ივანე ჯავახიშვილის სახელობის თბილისის
სახელმწიფო უნივერსიტეტი

ლაშა გიუნაშვილი

ენანტიომერული ნარევების დაყოფა ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფიაში ქირალურ სელექტორად ცელულოზა ტრის (3-ქლორ-5-მეთილფენილკარბამატის) გამოყენებით

ქიმიური ექსპერტიზა

ნაშრომი შესრულებულია ქიმიური ექსპერტიზის
მაგისტრის აკადემიური ხარისხის მოსაპოვებლად

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

თბილისი, საქართველო

2019

სარჩევი

ანოტაცია 3

1. **შესავალი** 6

2. **ლიტერატურული ნაწილი** 7

2.1 ქირალური ნივთიერებების დაყოფის აქტუალურობა და მეთოდები 7

2.2 ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფიის ისტორია 8

2.3 ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფიის მეთოდი 9

2.4 ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფიის გამოყენება ქირალურ დაყოფებში და უპირატესობები 17

3. **ექსპერიმენტული ნაწილი** 19

3.1 გამოყენებული ხელსაწყოები 19

3.2 მასალები და რეაგენტები 19

3.3 გამოყენებული ქირალური სტაციონარული ფაზა 20

3.4 ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფიის ექპერიმენტი 20

3.5 საკვლევი ნივთიერებები 20

4. **მიღებული შედეგები და განსჯა** 21

5. **დასკვნები** 30

6. **გამოყენებული ლიტერატურა** 31

ანოტაცია

ენანტიომერული ნარევების დაყოფა თანამედროვე ქიმიის ერთ–ერთ აქტუალურ პრობლემას განეკუთვნება როგორც თეორიული, ისე პრაქტიკული თვალსაზრისით. ამ პრობლემის აქტუალურობა პრაქტიკული თვალსაზრისით განპირობებულია იმ ფაქტით, რომ ქირალურ ბიოლოგიურად აქტიურ ნივთიერებათა (როგორიცაა, სამკურნალწამლო საშუალებები, საკვების დანამატები, სასოფლო სამეურნეო დანიშნულების შხამქიმიკატების და ა.შ.) ენანტიომერები როგორც წესი ერთმანეთისაგან განსხვავდებიან მათი ბიოლოგიური აქტივობით, ტოქსიკურობით, მეტაბოლიზმის უნარით და ა.შ. მაგალითად ქირალური პესტიციდების ცალკეულ ენანტიომერს შესაძლებელია ჰქონდეს არა მარტო განსხვავებული ეფექტი სამიზნე ობიექტზე მოქმედების თვალსაზრისით, არამედ შესაძლოა ჰქონდეთ გარემოში ერთმანეთისგან განსხვავებული დაშლის კინეტიკა და სხვადასხვა საბოლოო პროდუქტები. დღესდღეობით გამოყენებული სამკურნალწამლო საშუალებების დააახლოებით ნახევარი არის ქირალური და გამოიყენება რაცემატის სახით, მაშინ როდესაც ქირალური სამკურნალწამლო საშუალების ენანტიომერებს შესაძლოა ერთმანეთისგან ძირეულად განსხვავებული ფარმაკოკინეტიკური და ფარმაკოდინამიკური მახასიათებლები გააჩნდეს. სამკურნალწამლო საშუალებების ქირალობის საკითხი წარმოადგენს მნიშვნელოვან გამოწვევას ახალი სამკურნალწამლო საშუალებების შექმნის მიმაართულებით, რაც ფარმაცევტული მიმართულების ბევრი კონფერენციის, საერთაშორისო ჟურნალის (მაგალითად Chirality, Wiley, New York, USA), წიგნის და ისეთი სამთავრობო უწყებების განსჯის საგანს წარმოადგენს, როგორიც არის ამერიკის საკვების და სამკურნალწამლო საშუალებათა სააგენტო, ევროპის მედიკამენტების სააგენტო და ა.შ. ყოველივე აღნიშნულიდან გამომდინარე, ქირალური შხამ-ქიმიკატების და სამკურნალწამლო საშუალებების უსაფრთხო და მაქსიმალურად ეფექტური გამოყენება მოითხოვს მათი ენანტიომერების ერთმანეთისაგან წინაწარ დაყოფას.

ქირალური ნაერთების ენანტიომერების დაყოფა წლების მანძილზე წარმოადგენდა დაყოფის მეცნიერებების ერთ-ერთ ურთულეს პრობლემას. მხოლოდ 1980-იან წლებში გახდა კომერციულად ხელმისაწვდომი ქირალური სვეტები სითხური ქრომატოგრაფიისათვის. უკანასკნელი 30 წლის განმავლობაში ქირალური დაყოფა გახდა დაყოფის ანალიზურ მეცნიერებებში ერთ-ერთი მნიშვნელოვანი მიღწევა. დღეისათვის

არსებულ ბევრ ქირალურ სტაციონარულ ფაზას შორის განსაკუთრებით მაღალი ეფექტურობით გამოირჩევა პოლისაქარიდების საფუძველზე მომზადებული ქირალური სელექტორები. მიუხედავად ამ მასალების ფართო გამოყენებისა, მათი ქირალური გამოცნობის მექანიზმები ნაკლებად არის შესწავლილი.

Summary

Separation of enantiomers represents one of the hot topics of contemporary chemistry from both theoretical and practical points of view. The importance of this problem from the pracrical point of view is caused by the fact that enantiomers of chiral biologically active molecules such as pharmaceuticals, food additives, agrochemicals, etc., are commonly characterized with different target activity, toxicity, metabolism, transformation in environment, etc. For instance, enantiomers of chiral pesticides may have not only different effect on target object but may also undergo transformation with different speed and form different final degradation products due to enantioselective action of enzymes and microbs [1]. More than half of currently used drugs are chiral and waste majoriy of them are still used in a racemic form. This is not justified since the enantiomers of chiral drugs commonly possess different pharmacodynamic and pharmacokinetic properties [2]. Chirality represent very challenging issue on the way of development of new chiral drugs, agrochemicals, food additives and other biologically active molecules. Therefore, chirality, enantiomer separation and other related topics represent the objects of many international conferences (for instance, annual series of Chirality conference), dedicated journals (for instance journal Chirality from Wiley, New York, USA), books [3] and governmental regulations, such as US Food and Drug Administration (FDA), European Medical Agency (EMA), etc. Based on above mentioned, the most effective and safe use of chiral biologically active compounds requires separation of their enantiomers and reliable evaluation of their enantiomeric purity.

Separation of enantiomers remined as very challenging issue in chemistry for decades and the first chiral column for high-performance liquid chromatographic separation of enantiomers became commercially available since 1981. In the last 35 years several hundreds of chiral columns were described in the literature and several tens of them were commercialized. Among currently available chiral columns those based on polysaccharide-type chiral selectors are recognized to be the most powerfull ones [4]. Although polysaccharide based chiral selectors are involved in about 80% of all published analytical and over 90% of all preparative scale separations, the separation mechanisms of enantiomers by these chiral stationary phases (CSPs) are largely unknown.

1. შესავალი

დღეისათვის გამოყენებულ ფარმაცევტულ მოქმედ საფუძველთა მნიშვნელოვანი ნაწილი წარმოადგენს ქირალურ ნივთიერებებს. მათი უმეტესობის სინთეზი ხდება რაცემული ნარევის (ორი ენანტიომერის ნარევი 50:50-თანაფარდობით) სახით. სამკურნალწამლო საშუალებათა ენანტიომერები უმრავლეს შემთხვევაში განსხვავდება მათი ფარმაკოლოგიური მოქმედებით ცოცხალ ორგანიზმზე. ენანტიომერები ერთმანეთისგან განსხვავდება, როგორც აბსორბციის უნარით, ასევე განაწილების და პროტეინებთან შეკავშირების და რეცეპტორებთან უთიერთქმედების უნარით. ხშირ შემთხვევაში მათ განსხვავებული მეტაბოლიზმი ახასიათებთ. ძირითადად განსახვავებენ ენანტიომერების განსხვავებული მოქმედების სამ სახეს „ცოცხალ“ გარემოში:

1) მხოლოდ ერთი ენანტიომერს აქვს დადებითი ფარმაკლოგიური 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 მოქმედება ბევრად აღემატება მეორე ენანტიომერისას.

3) მესამე შემთხვევაში შეიძლება მხოლოდ ერთ ენანტიომერს ჰქონდეს დადებითი ეფექტი, მაგრამ ორგანიზმში ენზიმების მოქმედების შედეგად მეორე ენანტიომერი გარდაიქმნებოდეს აქტიურ ენანტიომერად.

ენანტიომერული ნარევების დაყოფა განპირობებულია ენანტიომერების განსხვავებული ურთიერთმოქმედებით გამოყენებულ ქირალურ სელექტორთან (ქირალურ სტაციონარულ ფაზასთან). განსაკუთრებით საინტერესოა ამ ურთიერთქმედებაზე დაკვირვება ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფიაში, რადგან ქირალური დაყოფა ამ მეთოდის გამოყენებით არ არის ფართოდ შესწავლილი, წინამდებარე სამუშაოში ჩვენ შევისწავლეთ ქირალური დაყოფების დამოკიდებულება მოძრავი ფაზის, ამ შემთხვევაში მეთანოლისა და ნახშირორჟანგის (CO_2) კონცენტრაციაზე.

2. ლიტერატურული ნაწილი

2.1 ქირალური ნივთიერებების დაყოფის აქტუალურობა და მეთოდები

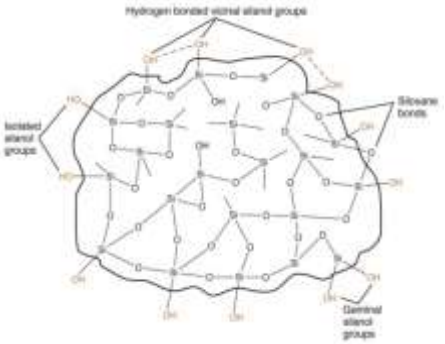
თანამედროვე ქიმიის ერთ-ერთ აქტუარულ პრობლემას წამოადგენს ენანტიომერული ნარევების დაყოფა, როგორც პრაქტიკული, ისე თეორიული თვალსაზრისით.

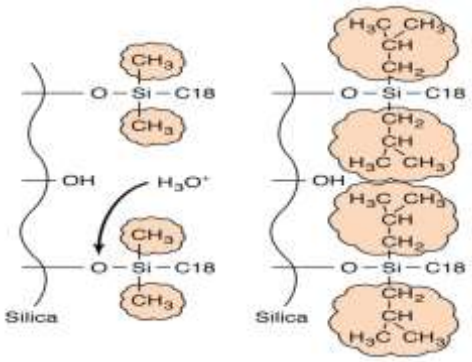
ქირალურ გარემოში, ანუ ისეთ გარემოში როგორიცაა ადამიანის სხეული, ენანტიომერულ ფორმებს გააჩნიათ განსხვავებული ფარმაკოლოგიური, ფარმაკოკინეტიკური და ტოქსიკური თვისებები. ეს ეხება როგორც ქირალურ სამკურნალო საშუალებებს, აგრეთვე საკვები პროდუქტების დანამატებს, სასოფლო-სამეურნეო დანიშნულების შხამქიმიკატებს (ჰერბიციდები, პესტიციდები) და ა.შ. მაგალითად, დასავლეთ ევროპის ქვეყნებში ფართოდ გავრცელებული პრეპარატის, თალიდომიდის ერთ-ერთი ენანტიომერი ფლობდა უნიკალურ დამაწყნარებელ ეფექტს, როდესაც მეორე ენანტიომერი აღმოჩნდა მიზეზი ათასობით დაავადებული ბავშვის დაბადებისა.

ენანტიომერები იდენტურები არიან ქიმიური და ფიზიკური თვისებებით. გამონაკლისს წარმოადგენს ბრტყლად პოლარიზებული სინათლის ბრუნვის კუთხის ნიშანი. ისინი ერთმანეთისგან განსხვავდებიან მხოლოდ ატომთა ჯგუფების განლაგებით სივრცეში.

ენანტიომერული ნარევების განსხვავებული შეკავება ქრომატოგრაფიულ სვეტზე, რომელიც შევსებულია ქირალური სტაციონალური ფაზით მათი დაყოფის ძირითად საშუალებას წარმოადგენს.

