოდ, მჟავა ან ფუძე დანამატები მოძრავ ფაზაში ფართოდ გავრცელებული მეთოდია და მიიჩნევა, რომ ისინი აუმჯობესებს დაყოფას, შესაბამისად, მჟავა ბუნებისა და ფუძე ბუნების ნაერთებისთვის [16, 17].

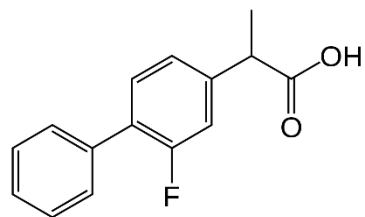
3.3 საანალიზო ნივთიერება:

ექსპერიმენტში გამოყენებული ნივთიერება არის არილპროპიონის მჟავას ნაწარმი. ამ ჯგუფის რამდენიმე ნივთიერება გამოიყენება, როგორც არასტეროიდული, ანთების საწინააღმდეგო საშუალება, მათ „პროფენებსაც“ უწოდებენ. ისინი გამოიყენება, როგორც ტკივილგამაყუჩებელი, ასევე შეშუპების, ართრიტისგან გამოწვეული ქსოვილების დაზიანების სამკურნალოდ. ანალგეზიური და ანთების საწინააღმდეგო მოქმედება განაპირობებს მათ სიცხის დამწვევ მოქმედებასაც [18].

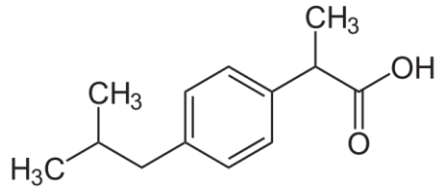
ქვემოთ მოცემულია არილპროპიონის მჟავას ნაწარმის რამდენიმე სტრუქტურა, რომელთაგან მოცემულ ნაშრომში განხილული იქნება მხოლოდ კეტოპროფენის შედეგები:



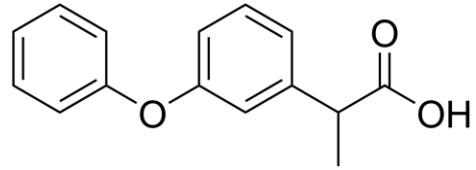
კეტოპროფენი



ფლურბიპროფენი



იბუპროფენი



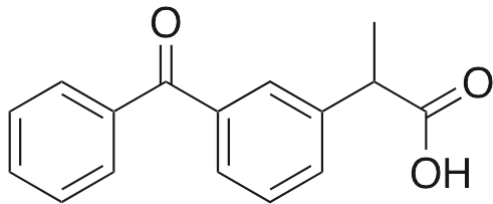
ფენოპროფენი

ანალიზის პირობები:

- მოძრავი ფაზის ნაკადის სიჩქარე: 2მლ/წთ
- დეტექტორის ტალღის სიგრძე: 220 ნმ
- ტემპერატურა: ტემპერატურას ვცვლიდით 10⁰C-დან 60 ⁰C-ის ჩათვლით 5 ⁰C-ს ბიჯით, სამივე სტაციონალური ფაზის შემთხვევაში.

