



ივანე ჯავახიშვილის სახელობის თბილისის სახელმწიფო  
უნივერსიტეტი

ზუსტ და საბუნებისმეტყველო მეცნიერებათა ფაკულტეტი  
ქიმიის დეპარტამენტი

### კესო რაფავა

პროპიკონაზოლის სტერეოიზომერების დაყოფის მეთოდების  
დამუშავება სითხური ქრომატოგრაფიის გამოყენებით

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

ხელმძღვანელი: ქიმიის მეცნიერებათა დოქტორი, საქართველოს მეცნიერებათა  
ეროვნული აკადემიის აკადემიკოსი, ფიზიკური და ანალიზური ქიმიის კათედრის  
გამგე, პროფესორი ბეჟან ჭანკვეტაძე

თბილისი

2024 წელი

## ანოტაცია

პროპიკონაზოლი წარმოადგენს 1,2,3-ტრიაზოლის კლასის ფუნგიციდს, რომელიც გამოიყენება სოკოვანი დაავადებების, ჟანგას და ნაცრის საწინააღმდეგოდ სხვადასხვა კულტურებში. ის ქირალური ნაერთია და აქვს 4 სტერეოიზომერი 2R,4S; 2S,4R; 2R,4R; 2S,4S. 2S აბსოლუტური კონფიგურაციის მქონე იზომერები ერგოსტეროლის ბიოსინთეზის უფრო ეფექტური ინჰიბიტორები არიან, ვიდრე შესაბამისი 2R იზომერები. ასევე სხვადასხვა პათოგენური სოკოს სახეობები განსხვავებულად რეაგირებენ თითოეული სტერეოიზომერის მიმართ. ეს ინტერესს აჩენს მათი თვისებების სიღრმისეული კვლევისა და ასევე ენანტიომერების დაყოფის მეთოდების შემუშავების მიმართულებით.

წინამდებარე კვლევის მიზანს წარმოადგენს სითხური ქრომატოგრაფის გამოყენებით ისეთი მეთოდის დამუშავება, რომელიც პროპიკონაზოლის სტერეოიზომერების ეფექტური დაყოფის საშუალებას მოგვცემს.

ამ მიზნის მისაღწევად შევისწავლეთ პროპიკონაზოლის სტერეოიზომერების დაყოფა პოლისაქარიდის საფუძველზე დამზადებული სხვადასხვა ქირალური სვეტის და სხვადასხვა მოძრავი ფაზის გამოყენებით. ანალიზის შედეგად მიღებული დაყოფის პარამეტრების მიხედვით მეთოდის ვალიდაციისთვის შეირჩა Lux i-Amylose-3 სვეტი მოძრავი ფაზით EtOH/H<sub>2</sub>O/Amonium acetate 70/30/5 mM.

## Summary

Propiconazole is a 1,2,3-triazole fungicide used against fungal diseases, rust and powdery mildew in various crops. It is a chiral compound and has 4 stereoisomers: 2R,4S; 2S, 4R; 2R, 4R; 2S, 4S. Isomers with the 2S absolute configuration are more effective inhibitors of ergosterol biosynthesis than the corresponding 2R isomers. Additionally, different pathogenic fungal species have different biological response to each stereoisomer. This raises the interest of an in-depth study of their properties as well as the development of methods for proper separation of stereoisomers.

The aim of the study is to develop a method to separate stereoisomers of propiconazole utilizing liquid chromatography.

In order to obtain the desired result, the effectiveness of different chiral polysaccharide-based columns using different mobile phases was tested for the separation of propiconazole stereoisomers. According to the separation parameters obtained, Lux i-Amylose-3 column and mobile phase of EtOH/H<sub>2</sub>O(70/30) with 5mM Ammonium acetate was selected for method validation.

## სარჩევი

შესავალი .....	6
1. ლიტერატურული მიმოხილვა.....	7
1.1 სტერეოიზომერები .....	7
1.2 ენანტიომერების კლასიფიკაცია.....	7
1.3 ქირალობა .....	8
1.4 ქირალური პესტიციდები .....	9
1.5 ენანტიომერების დაყოფის ინსტრუმენტული მეთოდები.....	10
1.5.1 კაპილარული ელექტროფორეზი .....	10
1.5.2 ქრომატოგრაფიის ზოგადი მიმოხილვა.....	11
1.5.3 გაზური ქრომატოგრაფია.....	12
1.5.4 ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფია .....	13
1.5.5 მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფია.....	14
1.6 ქრომატოგრაფიული პარამეტრების განსაზღვრა.....	15
1.7 ქირალური უძრავი ფაზები .....	19
1.7.1 პოლისაქარიდებზე დაფუძნებული ქირალური სტაციონალური ფაზა .....	19
1.7.2 მკროციკლური ანტიბიოტიკური ფაზები.....	20
1.7.3 ციკლოდექსტრინები .....	21
2. ექსპერიმენტული ნაწილი .....	22
2.1 საკვლევი ნივთიერება.....	22
2.2 კვლევის გეგმა .....	23
2.3 გამოყენებული ინსტრუმენტი.....	23
2.4 გამოყენებული მასალები.....	24
3. ნიმუშის მომზადება საანალიზოდ .....	25
4. მიღებული შედეგები და მათი განსჯა .....	26
4.1 სკრინინგი.....	26
4.1.1 მოძრავი ფაზის ოპტიმიზაცია .....	27
4.2 მიღებული შედეგების შედარება.....	41
5. დასკვნა .....	44
6. გამოყენებული ლიტერატურა.....	45

**გამოყენებული შემოკლებები:**

HPLC - მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფია

CSP - ქირალური სტაციონარული ფაზა

IPA- იზოპროპანოლი

DEA- დიეთილამინი

AF- ამონიუმის ფორმატი

MeO - მეთანოლი

ACN - აცეტონიტრილი

EtOH - ეთანოლი

## შესავალი

ქირალობა დამახასიათებელია მრავალი სინთეზური და ბუნებრივი ნივთიერებისათვის, როგორც არის სამკურნალო საშუალებები, პესტიციდები, საკვები დანამატები და სხვა ბიოლოგიურად აქტიური ნაერთები. მნიშვნელოვანი არის პესტიციდების ქირალობის გათვალისწინება, რადგან, მათი სტერეოსელექტიური ტრანსფორმაციის შედეგად შეიძლება წარმოიქმნას ახალი, განსხვავებული აქტიურობის მქონე ნაერთები.

ბევრ ქირალურ პესტიციდს აქვს ერთზე მეტი ქირალური ცენტრი, ეს იწვევს ოთხ ან მეტ სტერეოიზომერს, რომელთაგანაც თითოეულს შესაძლოა ჰქონდეს სრულიად განსხვავებული ეფექტურობა, მდგრადობა, ბიოტრანსფორმაციის სიჩქარე და ტოქსიკურობა არასამიზნე და სამიზნე ორგანიზმებში. ეს ართულებს როგორც ქიმიურ ანალიზს, ასევე რისკის შეფასებას. ცნობილია, რომ ფუნგიციდის ტრიადიმენოლის A დიასტერეომერი ათჯერ უფრო მწვავედ ტოქსიკურია ვირთაგვებისთვის, ვიდრე დიასტერეომერი B. ტრიადიმეფონისგან ტრიადიმენოლის სტერეოსელექტიური ფორმირება მნიშვნელოვანი საკითხია ადამიანის ჯანმრთელობისთვის და ეკოლოგიური რისკის შეფასებისთვის. დადგენილი მონაცემები აჩვენებს, რომ ქირალური პესტიციდების ფართო სპექტრი გვხვდება მათი ენანტიომერების (ან სტერეოიზომერების) არათანაბარი ნარევის სახით. ცნობილია შემთხვევები, როდესაც ყველა ენანტიომერის/სტერეოიზომერის განსაზღვრული თანაფარდობით არსებობა არის საჭირო ოპტიმალური შედეგის მისაღწევად.

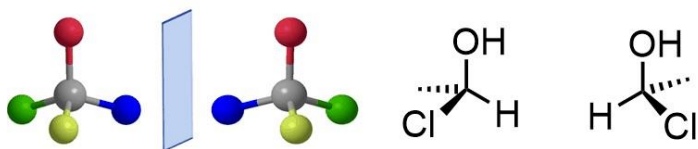
ქირალური ნივთიერებების ენანტიომერული შედგენილობის მონიტორინგმა განაპირობა ენანტიომერული ნარევების ანალიზური და პრეპარატიული დაყოფის მეთოდების დამუშავების აქტუალობა. ენანტიომერების დასაყოფად არსებობს მრავალი მეთოდი, თუმცა ძირითად მეთოდს წარმოადგენს სითხური ქრომატოგრაფია. ის გამოირჩევა მოქნილობით, რადგან მოძრავი და ქირალური უძრავი ფაზების დიდი არჩევანი არსებობს. ამის მიუხედავად, ოპტიმალური სტაციონარული ფაზა არ არსებობს და ამა თუ იმ ქირალური ნივთიერების ენანტიომერების ქრომატოგრაფიული დაყოფა მოითხოვს მოცემული ნივთიერებისთვის სელექტორის და მოძრავი ფაზის ოპტიმიზაციას.

# 1. ლიტერატურული მიმოხილვა

## 1.1 სტერეოიზომერები

სტერეოიზომერები არის მოლეკულები, რომლებსაც გააჩნიათ ერთნაირი მოლეკულური ფორმულა და ასევე ერთნაირი თანმიმდევრობით დაკავშირებული ატომები, მაგრამ განსხვავდებიან ატომების სივრცითი განლაგებით. სტერეოიზომერებს ყოფენ 2 ტიპად, ესენია : ენანტიომერები და დიასტერეომერები [1].

ენანტიომერებს გააჩნიათ სინათლის პოლარიზაციის სიბრტყის ბრუნვის უნარი, ანუ ოპტიკური აქტივობა, რის გამოც მათ ოპტიკურ იზომერებს უწოდებენ. ისინი არიან მოლეკულათა წყვილი რომლებიც წარმოადგენენ ერთმანეთის არათავსებად სარკულ გამოსახულებას [2].



ნახ.1 ენანტიომერები - სარკული გამოსახულება

ენანტიომერებს გააჩნიათ იდენტური შიგამოლეკულური ურთიერთქმედება, რაც გამოწვეულია ატომთაშორის მანძილების იდენტურობით, მათი ენერგიები არის ერთი და იგივე, შესაბამისად მათ გააჩნიათ მსგავსი ფიზიკური თვისებები, როგორც არის: სიმკვრივე, დუღილის და ლღობის ტემპერატურა, ხსნადობა. რაც შეეხება ქიმიურ თვისებებს მსგავსია აქირალურ გარემოში, ქირალურ გარემოში კი განსხვავებულია [1].

დიასტერეომერები არის სტერეოიზომერები, რომლებიც არ წარმოადგენს ერთმანეთის სარკისებურ გამოსახულებებს. დიასტერეოიზომერები განსხვავდებიან როგორც ფიზიკური თვისებებით, ასევე აქირალური და ქირალური რეაგენტების მიმართ ქიმიური ქცევით.

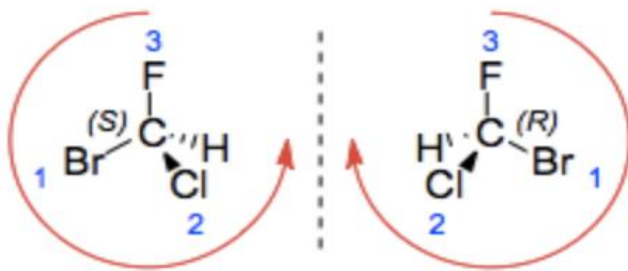


ნახაზ.2 დიასტერეომერები

## 1.2 ენანტიომერების კლასიფიკაცია

კან-ინგოლდ-პრელოგის სისტემაში, მოლეკულებში ქირალური ცენტრების აბსოლუტური კონფიგურაციის აღსაწერად, გამოიყენება ტერმინები „Sinister” - მარცხნივ და “Rectus” - მარჯვნივ, ისინი აღინიშნება R და S სიმბოლოებით. კონფიგურაციის დასადგენად აუცილებელია, სტერეოგენული ცენტრების ირგვლივ არსებული ჩამნაცვლებლებს მიენიჭოს პრიორიტეტულობა. პრიორიტეტულობის დადგენა ხდება უფროსობის წესით, ქირალურ ცენტრთან დაკავშირებული ატომები ლაგდებიან ატომური

მასების მიხედვით. მაგ.:  $\text{Br} > \text{Cl} > \text{F} > \text{H}$ , Br-ს ყველაზე მაღალი ატომური მასა აქვს და ის ითვლება ყველაზე უფროსად ანუ მას ენიჭება პრიორიტეტულობა და შემდეგ ატომური მასის შემცირებით გადანაწილდება. შემდეგ, მოლეკულას ისეთი მიმართულებით უნდა ვუყუროთ, რომ ყველაზე ნაკლებად პრიორიტეტული ჩამნაცვლებელი იყოს მაქსიმალურად დაშორებული ჩვენგან. ამ ყველაფრის დადგენის შემდეგ უნდა დავაკვირდეთ რა მიმართულებით იცვლება (მცირდება) პრიორიტეტულობა, თუ იცვლება (მცირდება) საათის ისრის მიმართულებით, მაშინ ეს იქნება R ენანტიომერი, ხოლო, თუ საათის ისრის საწინააღმდეგოდ არის მიმართული მაშინ S ენანტიომერი [3].



ნახ.3 S და R ენანტიომერები

S- ენანტიომერი

R- ენანტიომერი

ენანტიომერები ერთნაირი კუთხით, მაგრამ განსხვავებული მიმართულებით აბრუნებს სინათლის პოლარიზაციის სიბრტყეს: ერთი მარჯვნივ მბრუნავია, მეორე კი მარცხნივ. მარჯვნივ მბრუნავს აღნიშნავენ „+“ ნიშნით, ხოლო მარცხნივ მბრუნავს „-“ ნიშნით [1]. აღსანიშნავია, რომ R/S ნომენკლატურას შორის და პოლარიზებული სინათლის ბრუნვის მიმართულებას შორის კავშირი არ არსებობს.

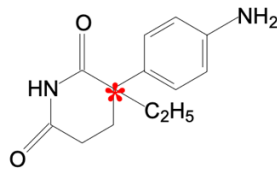
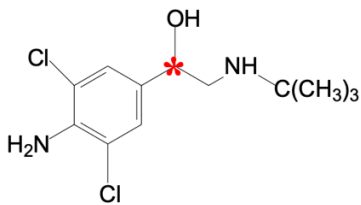
არსებობს ასევე D/L კლასიფიკაცია, რომელიც გამოიყენება შაქრებისა და ამინომჟავებში. იგი ეფუძნება გლიცერალდეჰიდის სტრუქტურას, რომლის მარცხნივ და მარჯვნივ მბრუნავ ენანტიომერებს მიაწერეს განსაზღვრული კონფიგურაცია და აღნიშნეს სიმბოლოებით D - მარჯვენა, L- მარცხენა.

### 1.3 ქირალობა

მოლეკულური ქირალობის ფუძემდებელი არის ფრანგი მიკრობიოლოგი ლუის პასტერი. 1848 წელს პასტერმა ყურადღება გაამახვილა იმაზე, რომ ნატრიუმ-ამონიუმ ტარტარის კონცენტრირებული ხსნარის რეკრისტალიზაციის შედეგად, მიიღო ორი ტიპის, ერთმანეთის სარკული გამოსახულების კრისტალთა ნარევი. მიღებული კრისტალები პასტერმა პინცეტით გადაარჩია და აღმოაჩინა, რომ ეს კრისტალები ავლენს ოპტიკურ აქტივობას, ისინი აბრუნებდნენ პოლარიზებულ სინათლეს განსხვავებული მიმართულებით, თუმცა ერთნაირი სიდიდის კუთხით. პასტერმა ამ თვისებას ასიმეტრიულობა უწოდა. ლორდ კელვინმა კი 1893 წელს უწოდა ქირალობა. ტერმინი ქირალობა მოდის ბერძნული სიტყვისგან ქიროს (χειρ) და ნიშნავს ხელს. ჩვენი ხელები არიან ერთმანეთის სარკული გამოსახულებები და ერთმანეთზე დადებისას არათავსებადები არიან.

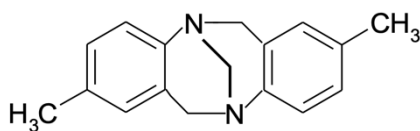


როცა მოლეკულა არათავსებადია საკუთარ სარკულ გამოსახულებასთან, მას უწოდებენ ქირალურს. ქირალურ მოლეკულაში შეიძლება გვექონდეს ქირალობის ცენტრი, ანუ იგივე ასიმეტრიული ცენტრი. ორგანული ნივთიერებების შემთხვევაში ხშირად ასეთ ცენტრს წარმოადგენს ნახშირბადის ატომი, რომელსაც ოთხი სხვადასხვა ჩამნაცვლებელი გააჩნია.