ქირალური სტაციონალური ფაზა თავის მხრივ შედგება ინერტული სარჩულისაგან (როგორც წესი სილიკაგელი), რომელზეც დამაგრებულია ქირალური სელექტორი. ახალი ტიპის ქირალური სელექტორების ძიება და მათ მიერ ენანტიომერების დაყოფის უნარის შეფასება ქირალური ანალიზის ერთ-ერთ აქტუალურ სფეროს განეკუთვნება.





2.2. ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფიის ისტორია

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.

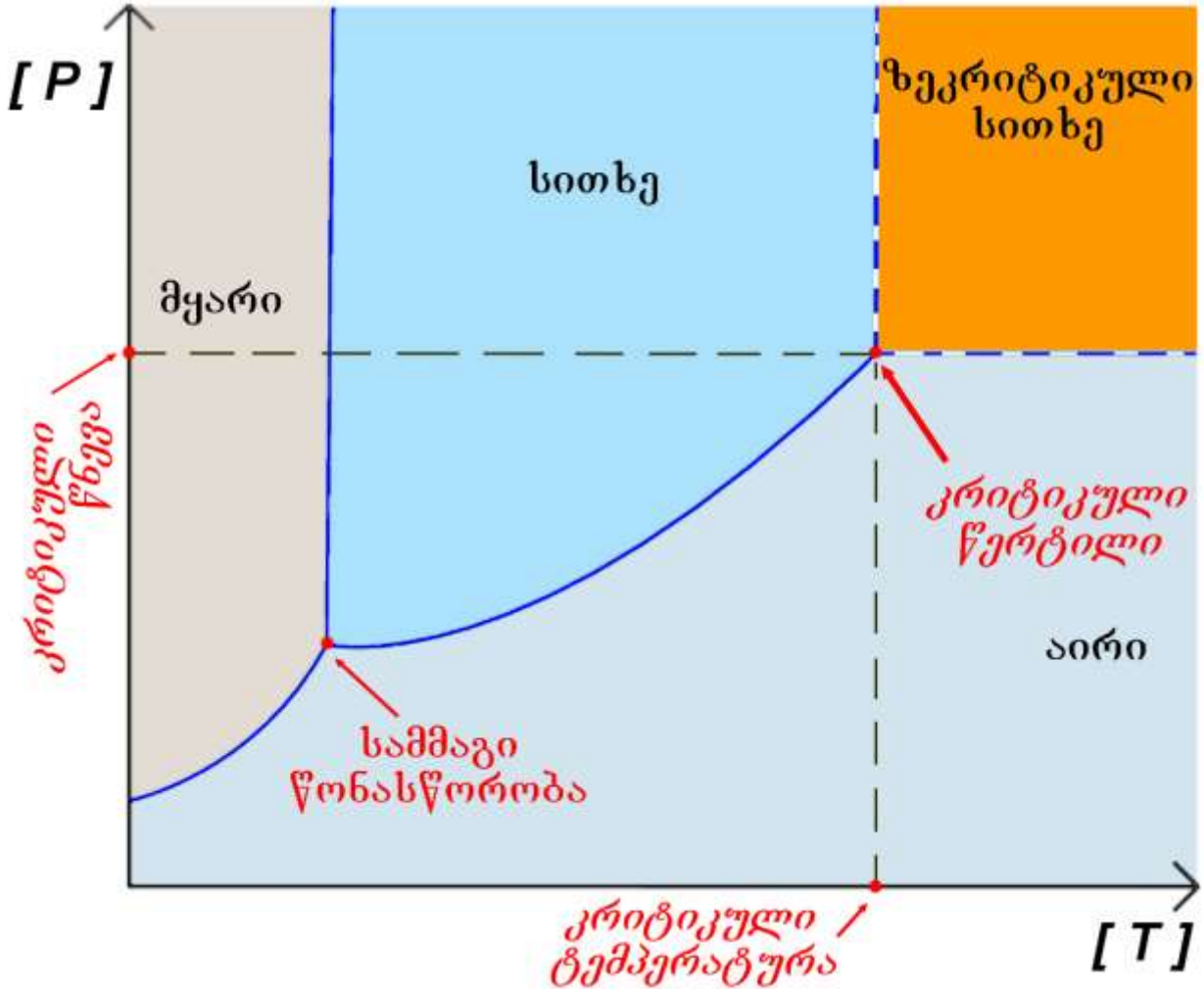
1980 იანი წლებიდან განვითარდა მეთოდიკები, რომლებიც იყენებდა კაპილარულ სვეტებს და დეტექტორებს, რომლებიც გადმოღებული იყო გაზური ქრომატოგრაფიიდან, ხოლო ინჟექტირების და მოძრავი ფაზის მიწოდების სისტემებს სითხური ქრომატოგრაფიიდან. განსაკუთრებული გამოყენება ამ მეთოდმა მოიპოვა დაბალი პოლარობის მქონე თერმულად სტაბილური 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 ამავდოულად კაპილარული ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფია არ იყო მისაღები პოლარული ნივთიერებების ანალიზისთვის.

1990-იანი წლებიდან განვითარდა ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფია შევსებული სვეტებისთვის (ანალოგიური სითხურ ქრომატოგრაფიაში გამოყენებული სვეტებისა) პოლარული ნივთიერებების დასაყოფად. ამ მეთოდის განვითარებას ხელი შეუწყო აპარატურული ტექნიკის დახვეწამ და მისმა გადანაცვლებამ გაზური ქრომატოგრაფიის მსგავსი ხელსაწყოებიდან სითხური ქრომატოგრაფიისკენ. დღესდღეობით ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფიაში შესაძლოა გამოყენებული იქნას სტანდარტული მაღალეფექტური სითური ქრომატოგრაფები ერთი დამატებითი მოდულით და მცირე მოდიფიკაციებით, სპექტრომეტრულ დეტექტორებში დაიწყეს მაღალი წნევის უჯრედების 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.

2.3 ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფიის მეთოდი

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.

ზეკრიტიკული სითხე შესაძლოა გამოვსახოთ ფაზათა დიაგრამაზე, კრიტიკული წნევისა და ტემპერატურის მაღლა გვექნება ზეკრიტიკული სითხის რეგიონი:



სურათი 1. ფაზათა დიაგრამა ზეკრიტიკული სითხეებისთვის.

ფლუიდი (ინგლისურად - fluid) ნიშნავს ნივთიერების ისეთ მდგომარეობას, როდესაც მისი მოლეკულები თავისუფლად გადაადგილდებიან, სითხეში (liquid) მოლეკულები თავისუფლად გადაადგილდებიან, თუმცა შეზღუდული არიან მოცულობით, რადგან

სითხის მოცულობა მუდმივია, ან თითქმის მუდმივი, ხოლო აირში (gas) მოლეკულები გადაადგილდებიან თავისუფლად, ამავდროულად არ აქვთ შეზღუდული მოცულობა - ამიტომაც აირი ყოველთვის ავსებს ჭურჭელს, რომელშიც ის მოთავსებულია, ანუ აირი და სითხე არის ფლუიდის ზღვრული შემთხვევები.

აირადი თუ თხევადი ფაზიდან ზეკრიტიკულ ფაზაში გადასვლა უფრო რბილია და მას თან არ ახლავს ისეთი რადიკალური ცვლილებები, რომლებიც, როგორც წესი, თან სდევს ფაზის (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 თუ პირობები ახლოსაა ზღვართან (წყვეტილი ხაზები სურათი 1-ზე კრიტიკული წერტილის მაღლა და მარჯვნივ). ზეკრიტიკული სითხის მახასიათებლები იცვლება ზეკრიტიკულ რეგიონში კოორდინატებზე (ტემპერატურა-T, წნევა-P) დამოკიდებულებით.

ცხრილი 1-ში მოცემულია ნახშირბადის დიოქსიდის სიმკვრივის (გ/სმ^3) მნიშვნელობა კრიტიკული ტემპერატურებსა და წნევებზე: (72 ატმოსფერო ახლოსაა მის კრიტიკულ წნევასთან, ხოლო 400 ატმოსფერო ეს სტანდარტულ სითხურ ქრომატოგრაფებში გამოყენებული მაქსიმალური წნევაა)

ტემპერატურა °C	წნევა (ატმ)	სიმკვრივე (გ/სმ3)
40	72 400	0.22 0.96
60	72 400	0.17 0.90
80	72 400	0.14 0.82
100	72 400	0.13 0.76
120	72 400	0.12 0.70
140	72 400	0.11 0.64

ცხრილი 1. CO_2-ის სიმკვრივე ტემპერატურასა და წნევაზე 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 ნახშირორჟანგი (CO_2) არის პრაქტიკულად შეუცვლელი მოძრავი ფაზა ზეკრიტიკული სითხის ქრომატოგრაფიაში. ამასთან, ის იაფია, ეკოლოგიურად სუფთა, არატოქსიკური და ძლიერ ინერტული.

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. ჩამოთვლის პირობებს საუკეთესოდ შეესაბამება ნახშირორჟანგი. ცხრილი 2-ში მოცემულია ზოგიერთი სხვა ზეკრიტიკული სითხის მახასიათებელი პარამეტრები:

ზეკრიტიკული სითხე	კრიტიკული პარამეტრები			სიმკვრივე 400 ატმოსფეროზე (გ/სმ3)
	ტემპერატურა(°C)	წნევა (ატმ.)	სიმკვრივე (გ/სმ3)	
ნახშირორჟანგი (CO_2)	31.3	72.9	0.47	0.96
აზოტის ოქსიდი (NO_2)	36.5	72.5	0.45	0.94
გოგირდის ჰექსაფტორიდი (SF_6)	45.5	37.1	0.74	1.61
ქსენონი (Xe)	16.6	58.4	1.10	2.30
ბუტანი (C_4H_{10})	152.0	37.5	0.23	0.50
პენტანი (C_5H_{12})	196.6	33.3	0.23	0.51
დიქლოროდიფტორომეთანი (CCL2F2)	111.8	40.7	0.56	1.12
ტრიფტორმეთანი (CHF_3)	25.9	46.9	0.52	1.15
ამიაკი (NH_3)	132.5	112.5	0.24	0.40
წყალი (H_2O)	374.4	226.8	0.34	*
მეთანოლი (CH_3OH)	240.5	78.9	0.27	*
აცეტონიტრილი (CH_3CN)	274.7	47.7	0.24	*

ცხრილი 2. ზეკრიტიკული სითხეების პარამეტრები.

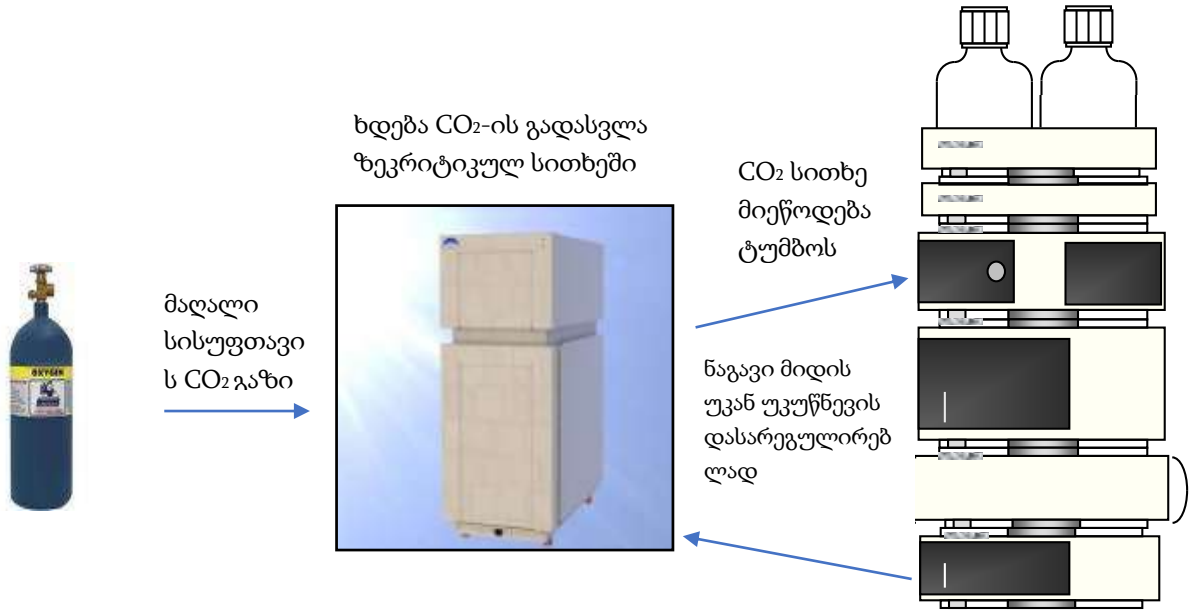
ნახშირორჟანგთან (CO_2) ყველაზე ახლოს მდგომი თვისებები აქვს აზოტის ოქსიდს, თუმცა ძლიერი მჟანგავია და ხშირ შემთხვევაში ამ თვისების გამო შეზღუდულია მისი გამოყენება. გოგირდის ჰექსაფტორიდი უფრო სუსტი გამხსნელია ვიდრე ნახშირორჟანგი,