4. მიღებული შედეგები და განსჯა

კეტოპროფენი



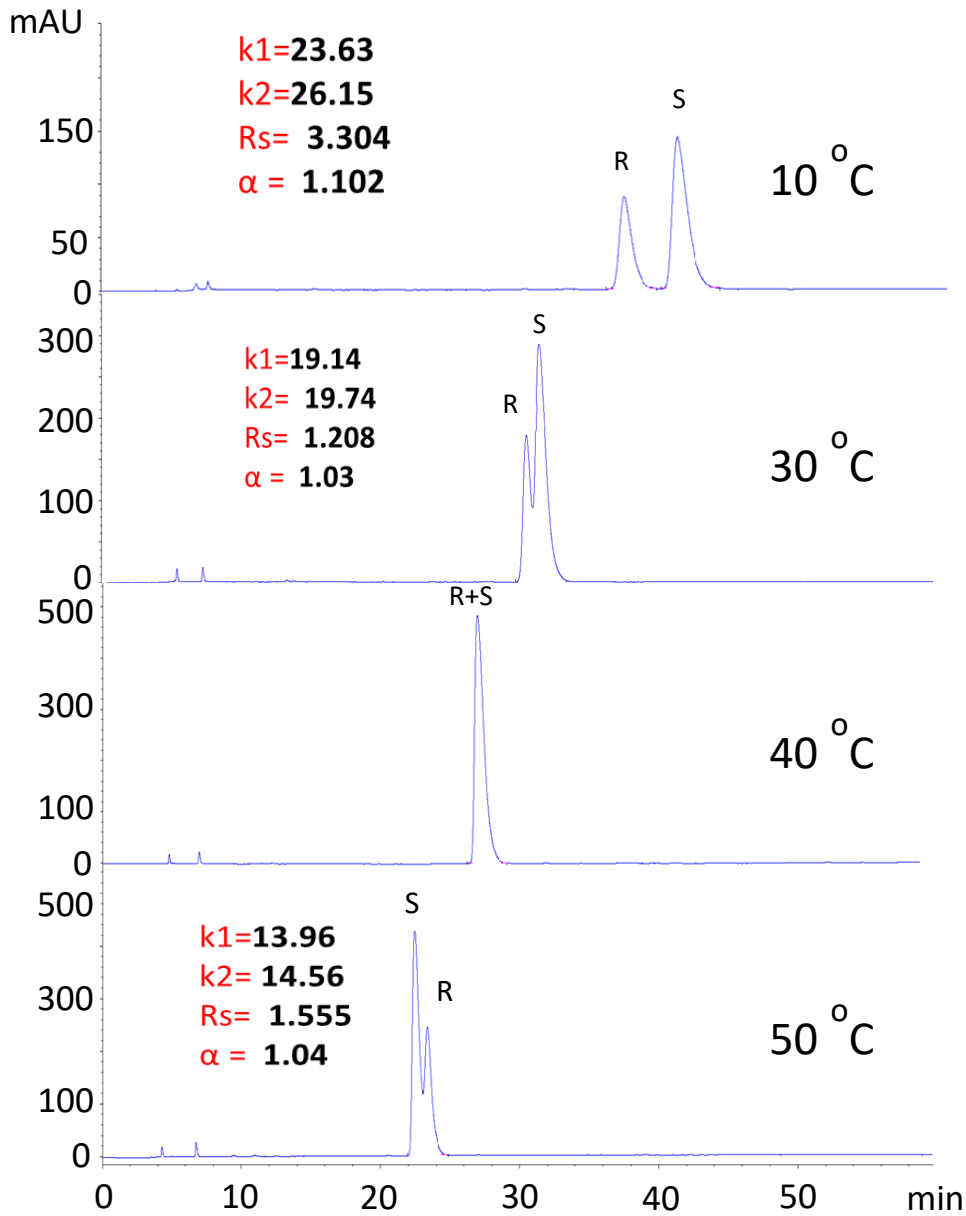
2-(3-ბენზოილფენილ)პროპიონის მჟავა

თავდაპირველად მოვამზადეთ საანალიზო ნივთიერების მონიშნული ნიმუში: S ენანტიომერი ავწონეთ ორჯერ მეტი, ვიდრე R ენანტიომერი და გამხსნელად გამოვიყენეთ მოძრავი ფაზა- ჰექსანი/ეთანოლი 98.5/1.5% +0.1% ჭიანჭველმჟავა.

განვიხილოთ ამილოზა ტრის(3,5-დიმეთილფენილკარბამატის) სილიკაგელზე დაფენით მომზადებულ ქირალურ სტაციონარულ ფაზაზე მიღებული საკმაოდ საინტერესო შედეგები:

- 1) შეიცვალა კეტოპროფენის ენანტიომერების ელუირების რიგი გარკვეულ ტემპერატურაზე;
- 2) შეიცვალა ქირალური სელექტორის სტრუქტურა შეუქცევადად, რამაც გამოიწვია ქირალური გამოცნობის მექანიზმის ცვლილება;

ქვემოთ განვიხილოთ თითოეული მათგანი შესაბამისი ქრომატოგრამების მაგალითზე.



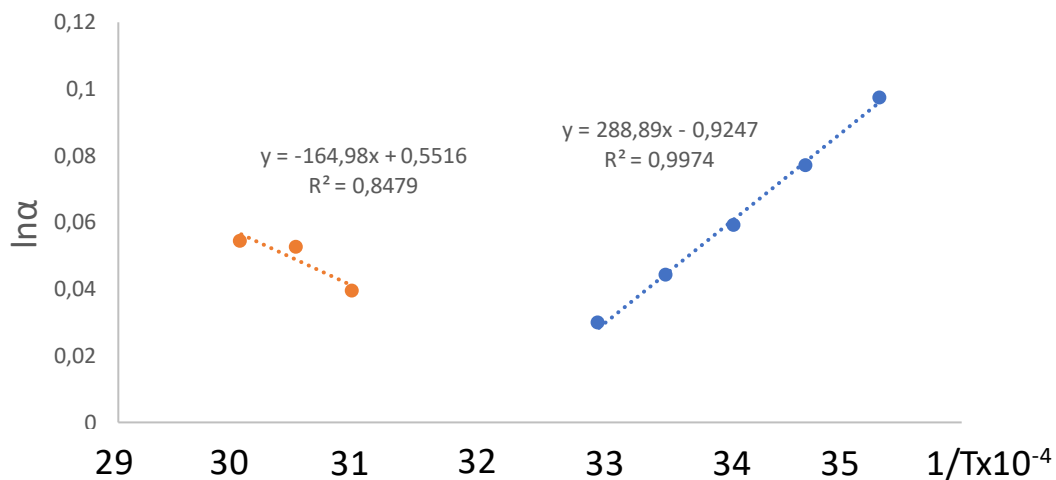
ნახაზი. 3 კეტოპროფენის ენანტიომერების ანალიზის შედეგები ელუირების რიგის ცვლილებამდე (იზოენანტიოსელექტიურ ტემპერატურამდე) და ცვლილების შემდეგ. სვეტი-ამილოზა-1, მოძრავი ფაზა: ჰექსანი/ეთანოლი 98.5/1.5% +0.1% ჭიანჭველმჟავა.

როგორც ვხედავთ, ტემპერატურის გაზრდა იწვევს ქრომატოგრაფიული პარამეტრების (შეკავების დრო, შეკავების ფაქტორი, გარჩევითობა, სელექტივობა,) ცვლილებას-შემცირებას; რაც ყველაზე მნიშვნელოვანია, შეიცვალა ენანტიომერების ელუირების რიგი-დაბალ ტემპერატურაზე უფრო დიდხანს შეკავდა S ენანტიომერი, ხოლო მაღალ ტემპერატურაზე კი R

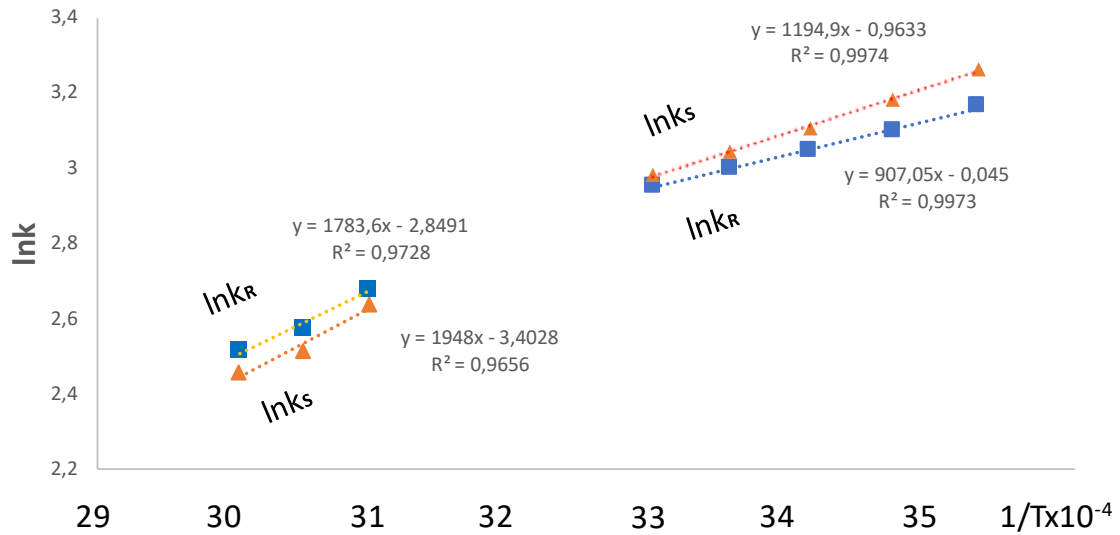
ენანტიომერი, რაც ნათლად ჩანს 10°C და 55°C-ზე წარმოდგენილ ქრომატოგრამებზე, ხოლო 40°C-ზე დაყოფას ვერ ვხედავთ და მას იზოენანტიოსელექტიური ტემპერატურა ეწოდება.