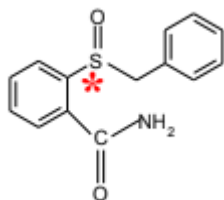
ნახ.4

ქირალურ ცენტრს ასევე შეიძლება წარმოადგენდეს ზოტი, გოგირგი, ფოსფორი.  
*აზოტის ატომი როგორც ქირალობის ცენტრი*



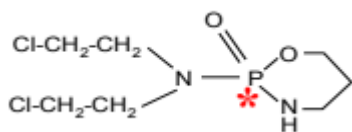
ნახ.5 ტრიგერის ფუძე

*გოგირდის ატომი როგორც ქირალობის ცენტრი*



ნახ.6 2-(ბენზილსულფინილ) ბენზამიდე

*ფოსფორის ატომი როგორც ქირალობის ცენტრი*



ნახ.7 ციკლოფოსფამიდი

## 1.4 ქირალური პესტიციდები

აგროქიმიური ინდუსტრია მუდმივად ეძებს ახალ აქტიურ ნაერთებს მავნებლების საწინააღმდეგოდ. ბევრი აგროქიმიკატი არის ქირალური და თითოეულ ენანტიომერს შეიძლება ჰქონდეს განსხვავებული თვისებები და ეფექტურობა. ქირალური პესტიციდები ასიმეტრიულია და გვხვდება იზომერების სახით ორი (ან მეტი) იდენტური, მაგრამ არათავსებადი სარკისებური სტრუქტურით (ენანტიომერები). ბევრი პესტიციდი შედგება სტერეოიზომერების ნარევისგან, ხშირად ძლიერ განსხვავებული ბიოლოგიური

აქტივობით. ქირალური პესტიციდების უმეტესობა გამოიყენება რაცემატის სახით, მიუხედავად იმისა, რომ პესტიციდური აქტივობა ძირითადად განპირობებულია მხოლოდ ერთი ენანტიომერით, ხოლო მეორეს შეიძლება ჰქონდეს ტოქსიკური ზემოქმედება არასამიზნე ორგანიზმებზე.

ამჟამად რეგისტრირებული პესტიციდების აქტიური ინგრედიენტების დაახლოებით 30% შეიცავს ერთ ან მეტ ქირალურ ცენტრს. ქირალური სტრუქტურის მქონე პესტიციდები მოიცავს პირეტროიდულ ინსექტიციდებს, ქლორორგანულ პესტიციდებს, ფოსფორორგანულ ინსექტიციდებს, ფუნგიციდებს, ტრიაზოლის ფუნგიციდებს, აცილანილიდებს, არილოქსიპრო-როქსიდებს.

ქიმიის გადმოსახედიდან ენანტიომერები ძალიან ჰგავს ერთმანეთს, აქვთ ერთნაირი ხსნადობა, დუღილის და ღვთის ტემპერატურა და სხვა. თუმცა, მიკრობული და ბიოლოგიური თვალსაზრისით მათ შეუძლიათ განსხვავებულად მოიქცნენ. ქირალური პესტიციდების სტერეოსპეციფიურობა/სტერეოსელექტივობა შეიძლება გამოვლინდეს სასურველ ბიოლოგიურ სამიზნეზე და/ან არასასურველ სამიზნეებზე, რაც იწვევს არასასურველ ეფექტს. ამის გამო მნიშვნელოვანია ქირალური დაყოფა, რომ განვსაზღვროთ სტერეოიზომერები პრეპარატში და უზრუნველვყოთ აქტიური პესტიციდის შეტანის ნორმები.

ქირალური პესტიციდების კვლევა დაიწყო 1990-იანი წლების დასაწყისში. კომპანიები ღრმად იყვნენ დაინტერესებული სინთეზური ქირალური პესტიციდების გაყიდვით, როგორც ცალკეული ენანტიომერები. ძირითადი მიზეზები, რის გამოც ცალკეული იზომერები ნაკლებად გავრცელებულია, ვიდრე შეიძლება იყოს, არის შეზღუდული წვდომა ქირალურ ნედლეულზე. ტენდენცია, ცალკეული ენანტიომერების მიღების მიმართ იზრდება არა მხოლოდ იმიტომ, რომ თვისებებით ისინი აღემატებიან რაცემატულ ანალოგს, არამედ იმიტომაც, რომ უფრო მისაწვდომი გახდა ენანტიომერების მიღების გაუმჯობესებული ტექნოლოგიები.

## 1.5 ენანტიომერების დაყოფის ინსტრუმენტული მეთოდები

ენანტიომერების დაყოფის მეთოდები განვითარდა და დღეს უკვე ამ მიზნით შეიძლება გამოყენებულ იქნეს: კაპილარული ელექტროფორეზი და ქრომატოგრაფიული მეთოდები, როგორც არის: სითხური ქრომატოგრაფია, გაზური ქრომატოგრაფია, ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფია.

### 1.5.1 კაპილარული ელექტროფორეზი

კაპილარული ელექტროფორეზი წარმოადგენს ნივთიერებათა დაყოფის ელექტროკინეტიკურ მეთოდს, რომელიც დაფუძნებულია დამუხტული ნაწილაკების განაწილებაზე გელში ან ბუფერში მათი ელექტროფორეტული ძვრადობების შესაბამისად. ეს განაწილება კაპილარულ ელექტროფორეზში მიიღწევა ელექტრული ველის მოდებით კაპილარის ბოლოებზე. ელექტროფორეტული ძვრადობა ასრულებს მთავარ როლს ნებისმიერ ელექტროფორეტულ დაყოფაში. საანალიზო ნიმუშის შემადგენელი დამუხტული კომპონენტები ბუფერული ხსნარით შევსებულ კაპილარში ზოგადად

გადაადგილდება როგორც საკუთარი ელექტროფორეტული ძვრადობით, ასევე ელექტროოსმოსური გავლენითაც. ნეიტრალურ ნაწილაკებს ელექტროფორეტული ძვრადობა არ გააჩნიათ და მათი გადაადგილება შეიძლება მოხდეს მხოლოდ ელექტროოსმოსის ან სპეციალური გადამტანი ნივთიერებების გავლენით.

კაპილარული ელექტროფორეზის მთავარ უპირატესობებს წარმოადგენს ნიმუშის და სხვა რეაგენტების განსაკუთრებით მცირე ხარჯი, ანალიზის მცირე დრო, დაყოფის მაღალი ეფექტურობა და ისეთი ნივთიერებების დაყოფის შესაძლებლობა, რომელთა დაყოფა გართულებულია, ან საერთოდ შეუძლებელია გაზურ ან სითხურ ქრომატოგრაფზე. გარდა ამისა, ეს მეთოდი უფრო მოქნილია ვიდრე სხვა ანალიზური მეთოდები. სულ რამდენიმე წუთი არის საჭირო ელექტროფორეზის ერთი მეთოდიდან მეორეზე გადასასვლელად, მაშინ როდესაც მაგალითად სითხურ ქრომატოგრაფში სვეტების ან მოძრავი ფაზის შეცვლა, შემდეგ სისტემის გაწონასწორება ხანგრძლივი და ხშირად არასასურველი პროცესია.

დღეისთვის არსებობს კაპილარული ელექტროფორეზის ისეთი ხელსაწყოები, რომლებიც საშუალებას იძლევიან ჩატარდეს კაპილარული ელექტროქრომატოგრაფიული ექსპერიმენტები, ის წარმოადგენს კაპილარული სითხური ქრომატოგრაფიის და კაპილარული ელექტროფორეზის კომბინაციას [8].

## 1.5.2 ქრომატოგრაფიის ზოგადი მიმოხილვა

ქრომატოგრაფია (ბერძნულად „χρῶμα-ხრომა“ ნიშნავს ფერს და „γράφειν-გრაფი“ ნიშნავს ჩაწერას) არის ქიმიური ნივთიერებების ნარევეთა დაყოფის ხერხი, რომელიც ემყარება საანალიზო ნივთიერებების არათანაბარ განაწილებას ორ, მოძრავ და უძრავ ფაზებს შორის. ნივთიერებათა ნარევი გახსნილია სითხეში, ან აირში და ხდება ნარევის გატარება სტრუქტურირებულ მასალაზე, ანუ უძრავ ფაზაზე, ნარევის უძრავ ფაზაზე გასატარებლად იყენებენ სითხეს, აირს ან ზეკრიტიკული წნევების მქონე სითხეებს, შესაბამისად გამოყოფენ სითხურ, გაზურ (აირად) და ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფიას. ნარევის შემადგენელი კომპონენტები მოძრაობენ სხვადასხვა სიჩქარით, რაც იწვევს მათ დაყოფას. ეს დაყოფა გამოწვეულია სხვადასხვა ნივთიერებების განსხვავებული განაწილებით მოძრავ და უძრავ ფაზას შორის. ქრომატოგრაფიული ექსპერიმენტები ტარდება, როგორც პრეპარატული, ისე ანალიზური მასშტაბებით. პრეპარატული მეთოდის მიზანია დაყოფილი ნივთიერებების გასუფთავება -შეგროვება შემდგომი გამოყენების მიზნით, ხოლო ანალიზური მეთოდის მიზანი ძირითადად კომპონენტების რაოდენობრივი ანალიზია [4].

ისტორიულად ქრომატოგრაფიული მეთოდი მოწოდებული იყო რუსი ბოტანიკოსის მიხეილ ცვეტის (1872-1919) მიერ, რომელმაც 1903 წელს წაიკითხა ლექცია მცენარეების მწვანე ფოთლებისგან გამოყოფილი პიგმენტების ცარცით შევსებულ სვეტზე დაყოფის შესახებ. მას ეკუთვნის ასევე ტერმინი ქრომატოგრაფია, ეს ტერმინი სავსებით ლოგიკურია, თუ მხედველობაში მივიღებთ, რომ იგი აკვირდებოდა ცარცით შევსებულ მინის სვეტზე შეფერილი ზონების წარმოქმნას პიგმენტების ბენზოლით ჩამორეცხვისას [5].

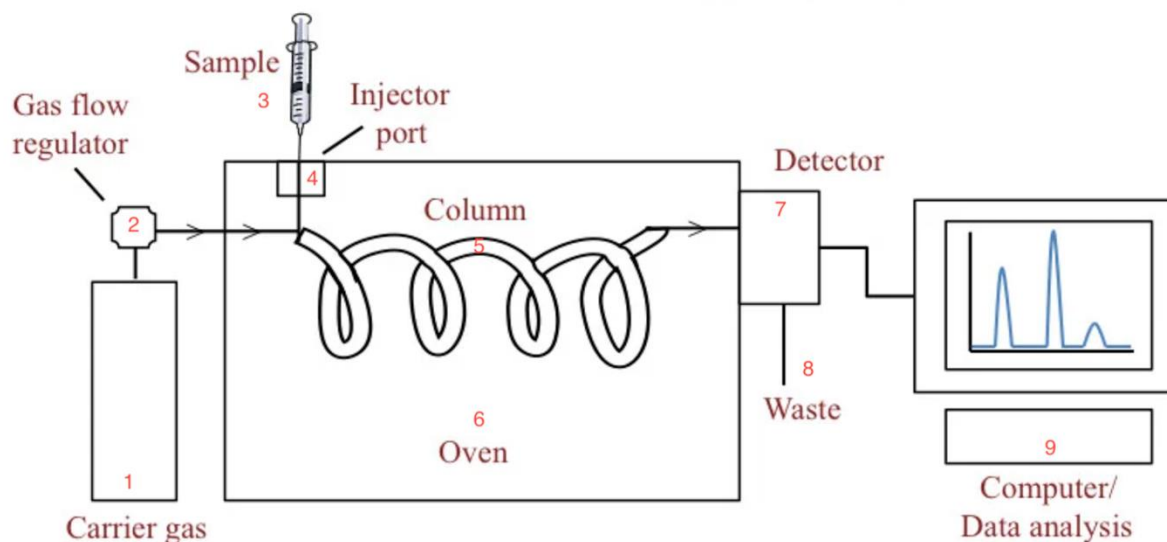
მე-20 საუკუნის პირველ ნახევარში მეცნიერების არჩერ ჯ.პ. მარტინის და რიჩარდ ლ.მ. სინჯის შრომებმა საფუძველი ჩაუყარა გაზური ქრომატოგრაფიის და ქაღალდის ქრომატოგრაფიის ტექნიკას, ასევე სითხურ ქრომატოგრაფიას, რომელიც მე-20 საუკუნის მეორე ნახევარში განვითარდა, როგორც მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფია (HPLC). მკვლევარებმა აღმოაჩინეს, ცვეტის მიერ აღმოჩენილი ქრომატოგრაფიული პრინციპები შეგვიძლია მრავალნაირად გამოვიყენოთ, ზოგად ტექნოლოგიურ პროგრესთან ერთად ქრომატოგრაფიული მეთოდები და აპარატურა ძალზე მრავალფეროვანი გახდა [6].

### 1.5.3 გაზური გრომატოგრაფია

მე-20 საუკუნის 60-იან წლებში გაზურ ქრომატოგრაფზე მოხდა პირველად ენანტიომერების დაყოფა ინსტრუმენტული მეთოდით. გაზური ქრომატოგრაფია წარმოადგენს მეთოდს, რომელშიც მოძრავი ფაზა არის აირი: ჰელიუმი, წყალბადი, აზოტი, არგონი. უძრავი ფაზა კი შეიძლება იყოს მყარი ადსორბენტი ან ინერტულ სარჩულზე დაფენილი სითხე. უძრავი ფაზის აგრეგატული მდგომარეობის მიხედვით განასხვავებენ გაზურ-მყარ (ადსორბციული) და გაზურ თხევად ქრომატოგრაფიას. გაზურ ქრომატოგრაფიულ სისტემაში დაყოფა ემყარება ნარევის კომპონენტების განაწილების მრავალჯერადად განმეორებად პროცესს მოძრავ და უძრავ ფაზას შორის. დაყოფის პროცესის საფუძველს წარმოადგენს საანალიზო კომპონენტების ხსნადობებსა და აქროლადობებს შორის სხვაობა. ქრომატოგრაფიულ სვეტში უფრო სწრაფად მოძრაობს ის კომპონენტი, რომლის ხსნადობა უძრავ ფაზაში უფრო მცირეა, ხოლო აქროლადობა მოცემულ ტემპერატურაზე უფრო მაღალი [5].

ამ მეთოდის გამოყენება შესაძლებელია იმ ნივთიერებებისთვის, რომლებიც არიან აქროლადი, აქვთ დაბალი მოლეკულური მასა (1250 Da-ზე დაბალი) და არიან თერმოსტაბილურები, რათა არ მოხდეს მათი დაშლა [7]. ასევე შესაძლებელია არააქროლადი ნივთიერების ანალიზი, იმ შემთხვევაში, თუ მოხდება ამ ნივთიერების დერივატიზაცია, აქროლად მდგომარეობაში გადაყვანის მიზნით.

გაზური ქრომატოგრაფიით ენანტიომერების დასაყოფად ორი მიდგომა გამოიყენება, ესენია: პირდაპირი და არაპირდაპირი მეთოდი. პირდაპირი მიდგომისას ხდება ოპტიკური იზომერების დაყოფა ქირალური უძრავი ფაზის გამოყენებით, ხოლო არაპირდაპირი მიდგომის დროს, ხდება საანალიზო ენანტიომერების ნარევის დერივატიზაცია ენანტიომერულად სუფთა ქირალური დანამატით და ხდება მიღებული დიასტერეომერების ანალიზი სტანდარტული არაქირალური უძრავი ფაზების გამოყენებით. გაზური ქრომატოგრაფიის მაღალი ეფექტურობა საშუალებას იძლევა ერთ ანალიზში დაიყოს არა მარტო ენანტიომერები, არამედ აქირალური მინარევები და დამაბინძურებლები, ანუ ხდება არა მარტო ქირალური, არამედ ქიმიური დაყოფაც.



ნახ.8 გაზური ქრომატოგრაფის სქემა

1. აირის ბალონო (მოძრავი ფაზა)
2. აირმატარებლის ნაკადის მაკონტროლებელი
3. შპრიცი ნიმუშით (ან შეიძლება იყოს ავტოსემპლერი)
5. სვეტი
6. თერმოსტატი
7. დეტექტორი
8. ნარჩენები
9. მონაცემთა ჩამწერი

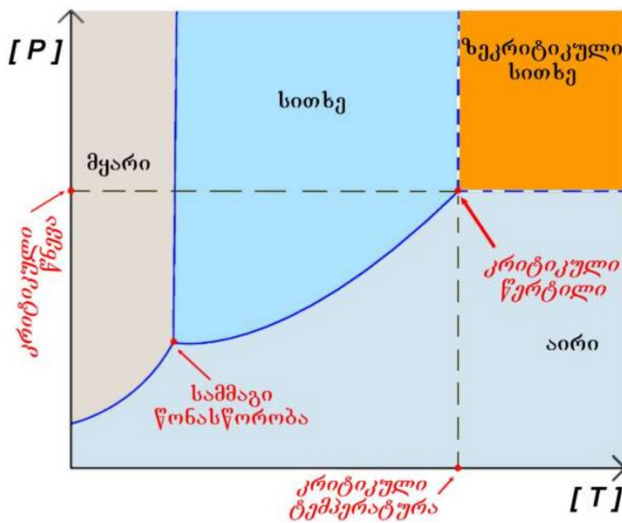
### 1.5.4 ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფია

ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფია არის ნარევთა დაყოფის მეთოდი გაზური და თხევადი ქრომატოგრაფიის მსგავსი, მაგრამ აქ მოძრავ ფაზად გამოიყენება ზეკრიტიკული სითხე. ზეკრიტიკული სითხე ეს არის ნივთიერება მის კრიტიკულ ტემპერატურაზე მაღლა და ამავდროულად მის კრიტიკულ წნევაზე მაღლა. ანუ ეს ნივთიერება არის შუალედური სითხესა და გაზს შორის. კრიტიკული ტემპერატურის გამო სითხე უნდა გადავიდეს აირში, თუმცა კრიტიკული წნევის გამო ეს არ ხდება [9]. ნახ.9.