ასევე ძნელია მისი მაღალი სისუფთავით მიღება. ქსენონიც სუსტი გამხსნელია, ასევე ძვირადღირებული,

თუმცა გამოიყენება ზოგ შემთხვევაში, როდესაც იყენებენ ინფრაწითელი სპექტროსკოპით დეტექტირებას, რადგანაც ის გამჭირვალეა ი.წ სპექტრში. დაბალი მოლეკულური მასის მქონე ნ-ალკანებს აქვთ მაღალი კრიტიკული ტემპერატურები, არიან სუსტი გამხსნელები, ასევე არათავსებადები ალურ-იონიზაციურ დეტექტორებთან, ასევე არიან აალებადები და მოითხოვენ დამატებით სიფრთხილეს გამოყენებისას. ყველა ეს გამხსნელი სუსტი ბუნებისაა, თუ გავიხსენებთ, რომ მოლეკულათაშორისი ურთიერთქმედება დისპერსიული და ინდუქციური ხასიათისაა, არაპოლარულ მოლეკულებს არ გააჩნიათ ინდუქციური ურთიერთქმედება, ხოლო პოლარულ ზეკრიტიკულ სითხეებს (რომლებსაც აქვთ საკუთარი დიპოლური მომენტი) აქვთ მნიშვნელოვნად მაღალი კრიტიკული პირობები. ქლორ და ფტორჩანაცვლებულ ალკანებს აქვთ სასურველი პოლარობა და კრიტიკული პარამეტრები, თუმცა მათი გამოყენება შეზღუდულია ფასის, ხელმისაწვდომობის და არაეკოლოგიურობის გამო. დიპოლარულ გამაცივებელ აგენტს (CF_3CH_2F-იგივე HFC-134a, ფორანი 134a,…) აქვს სამომავლო გამოყენების კარგი პოტენციალი. ამიაკი ძლიერი გამხსნელია, თუმცა კოროზიული და ტოქსიკური, ის ხსნის სილიკაგელის საფუძველზე მომზადებულ მასალებს, ასევე აზიანებს ხელსაწყოს დეტალებს ადვილად.

თანამედროვე ზეკრიტიკული სითხის ქრომატოგრაფების აბსოლუტური უმრავლესობა მორგებულია ან ღია მილისებრი კაპილარული სვეტების, ან შევსებული სვეტების გამოყენებაზე. ღია მილისებრი სვეტების შემთვევაში, გაზური ქრომატოგრაფის კონსტრუქციას სჭირდება ადაპტირება, რომ გამოყენებულ იქნას მცირე ზომის სვეტები, ხოლო შევსებული სვეტების შემთხვევაში, გამოიყენება იგივე სვეტები და აპარატურა, რაც სითხურ ქრომატოგრაფიაში. თუმცა ორივე შემთხვევაში საჭიროა დამატებითი ზეკრიტიკული სითხის კონტროლის მოდული, რომელიც აკონტროლებს თხევადი ნახშირორჟანგის წნევას, ტემპერატურას, და ნაკადის სიჩქარეს, ზოგიერთ ზეკრიტიკული სითხეების ტუმბოს შეუძლია თვითონ გაათხევადოს აირადი ნახშირორჟანგი.

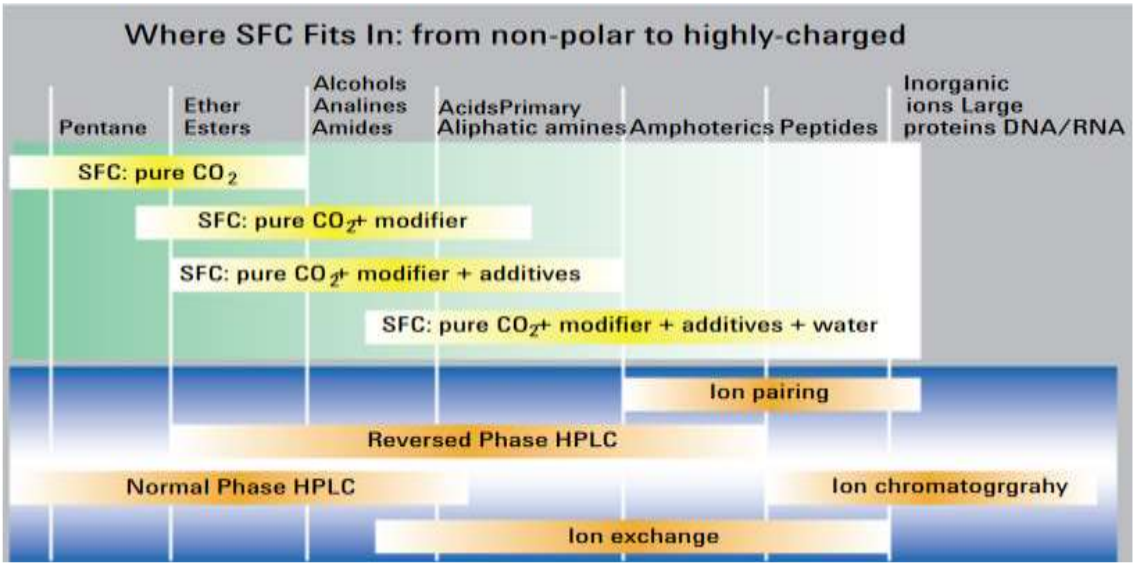
გაზურ და სითხურ ქრომატოგრაფებში გამოყენებული დეტექტორების უმრავლესობა თავსებადია ნახშირორჟანგის ზეკრიტიკულ სითხესთან, თუმცა ოპტიკური დეტექტორებისთვის (ულტრაიისფერი, რეფრაქციული, ფლუორესცენტული და ა.შ) საჭიროა მაღალი წნევის გამძლე უჯრედების გამოყენება. ასევე იყენებენ შემზღუდველებს სვეტსა და დეტექტორს შორის, წნევის კონტროლისათვის.



სურათი 2. ნაკადის დიაგრამა ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფიაში.

ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფია გამოიყენება არაპოლარული, სუსტი პოლარობის და ძლიერ პოლარული ნივთიერებებისთვის, ასევე მაღალმოლეკულური ნივთიერებებისთვის, რომელთა გაზ ქრომატოგრაფიული ანალიზი გაძნელებულია, ანალიზები 5-10 ჯერ სწრაფია სითხურ ქრომატოგრაფიასან შედარებით და მოდიფიკატორების და დანამატების გამოყენებით, ზეკრიტიკული სითხის სელექტიურობა ხშირად გაცილებით მეტია ვიდრე სტანდარტულ სითხურ ქორმატოგრაფიაში.

სურათი 4-ზე მოცემულია ზეკრიტიკული სითხური ქრომატოგრაფიის გამოყენების დიაპაზონი სითხურ ქრომატოგრაფიასთან შედარებით:



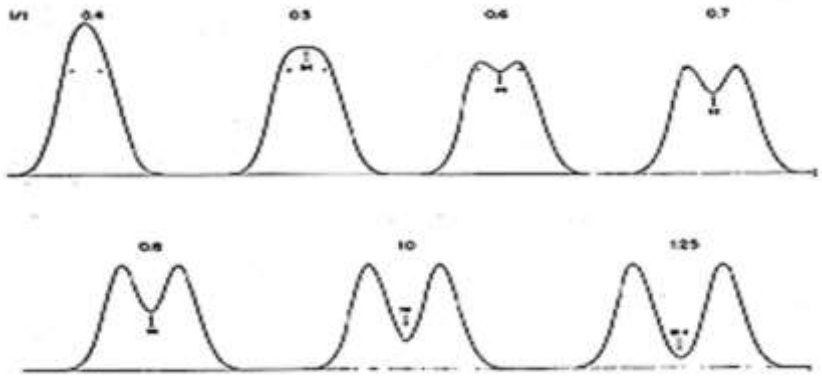
სურათი 3. ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფიის გამოყენება.

ქრომატოგრაფიული პარამეტრები

ქრომატოგრაფიული დაყოფის მახასიათებელი პარამეტრები არის:

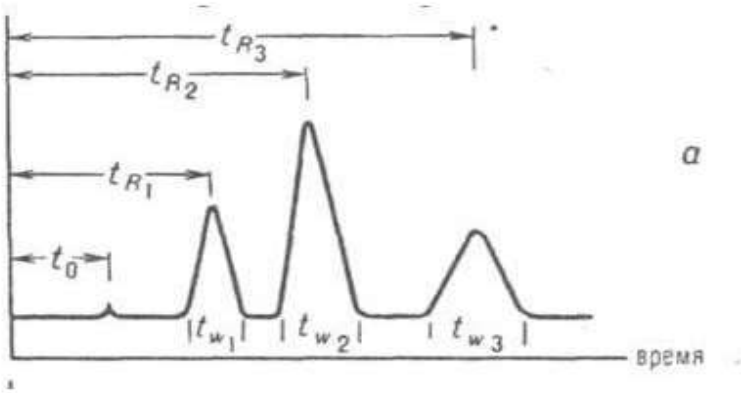
- შეკავების ფაქტორი
- სელექტიურობა
- ეფექტურობა
- გარჩევითობა
- პიკის სიმეტრია

შეკავების ფაქტორი k გამოითვლება ფორმულით:



$$k_A = \frac{t_R - t_M}{t_M} \qquad (1)$$

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.



სელექტიურობა(□), არის დაყოფის ხარისხის რაოდენობრივი მახასიათებელი და წარმოადგენს ორი ნიმუშის შეკავების ფაქტორთა ფარდობას:

$$\alpha = \frac{k_2'}{k_1'} \qquad (2)$$

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

სვეტის ეფექტურობა ხასიათდება თეორიული თეფშების რიცხვით **N**

$$N = 16\left(\frac{t_R}{W}\right)^2 \qquad (3)$$

t_R მოცემული ნიუშის შეკავების დროა, ხოლო **W** - პიკის სიგანე.

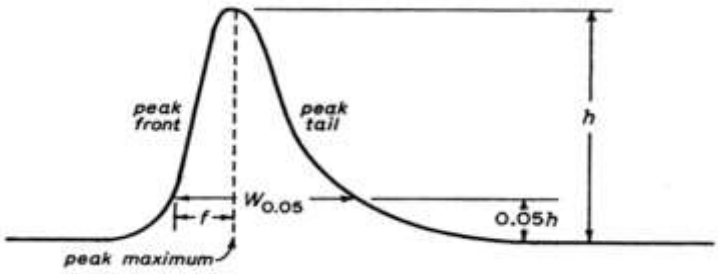
გარჩევითობა(R) წარმოადგენს ტევადობის ფაქტორის, სელექტიურობის და სვეტის ეფექტურობის გაერთიანებულ გამოსახულებას

$$R_s = \frac{(t_2 - t_1)}{0.5(W_1 + W_2)} \qquad (4)$$

t_1 და t_2 - პირველი და მეორე ნიმუშის შეკავების დროებია, ხოლო W_1 და W_2 პირველი და მეორე ნიმუშის პიკის სიგანეები.

პიკის სიმეტრია:

As = W 0.05 / 2 f (5)



როგორც ზემოთ აღნიშნულიდან ჩანს, ქრომატოგრაფიული ანალიზის მეთოდის დამუშავების პროცესში აუცილებელია სელექტიურობის და ეფექტურობის გაზრდის გზით გარჩევითობის მაქსიმალურად მაღალი (ცალკეულ შემთხვევაში ოპტიმალური) მნიშვნელობის მიღწევა.