როგორც ზემოთ აღვნიშნეთ, ექსპერიმენტის ერთ-ერთ მთავარ მიზანს წარმოადგენდა თერმოდინამიკური პარამეტრების დათვლა და მსჯელობა იმის შესახებ პროცესს ენთალპია აკონტროლებს თუ ენტროპია. აქედან გამომდინარე ქრომატოგრაფიული მახასიათებლების გამოყენებით ავაგეთ გრაფიკები და მიღებული წრფის განტოლებებიდან დავითვალეთ თერმოდინამიკური პარამეტრები.

ქვემოთ მოცემულია შესაბამისი გრაფიკები და თერმოდინამიკური პარამეტრები ცხრილის სახით.



ნახაზი. 4 კეტოპროფენის ენანტიომერების დაყოფის სელექტივობის ნატურალური ლოგარითმის დამოკიდებულება აბსოლუტური ტემპერატურის შებრუნებულ სიდიდეზე; სვეტი-ამილოზა-1, მოძრავი ფაზა: ჰექსანი/ეთანოლი 98.5/1.5% +0.1%.



ნახაზი. 5 კეტოპროფენის ენანტიომერების შეკავების ფაქტორის ნატურალური ლოგარითმის დამოკიდებულება აბსოლუტური ტემპერატურის შებრუნებულ სიდიდეზე; სვეტი-ამილოზა-1, მოძრავი ფაზა: ჰქესანი/ეთანოლი 98.5/1.5% +0.1%.

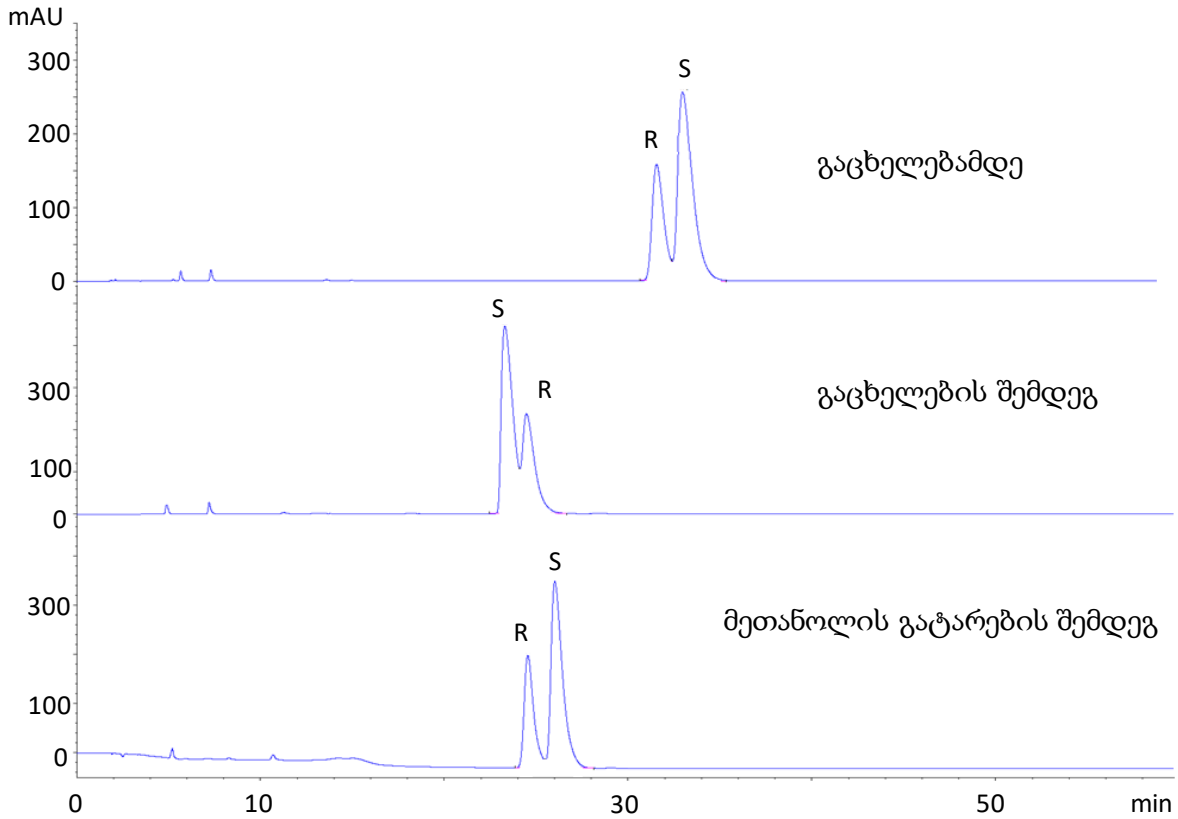
ცხრილი 1. კეტოპროფენის ენანტიომერების ადსორბციის და დაყოფის თერმოდინამიკური პარამეტრები, სვეტი-ამილოზა-1, მოძრავი ფაზა: ჰექსანი/ეთანოლი 98.5/1.5% +0.1% ჭიანჭველმჟავა.