ყველაზე ფართოდ ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფიაში მოძრავ ფაზად გამოიყენება ნახშირორჟანგი - CO<sub>2</sub>, რადგან მას აქვს დაბალი კრიტიკული ტემპერატურა (31,3 °C) და დაბალი კრიტიკული წნევა (72,9 ატმ), ადვილია მისი ზეკრიტიკულ მდგომარეობაში გადაყვანა, ის არის გამოსაყენებლად უსაფრთხო, გამოირჩევა მაღალი ხელმისაწვდომობით და სიიაფით [9].

ქირალური დაყოფისთვის ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფიაში გამოიყენება სვეტები, რომლებიც პირდაპირ გადმოტანილია მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფიიდან. ძირითადად ესენია პოლისაქარიდული ტიპის, ჯაგრისის ტიპის

პირკლეს ფაზები და მაკროციკლური ანტიბიოტიკური ქირალური სტაციონარული ფაზები.

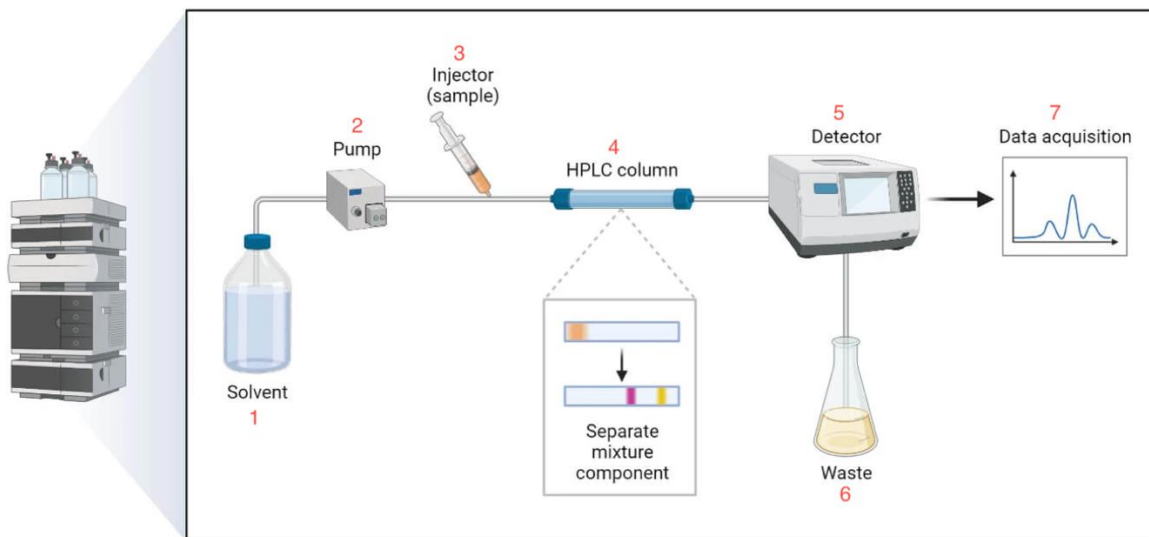


ნახ.9 ფაზათა დიაგრამა ზეკრიტიკული სითხეებისთვის

### 1.5.5 მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფია

მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფია შეიქმნა მე-20 საუკუნის მეორე ნახევარში. სითხური ქრომატოგრაფია ფართოდ გამოიყენება ნივთიერებათა დაყოფისა და გასუფთავებისთვის. სითხურ ქრომატოგრაფიაში მოძრავი ფაზა არის თხევადი, უძრავი ფაზა კი მყარი ან მყარ სარჩულზე დაფენილი თხევადი ნოვთიერება, რომელიც მოძრავ ფაზასთან შეურევადი არის [10]. ამ მეთოდის გამოყენება ხდება არა მხოლოდ ანალიზური, არამედ პრეპარატიული მიზნებისთვის. პრეპარატიულ მიზნებში იგულისხმება ნივთიერების დაყოფა, გასუფთავება მინარევებისგან და ბოლოს შეგროვება. ამ მეთოდში მოძრავი ფაზა არა მხოლოდ საანალიზო ნარევის მატარებლის როლს ასრულებს, არამედ თავადაც მონაწილეობს დაყოფის პროცესში. მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფია გამოირჩევა მაღალი მგრძნობიარობით, სიზუსტით და ინსტრუმენტთან მუშაობაც მარტივია. ამავდროულად, საკმაოდ ბევრი ქირალური სელექტორი არსებობს.

ქირალური სელექტორები: ციკლოდექსტრინები, მოდიფიცირებული ციკლოფრუქტანები, ცილები, ამინომჟავები, პეპტიდები, ამილოზასა და ცელულოზას საფუძველზე შექმნილი ქირალური სელექტორები, მაკროციკლური ანტიბიოტიკები, პირკლეს ტიპის და სხვა.



ნახ.10 სითხური ქრომატოგრაფის სქემა

1. მოძრავი ფაზა
2. ტუმბო
3. ინჟექტორი
4. სვეტი
5. დეტექტორი
6. ნარჩენები
7. მონაცემთა ჩამწერი/კომპიუტერი

## 1.6 ქრომატოგრაფიული პარამეტრების განსაზღვრა

ქრომატოგრაფია წარმოადგენს ორგანოზომილებიან ჩანაწერს, რომლის ერთ ღერძზე გადაზომილი არის საანალიზო ნივთიერებათა შეკავების დრო ( $t_r$ ), ხოლო მეორეზე სიგნალის ინტენსივობა. ნიმუშის სისტემაში შეყვანის შემდეგ თითოეული საანალიზო ნივთიერება შეკავდება სვეტში უძრავი ფაზის მიმართ მათთვის დამახასიათებელი აფინურობის შესაბამისად. ნივთიერებათა შეკავების დრო ანალიზის მოცემულ პირობებში დამოკიდებულია მის თერმოდინამიკურ მახასიათებლებზე, ე.წ. განაწილების კოეფიციენტზე ( $K_d$ ) მოძრავ და უძრავ ფაზებს შორის.

### შეკავების დრო

დროს ნიმუშის შეყვანიდან ქრომატოგრაფიაზე პიკის მაქსიმუმამდე შეკავების დრო ეწოდება. შეკავების დრო არის საანალიზო ნივთიერების მოძრავ და უძრავ ფაზებში გატარებული დროის ჯამი.

## შეკავების ფაქტორი

სვეტში საანალიზო მოლეკულები მუდმივ მოძრაობაში არიან მოძრავ და უძრავ ფაზებს შორის, შეკავების ფაქტორი გამოსახავს ნიმუშის უძრავ და მოძრავ ფაზაში გატარებული დროის ფარდობას.

$$k = \frac{t_R - t_0}{t_0}$$

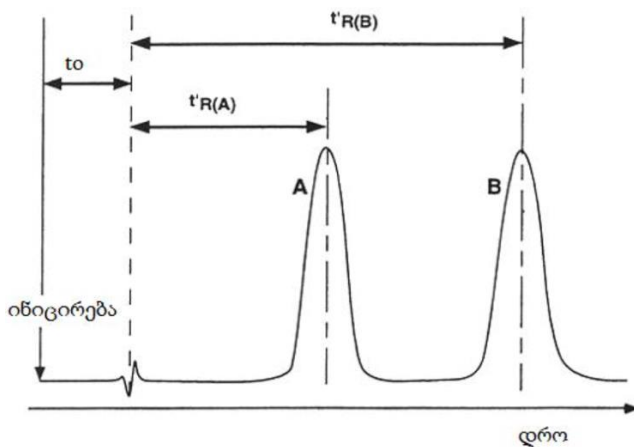
$t_0$ -არის უძრავ ფაზაზე შეკავებული ნივთიერებების ელუირების დრო, რომელსაც მკვდარ დროს უწოდებენ.

$k$  არ არის დამოკიდებული მოძრავი ფაზის სიჩქარეზე და სვეტის სიგრძეზე. მაგალითად თუ მოძრავი ფაზა ნელა გადაადგილდება ან სვეტი გრძელია მაშინ ერთნაირად იცვლება  $t_0$  და  $t_R$ .

## სელექტიურობა

სელექტიურობა არის ქრომატოგრაფიული სისტემის უნარი ერთმანეთისგან განასხვავოს ნარევის კომპონენტები. სელექტიურობა გამოითვლება 2 პიკის შეკავების ფაქტორების ფარდობით. თუ ალფა იქნება 1-ის ტოლი ეს ნიშნავს, რომ ნარევი ნივთიერება არ დაიყო და შესაბამისად, ერთდროულად ელუირდება.

$$\alpha = \frac{k_2}{k_1}$$



ნახ.11 ქრომატოგრამა

$t_0$  - მკვდარი დრო;  $t_R$  - შეკავების დრო

სვეტის ეფექტურობა განისაზღვრება 2 პარამეტრით: ესენია თეორიული თეფშების სიმალე  $H$  და თეორიული თეფშების რაოდენობა  $N$ . მათ შორის დამოკიდებულებას გამოსახავს ფორმულა  $N=L/H$  სადაც  $L$  წარმოადგენს სვეტების სიგრძეს. რაც უფრო მეტი იქნება თეორიული თეფშების რაოდენობა, მით უფრო ეფექტური იქნება დაყოფა.

რა ხდება სვეტის შიგნით და როგორ მიიღწევა დაყოფა, აიხსნება ორი თეორიის გამოყენებით, ესენია: თეფშების თეორია და სიჩქარის თეორია.



## თეფშების თეორია

1941 წელს მარტინისა და სინჯის მიერ შემოთავაზებული იქნა თეფშების თეორია ქრომატოგრაფიაში. ამ მოსაზრებით ქრომატოგრაფიული სვეტი შეიცავს დიდი რაოდენობით ფენებს, რომელსაც თეორიულ თეფშებს უწოდებენ. ამ თეფშებში ხდება წონასწორობის დამყარება მოძრავ და უძრავ ფაზას შორის. როცა ნივთიერება გადის სვეტში საანალიზო ნივთიერების განაწილება ხდება ორ ფაზას შორის და მყარდება წონასწორობა, წონასწორობის დამყარების შემდეგ, რადგან ელუენტი მუდმივ მოძრაობაშია, მასში განაწილებული ნივთიერება „გადაიტანება“ ერთი თეფშიდან მეორეზე და თავიდან ხდება განაწილება ფაზებს შორის და ხელახლა მყარდება წონასწორობა. ეს წონასწორობის დარღვევა-აღდგენის პროცესები გრძელდება მანამ, სანამ ნივთიერება არ ელუირდება სვეტიდან. საბოლოოდ ამით განისაზღვრება შეკავების დრო და პიკის სიგანე [11].

თეორიული თეფშების რიცხვის და სიმაღლის განსაზღვრა ექსპერიმენტულად ხდება შემდეგი ფორმულებით:

$$H = \frac{LW^2}{16(t_R)^2} \quad N = \left(\frac{t_R}{W}\right)^2 \quad N = 5.54\left(\frac{t_R}{W_{1/2}}\right)^2$$

H- თეორიული თეფშების ექვივალენტური სიმაღლე

N- თეორიული თეფშების რაოდენობა

L- სვეტის სიგრძე

t<sub>r</sub>- შეკავების დრო

W- პიკის სიგანე

W<sub>1/2</sub>- პიკის სიგანე ნახევარსიმაღლეზე

## სიჩქარის თეორია

ამ თეორიის საშუალებით შეგვიძლია გავიგოთ თუ როგორ გადაადგილდება საანალიზო ნივთიერებები უძრავ ფაზაში, როდესაც მასში გაედინება მოძრავი ფაზა. ამ თეორიის საშუალებით შესაძლებელია ავხსნათ პიკის დისპერსიის პროცესები და განვსაზღვროთ ფაქტორები, რომლებიც იწვევენ ზონის გაფართოებას. ამ თეორიის ძირითადი განტოლება არის ვან დეემტერის განტოლება.

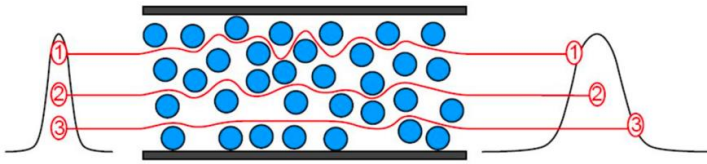
$$H = A + \frac{B}{U} + CU$$

A წევრი - გრიგალისებური დიფუზია- ერთი ნივთიერების სხვადასხვა მოლეკულის განსხვავებული ტრაექტორია სვეტში.

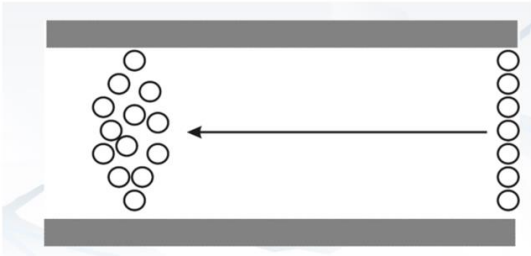
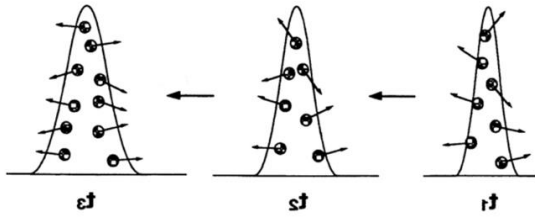
B წევრი - ლონგიტუდინალური დიფუზია - სითხეში გახსნილი ნივთიერების მოლეკულები გადაადგილდება მაღალი კონცენტრაციის არიდან დაბალი კონცენტრაციის არეში.

C წევრი - მასის გადატანა

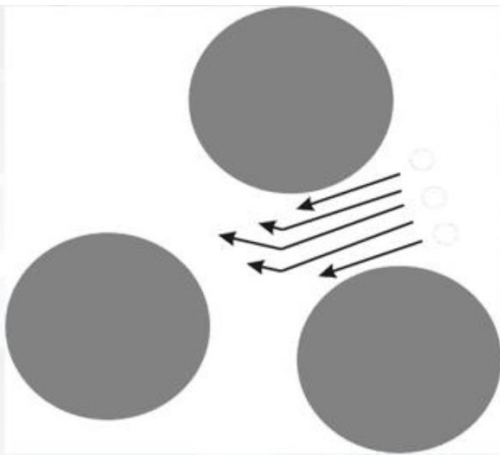
U - მოძრავი ფაზის სიჩქარე



ნახ.12 გრიგალისებური დიფუზია



ნახ.13 ლონგიტუდინალური დიფუზია



ნახ.14 მასის გადატანის სქემატური წარმოდგენა მოძრავ ფაზაში

### გარჩევითობა

ნივთიერებათა ქრომატოგრაფიული დაყოფის ხარისხის დასახასიათებლად საუკეთესო პარამეტრს წარმოადგენს პიკების გარჩევითობა  $R_s$ , რომელიც შემდეგი ფორმულებით გამოითვლება :

$$R_S = 2 \frac{t_{R2} - t_{R1}}{W_2 + W_1} \qquad R_S = 1.18 \left( \frac{t_{R2} - t_{R1}}{W_{\frac{1}{2}}^{(2)} + W_{\frac{1}{2}}^{(1)}} \right)$$

$R_S$  -ის გამოსათვლელ ფორმულაში შედის როგორც პიკებს შორის დაშორების დამახასიათებელი პარამეტრი ( $t_2 - t_1$ ), ასევე პიკების სიგანეები. ამრიგად, გარჩევითობის ფორმულა აერთიანებს სელექტივობის (დაყოფის ფაქტორის) და თეორიული თეფშების რიცხვის გამოსათვლელ ფორმულებს.

## 1.7 ქირალური უძრავი ფაზები

ენანტიომერების დაყოფა შესაძლებელია ორი მეთოდით, ესენია: მოძრავ ფაზაში ქირალური სელექტორის, როგორც არის ციკლოდექსტრინები, ციკლური ეთერები, ქირალური ლიგანდები და სხვა დანამატებით, რომლის შედეგად ენანტიომერების დაყოფა აქირალურ უძრავ ფაზაზე ხდება შესაძლებელი. მეორე მეთოდი კი გულისხმობს ქირალური უძრავი ფაზის გამოყენებას. ქირალურ უძრავი ფაზები არის: პირკლეს ფაზები, სილიკაგელზე ბმული ციკლოდექსტრინები და ცილური ეთერები, პოლისაქარიდებზე დაფუძნებული ქირალური უძრავი ფაზები, მაკროციკლური ანტიბიოტიკური ფაზები და სხვა [12].