2.4 ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფიის გამოყენება ქირალურ დაყოფებში და უპირატესობები

ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფია ფართოდ გამოიყენება ქირალურ ანალიზში და დროთა განმავლობაში უფრო აქტუალური ხდება მრავალ კომპონენტიანი ნარევების დასაყოფად, როგორც მაღალი გარჩევითობის მქონე ანალიზური მეთოდი, რაც გამოწვეულია ზეკრიტიკული სითხეების თერმოდინამიკური მახასიათებლებით, ასევე შედარებით დაბალი ტემპერატურა იძლევა შესაძლებლობას გაანალიზდეს თერმულად არამდგრადი ნივთიერებები, რისი საშუალებაც გაზურ ქრომატოგრაფიაში არ გვაქვს. თუმცა ყველაზე მნიშვნელოვანი უპირატესობა, რაც ამ მეთოდს გააჩნია არის ის, რომ იგი წარმოადგენს ე,წ.
„მწვანე მეთოდს“.

უპირატესობები მაღალეფექტურ სითხურ ქრომატოგრაფიასთან შედარებით

- იმის გამო, რომ ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფიაში გვაქვს სიბლანტის უფრო დაბალი მაჩვენებელი, ანალიზები არის უფრო სწრაფი და უკუწნევა ბევრად მცირეა, სწორედ ამის გამო შესაძლებელია გამოყენებული იქნას ღია მილოვანი სვეტები.
- ზეკრიტიკული სითხის მაღალი დიფუზიის უნარის გამო შესაძლებელია გამოყენებული იქნას შედარებით მოკლე სიგრძის სვეტები.
- პრეპარატული დაყოფების დროს ადვილია ელუენტის მოშორება შეგროვებული ფრაქციებიდან.

უპირატესობები გაზურ ქრომატოგრაფიასთან შედარებით

- ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფია საშუალებას იძლევა ნიმუშები გაანალიზდეს დერივატიზაციის გარეშე, რადგან არ არის საჭირო პოლარული ჯგუფების არაპოლარულ ჯგუფებში გადაყვანა.
- შესაძლებლობას იძლევა გამოვიყენოთ დაბალი ტემპერატურა და ანალიზის მცირე დრო გაზურ ქრომატოგრაფიასთან შედარებით.
- შესაძლებელია გაანალიზდეს ბევრად უფრო მაღალი მოლეკულური მასის ნივთიერებები.

ნაკლოვანება

- ძლიერ პოლარული ნივთიერებების ანალიზი წარმოადგენს მნიშვნელოვან პრობლემას, რადგან CO_2 არის არაპოლარული მოძრავი ფაზა.

3. ექსპერიმენტული ნაწილი

3.1 გამოყენებული ხელსაწყოები

ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფიის ექსპერიმენტის ჩატარება ხდება Agilent 1260 Infinity Analytical SFC system (Agilent Technologies, სანტა კლარა, კალიფორნია, აშშ) მოდელის ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფის ხელსაწყოს გამოყენებით, რომელიც შედგებოდა ზეკრიტიკული სითხის გარდამქმნელი მოდულის, ბინარული ტუმბოს, ავტოსემპლერის, სვეტების თერმოსტატის და ულტრაიისფერი დეტექტორისაგანგან. მეთოდების შესადგენად და ხელსაწყოს სამართავად გამოყენებული იქნა OpenLAB CDS C.01.05.

ნიმუშის წონაკის აწონვა ხდებოდა ნახევრადმიკრო სასწორზე მოდელი Kern ABJ-NM-ის გამოყენებით (Kern, გერმანია).

3.2 მასალები და რეაგენტები

ყველა გამხსნელი და რეაგენტი გამოყენებული იყო ანალიზური ან ქრომატოგრაფიული სისუფთავის. მეთანოლი შეძენილი იყო კომპანია Carl Roth-დან, კარლსრუე, გერმანია. საანალიზო ნივთიერებები მოწოდებული იყო სხვადასხვა ფარმაცევტული და ქიმიური კომპანიებიდან, ისევე როგორც უნივერსიტეტებიდან.

ცელულოზა ტრის(3-ქლორ-5-მეთილფენილკარბამატის) საფუძველზე მომზადებული ქრომატოგრაფიული სვეტის შევსება მოხდა თსუ ფიზიკური და ანალიზური ქიმიის კათედრაზე.

ექსპერიმენტისათვის მომზადებულ იქნა ნივთიერებების რაცემატული ხსნარები მეთანოლში, კონცენტრაციით 5 მგ/მლ.

3.3 გამოყენებული ქირალური სტაციონარული ფაზა

ქრომატოგრაფიული ანალიზები ჩატარებულ იქნა ცელულოზას საფუძველზე მომზადებული ქირალური სტაციონარული ფაზის გამოყენებით. ქირალური გამოცნობის მექანიზმების კვლევა, განსაკუთრებით მოლეკულურ დონეზე ძალზე მნიშვნელოვანია, როგორც ქირალური დაყოფების, ასევე ახალი, უფრო ეფექტური ქირალური სტაციონარული ფაზების შექმნის მიზნით.

სტაციონარულ ფაზად გამოყენებული იქნა ცელულოზა ტრის (3-ქლორ-5-მეთილფენილკარბამატი).

3.4 ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფიის ექპერიმენტი

ელუენტებად გამოყენებული იყო მეთანოლისა და ნახშირორჟანგის (CO_2) სხვადასხვა კონცენტრაციების ნარევი.

ელუენტის ნაკადი იყო 2 მლ/წთ, შესწავლილ იქნა სტანდარტული ანალიზური ზომის მქონე სვეტი: 250 მმX 4,6მმ, დეტექტირება ხდებოდა 220 ნმ და 254 ნმ ტალღის სიგრძეზე.

ინიცირებული ნიმუშის მოცულობა იყო 1-4 მკლ. ანალიზები ტარდებოდა 25^0C.

3.5 საკვლევი ნივთიერებები

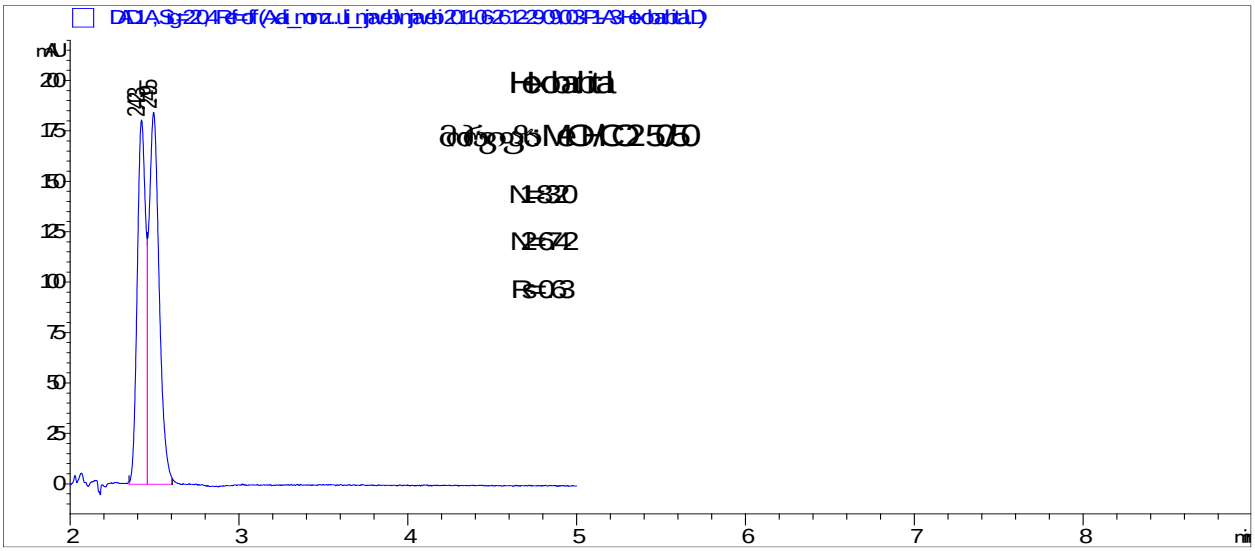
ექსპერიმენტში გამოვიყენეთ მჟავა ბუნების შემდეგი ნივთიერებები:

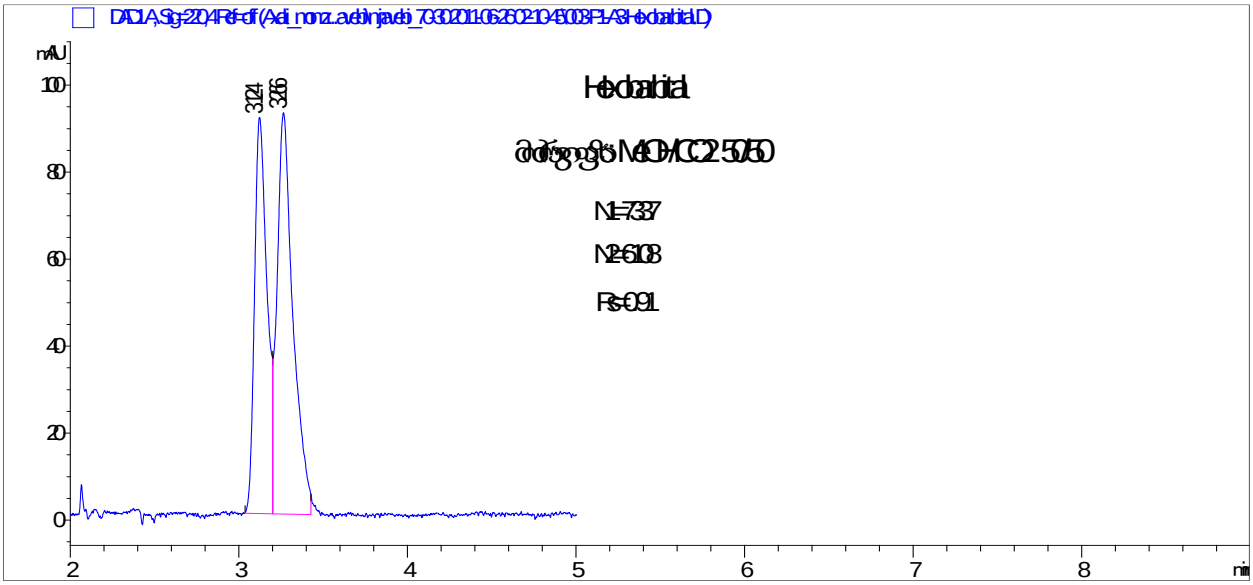
1. ფენოპროფენ კალციუმი	2. ნემბუტალი
3. ჰექსობარბიტალი	4. ჰალონალი
5. პირპროფენი	6. ინდოპროფენი
7. სურპროფენი	8. კარპროფენი
9. კეტოროლაკი	10. კუმატეტრალილი
11. ვარფარინი	12. იბუპროფენი
13. ფლურბიპროფენი	14. კეტოპროფენი
15. პროპიონიკი	16. სულინდაკი
17. ბენზობამილი	18. მეთილსუქსინი
19. ბენოქსაპროფენი	20. პროგლუმიდი

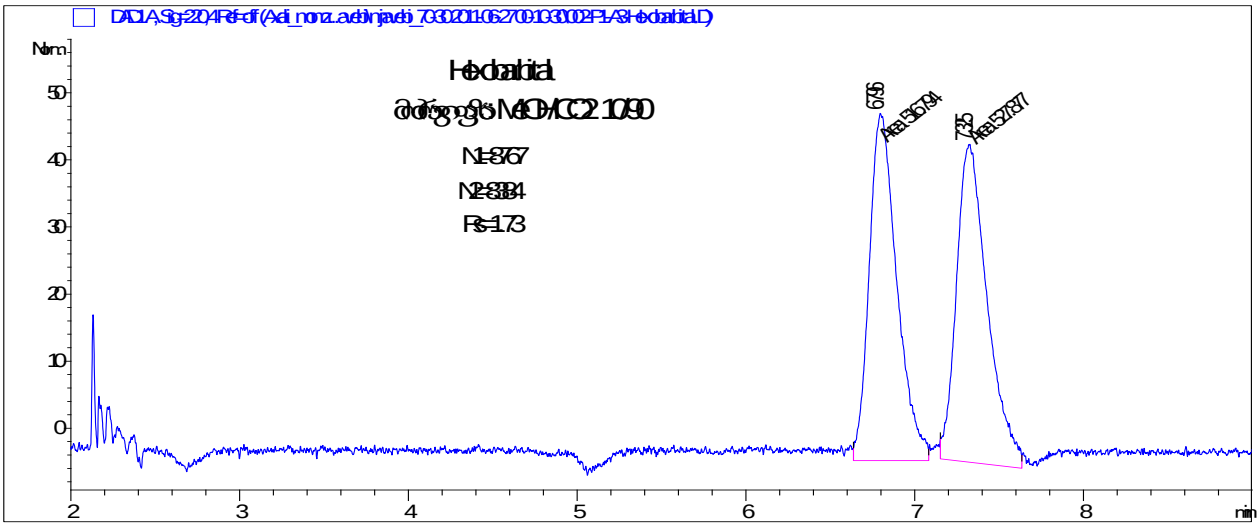
4. მიღებული შედეგები და განსჯა

ჩვენს მიერ ჩატარებულ იქნა ნახშირორჟანგისა (CO_2) და მეთანოლის განსხვავებული პროცენტული შემადგენლობის ნარევით ცელულოზა ტრის (3-ქლორ-5-მეთილფენილკარბამატი) სვეტზე მჟავა ბუნების 20 ნივთიერების სკრინინგი.