T (K)	(1/T) x 10 ⁻⁴	k _S '	k _R '	α	ln k _R '	ln k _S '	lnα x 10 ⁻⁴	ΔH _S , cal/mol	ΔH _R , cal/mol	ΔS _S , cal/mol	ΔS _R , cal/mol	Δ _{S,R} ΔH, cal/mol	Δ _{S,R} ΔS, cal/mol	TisoK
283.15	35.32	26.15	23.63	1.102	3.16	3.26	3177.26	-2374.51	-1802,49	-1.914	-0.089	-574.083	-1.838	312.415
288.15	34.70	24.03	22.18	1.08	3.01	3.18	2806.57							
293.15	34.11	22.35	21	1.061	3.04	3.11	2382.29							
298.15	33.54	20.96	20.02	1.045	2.10	3.04	2143.05							
303.15	32.99	19.74	19.14	1.03	2.95	2.98	1848.18							
308.15	32.45	0	0	0	0	0	0							
313.15	31.93	0	0	0	0	0	0							
318.15	31.43	0	0	0	0	0	0							
323.15	30.95	13.96	14.56	1.04	2.68	2.64	392.21	-3871.07	-3544.38	-6.762	-5.662	327.849	1.096	299.094
328.15	30.47	12.35	13.07	1.054	2.57	2.51	525.92							
333.15	30.02	11.63	12.34	1.056	2.51	2.45	544.88							

ზემოთ ნაჩვენებ (ნახაზი 4 და 5, ცხრილი 1) ნათლად ჩანს, რომ ორივე ფორმულით (20;25) გამოთვლილი თერმოდინამიკური პარამეტრების მიხედვით ელუირების რიგის ცვლილებამდე დაყოფის პროცესს აკონტროლებდა ენთალპია, ხოლო რიგის ცვლილების შემდეგ ენტროპიული კონტროლი გვქონდა, ასევე გამოთვლილი იზოენანტიოსელექტიური ტემპერატურა კარგ თანხვედრაშია ექსპერიმენტულ შედეგთან-გამოთვლების მიხედვით ეს ტემპერატურა არის 39°C, ხოლო ქრომატოგრამაზე ნათლად არის ნაჩვენები რომ 40°C-ზე დაყოფას ვერ ვხედავთ.

როგორც ზემოთ აღვნიშნეთ, ამილოზა-1-ის შემთხვევაში კიდევ ერთი საინტერესო შედეგი მივიღეთ. ექსპერიმენტი ჩატარდა 10-60°C ტემპერატურულ შუალედში 5 გრადუსიანი

შუალედებით და შემდეგ ისევ უკან 60-10°C ტემპერატურამდე. როდესაც სვეტი გაცხელდა და შემდეგ ისევ გაცივდა სურათი შეიცვალა, ანუ თუ კონკრეტულ ტემპერატურაზე ჯერ ელუირდებოდა R ენანტიომერი და შემდეგ S, გაცხელების შემდეგ სურათი შეიცვალა (ნახაზი 6).



ნახაზი. 6 ტემპერატურის გავლენა ქირალურ სელექტორზე; სვეტი-ამილოზა-1, ტემპერატურა-25 °C, მოძრავი ფაზა: ჰექსანი/ეთანოლი 98.5/1.5% +0.1% ჭიანჭველმუცავა.

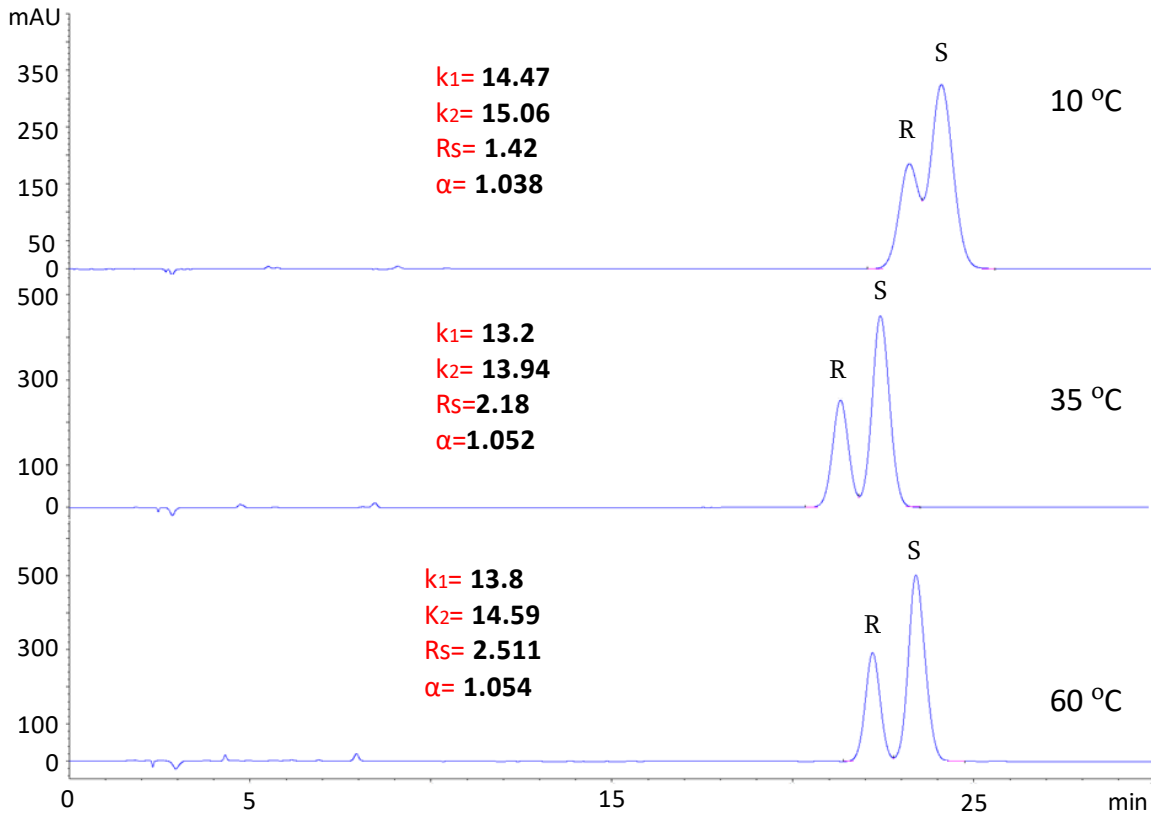
ენანტიომერების ელუირების რიგის ცვლილება ადასტურებს რომ ხდება ქირალური სელექტორის სტრუქტურის ცვლილება.