იმისთვის რომ მოხდეს ენანტიომერების დაყოფა, ქირალურ სელექტორს უნდა შეეძლოს მინიმუმ 3 წერტილოვანი ერთდროული ურთიერთქმედება ერთ-ერთ ენანტიომერთან. სამწერტილოვანი შეკავშირების ეს იდეა თავიდან შემოთავაზებული იქნა იმისთვის, რომ აეხსნათ ნივთიერების არამსგავსი ფიზიოლოგიური აქტიურობა მათი სტერეოქიმიური სტრუქტურებიდან გამომდინარე განსხვავებული ურთიერთქმედებით რეცეპტორთან. სამწერტილოვანი მოდელის მიხედვით ენანტიომერების დასაყოფად აუცილებელია სულ მცირე 3 ერთდროული მიზიდულობა ან 2 მიზიდულობა და 1 განზიდვა სელექტორისა და ერთ-ერთი ენანტიომერის სხვადასხვა ჯგუფებს შორის [13].

შემდეგი ტიპის ურთიერთქმედებები ხდება სელექტორისა და სელექტანტის მოლეკულებში არსებულ ჯგუფებს შორის: დიპოლ-დიპოლური, წყალბადური, ვან დერ ვალსური, იონ-დიპოლური, ელექტროსტატიკური,  $\pi - \pi$  და სივრცითი შეზღუდვა. ამ ურთიერთქმედებების სიმძლიერე და მიზიდვითი თუ განზიდვითი მიმართულება განსხვავებულია [13].

### 1.7.1 პოლისაქარიდებზე დაფუძნებული ქირალური სტაციონალური ფაზა

1939 წელს გ. ჰენდერსონმა და ჰ. რულმა აჩვენეს ენანტიომერების პირველი ნაწილობრივი დაყოფა დისაქარიდ ლაქტოზას ქირალურ ადსორბენტად გამოყენებით სვეტურ ქრომატოგრაფიაში [14]. 1951 წელს კოტაკემ გამოაქვეყნა შრომა, ენანტიომერების დაყოფის შესახებ ქირალურ სელექტორად ცელულოზას გამოყენებით ქაღალდის ქრომატოგრაფიაში. ეს იყო პირველი მაგალითი პოლისაქარიდის ქირალურ სელექტორად გამოყენების. მაღალეფექტურ სითხურ ქრომატოგრაფიაში ცელულოზის ტრიაცეტატის

გამოყენება პირველად აღწერილი იქნა გ. ჰესეს და რ. ჰაგელის მიერ 1973 წელს [15]. 1980-იან წლებში შრომები პოლისაქარიდული ქირალური სელექტორების ოპტიმიზაციაზე ძირითადად მიმდინარეობდა ორ ჯგუფში, რომლებიც თანამშრომლობდნენ ეთმანეთთან, ესენი იყვნენ ი. ოკამოტოს ჯგუფი და კომპანია „Daicel”, ორივე ჯგუფი მოღვაწეობდა იაპონიაში, მის საზღვრებს გარეთ მხოლოდ რამდენიმე კვლევა ჩატარდა [16]. ი. ოკამოტომ და მისმა ჯგუფმა ცელულოზას და ამილოზას მოდიფიცირება განახორციელეს ბენზოატისა და ფენილკარბამატის ჯგუფებით და შექმნეს ცელულოზა და ამილოზა ტრის (3,5-დიმეთილფენილკარბამატი) და მსგავსი ქირალური სელექტორების სერია [17].

1993 წელს ენანტიოსელექტიურობისა და უნივერსალობის გაზრდის მიზნით ჭანკვეტამის, იაშიმასა და ოკამოტოს მიერ შემოთავაზებული იქნა პოლისაქარიდებზე დაფუძნებული ფენილკარბამატების ქირალური სვეტები, რომლებშიც ფენილის ჯგუფი მოდიფიცირებული იყო ერთდროულად ელექტრონ-აქცეპტორული და ელექტრონ-დონორული ჩამნაცვლებლებით [16]. ბენზოატური ნაწარმები, რომელშიც დამატებულია ელექტრონ-დონორული ჩამნაცვლებლები, როგორც არის მაგალითად ალკილის ჯგუფი, ავლენენ უფრო მაღალი ქირალური გამოცნობის უნარს, ვიდრე ნაწარმები, რომლებშიც არის ელექტრონ-აქცეპტორული ჩამნაცვლებლები, როგორც არის ჰალოგენები ან ტრიფტორმეთანის ჯგუფი. ეს ახსნილია ჩამნაცვლებელი ჯგუფების ცელულოზას ნაწარმის კარბონილის ჯგუფის ელექტრონულ სიმკვერივეზე მნიშვნელოვანი გავლენით. ელექტრონ-დონორულმა მეთოქსი ჯგუფის ჩამნაცვლებლებმა არ აჩვენეს ქირალური გამოცნობის თვისების მატება, სავარაუდოდ მეთოქსი ჯგუფის მაღალი პოლარობის გამო. შესწავლილი ცელულოზის ბენზოატებს შორის, 4-მეთილბენზოატმა აჩვენა მაღალი ქირალური გამოცნობის უნარი.

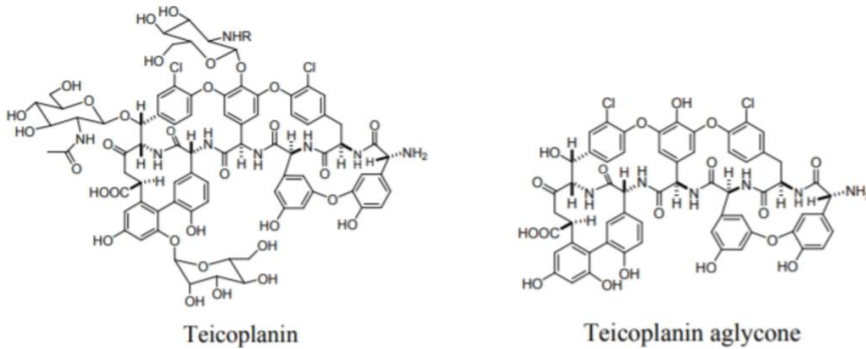
## 1.7.2 მაკროციკლური ანტიბიოტიკური ფაზები

მაკროციკლური ანტიბიოტიკები კოვალენტურად ბმულია სილიკაგელთან სხვადასხვა კავშირის ჯაჭვების მეშვეობით, როგორცაა კარბოქსილის მჟავა, ამინო, ეპოქსიდური ორგანოსილანები. ამგვარი მიმაგრება უზრუნველყოფს ქირალური სელექტორების სტაბილურობას, ხოლო მათი ქირალური ამოცნობის თვისებები შენარჩუნებულია. ყველა მაკროციკლური ანტიბიოტიკური სტაციონარული ფაზა არ არის მულტიმოდალური CSP, ანუ მათი გამოყენება შესაძლებელია როგორც ნორმალურფაზიან, ასევე შებრუნებულფაზიანი, პოლარულ-ორგანული და პოლარულ-იონური დაყოფისას [12].

HPLC-ში ქირალური განცალკევებისთვის გამყენებული ანტიბიოტიკები მოიცავს ანსამიცინებს (რიფამიცინები), გლიკოპეპტიდებს (ავოპარცინი, ტეიკოპლანინი, რისტოცეტინი A, ვანკომიცინი და მათი ანალოგები) და პოლიპეპტიდური ანტიბიოტიკი თიოსტრეპტონი. ერთ-ერთი ყველაზე ხშირად გამოყენებული ტეიკოპლანინი [12].

რიფამიცინის ჯგუფის წარმომადგენლები: რიფამიცინ B დადებითად დამუხტული ნაერთების მიმართ გამოირჩევა ენანტიოსელექტიურობით, ხოლო რიფამიცინ SV ენანტიოსელექტიურია უარყოფითად დამუხტულთა მიმართ.

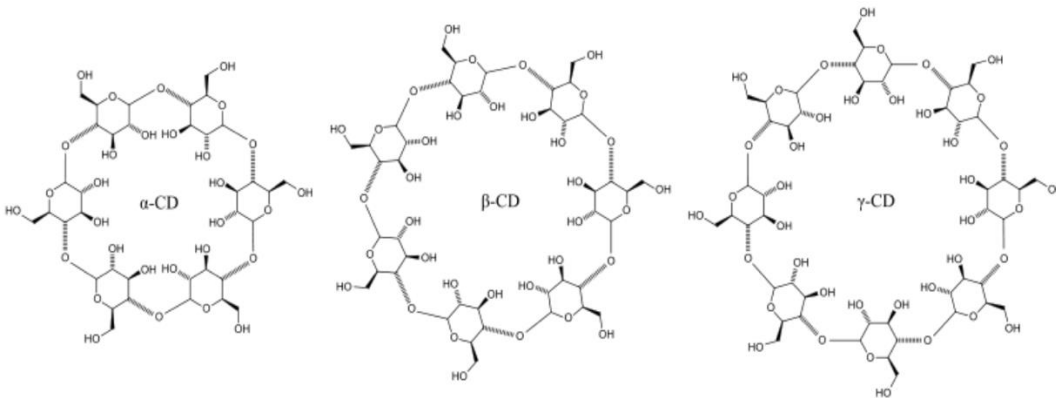
გლიკოპეპტიდები - ამ ქირალური სელექტორებით შესაძლებელია ამინომჟავების, პეპტიდების, იონიზებადი ქირალური ფუძეებისა და მჟავების ენანტიომერების დაყოფა.



ნახ.15 მაკროციკლური გლიკოპეპტიდის ტეიკოპლანინის და ტეიკოპლანინის აგლიკონის სტრუქტურები.

### 1.7.3 ციკლოდექსტრინები

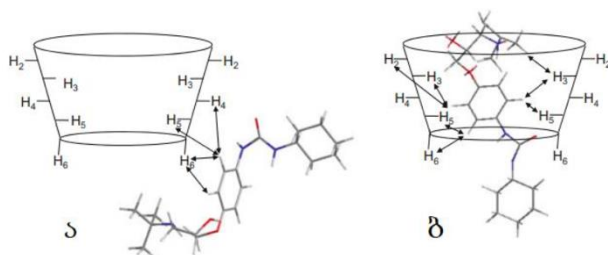
ციკლოდექსტრინების წარმოადგენენ ბუნებრივ ოლიგოსაქარიდებს და არიან საშუალო ზომის მაკროციკლებია. შეიცავენ 6-დან 12-მდე D(+) გლუკოპირანოზას. პირველი სამი წევრი, რომელიც ძირითადად გამოიყენება წარმოიქმნება 6,7 და 8 გლუკოპირანოზის ნაშთით, რომლებიც შესაბამისად არის დასახელებული, როგორც ალფა(α)-, ბეტა(β)- და გამა(γ)-ციკლოდექსტრინი [18].



ნახ.16 ალფა(α)-, ბეტა(β)- და გამა(γ)-ციკლოდექსტრინი

ციკლოდექსტრინების შიგა ღრუ არის ჰიდროფობური, ხოლო გარეთა ზედაპირი არის ჰიდროფილური, რომელზეც ჰიდროქსილის ჯგუფებია წარმოდგენილი (მათი მოდიფიცირება შესაძლებელია სხვადასხვა ჯგუფით). ქირალური გამოცნობის მექანიზმი ეფუძნება საანალიზო ნივთიერების ჰიდროფობური ნაწილით ჩართული კომპლექსების წარმოქმნას ციკლოდექსტრინის შიდა ღრუში. გარდა ამისა საანალიზო ნივთიერებას შეუძლია დაამყაროს სხვადასხვა ტიპის ურთიერთქმედებები გარე ზედაპირთან, მათ შორის დიპოლ-დიპოლური, წყალბადური, იონური, π-π [15]. ციკლოდექსტრინების ერთი მხარე არის ვიწრო, მეორე კი განიერი, მოძრავ ფაზაში ციკლოდექსტრინების ჩამატების

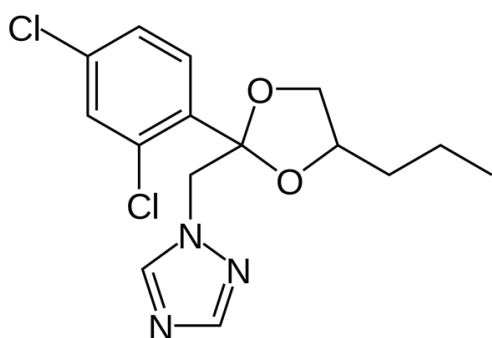
დროს საანალიზო ნივთიერებების სტრუქტურიდან გამომდინარე ხდება რომელიმე კონკრეტული მხარეს ჩართვა. ციკლოდექსტრინები ასევე უძრავ ფაზადაც გამოიყენება, ბმულ მყარ სარჩულზე.



ნახ.17  
 ა. გარეგანი კომპლექსი  
 ბ. ჩართული კომპლექსი

## 2. ექსპერიმენტული ნაწილი

### 2.1 საკვლევი ნივთიერება

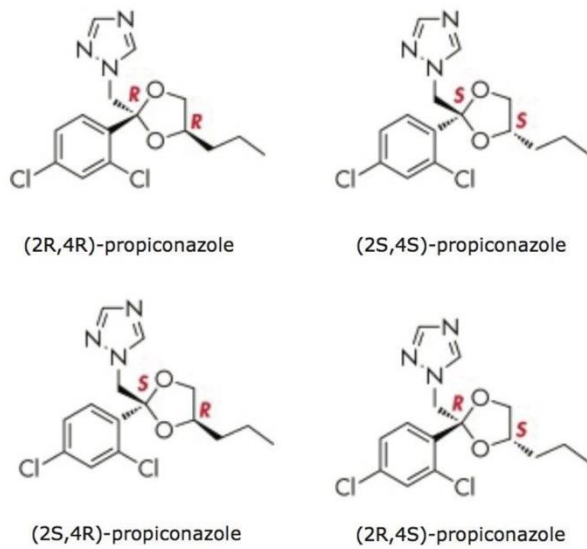


ნახ.18 პროპიკონაზოლი  
 [[2-(2,4-დიქლორფენილ)-4 პროპილ-1, 3-დიოქსოლან-2-ილ]მეთილ]-1,2,4-ტრიაზოლი

პროპიკონაზოლი არის ფართო სპექტრის 1,2,4-ტრიაზოლის კლასის ფუნგიციდი, რომელიც გამოიყენება სოკოვანი დაავადებების, ჟანგას და ნაცრის საწინააღმდეგოდ სხვადასხვა კულტურებში, როგორც არი: მარცვეული, პარკოსნები, ვაშლი, მსხალი, ხორბალი, ქერი, თხილი და სხვა. ის ფერმენტულად იჟანგება დიოქსოლანის რგოლზე მიმაგრებულ გვერდით ჯაჭვზე მცენარეებში, ნიადაგებსა და სოკოებში დიოქსოლანის ნაწილის დაკარგვით.

პროპიკონაზოლს აქვს ორი ქირალური ცენტრი, დიოქსოლანის რგოლის მე-2 და მე-4 პოზიციებზე, ამრიგად არსებობს ორი წყვილი დიასტერეომერი და ორი წყვილი ენანტიომერი, სულ ოთხი სტერეოიზომერი. ენანტიომერების ორი წყვილი მოიხსენიება, როგორც ცის [(2R,4S) და (2S,4R)] და ტრანს [(2R,4R) და (2S,4S)] (ნახ.19). 2S აბსოლუტური კონფიგურაციის მქონე იზომერები ერგოსტეროლის ბიოსინთეზის უფრო ეფექტური ინჰიბიტორები არიან, ვიდრე შესაბამისი 2R იზომერები. ასევე სხვადასხვა პათოგენური სოკოს სახეობები განსხვავებულად რეაგირებენ თითოეული სტერეოიზომერის მიმართ

და სხვადასხვა იზომერების ფუნქციდური აქტივობა, ისევე, როგორც მცენარეების ზრდის მარეგულირებელი ეფექტი, განსხვავდება სამიზნე ორგანიზმებისთვის .



ნახ.19 პროპიკონაზოლის სტერეოიზომერები

## 2.2 კვლევის გეგმა

- სკრინინგი- სხვადასხვა ქირალური სვეტის ეფექტურობის შემოწმება სხვადასხვა მოძრავი ფაზის გამოყენებით პროპიკონაზოლის ენანტიომერების დაყოფის თვალსაზრისით.
- საუკეთესო შედეგების შედარებითი დახასიათება.

## 2.3 გამოყენებული ინსტრუმენტი



კვლევა ჩატარდა Agilent-ის მაღალეფექტურ ქრომატოგრაფზე.

მაქსიმალური წნევა: 400 ბარი

ტალღის სიგრძე: 110-900 ნმ

დეტექტორი: ულტრაიისფერი-ხილული

პროგრამული უზრუნველყოფა: The Chemstation ვერსია: B.04.03

სურათი 2. სითხური ქრომატოგრაფი

## 2.4 გამოყენებული მასალები

საკვლევი ნივთიერების, პროპიკონაზოლის, ექსტრაქცია მოხდა ადგილობრივ აგროქიმიური საშუალებების მაღაზიაში ნაყიდი ფუნგიციდიდან.

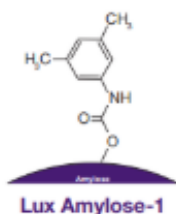


სურათი 1. ფუნგიციდი პროპიკონაზოლი

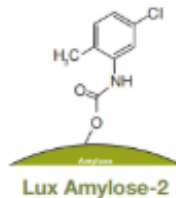
კვლევისთვის ასევე გამოყენებული იყო:

- Lux® ქირალური სვეტები. ზომით 250x4.6 მმ, შევსებული 3/5 მიკრომეტრიანი სილიკაგელის ნაწილაკებით, რომელზეც დაფენილია ან კოვალენტურად ბმული პოლისაქარიდზე დაფუძნებული ბენზოატებისა და კარბამატის ქირალური სელექტორები. სვეტები წარმოებულია კომპანია Phenomenex-ის მიერ.
- გამხსნელები: HPLC-ის ხარისხის ჰექსანი, იზოპროპანოლი, მეთანოლი, აცეტონიტრილი, ეთანოლი.
- მოძრავი ფაზის მოდიფიკატორები: დიეთილამინი, ამონიუმის ფორმატი, ამონიუმის აცეტატი, ჭიანჭველმჟავა და დეიონიზირებული წყალი.