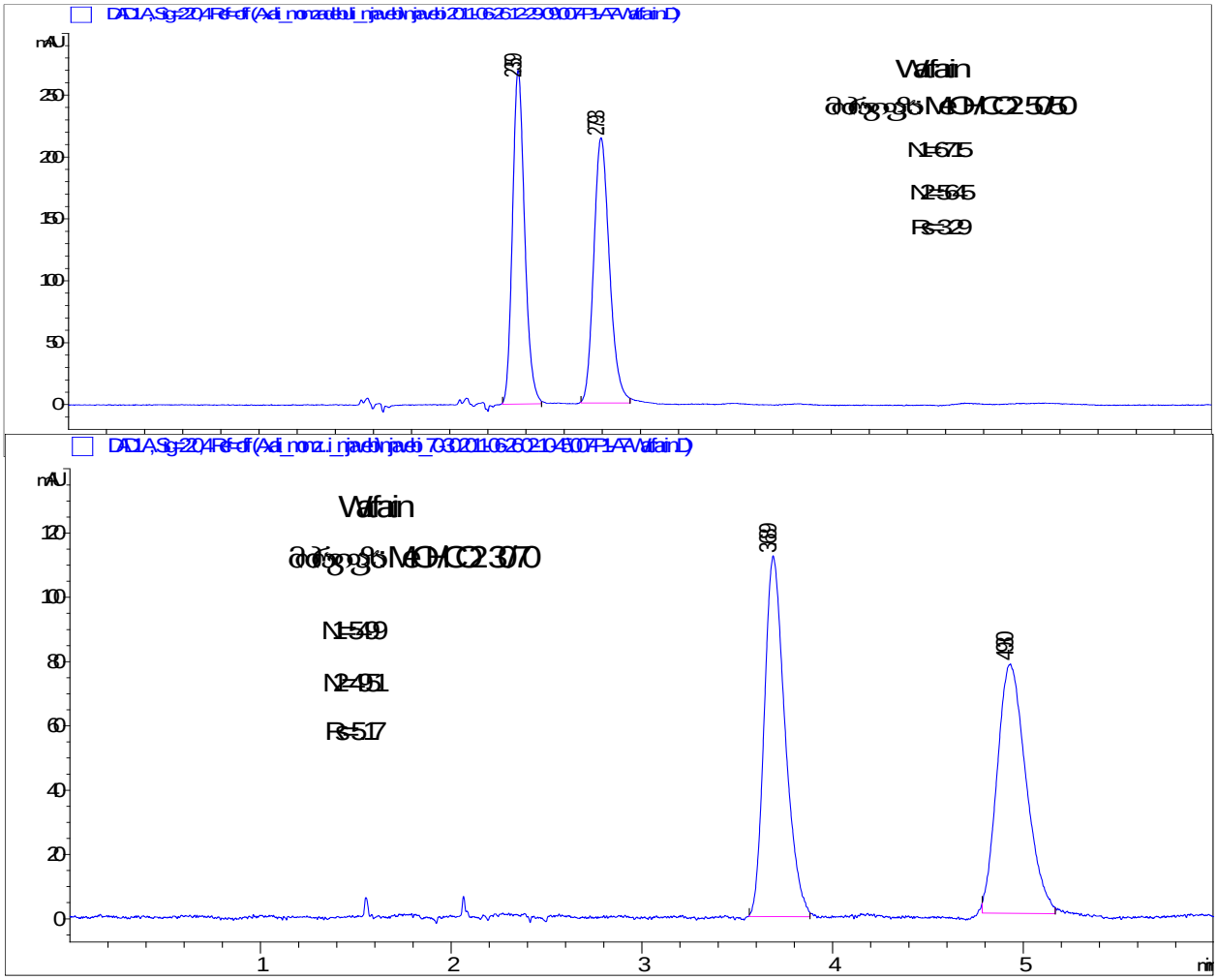
ექსპერიმენტის პირველ საფეხურზე ელუენტად გამოყენებულ იქნა ნახშირორჟანგისა (CO_2) და მეთანოლის ნარევი შემდეგი თანაფარდობით: ნახშირორჟანგი (CO_2) 50%:მეთანოლი 50%, ამის შემდეგ ნახშირორჟანგის (CO_2) მოცულობითი წილი გავზარდეთ 70%-მდე. შესწავლილი 20 ტესტ მჟავა ბუნების უმეტესი ნაწილი ნივთიერებების ენანტიომერულად სრულად ან ნაწილობრივ დაიყო, როდესაც მოძრავ ფაზაში ნახშირორჟანგის (CO_2) შემცველობა შეადგენდა 70%.



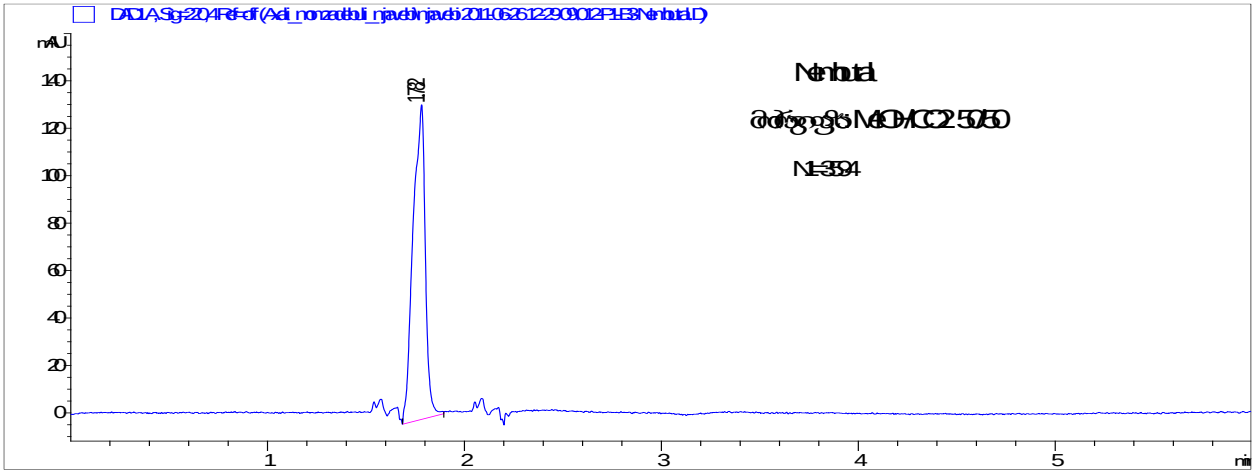


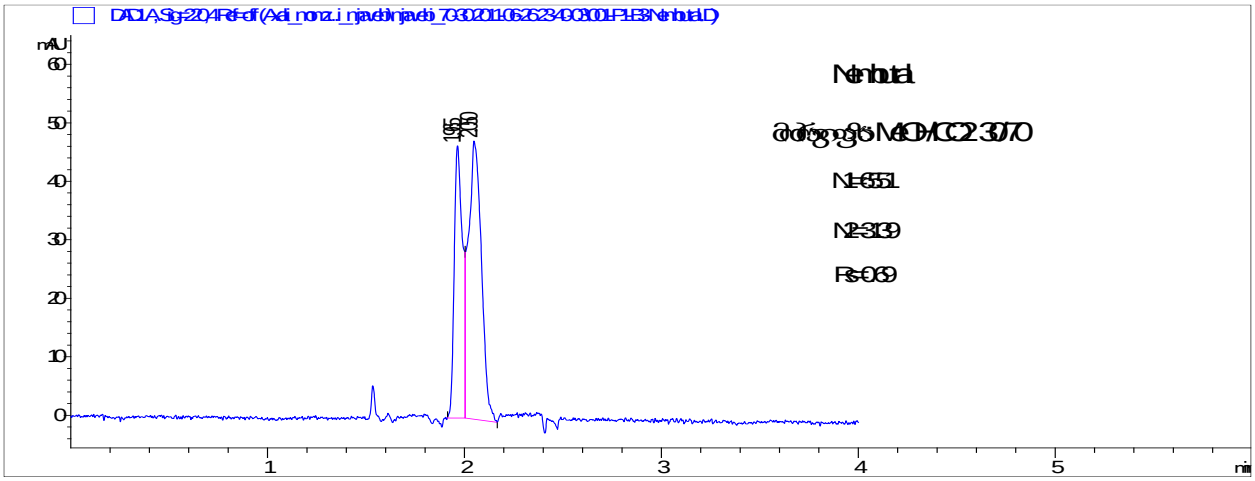


სურათი 4,5,6. ჰექსობარბიტალის ენანტიომერების დაყოფის გაუმჯობესება ნახშირორჟანგის (CO_2) მოცულობითი წილის გაზრდით.

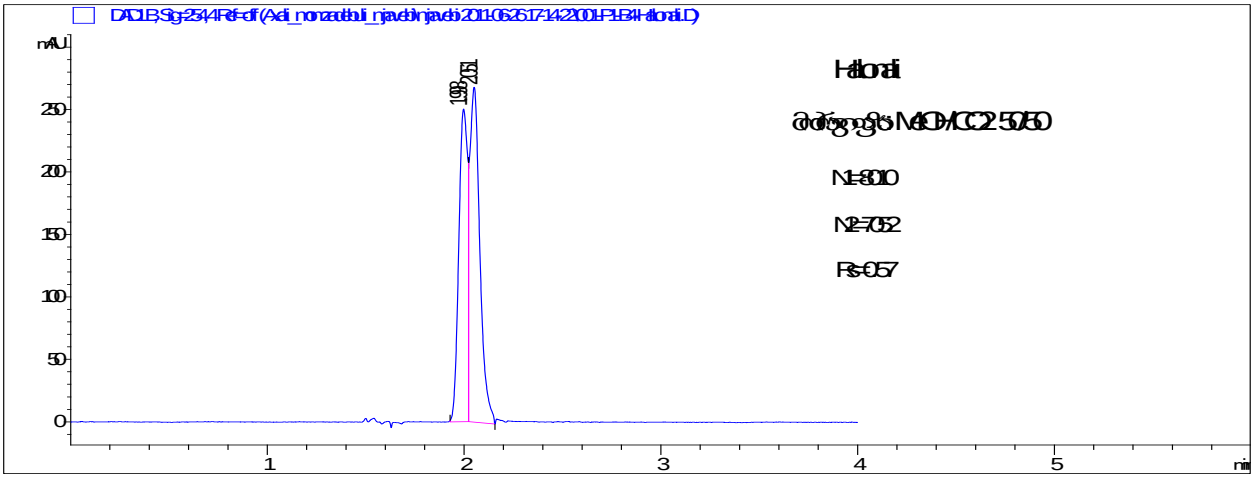


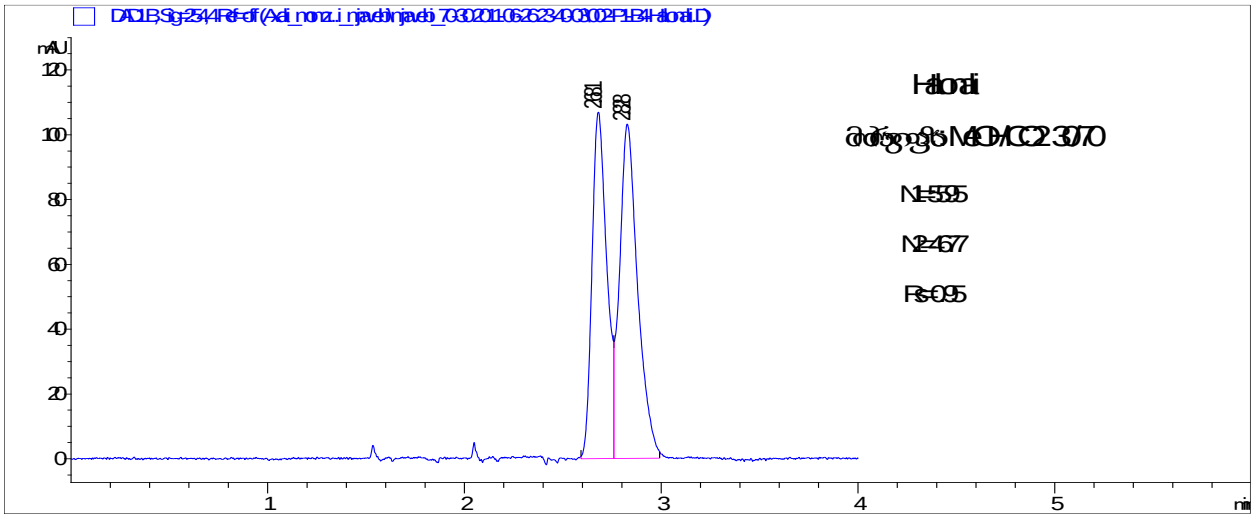
სურათი 7,8. ვარფარინის ენანტიომერების დაყოფის გაუმჯობესება ნახშირორჟანგის (CO_2) მოცულობითი წილის გაზრდით.