ეს მოვლენა ადრეც იქნა შემჩნეული ცელულოზას ტრიაცეტატისთვის, როდესაც ხდებოდა მეორე რიგის ფაზური გადასვლა 30 გრადუს ტემპერატურაზე. ეს ახსნილი იქნა იმით, რომ ხდებოდა გლუკოპირანოზის კონფორმაციის ცვლილება სავარძლისებურიდან აბაზანისებურ კონფორმერში [19]. ეს მექანიზმი შესწავლილ იქნა ინფრაწითელი სპექტროსკოპიის საშუალებით. ფაზური გადასვლები დაახლოებით 40 გრადუსის სიახლოვეს ექსპერიმენტულად იქნა დადასტურებული ცელულოზას ტრისკარბანილატისთვის რომელიც გახსნილი იყო დიოქსანში ან ეთილაცეტატში [20].

მოცემული ექსპერიმენტული სურათიდან გამომდინარე, ერთ-ერთი მნიშვნელოვანი მომენტი გახლავთ ის, რომ ქირალური სელექტორის თერმული დამუშავების შედეგად მიმდინარე პროცესი არის თერმოდინამიკურად შეუქცევადი, რადგან როგორც დავინახეთ ქირალურ სელექტორს არ შეუძლია ჩარევის გარეშე აღიდგინოს სტრუქტურა. არსებობს გზა, რომლითაც შევძლებთ ქირალურ სელექტორს დავუბრუნოთ პირვანდელი სტრუქტურა. ეს შესაძლებელია თუ სვეტში 24 საათის განმავლობაში გავატარებთ მეთანოლს.

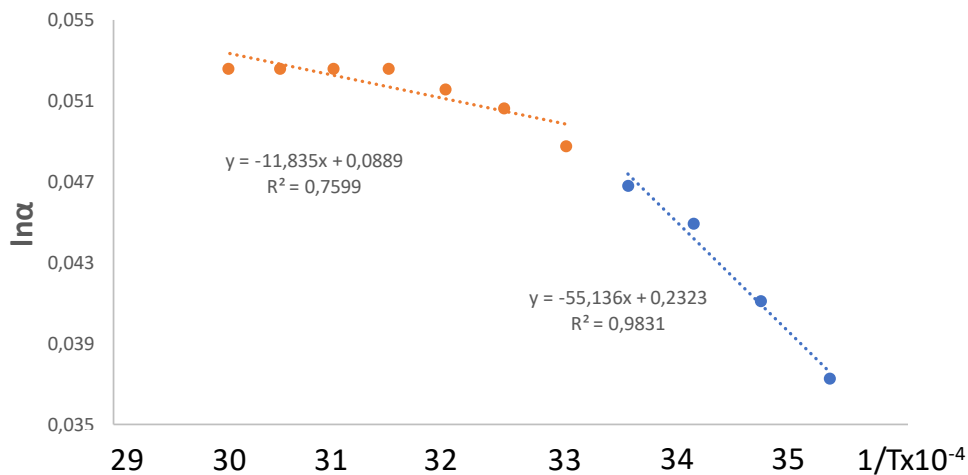
განვიხილოთ შემდეგი ექსპერიმენტი, რომლებიც ჩავატარეთ იმავე პირობებში როგორც პირველი (ამილოზა-1 სვეტზე), მაგრამ ქირალური სტაციონალური ფაზა იყო ცელულოზა-1.

როგორც ვხედავთ ცელულოზა 1 სვეტზე ჩატარებულ ანალიზის შედეგს (ნახ. 7), ტემპერატურის მატებასთან ერთად დაყოფა უმჯობესდება და შესაბამისად გარჩევითობა უკეთესი გვაქვს. ექსპერიმენტის მოცემულ პირობებში ენანტიომერების ელუირების რიგი არ შეიცვალა და უფრო ადრე სვეტს ტოვებს R ენანტიომერი და შემდეგ S-ი. თუკი დავაკვირდებით თერმოდინამიკურ პარამეტრებს (ფორმულა 25-ის მიხედვით გამოთვლილი; ცხრილი2) შევამჩნევთ, რომ მთელ ტემპერატურულ შუალედში ენტროპიული კონტროლი გვაქვს, იზოენანტიოსელექტიური ტემპერატურა კი უარყოფითია.

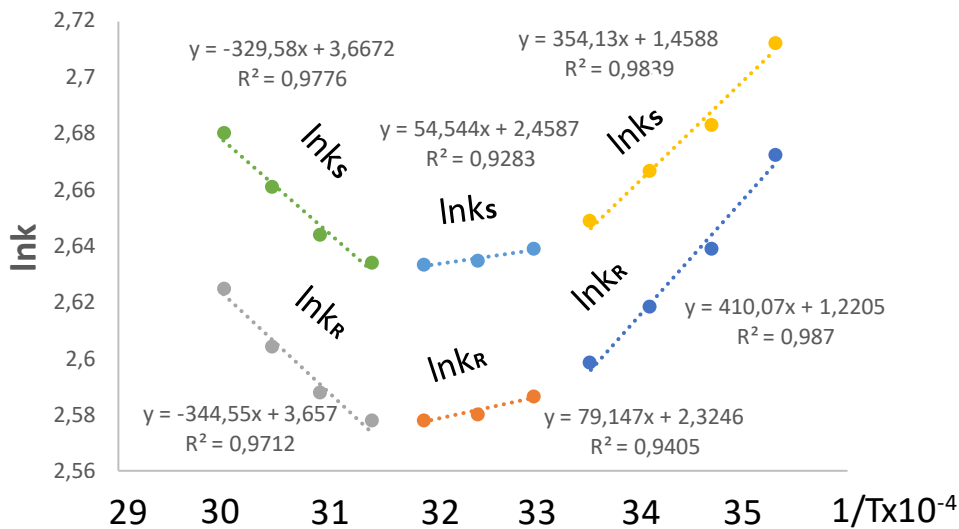


ნახაზი. 7
ქიანჭველმუცა.

სვეტი-ცელულოზა-1, მოძრავი ფაზა: ჰექსანი/ეთანოლი 98.5/1.5% +0.1%.



ნახაზი.8 კეტოპროფენის ენანტიომერების დაყოფის სელექტივობის ნატურალური ლოგარითმის დამოკიდებულება აბსოლუტური ტემპერატურის შებრუნებულ სიდიდესთან; სვეტი - ცელულოზა 1, მოძრავი ფაზა: ჰექსანი/ეთანოლი 98.5/1.5% +0.1% ჭიანჭველმჟავა.