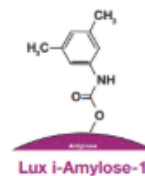
კვლევაში გამოყენებული Lux® ქირალური სვეტები



ამილოზა ტრის(3,5-  
დიმეთილფენილკარბამატი)

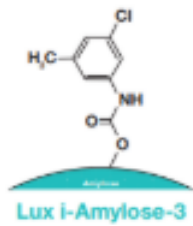


ამილოზა ტრის(5-ქლორო-  
2-მეთილფენილკარბამატი)

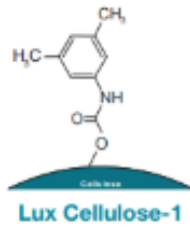


ამილოზა ტრის(3,5-  
დიმეთილფენილკარბამატი)  
იმობილიზებული

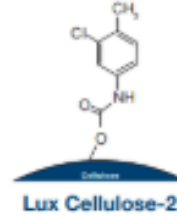




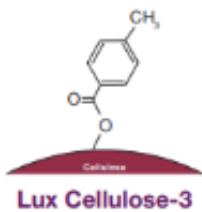
ამილოზა ტრის(3-ქლორო-5-მეთილფენილკარბამატი) იმობილიზებული



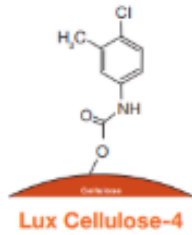
ცელულოზა ტრის(3,5-დიმეთილფენილკარბამატი)



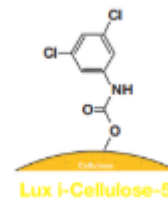
ცელულოზა ტრის(3-ქლორო-4-მეთილფენილკარბამატი)



ცელულოზა ტრის(4-მეთილბენზოატი)



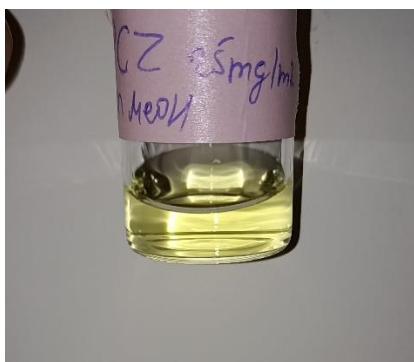
ცელულოზა ტრის(4-ქლორო-3-მეთილფენილკარბამატი)



ცელულოზა ტრის(3,5-დიქლორფენილკარბამატი) იმობილიზებული

### 3. ნიმუშის მომზადება საანალიზოდ

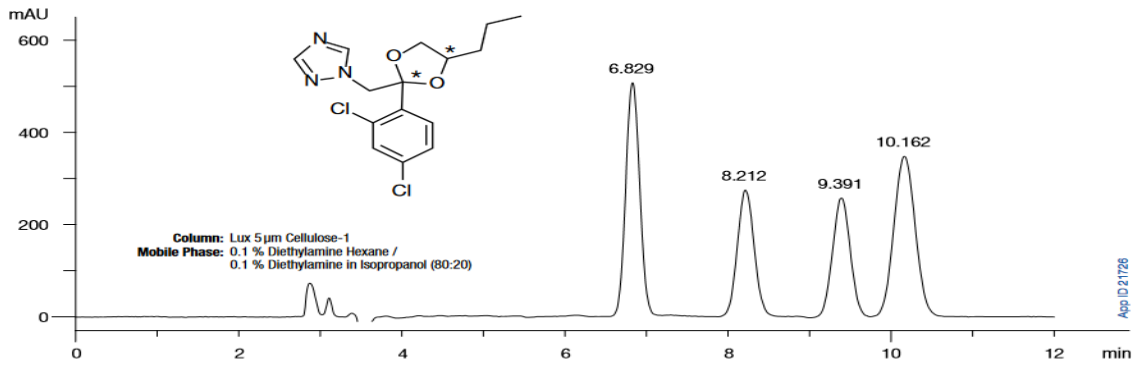
პროპიკონაზოლის ფუნგიციდის გახსნა მოხდა მეთანოლში ისეთი რაოდენობით, რომ კონცენტრაცია ყოფილიყო 25 მგ/მლ და გაიფილტრა ნემსის ფილტრით. სურათი 3.



სურათი 3. საანალიზო ნიმუში

გამომდინარე იქედან, რომ ფუნგიციდს ჰქონდა მინარევები, უცნობი იყო რომელი პიკები ეკუთვნოდა პროპიკონაზოლის სტერეოიზომერს. სტერეოიზომერების პიკების დასადგენად მოძიებული იქნა უკვე არსებული მეთოდი, რომელშიც ნაჩვენებია იყო პროპიკონაზოლის სტერეოიზომერების დაყოფა და მათი გამოსვლის დროები.

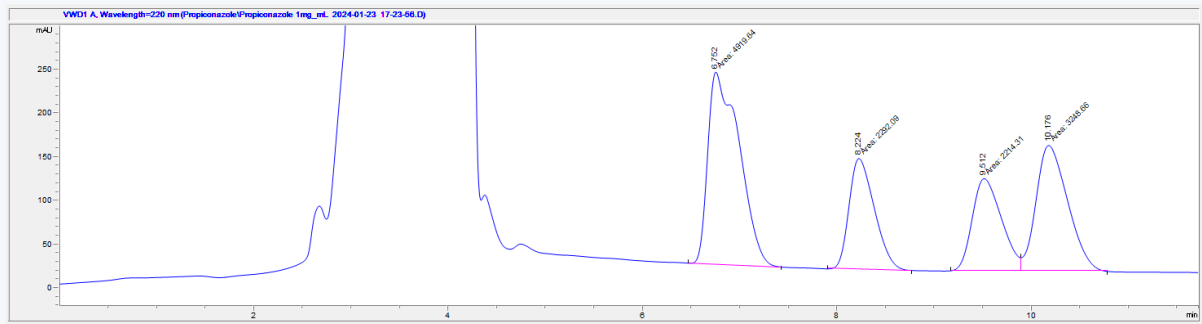
**Figure 6.**  
Stereoselective HPLC analysis on the stereoisomers mix of Propiconazole



ნახ.20 მოძიებული მეთოდი

ეს მეთოდი გამოვიყენეთ სტერეოიზომერების შეგროვების მიზნით.

სვეტი Lux Cellulose-1,  
 მოძრავი ფაზა Hexane/IPA 80:20 (0.1% DEA)  
 ტალღის სიგრძე: 220 ნმ  
 ნაკადის სიჩქარე: 1მლ/წთ



ნახ.21 განმეორებული ანალიზის ქრომატოგრამა

დავიწყეთ ნიმუშის შეგროვება. შეგროვებული ნიმუში ამოვაშრეთ და გავხსენით მეთანოლში, 5 წთ-ის განმავლობაში ვანჯღრიეთ და შემდეგ მოვათავსეთ ულტრაბერაში 20 წთ-ს განმავლობაში, ამის შემდეგ დავიწყეთ სკრინინგი.

## 4. მიღებული შედეგები და მათი განსჯა

### 4.1 სკრინინგი

სკრინინგის პროცესში ამილოზასა და ცელულოზას საფუძველზე მომზადებული სხვადასხვა სვეტი შემოწმდა, სხვადასხვა მოძრავი ფაზის გამოყენებით პროპიკონაზოლის სტერეოიზომერების დაყოფის თვალსაზრისით.

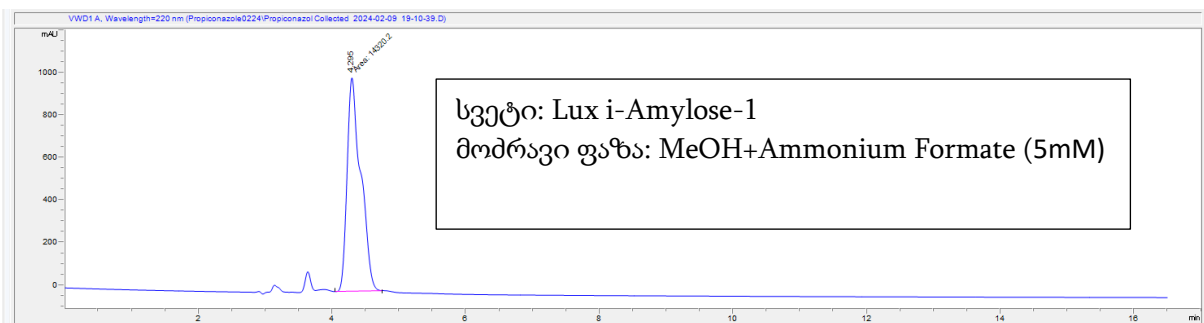
თითოეული ანალიზი ჩატარდა 220 ნმ ტალღის სიგრძეზე, 20°C-ზე.

## 4.1.1 მოძრავი ფაზის ოპტიმიზაცია

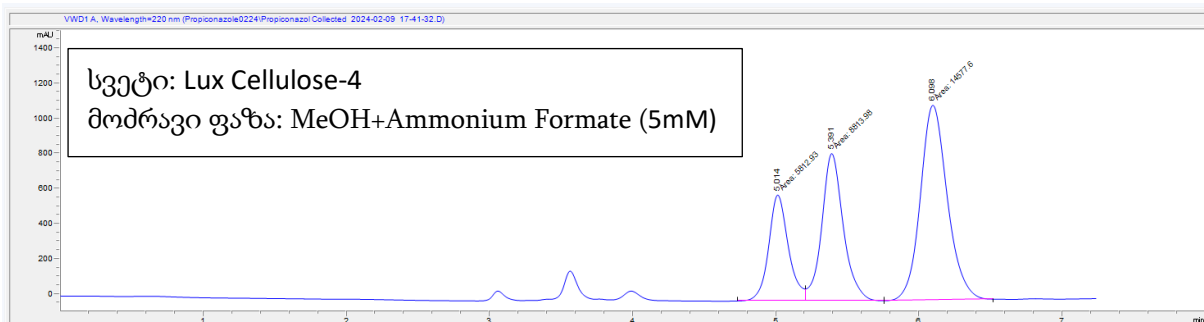
### მოძრავი ფაზა: მეთანოლი

პროპიკონაზოლის სტერეოიზომერების დაყოფა შემოწმდა მოძრავი ფაზის მეთანოლი+ამონიუმის ფორმატის (5mM) გამოყენებით შემდეგ ქირალურ სვეტებზე: Lux Cellulose-1, Lux Cellulose-2, Lux Cellulose-3, Lux Cellulose-4, Lux Amylose-1, Lux Amylose-2, Lux i-Amylose-1, Lux i-Amylose-3.

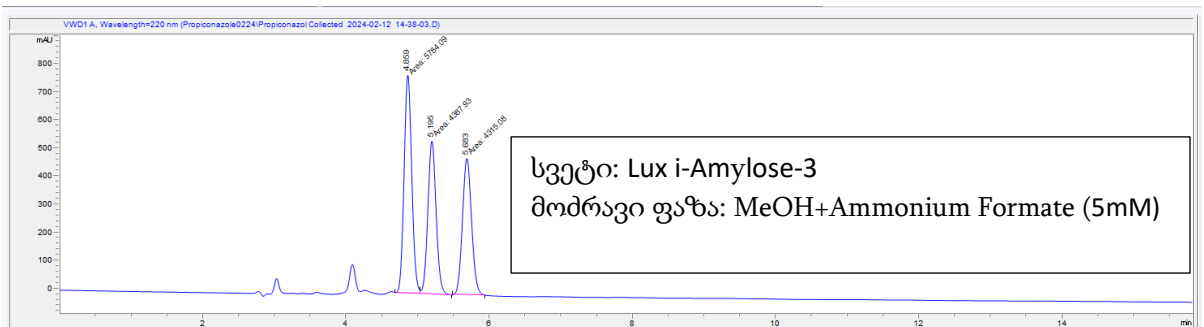
მოცემული მოძრავი ფაზით სასურველ შედეგს ვერ მივაღწიეთ, რადგან ყველაზე კარგ ვარიანტში ვიღებდით 2-3 პიკს, ადგილი ჰქონდა კოელუირებას. Lux Cellulose-4 და Lux i-Amylose-3 -ის შემთხვევაში მივიღეთ სამი პიკის ფუძისეული დაყოფა. Lux Cellulose-3 სვეტზე მივიღეთ 2 პიკის ფუძისეული დაყოფა.



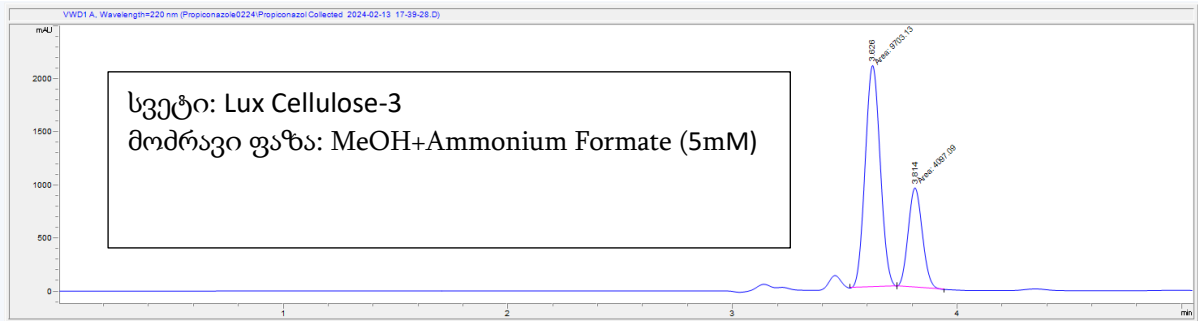
ნახ.22 პროპიკონაზოლის ქრომატოგრამა Lux i-Amylose-1 სვეტზე.



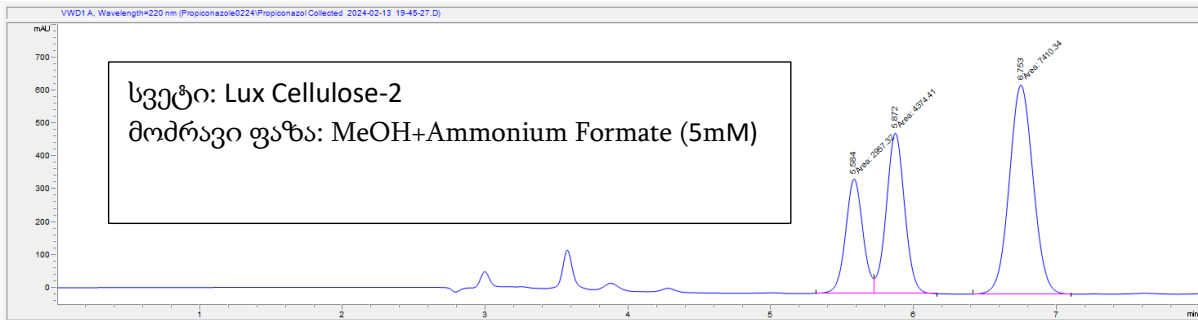
ნახ.23 პროპიკონაზოლის ქრომატოგრამა Lux Cellulose-4 სვეტზე



ნახ.24 პროპიკონაზოლის ქრომატოგრამა Lux Amylose-3 სვეტზე



ნახ.25 პროპიკონაზოლის ქრომატოგრამა Lux Cellulose-3 სვეტზე



ნახ.26 პროპიკონაზოლის ქრომატოგრამა Lux Cellulose-2 სვეტზე

მეთანოლიან მოძრავ ფაზაში წყლის შემცველობის გავლენა პროპიკონაზოლის ენანტიომერების დაყოფაზე.

სტერეოიზომერების დაყოფაზე წყლის გავლენის შესასწავლად მეთანოლის შემცველ მოძრავ ფაზაში შეტანილ იქნა წყალი მზარდი კონცენტრაციით. ანალიზი ჩატარდა Lux i-Amylose-3 და Lux Cellulose-4 სვეტებზე.