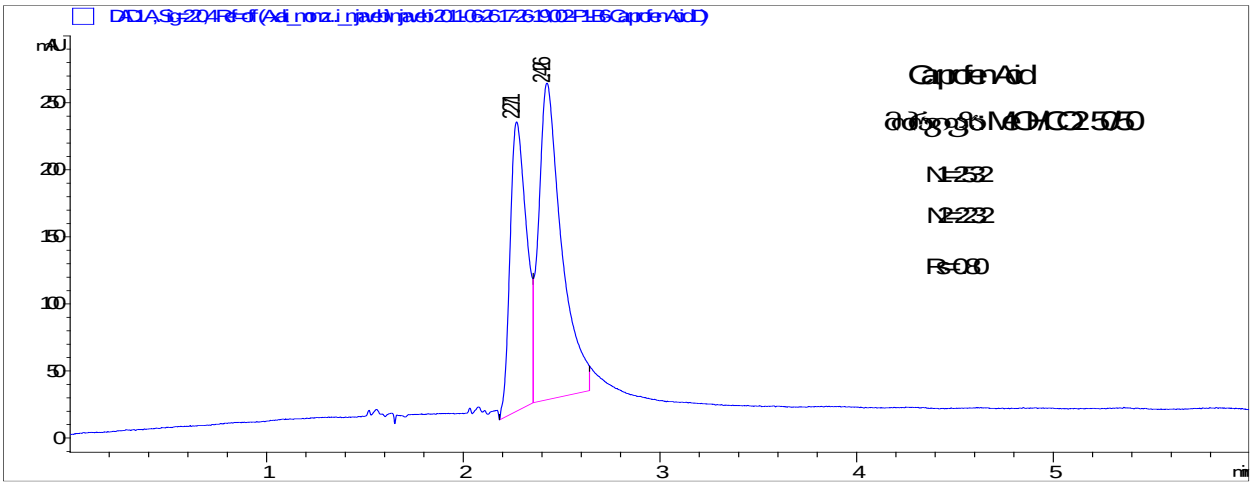


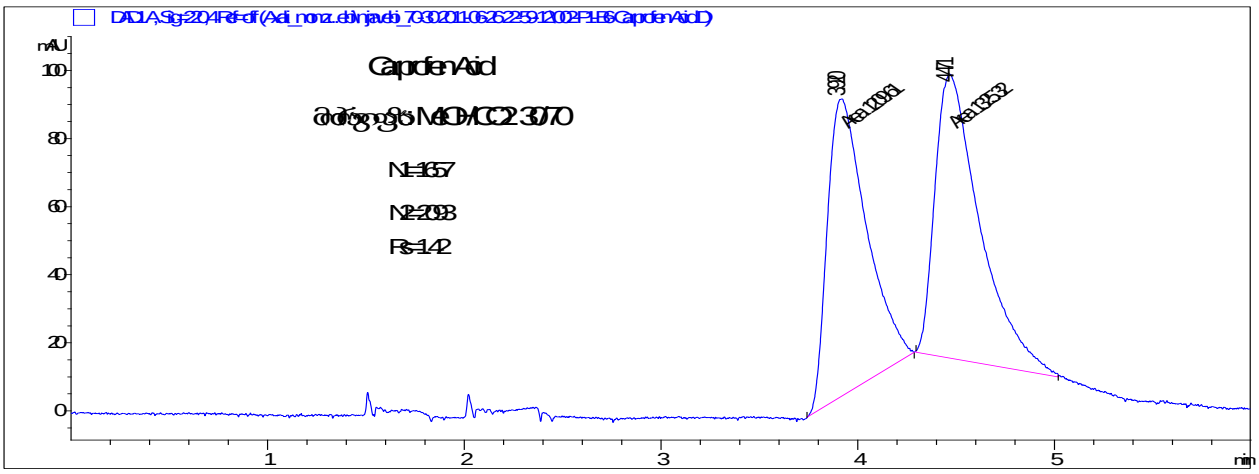
სურათი 9,10. ნემბუტალის ენანტიომერების დაყოფის გაუმჯობესება ნახშირორჟანგის (CO_2) მოცულობითი წილის გაზრდით.



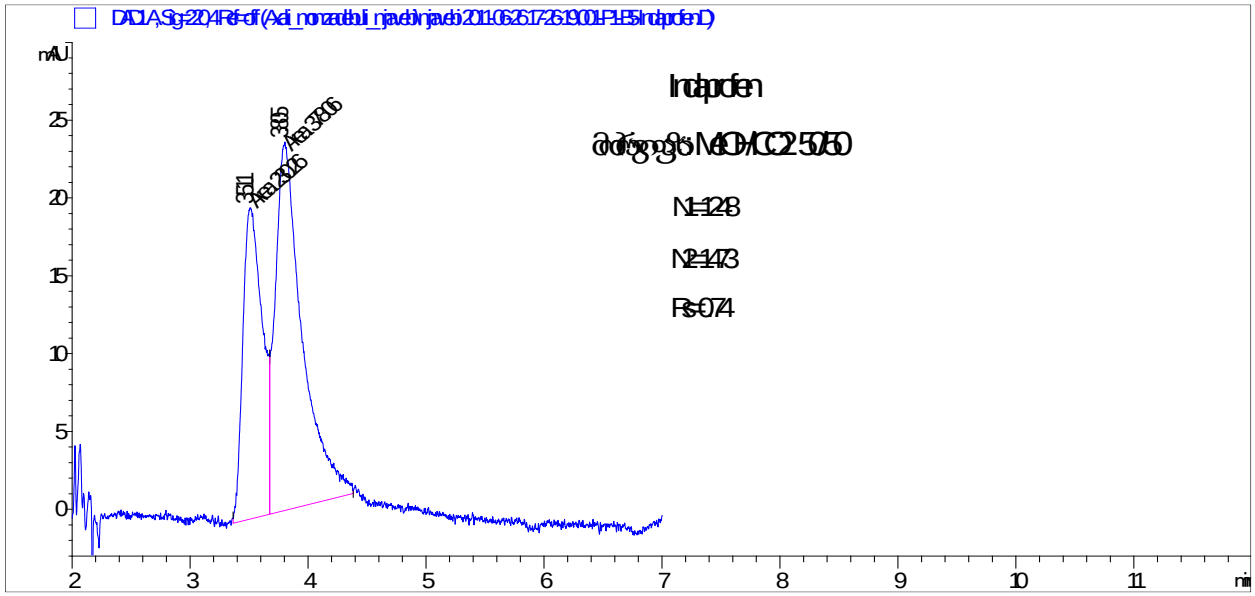


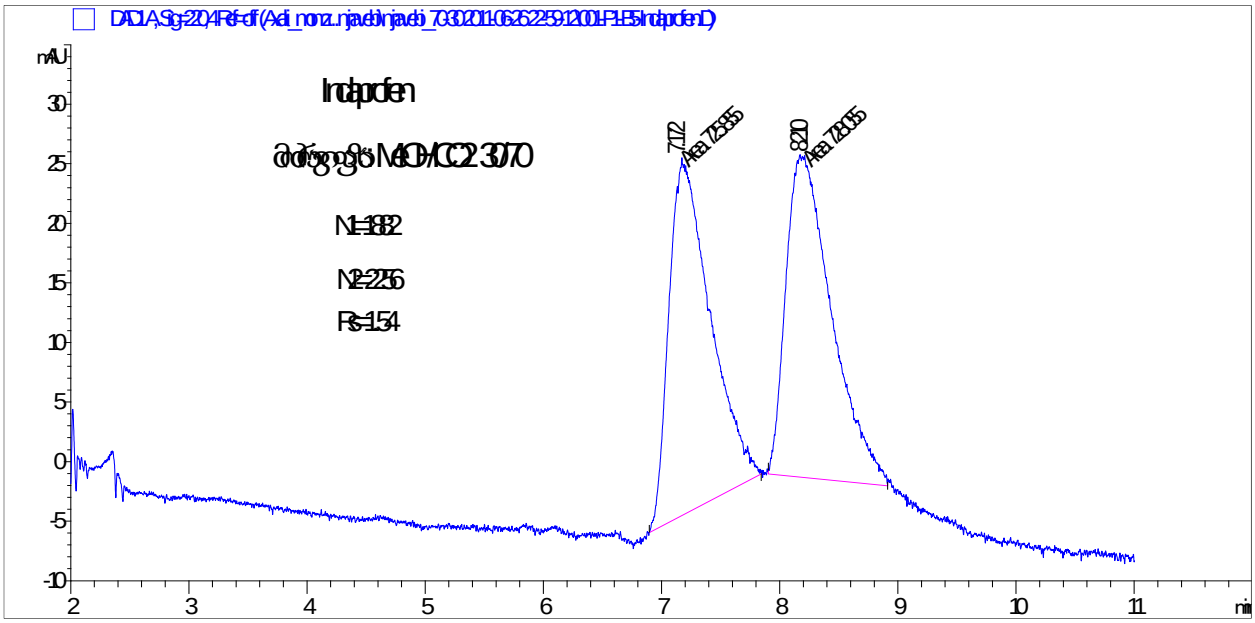
სურათი 11,12. ჰალონალის ენანტიომერების დაყოფის გაუმჯობესება ნახშირორჟანგის (CO_2) მოცულობითი წილის გაზრდით.