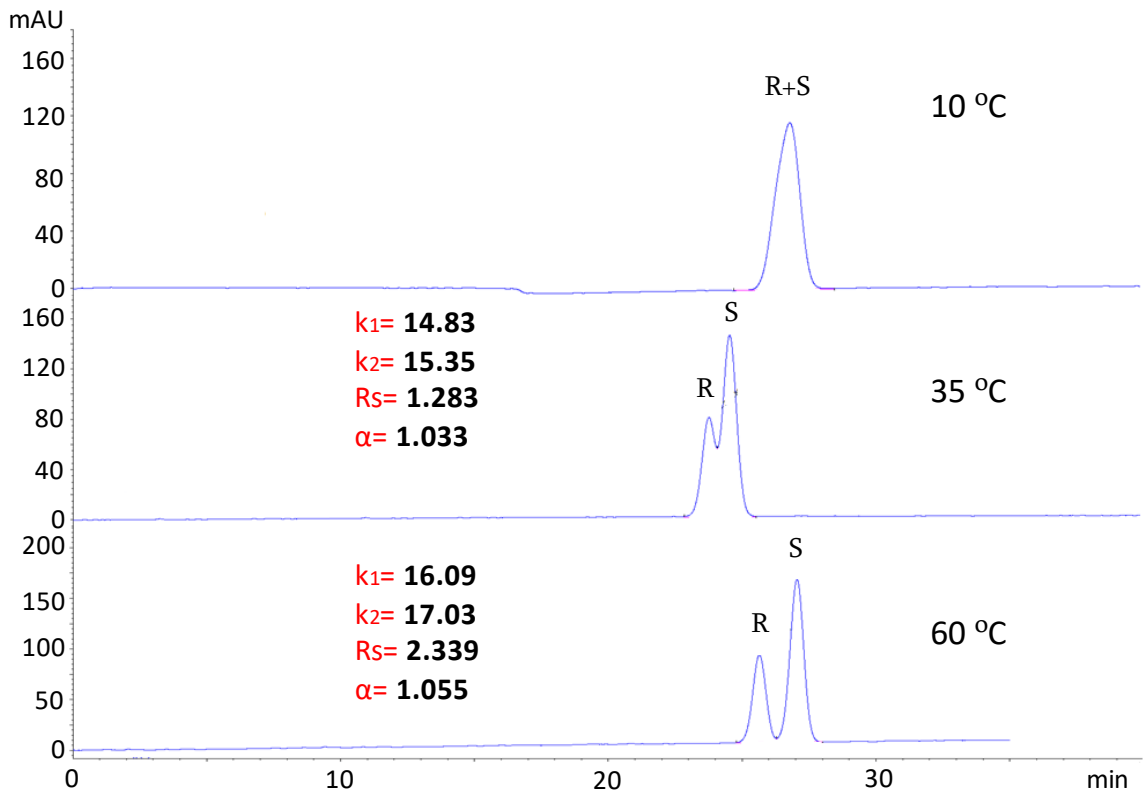


ნახაზი. 9 კეტოპროფენის ენანტიომერების შეკავების ფაქტორის ნატურალური ლოგარითმის დამოკიდებულება აბსოლუტური ტემპერატურის შებრუნებულ სიდიდესთან; სვეტი-ცელულოზა - 1, მოძრავი ფაზა: ჰექსანი/ეთანოლი 98.5/1.5% +0.1% ჭიანჭველმჟავა.

ცხრილი 2. კეტოპროფენის ენანტიომერების ადსორბციის და დაყოფის თერმოდინამიკური პარამეტრები, სვეტი-ცელულოზა-1, მოძრავი ფაზა: ჰექსანი/ეთანოლი 98.5/1.5% +0.1% ჰიანჭველმყავა.

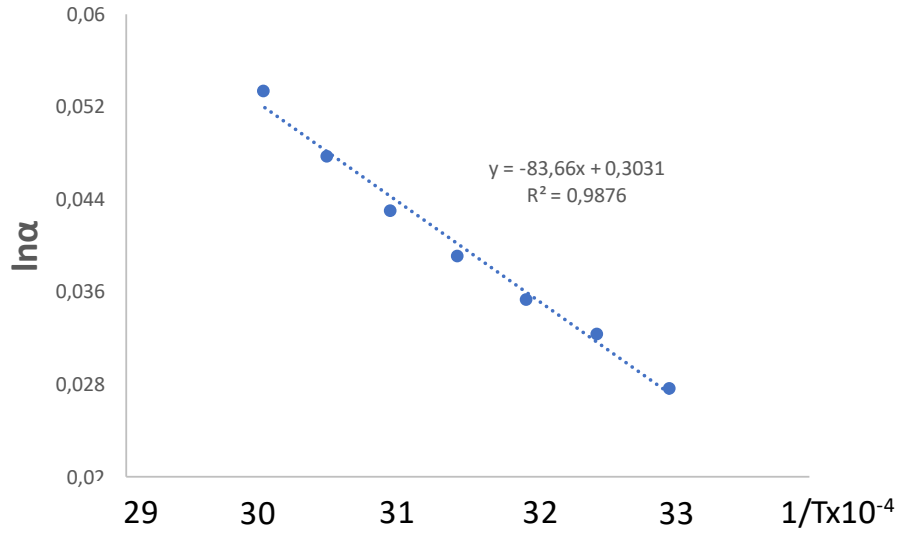
T (K)	(1/T) x 10 ⁻⁴	k _s '	k _R '	α	ln k _R '	ln k _s '	lnα x 10 ⁻⁴	ΔH _s , cal/mol	ΔH _R , cal/mol	ΔS _s , cal/mol	ΔS _R , cal/mol	Δ _{S,R} ΔH, cal/mol	Δ _{S,R} ΔS, cal/mol	TisoK
283.15	35.32	15.06	14.47	1.038	2.67	2.71	372.96	-703.730	-814.892	2.90	2.425	109.567	0.462	237.348
288.15	34.70	14.63	14	1.042	2.64	2.68	411.42							
293.15	34.11	14.39	13.71	1.046	2.62	2.67	449.73							
298.15	33.54	14.14	13.44	1.048	2.60	2.65	468.84							
303.15	32.99	14	13.28	1.05	2.59	2.64	487.90	-108.390	-157.281	4.890	4.620	23.519	0.117	132.876
308.15	32.45	13.94	13.2	1.052	2.58	2.63	506.93							
313.15	31.93	13.92	13.17	1.053	2.58	2.63	516.43							
318.15	31.43	13.93	13.17	1.054	2.58	2.63	525.92							
323.15	30.95	14.07	13.3	1.054	2.59	2.64	525.92	654.940	684.690	7.290	7.270			
328.15	30.47	14.31	13.52	1.054	2.60	2.66	525.92							
333.15	30.02	14.59	13.8	1.054	2.62	2.68	525.92							