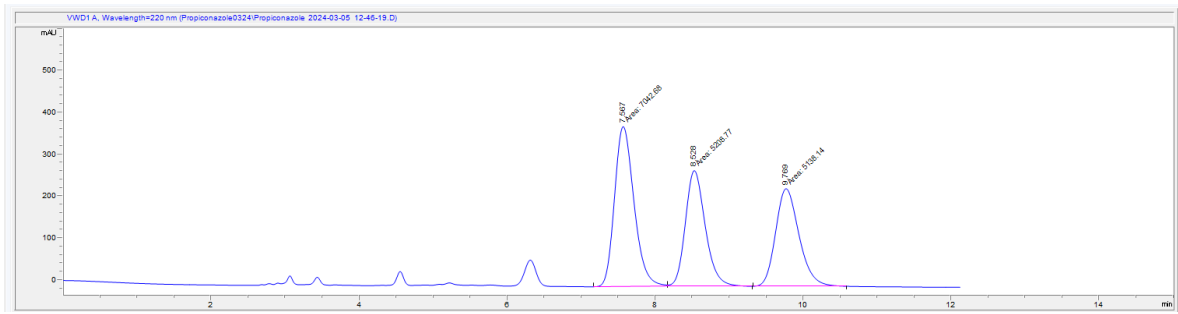
**სვეტი Lux i-Amylose-3**

ტალლის სიგრძე: 220 ნმ

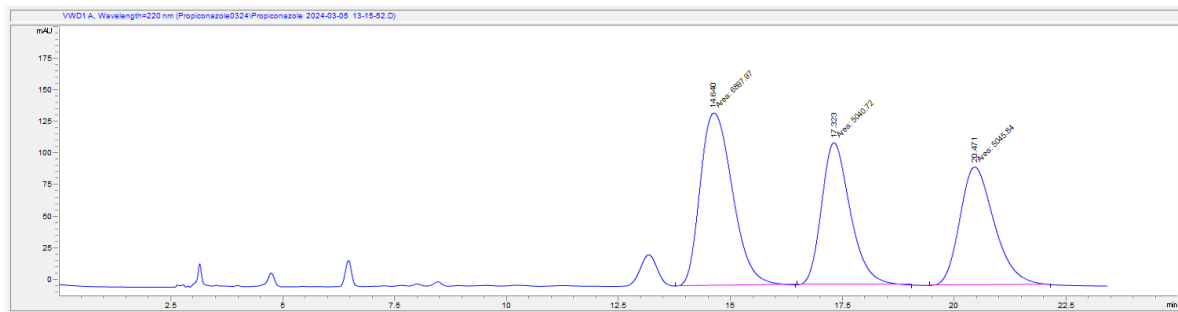
ნაკადის სიჩქარე: 1მლ/წთ

MeOH/H <sub>2</sub> O/AF(5mM)	შეკავების დრო (წთ)			
100/0/5mM	4.859	5.195	5.683	ნახ.24
90/10/5mM	7.567	8.528	9.769	ნახ.27
80/20/5mM	14.640	17.323	20.471	ნახ.28
70/30/5mM	39.629	47.623	57.072	ნახ.29

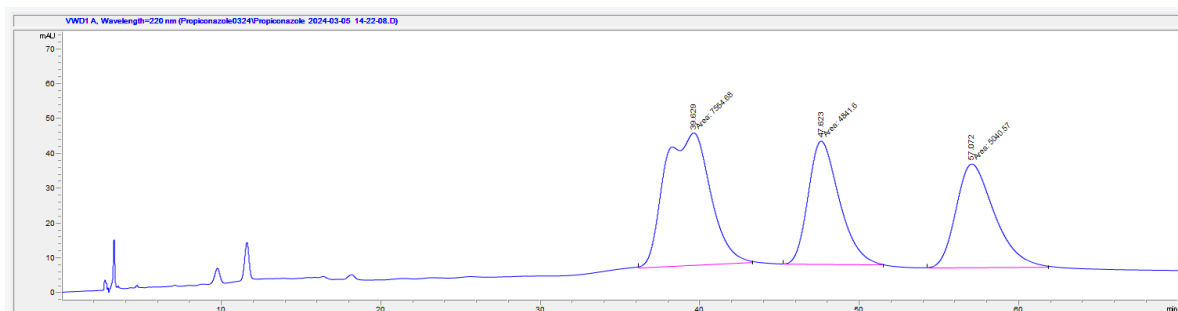
ცხრილი 1.



ნახ.27



ნახ.28



ნახ.29

მოდრავ ფაზაში წყლის დამატებით ვერ მოხერხდა 4 სტერეოიზომერის დაყოფა, მივიღეთ ისევ 3 პიკი. 70/30 მოძრავი ფაზაში ჩატარებული ანალიზისას გამოჩნდა მეოთხე პიკის თავი, თუმცა წყლის დამატებით დრო საგრძნობლად გაიზარდა და ამ მიზეზით აღარ გავაგრძელებთ წყლის მოცულობითი წილის გაზრდა.

### სვეტი Lux Cellulose-4

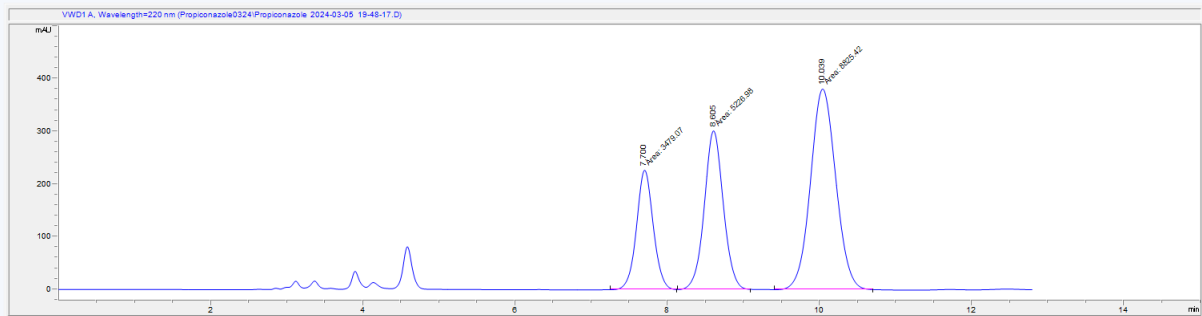
ტალლის სიგრძე: 220 სმ

ნაკადის სიჩქარე: 1მლ/წთ

მოდრავ ფაზად გამოყენებული იყო MeOH/H<sub>2</sub>O ცვლადი თანაფარდობით, მოდიფიკატორის გარეშე.

MeOH/H<sub>2</sub>O 90:10

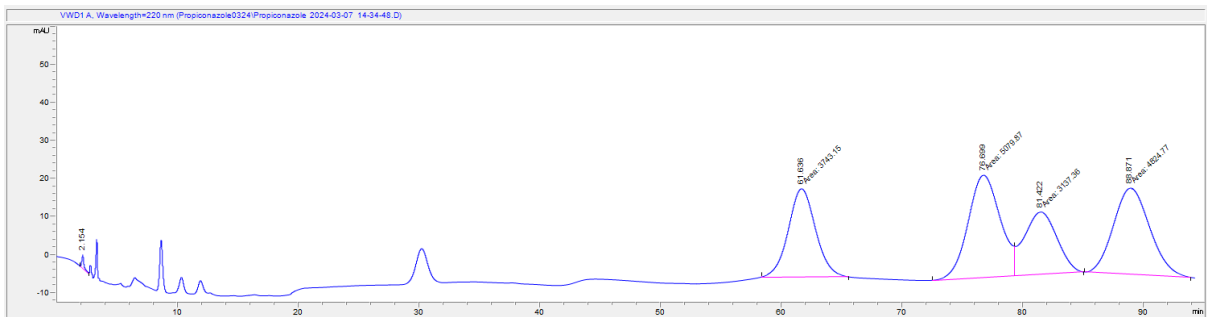
3 პიკი ფუძისეული დაყოფით



ნახ.30

MeOH/H<sub>2</sub>O 65:35

მივიღეთ 4 სტერეოიზომერის პიკი, თუმცა დაყოფა არის ნაწილობრივი. შეკავების დრო საგრძნობლად გაიზარდა, პიკების ფართობიც გაიზარდა, რაც შეეხება გარჩევითობას, მიღებულია შემდეგი მნიშვნელობები:  $RS_{(2,1)}=3.08$ ,  $RS_{(3,1)}=0.89$ ,  $RS_{(4,3)}=1.32$ .

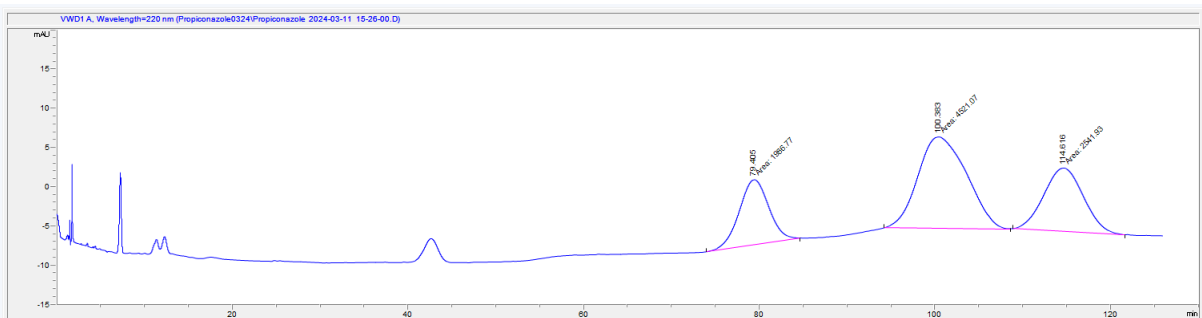


ნახ.34

MeOH/H<sub>2</sub>O 60:40

ნაკადის სიჩქარე: 2 მლ/წთ

გამოიყო ისევ 3 პიკი



ნახ.31

შედეგებიდან გამომდინარე შეგვიძლია ვთქვათ, რომ მეთანოლიან მოძრავ ფაზაში წყლის დამატებისას მხოლოდ Lux Cellulose-4 სვეტზე MeOH/H<sub>2</sub>O 65:35 მოძრავი ფაზით შეინიშნებოდა 4 სტერეოიზომერის ნაწილობრივი დაყოფა.

წყლის მოცულობის გაზრდამ ორივე სვეტზე გაზარდა შეკავების დრო. ფენილკარბამატის ქირალური სელექტორი შეიცავს პოლარული კარბამატისა და არაპოლარული ფენილის ჯგუფებს, საანალიზო ნივთიერებებთან აქვს, როგორც ჰიდროფილური, ასევე ჰიდროფობური ურთიერთქმედების შესაძლებლობები. შესაბამისად, პირობებიდან გამომდინარე რომელი ურთიერთქმედებაც იქნება ურო ძლიერი, იმის შესაბამისი სურათი მიიღება. მეთანოლში წყლის დამატებით ჰიდროფობური ურთიერთქმედებები ხდება უფრო უპირატესი, საანალიზო ნივთიერება უფრო უკეთ ურთიერთქმედებს სელექტორთან და უფრო დიდხანს შეკავდება მასზე.

### მოდრავი ფაზა: აცეტონიტრილი

მოდრავ ფაზად აცეტონიტრილის გამოყენებით შემოწმდა 2 სვეტი: Lux i-Amylose-3 და Lux Cellulose-4.

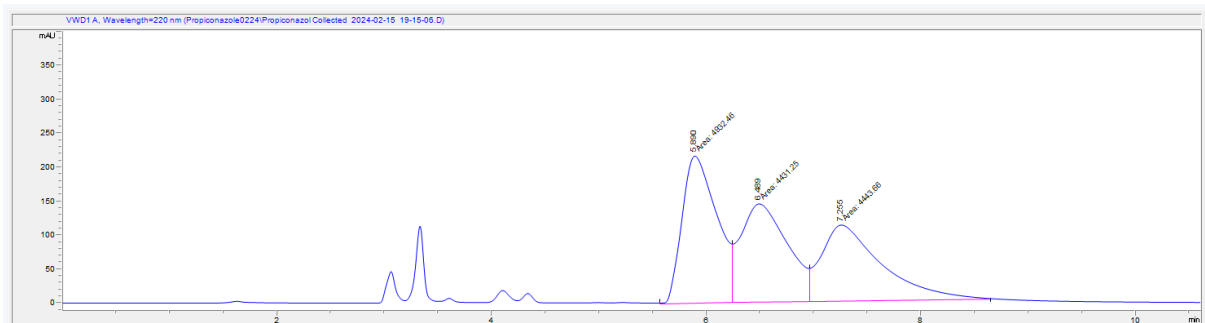
სვეტი: Lux i-Amylose-3

მოდრავი ფაზა: აცეტონიტრილი

ტალღის სიგრძე: 220 ნმ

ნაკადის სიძქარე: 1 მლ/წთ

მივიღეთ 3 პიკის ნაწილობრივი დაყოფა



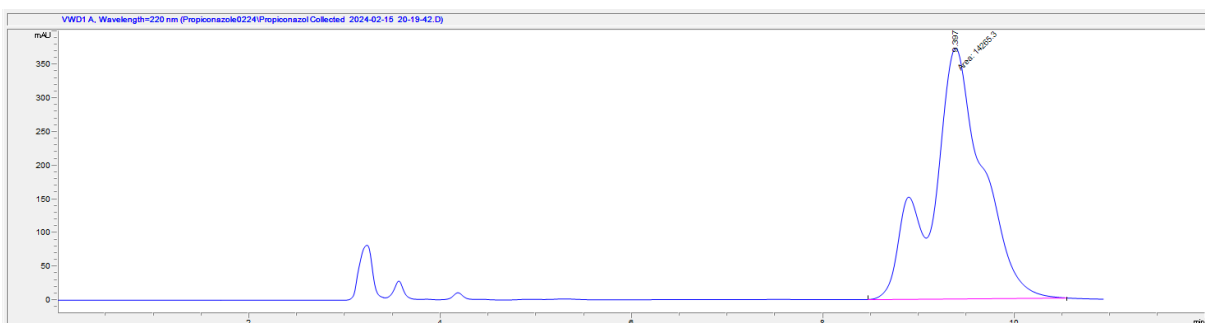
ნახ.32

სვეტი: Lux Cellulose-4

მოდრავი ფაზა: აცეტონიტრილი

ტალღის სიგრძე: 220 ნმ

ნაკადის სიძქარე: 1 მლ/წთ



ნახ.33

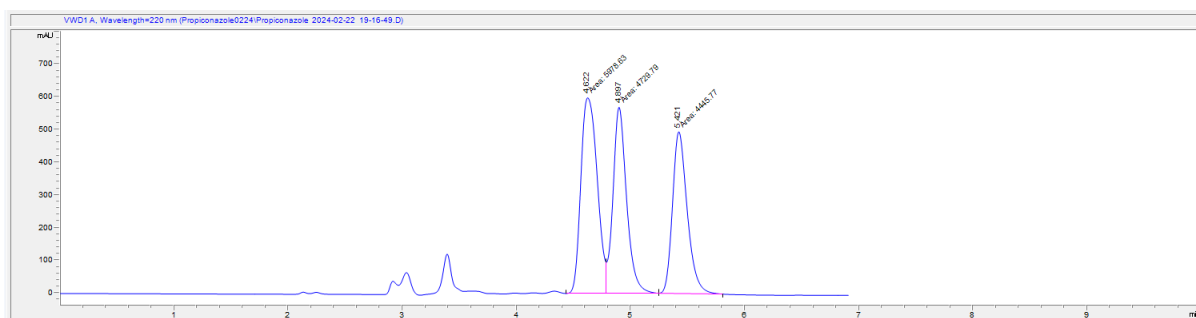
სასურველი შედეგი ვერ მივიღეთ, Lux i-Amylose-3 სვეტზე 3 პიკის ნაწილობრივი დაყოფა მივიღეთ, Lux Cellulose-4-ზე კი არ დაიყო. გვანტერესებდა აცეტონიტრილის მოძრავ ფაზაში წყალს რა გავლენა ექნებოდა პროპიკონაზოლის დაყოფაში, ამ მიზნით მოძრავ ფაზაში შევიყვანეთ წყალი და ასევე ამონიუმის ფორმატი.