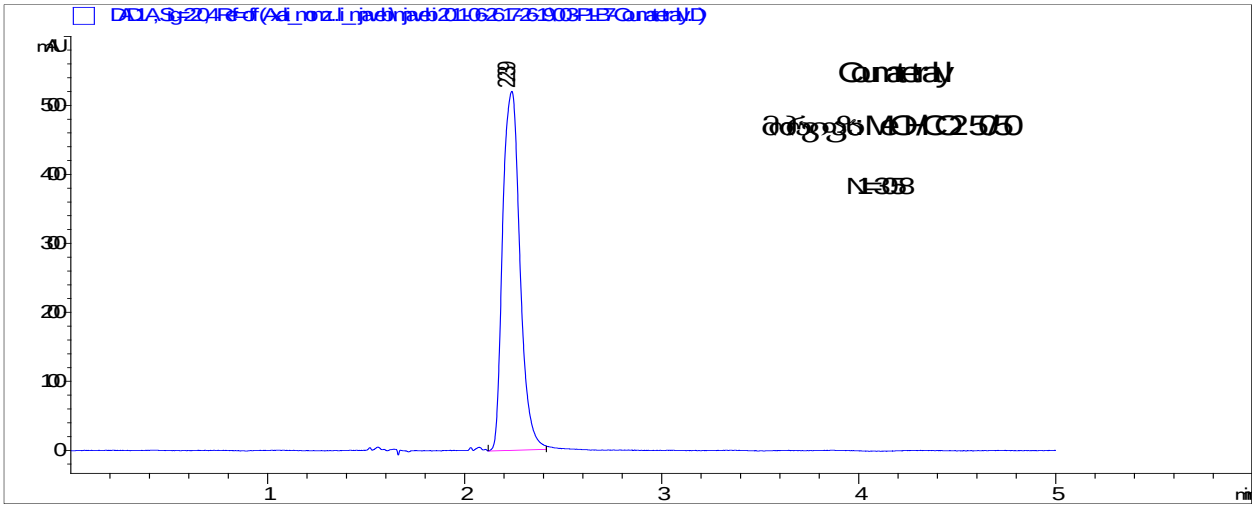


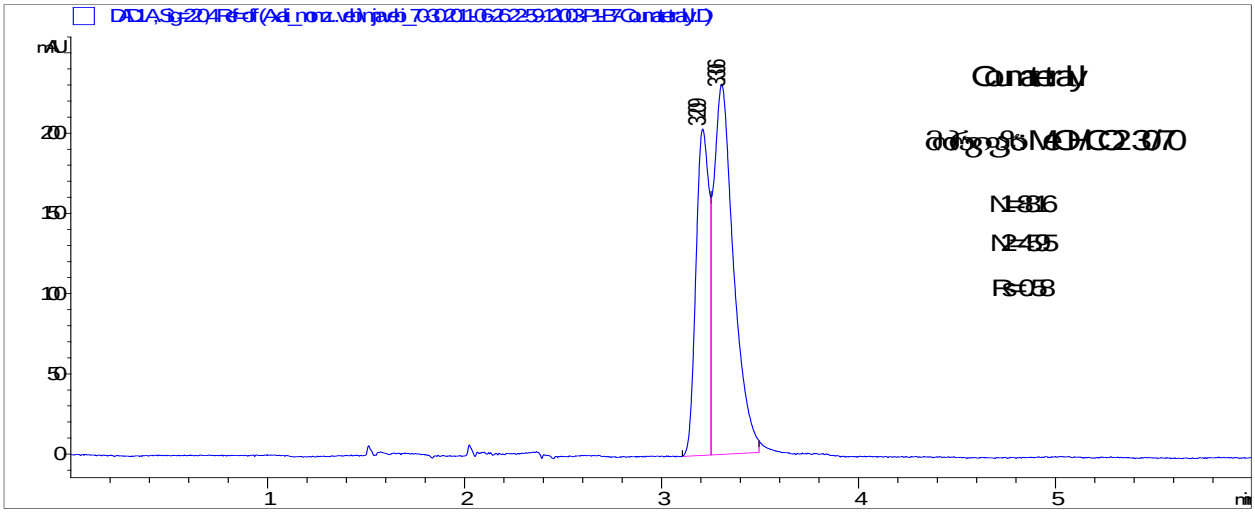
სურათი 13,14. კარპროფენის მჟავის ენანტიომერების დაყოფის გაუმჯობესება ნახშირორჟანგის (CO_2) მოცულობითი წილის გაზრდით.



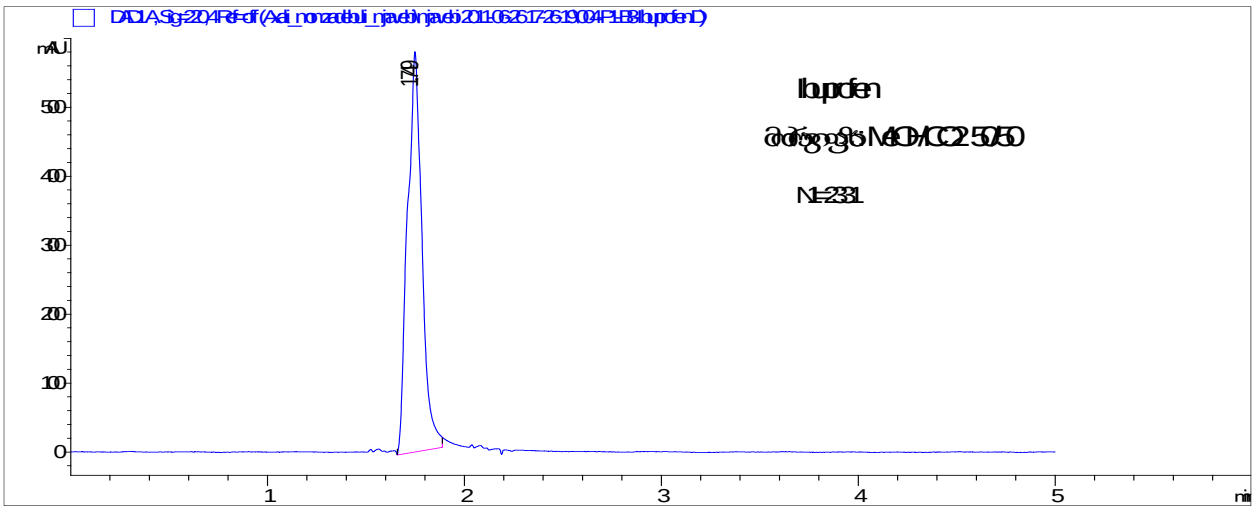


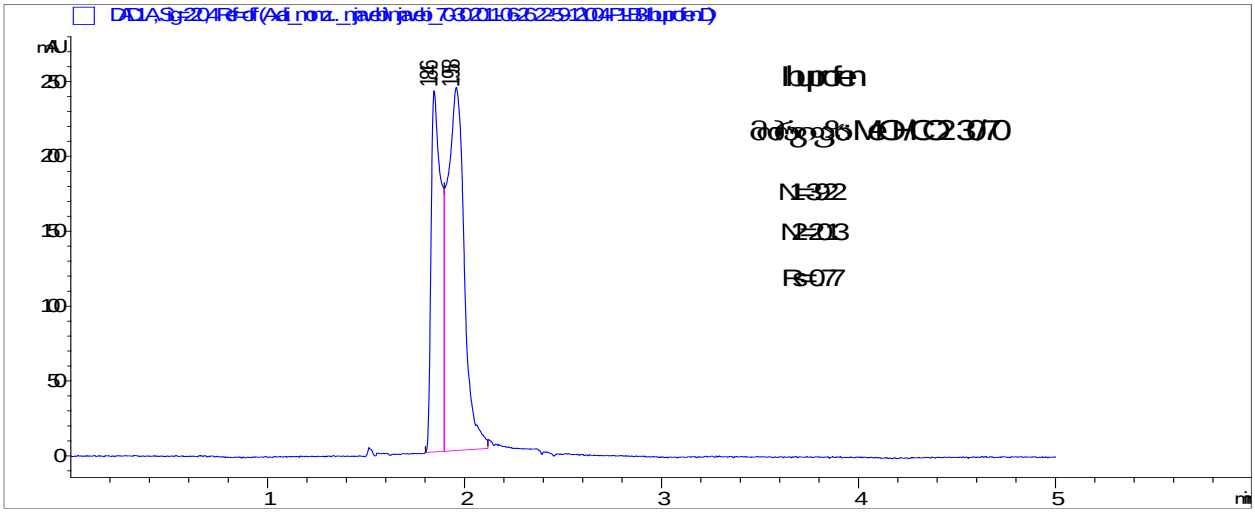
სურათი 15,16. ინდოპროფენის ენანტიომერების დაყოფის გაუმჯობესება ნახშირორჟანგის (CO_2) მოცულობითი წილის გაზრდით.



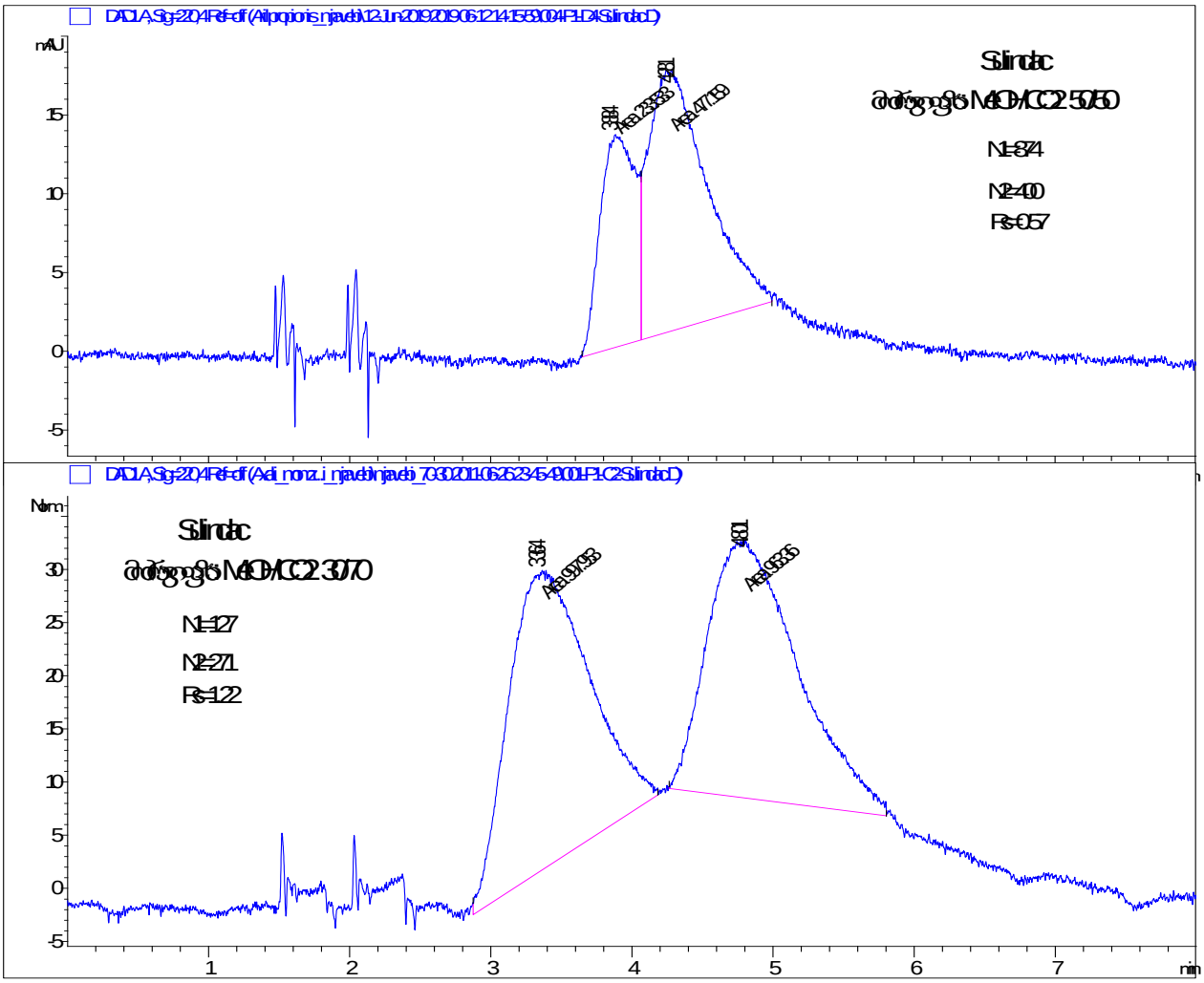


სურათი 17,18. კუმატეტრალის ენანტიომერების დაყოფის გაუმჯობესება ნახშირორჟანგის (CO_2) მოცულობითი წილის გაზრდით.