რაც შეეხება ცელულოზა 2 სვეტზე მიღებულ შედეგებს (ნახ. 10), ცელულოზა-1 თან შედარებით დაბალ ტემპერატურაზე კეტოპროფენის ენანტიომერები არ დაიყო, ტემპერატურის მატების შემდეგ 30-35°C-დან ვხედავთ დაყოფას, პირველი სვეტს ტოვებს ამ შემთხვევაშიც R-ენანტიომერი და შემდეგ S-ი და მაღალ ტემპერატურაზე გარჩევითობა უმჯობესდება. რაც შეეხება თერმოდინამიკურ პარამეტრებს (ცხრილი 3), რომელიც გამოთვლილია ნახაზი 11 და 12-ის მიხედვით, მოცემულ ტემპერატურულ შუალედში არის ენანტიომერების დაყოფის ენტროპიული კონტროლი (ფორმულა 25), ხოლო იზოენანტიოსელექტიური ტემპერატურა დაახლოებით 5°C-ია.

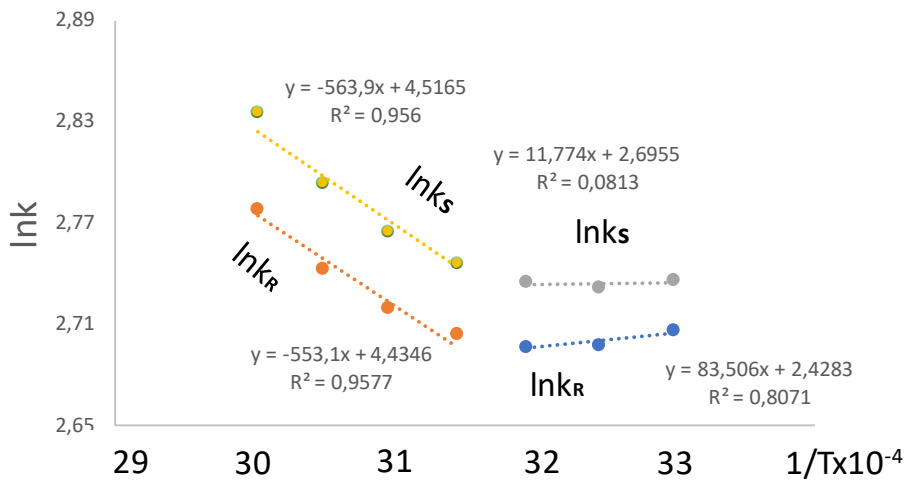


ნახაზი. 10
 ჭიანჭველმუცავა.

სვეტი-ცელოლოზა-2, მოძრავი ფაზა: ჰექსანი/ეთანოლი 98.5/1.5% +0.1%.



ნახაზი. 11 კეტოპროფენის ენანტიომერების დაყოფის სელექტივობის ნატურალური ლოგარითმის დამოკიდებულება აბსოლუტური ტემპერატურის შებრუნებულ სიდიდესთან; სვეტი-ცელულოზა-2, მოძრავი ფაზა: ჰექსანი/ეთანოლი 98.5/1.5% +0.1% ჭიანჭველმჟავა.



ნახაზი. 12 კეტოპროფენის ენანტიომერების შეკავების ფაქტორის ნატურალური ლოგარითმის დამოკიდებულება აბსოლუტური ტემპერატურის შებრუნებულ სიდიდესთან; სვეტი - ცელულოზა 2, მოძრავი ფაზა: ჰექსანი/ეთანოლი 98.5/1.5% +0.1% ჭიანჭველმჟავა.

ცხრილი 3. კეტოპროფენის ენანტიომერების აღსორბციის და დაყოფის თერმოდინამიკური პარამეტრები, სვეტი-ცელულოზა-2, მოძრავი ფაზა: ჰექსანი/ეთანოლი 98.5/1.5% +0.1% ჭიანჭველმყავა.

T (K)	(1/T) x 10 ⁻⁴	k' _S	k' _R	α	ln k' _R	ln k' _S	lnα x 10 ⁻⁴	ΔH _s , cal/mol	ΔH _R , cal/mol	ΔS _s , cal/mol	ΔS _R , cal/mol	Δ _{S,R} ΔH, cal/mol	Δ _{S,R} ΔS, cal/mol	TisoK
283.15	35.32	0	0	0	0	0	0							
288.15	34.70	0	0	0	0	0	0							
293.15	34.11	0	0	0	0	0	0							
298.15	33.54	0	0	0	0	0	0							
303.15	32.99	15.42	14.96	1.028	2.71	2.74	276.15	-23.397	-165,943	5.35	4.826	166.25	0.6	277.083
308.15	32.45	15.35	14.83	1.033	2.70	2.73	324.67							
313.15	31.93	15.4	14.82	1.036	2.70	2.73	353.67							
318.15	31.43	15.57	14.93	1.04	2.70	2.74	392.21	1120.584	1099.122	8.975	8.812			
323.15	30.95	15.87	15.16	1.044	2.71	2.76	430.59							
328.15	30.47	16.33	15.52	1.049	2.74	2.79	478.37							
333.15	30.02	17.03	16.09	1.055	2.78	2.83	535.41							