### სვეტი Lux i-Amylose-3

მოძრავი ფაზა: ACN/H<sub>2</sub>O 95/5 + Ammonium formate 5mM

ტალღის სიგრძე 220 ნმ

ნაკადის სიჩქარე 1 მლ/წთ

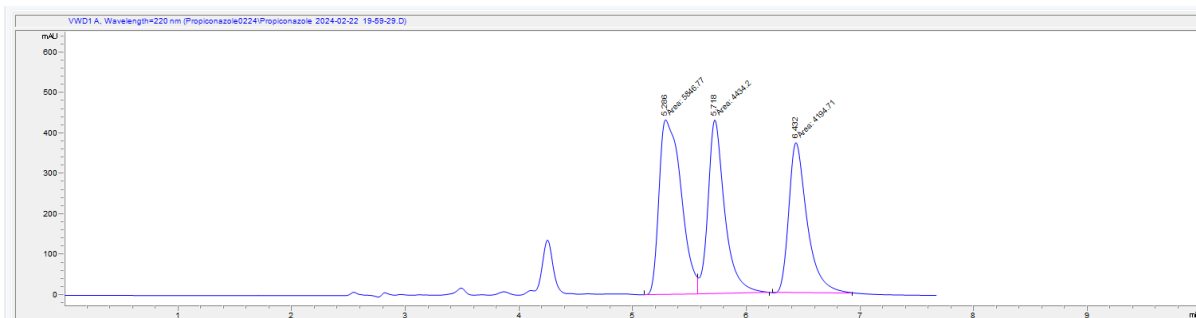


ნახ.34

მოძრავი ფაზა: ACN/H<sub>2</sub>O 80/20 + Ammonium formate 5mM

ტალღის სიგრძე 220 ნმ

ნაკადის სიჩქარე 1 მლ/წთ



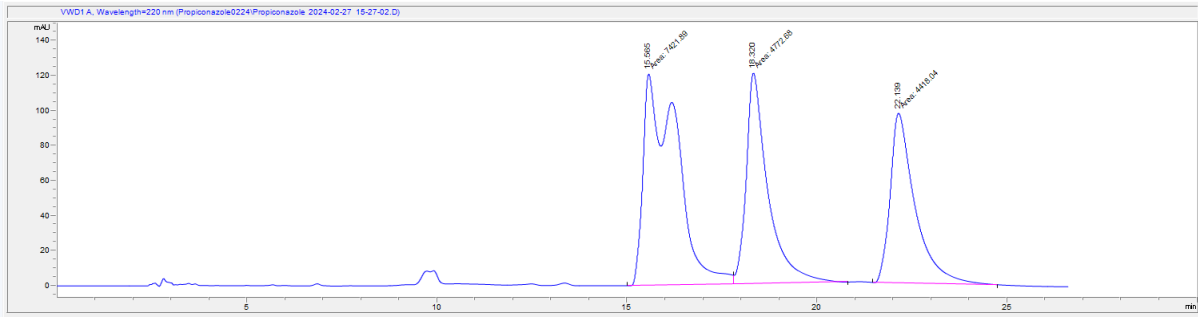
ნახ.35

მოძრავი ფაზა: ACN/H<sub>2</sub>O 50/50 + Ammonium formate 5mM

ტალღის სიგრძე 220 ნმ

ნაკადის სიჩქარე 1 მლ/წთ





ნახ.36

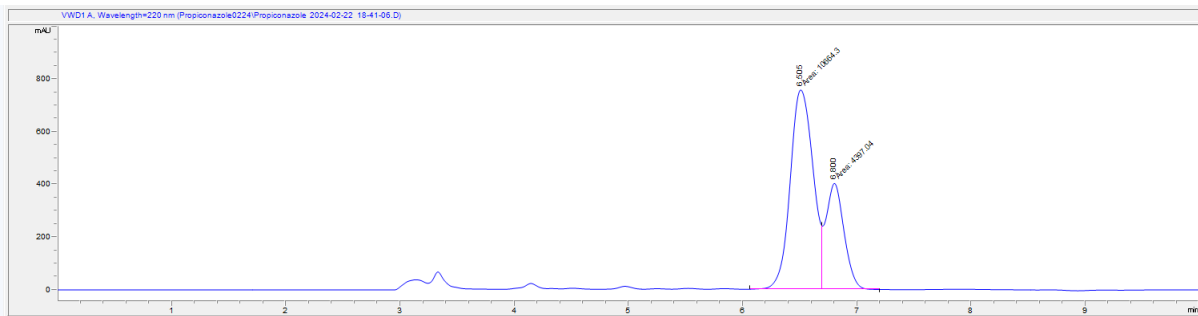
მიღებული შედეგებიდან ჩანს, რომ წყლის მოცულობითი წილის გაზრდამ ხელი შეუწყო სტერეოიზომერების დაყოფას. 50/50 თანაფარდობისას ქრომატოგრამაზე გამოჩნდა მეოთხე პიკი, თუმცა შეკავების დრო საკმაოდ გაიზარდა და ამის გამო შევწყვიტეთ წყლის შემცველობის გაზრდა.

### სვეთი Lux Cellulose-4

მოდრაჟი ფაზა: ACN/H<sub>2</sub>O 95/5 + Ammonium formate 5mM

ტალღის სიგრძე 220 ნმ

ნაკადის სიჩქარე 1 მლ/წთ

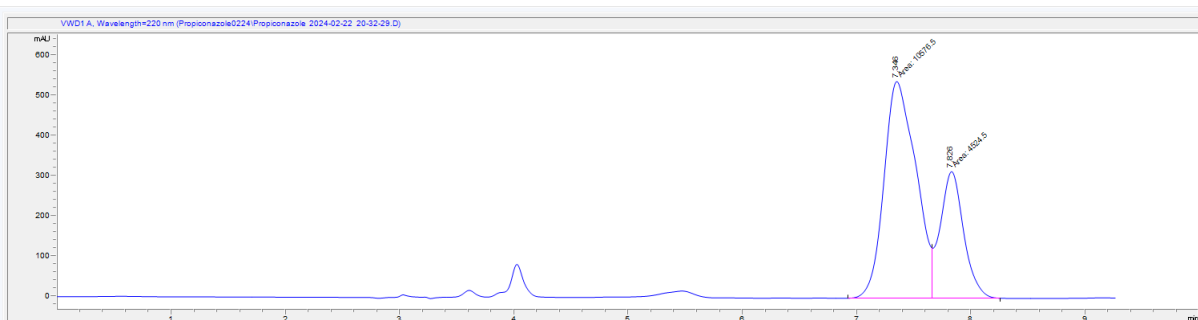


ნახ.37

მოდრაჟი ფაზა: ACN/H<sub>2</sub>O 80/20 + Ammonium formate 5mM

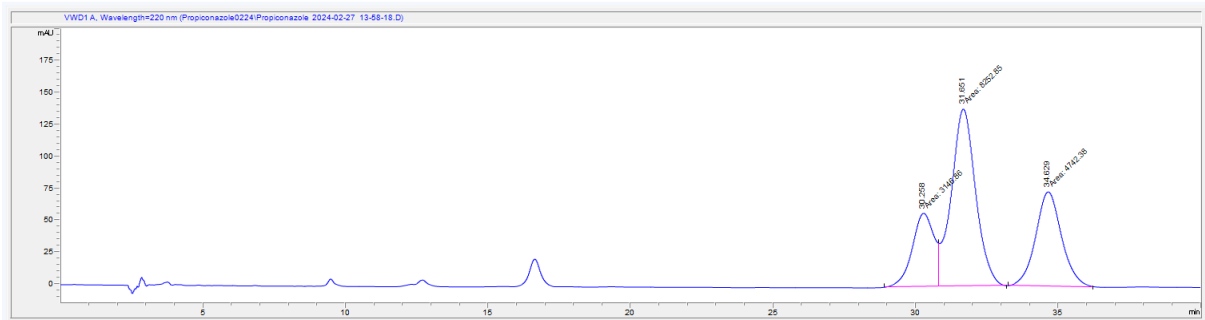
ტალღის სიგრძე 220 ნმ

ნაკადის სიჩქარე 1 მლ/წთ



ნახ.38

მოდრაჟი ფაზა: ACN/H<sub>2</sub>O 50/50 + Ammonium formate 5mM  
 ტალღის სიგრძე 220 ნმ  
 ნაკადის სიჩქარე 1 მლ/წთ



ნახ.39

Lux Cellulose-4 სვეტზე გაანალიზების შემთხვევაშიც წყლის დამატებამ გააუმჯობესა დაყოფა, თუმცა ოთხივე სტერეოიზომერის დაყოფა ვერ მივიღეთ.

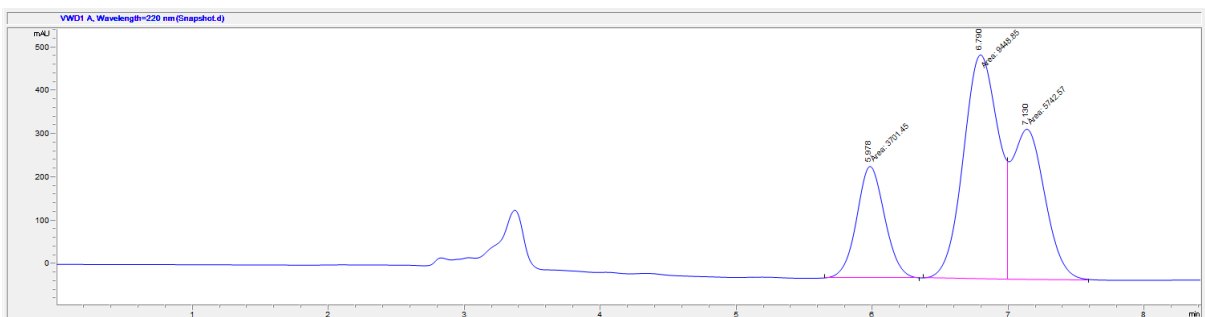
მოდრაჟი ფაზა: ეთანოლი

მოდრაჟ ფაზად ეთანოლის გამოყენებით შემოწმდა შემდეგი სვეტები: Lux Cellulose-4 და Lux i-Amylose-3. გვინტერესებდა ნაკადის სიჩქარეს რა გავლენა ექნებოდა სტერეოიზომერების დაყოფაზე, ამ მიზნით მოხდა ნაკადის სიჩქარის ვარიირება. შედეგების განხილვა:

სვეტი: Lux Cellulose-4

მოდრაჟი ფაზა: EtOH

ნაკადის სიჩქარე: 1 მლ/წთ

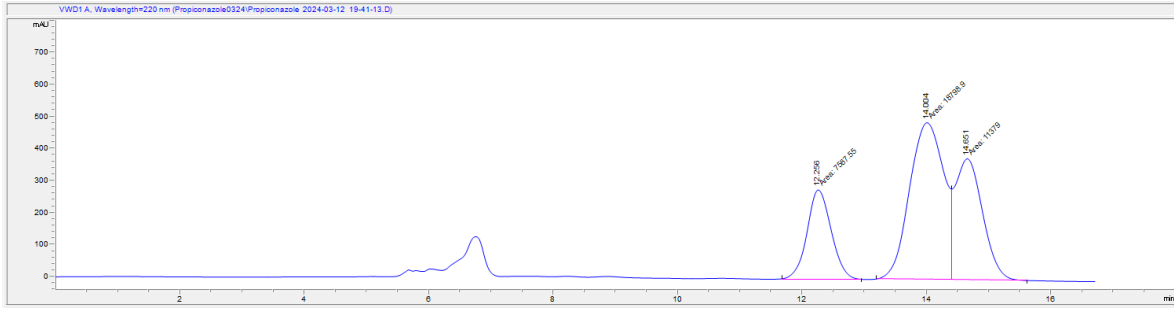


ნახ.40

სვეტი: Lux Cellulose-4

მოდრაჟი ფაზა: EtOH

ნაკადის სიჩქარე: 0.5 მლ/წთ



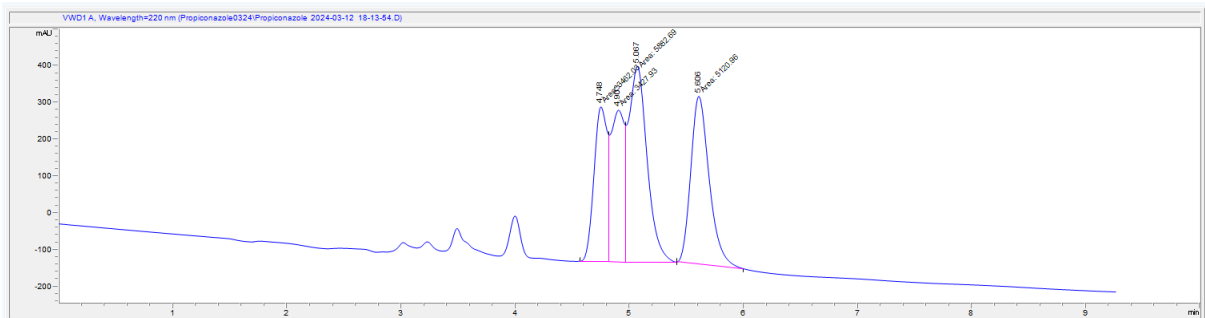
ნახ.41

Lux Cellulose-4 სვეტზე ეთანოლის გამოყენებით მოძრავ ფაზად, სასურველი შედეგი ვერ მივიღეთ. გვქონდა 3 პიკი, ბოლო ორი ნაწილობრივად დაიყო.

სვეტი: Lux i-Amylose-3

მოძრავი ფაზა: EtOH

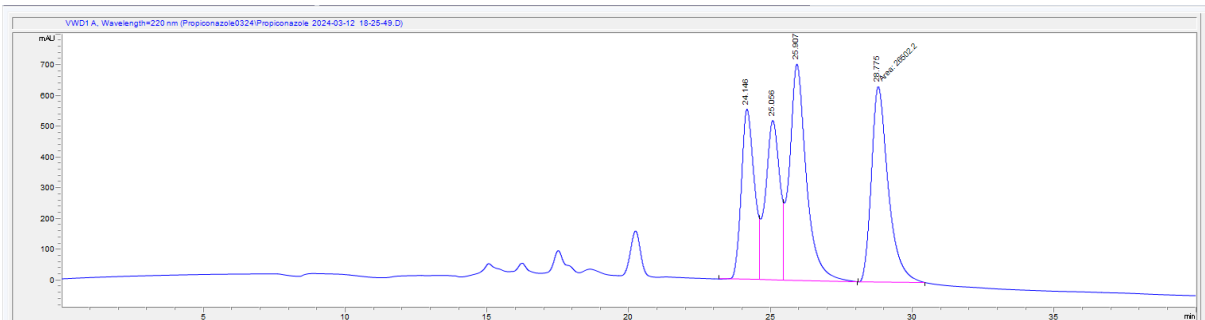
ნაკადის სიჩქარე: 1 მლ/წთ



ნახ.42 პროპიკონაზოლის ენანტიომერებსი ნაწილობრივი დაყოფა

მოძრავი ფაზა: EtOH

ნაკადის სიჩქარე: 0.2 მლ/წთ



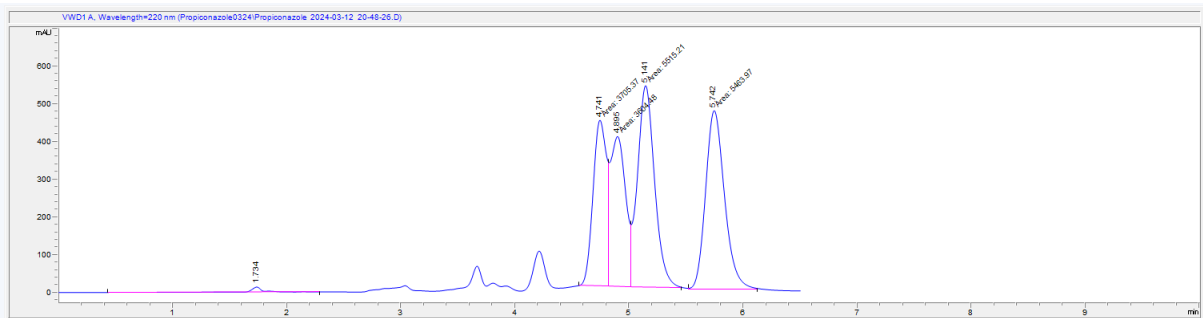
ნახ.43 პროპიკონაზოლის ენანტიომერებსი ნაწილობრივი დაყოფა

Lux i-Amylose-3 სვეტზე 0.2 მლ/წთ ნაკადის სიჩქარით უკეთესი შედეგი გვქონდა ვიდრე 1 მლ/წთ ნაკადის სიჩქარით, თუმცა ფუძისეული დაყოფა მაინც ვერ მივიღეთ.

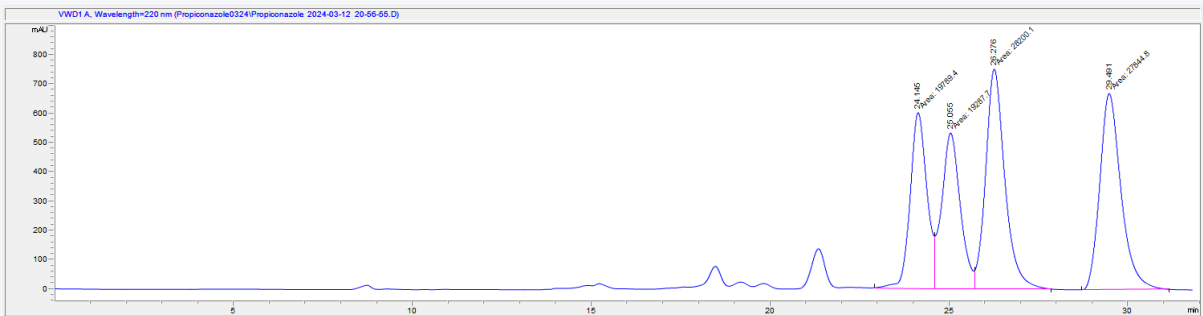
დაყოფის გაუმჯობესების მიზნით მოძრავ ფაზაში ცვლილებების შეტანა გადაწყვიტეთ და შევიტანეთ წყალი მზარდი მოცულობით.