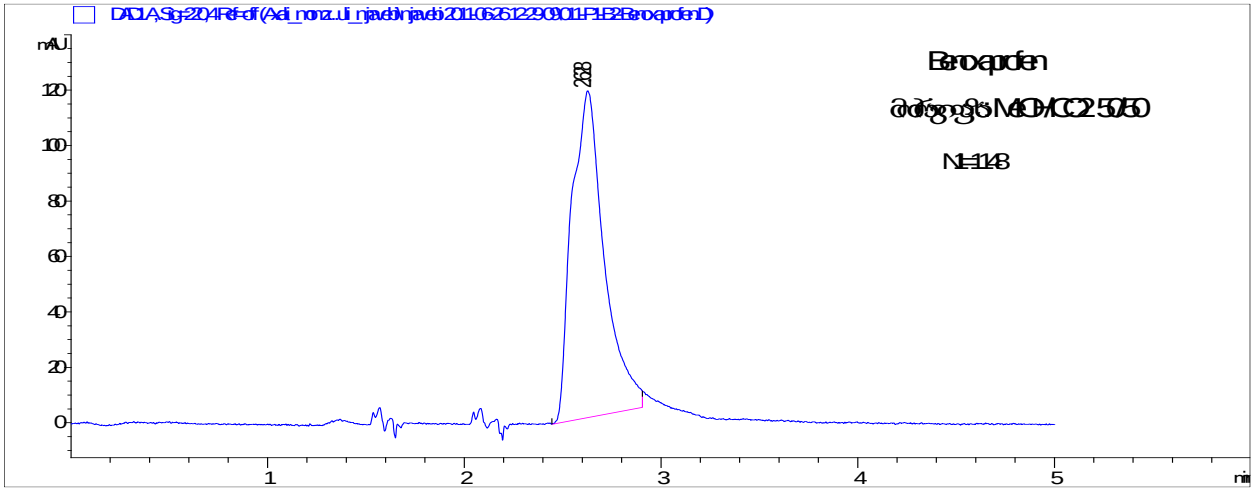


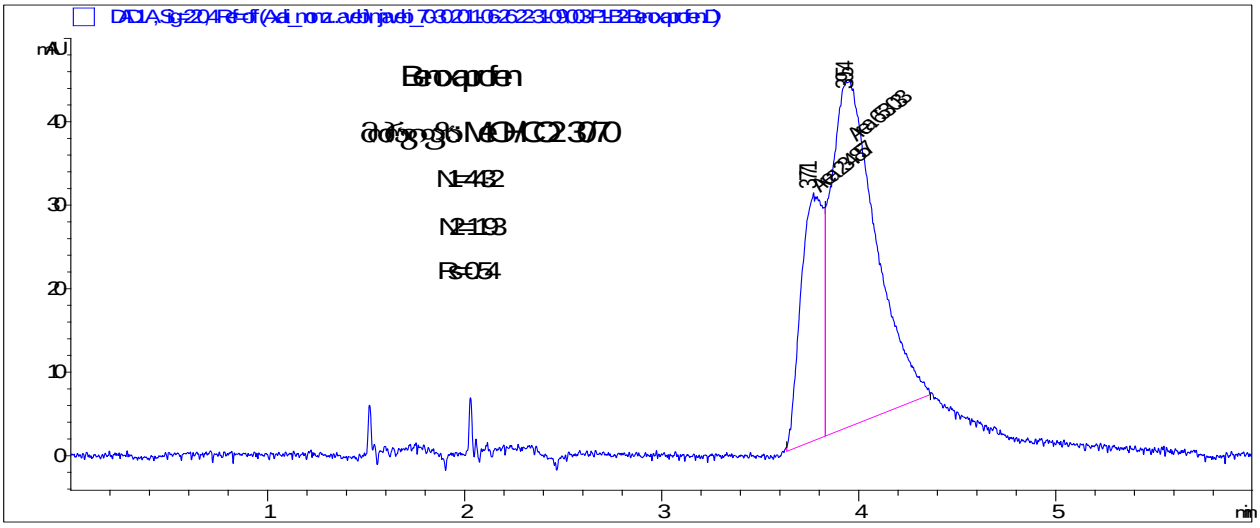


სურათი 19,20. იბუპროფენის ენანტიომერების დაყოფის გაუმჯობესება ნახშირორჟანგის (CO_2) მოცულობითი წილის გაზრდით.

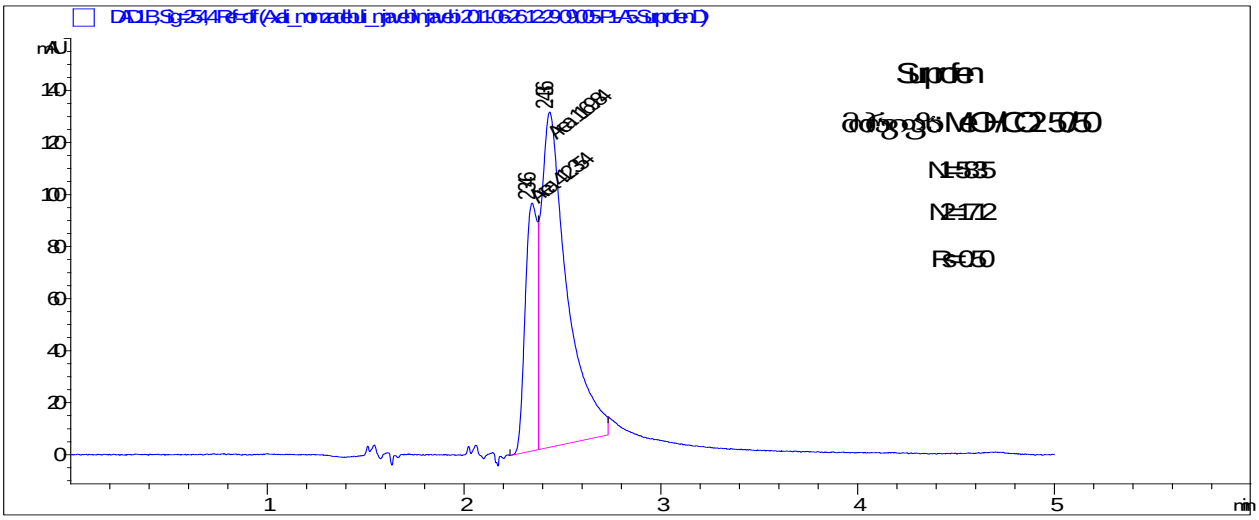


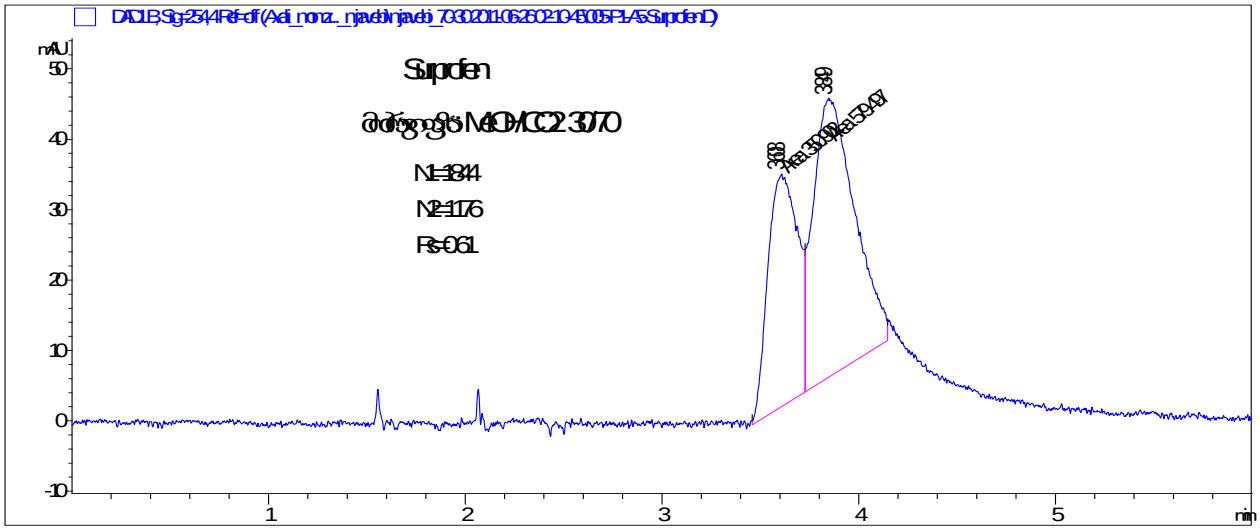
სურათი 21,22. სულინდაკის ენანტიომერების დაყოფის გაუმჯობესება ნახშირორჟანგის (CO_2) მოცულობითი წილის გაზრდით.





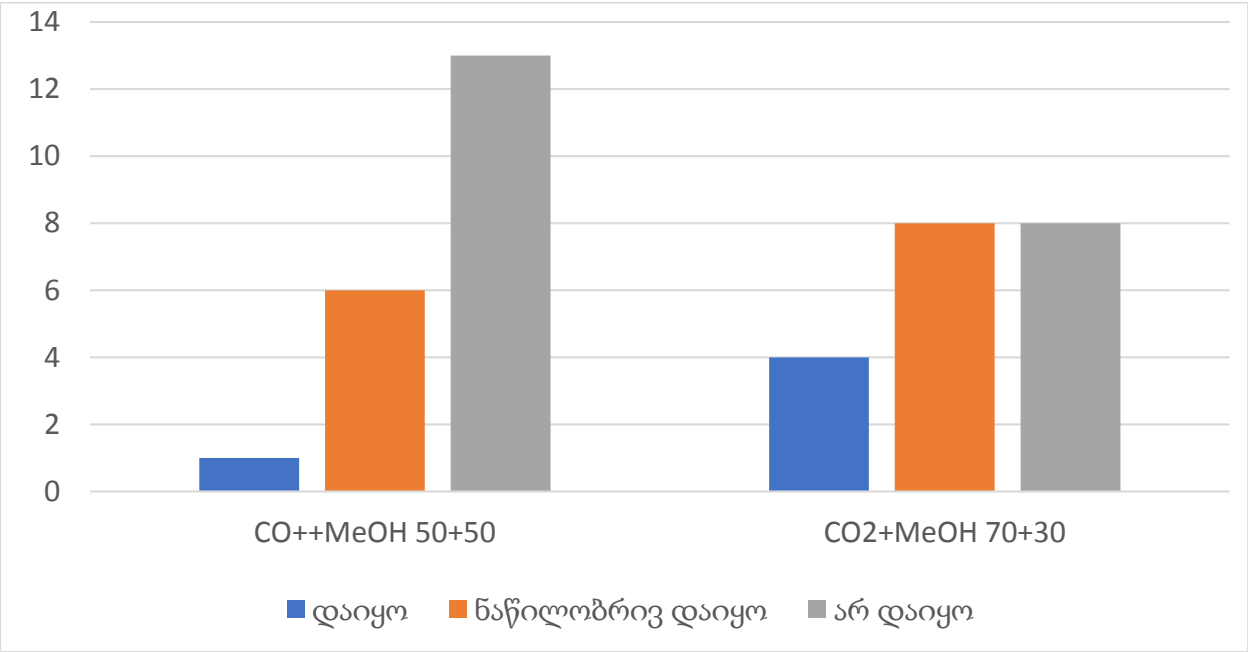
სურათი 23,24. ბენოქსაპროფენის ენანტიომერების დაყოფის გაუმჯობესება ნახშირორჟანგის (CO_2) მოცულობითი წილის გაზრდით.





სურათი 25,26. სურპროფენის ენანტიომერების დაყოფის გაუმჯობესება ნახშირორჟანგის (CO_2) მოცულობითი წილის გაზრდით.

ნივთიერებები, რომლებიც ფუძისეულად, ნაწილობრივ ან საერთოდ არ დაიყო შემდეგ მოძრავ ფაზებში თანაფარდობით: ნახშირორჟანგი (CO_2) 50%, მეთანოლი 50% და ნახშირორჟანგი (CO_2) 70%, მეთანოლი 30%, შეგვიძლია გამოვსახოთ დიაგრამით:



დიაგრამა 1. მოძრავ ფაზაში ნახშირორჟანგის (CO_2) მოცულობითი წილის გაზრდის გავლენა ენანტიომერების დაყოფაზე.

5. დასკვნები:

ჩატარებულმა ექსპერიმენტმა აჩვენა, რომ ახალი ქირალური სელექტორის, ცელულოზა ტრის(3-ქლორ-5-მეთილფენილკარბამატის) საფუძველზე მომზადებული ქირალური სვეტი მაღალი უნივერსალობით გამოირჩევა მჟავა ბუნების მქონე ნივთიერებების ენანტიომერების დაყოფაში ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფიის გამოყენებით.

1. დაყოფის სელექტივობა უმჯობესდება მოძრავ ფაზაში ნახშირორჟანგის შემცველობის გაზრდით.

6. გამოყენებული ლიტერატურა

1. A. W. Garrison, J. Gan, W. Liu (Eds.), Chiral Pesticides: Stereoselectivity and Its Consequences, 2012, 240 pp., ACS.
2. E. Francotte, W. Lindner (Eds.), Chirality in Drug Research, 2006, 350 pp., Wiley VCH.
3. B. Chankvetadze, Capillary Electrophoresis in Chiral Analysis, 1997, 555pp, Wiley & Sons, Chichester.
4. K. Klesper, A.H. Corwin, D.A. Turner, High pressure gas chromatography above critical temperatures.
5. L.T. Taylor, Supercritical fluid chromatography for the 21st century.
6. S.T. Sie, W. Van Beersum, G.W.A. Rjinders, High-pressure gas chromatography and chromatography with supercritical fluids. I. The effect of pressure on partition coefficients in gas-liquid chromatography with carbon dioxide as a carrier gas.
7. R.E. Jentoft, T.H. Gouw, Apparatus for supercritical fluid chromatography with carbon dioxide as the mobile phase.