5. დასკვნები

- ✓ დაბალ ტემპერატურაზე $\Delta_{S,R}\Delta G^0$ -ზე, ძირითადად, გავლენას ახდენს ენთალპიის ცვლილება, ხოლო მაღალ ტემპერატურაზე - ენტროპიის ცვლილება. თუმცა მაღალი და დაბალი ტემპერატურა აქ პირობითია და იცლება ანალიზიდან ანალიზზე გადასვლის დროს. გადასვლა ენთალპიური კონტროლიდან ენტროპიულ კონტროლზე შეიძლება იმდენად ექსტრემალურ ტემპერატურაზე ხდებოდეს, რომ მისი დაკვირვება მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფიის ანალიზით ვერ მოხერხდეს.
- ✓ ამილოზა-1 სვეტზე ჩატარებული ანალიზის შედეგების მიხედვით გამოთვლილი თერმოდინამიკური პარამეტრებიდან გამომდინარე-ენანტიმერების რიგის ცვლილებამდე პროცესს აკონტროლებდა ენთალპია, ხოლო რიგის ცვლილების შემდეგ ენტროპია.
- ✓ ცელულოზა 1 და ცელულოზა 2 სვეტებზე ჩატარებული ანალიზის შედეგების მიხედვით გამოთვლილი თერმოდინამიკური პარამეტრებიდან გამომდინარე-ექსპერიმენტის მთელ ტემპერატურულ დიაპაზონში დაყოფის პროცესს აკონტროლებდა ენტროპია. ენენტიომერების ელუირების რიგის ცვლილება ვერ დავინახეთ მოცემულ ტემპერატურულ შუალედში, რადგან ცელულოზა-1-ის შემთხვევაში იზოენანტიოსელექტიური ტემპერატურა უარყოფითია, ხოლო ცელულოზა-2-ის შემთხვევაში 5°C -ზე ქვემოთ არის.
- ✓ ამილოზა ტრის(3,5-დიმეთილფენილკარბამატის) საფუძველზე მომზადებული ქრომატოგრაფიული სვეტის გაცხელება მაღალ ტემპერატურაზე იწვევს ქირალური სელექტორის სტრუქტურის ცვლილებას, რაც თერმოდინამიკურად შეუქცევად პროცესს წარმოადგენს.
- ✓ თერმოდინამიკურად შეუქცევადი ფაზური გადასვლების აღდგენისათვის პოლისაქარიდის ბაზაზე მომზადებული ქირალური სელექტორისთვის საჭირო არის ქრომატოგრაფიული სვეტის გარეცხვა ისეთი გამხსნელით როგორც არის, მაგალითად, მეთანოლი.

6. გამოყენებული ლიტერატურა

- [1] E. Gil-Av B. Freibusch R. Charles-Sigler Separation of enantiomers by gas liquid chromatography with an optically active stationary phase. *Tetraheron Letters* 7. 1966. 1009-1015.
- [2] E. Gasmann J.E. Cuo R.N. Zare Separation of enantiomeric amino acids in ligand exchange capillary electrophoresis. *Science*. 1985. Issue 230. 13-24
- [3] Reversal of Fortune: How a vilified drug became a life-saving agent in the "war" against cancer - *Onco'Zine - The International Cancer Network* Nov 30, 2013.
- [4] C. A. Heaton *The Chemical Industry*. London UK. Springer. 1994. 385.
- [5] J.T. Liu R.H. Liu Enantiomeric composition of abused amine drugs: chromatographic methods of analysis and data interpretation. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*. 2002. Issue 54 (1-3). 115-146
- [6] ე. კაცაძე, „ზოგადი სტერეოქიმიის სალექციო კურსი,“ თბილისი, 2017.
- [7] გ. ჯიბუტი, ქირალური ნივთიერებების დაყოფის ოპტიმიზაცია მაღალეფექტურ სითხურ ქრომატოგრაფიაში პოლისაქარიდული ქირალური სტაციონარული ფაზების გამოყენებით, თბილისი, 2014.
- [8] B. Chankvetadze, *Capillary Electrophoresis in Chiral Analysis*. West Sussex, England. Wiley & Sons L.T.D. 1997. 561.
- [9] ბ. ჭანკვეტაძე, „ნარევთა დაყოფის ინსტრუმენტული მეთოდები, სალექციო კურსი,“ თბილისი, 2015
- [10] S. Fanali P.R. Haddad C. Poole P. Schoenmakers D. Lloyd *Liquid Chromatography Fundamentals and Instrumentation*. Waltham USA. Elsevier. 2013. 520.
- [11] გ. ჯიბუტი, „რაოდენობრივი ანალიზი სითხურ ქრომატოგრაფიაში,“ *ფიზიკური ქიმია 4, ლაბორატორიული კურსი*, თბილისი, 2017.
- [12] მ. რუხაძე, „ნარევთა დაყოფის ინსტრუმენტული მეთოდები, სალექციო კურსი,“ თბილისი, 2015.
- [13] ბ. ჭანკვეტაძე, გ. ბეზარაშვილი, *ფიზიკური ქიმია 1, ლექციების კურსი*, თბილისი, 2011, pp. 22, 23, 26, 30, 32, 34, 41, 72, 74, 75, 77, 81, 82, 83, 85, 89, 203, 210, 211, 213.
- [14] ვ. კოკოჩაშვილი, *ფიზიკური ქიმია, ტII*, თბილისი: თსუ გამომცემლობა, 1972.
- [15] I. Matarashvili, G. Kobidze, A. Chelidze, G. Dolidze, N. Beridze, G. Jibuti, T. Farkas, B. Chankvetadze, The effect of temperature on the separation of enantiomers with coated and covalently immobilized polysaccharide-based chiral stationary phases, *J. Chromatogr. A*, 1599, 2019, 172-179.

- [16] A. Mskhiladze, M. Karchkhadze, A. Dadianidze, S. Fanali, T. Farkas, B Chankvetadze, Separation of enantiomers of selected chiral antimycotic drugs polysaccharide-based chiral columns and polar organic mobile phases with the emphasis on the enantiomer elution order, *Chromatographia*, 76, 1449-1458, 2013.
- [17] B. Chankvetadze, *J Chromatogr A*, 1269, 26-51, 2012.
- [18] J. DeRuiter, "Non-Steroidal Antiinflammatory Drugs (NSIADs)," in *Principles of Drug Action 2*, Fall 2002.
- [19] S. Ma, S. Shen, H. Lee, N. Yee, C. Senanayake, L.A. Nafie, N. Grinberg, Vibrational circular dichroism of amylose carbamate: structure and solvent-induced conformational changes, *Tetrahedron: Asymmetry* 19 (2008) 2111-2114.
- [20] R. Helmy, T. Wang, Selectivity of amylose tris(3,5-dimethylphenyl-carbamate) chiral stationary phase as a function of its structure altered by changing concentration of ethanol or 2-propanol mobile-phase modifier, *J. Sep. Sci.* 28 (2005) 189-192.