მოძრავი ფაზა : EtOH/H<sub>2</sub>O 95:5

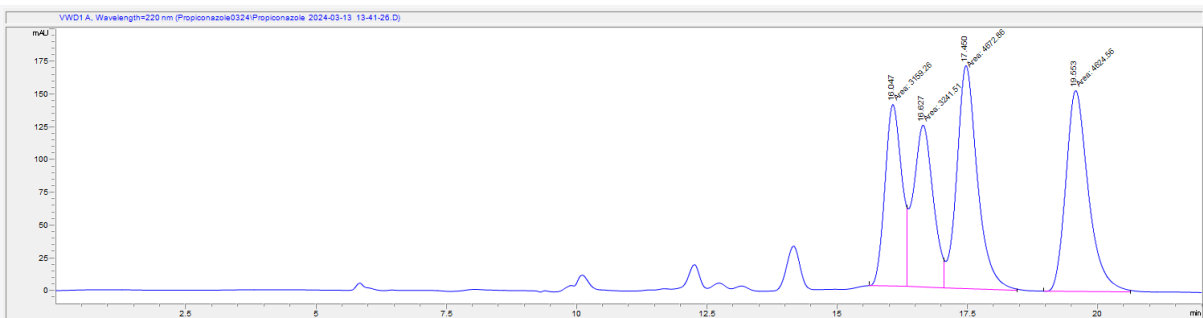
ნაკადის სიჩქარე	გარჩევითობა			
	R <sub>S(1,2)</sub>	R <sub>S(2,3)</sub>	R <sub>S(3,4)</sub>	
1 მლ/წთ	0.62	0.89	1.94	ნახ.44
0.2 მლ/წთ	0.93	1.17	2.88	ნახ.45
0.3 მლ/წთ	0.84	1.08	2.58	ნახ.46
0.4 მლ/წთ	0.78	1.02	2.40	ნახ.47
0.5 მლ/წთ	0.74	0.99	2.31	ნახ.48



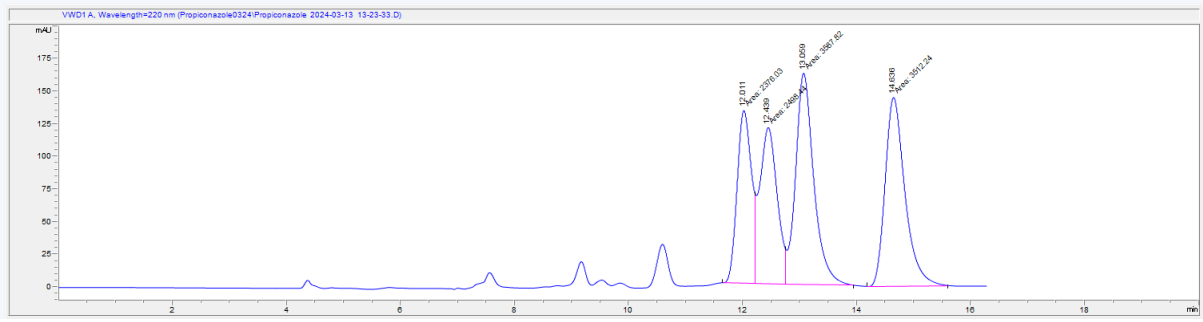
ნახ.44



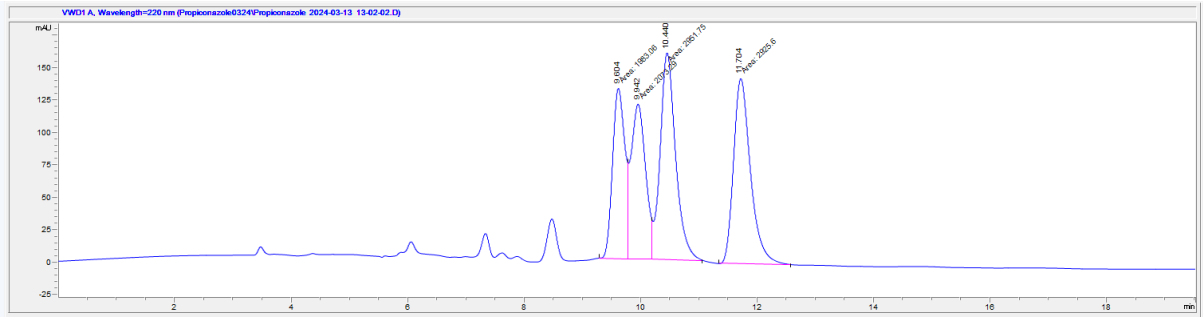
ნახ.45



ნახ.46



ნახ.47



ნახ.48

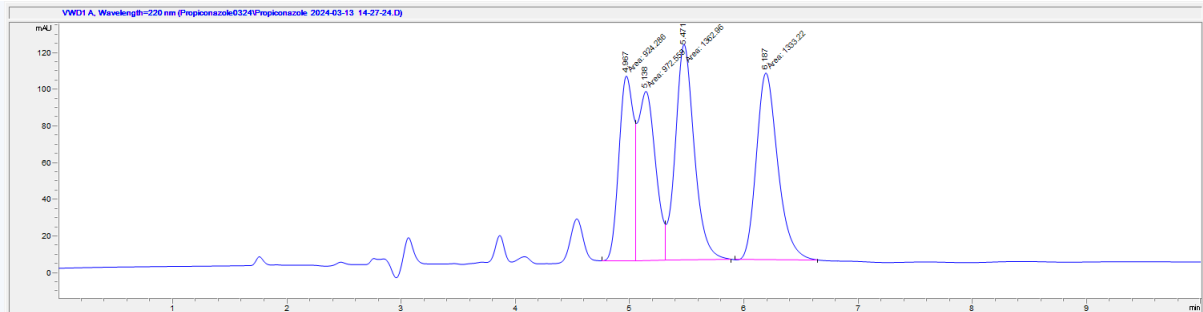
შედეგებიდან ჩანს, რომ ნაკადის სიჩქარის შემცირებით დაყოფა უმჯობესდება და გარჩევითობაც უკეთეს მნიშვნელობას იღებს. რაც უფრო იზრდება ნაკადის სიჩქარე, მით უფრო სწრაფად ტოვებს ნივთიერება სვეტს და ვერ ასწრებს ნორმალურად გაანალიზებას. ფუძისეული დაყოფა ამ შემთხვევაშიც მიღწეული არ იყო.

მოძრავი ფაზა : EtOH/H<sub>2</sub>O 90:10

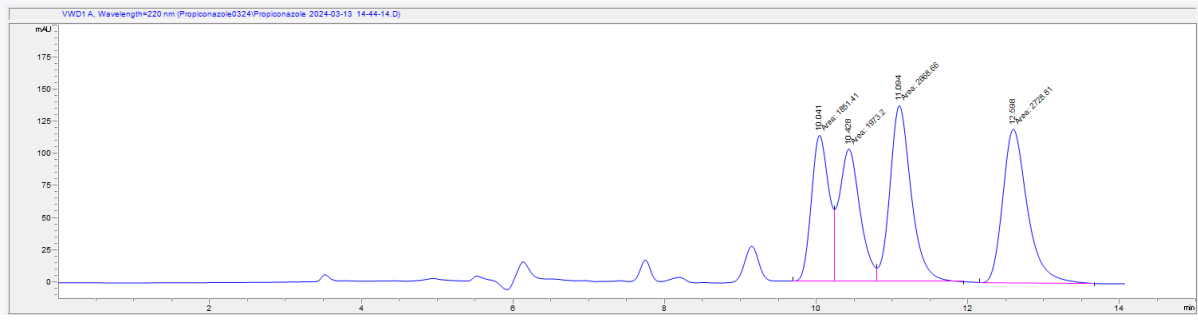
ნაკადის სიჩქარე	გარჩევითობა		
	Rs(1,2)	Rs(2,3)	Rs(3,4)
1 მლ/წთ	0.61	1.06	2.05
0.5 მლ/წთ	0.77	1.22	2.53

ნახ.49

ნახ.50



ნახ.49



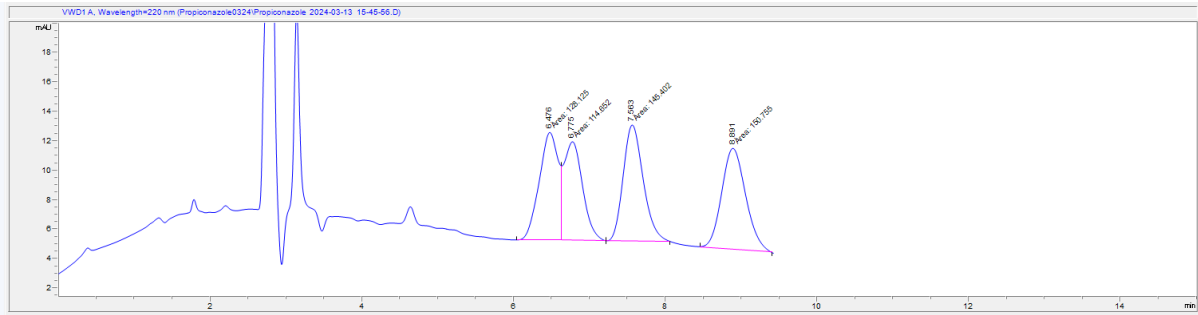
ნახ.50

მოძრავი ფაზა : EtOH/H<sub>2</sub>O 80:20

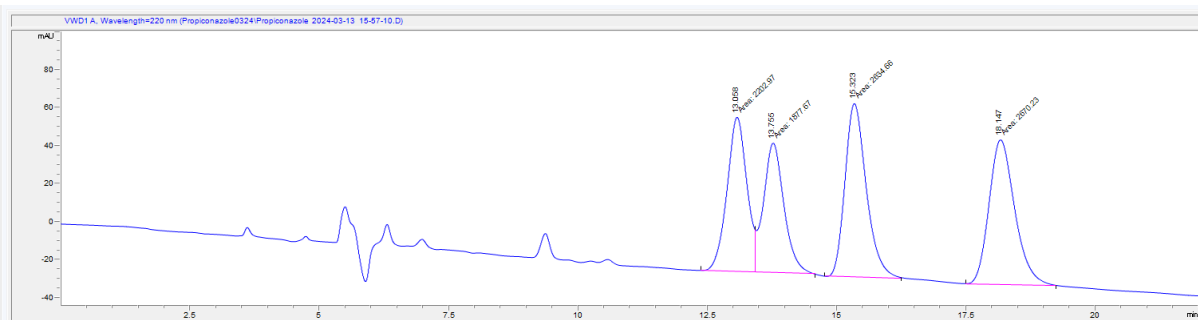
ნაკადის სიჩქარე	გარჩევითობა		
	R <sub>S(1,2)</sub>	R <sub>S(2,3)</sub>	R <sub>S(3,4)</sub>
1 მლ/წთ	0.61	1.57	2.32
0.5 მლ/წთ	0.91	1.97	3.14

ნახ.51

ნახ.52



ნახ.51



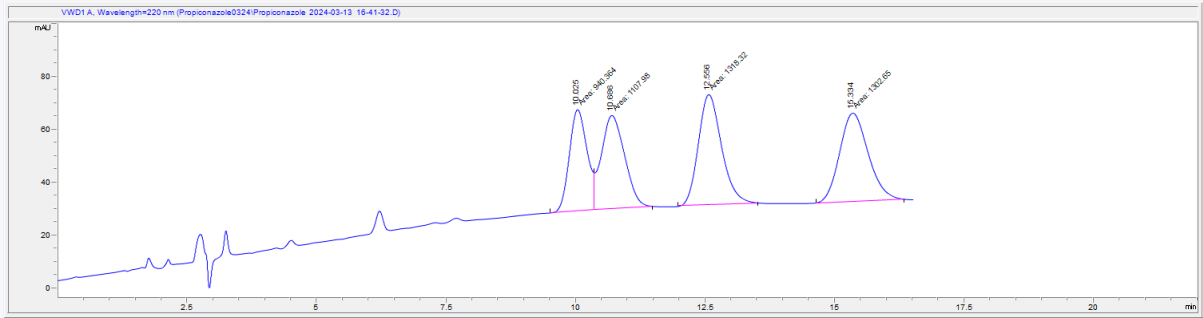
ნახ.52

მოძრავი ფაზა : EtOH/H<sub>2</sub>O 70:30

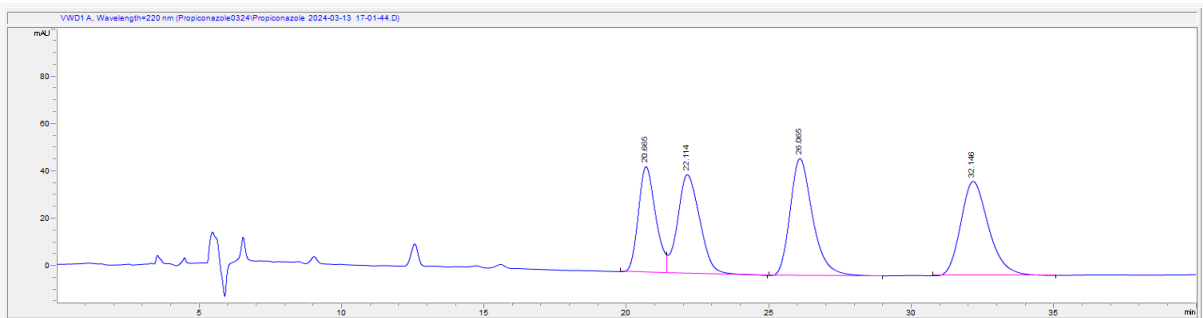
ნაკადის სიჩქარე	გარჩევითობა		
	R <sub>S(1,2)</sub>	R <sub>S(2,3)</sub>	R <sub>S(3,4)</sub>
1 მლ/წთ	0.84	2.11	2.80
0.5 მლ/წთ	1.15	2.83	3.89

ნახ.46

ნახ.47



ნახ.53



ნახ.54

წყლის კონცენტრაციის გაზრდით შეკავების დრო იზრდება და ასევე გაუმჯობესდა გარჩევითობა.

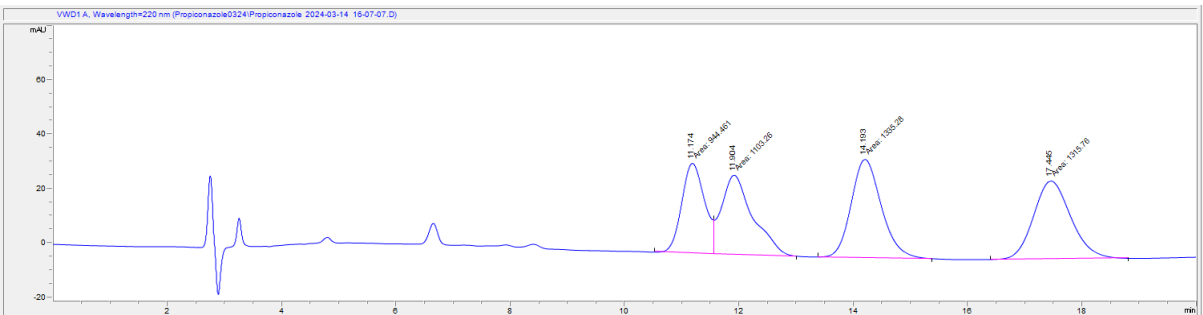
EtOH/H<sub>2</sub>O 70:30 მოძრავ ფაზაში მოდიფიკატორების გავლენა, სტერეოიზომერების დაყოფაზე.

მოძრავი ფაზა : EtOH/H<sub>2</sub>O/FA 70:30:0.1

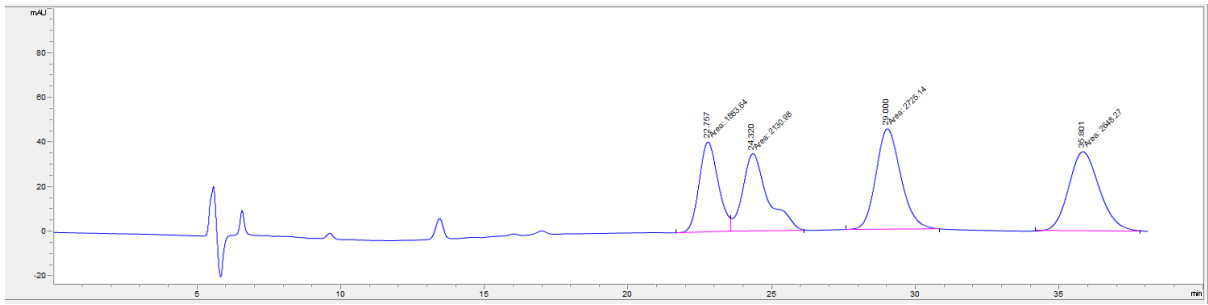
ნაკადის სიჩქარე	გარჩევითობა		
	R <sub>S(1,2)</sub>	R <sub>S(2,3)</sub>	R <sub>S(3,4)</sub>
1 მლ/წთ	0.78	2.18	2.80
0.5 მლ/წთ	1.21	3.19	3.87

ნახ.55

ნახ.56



ნახ.55

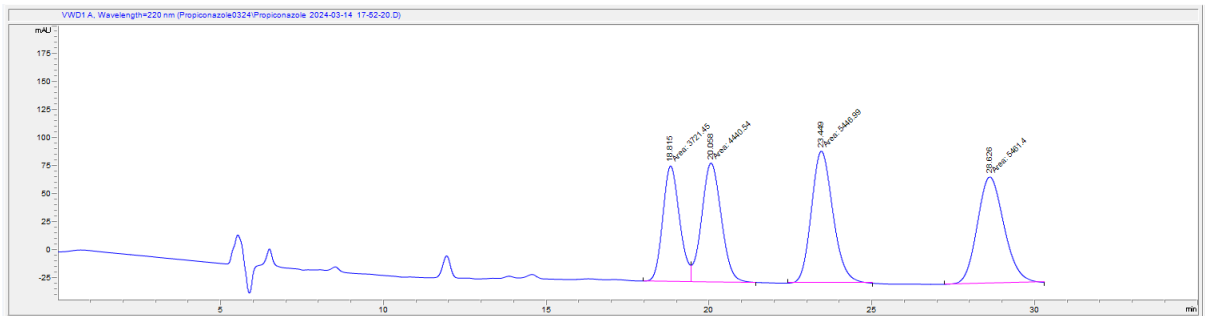


ნახ.56

მოდრავი ფაზა : EtOH/H<sub>2</sub>O/ 70:30 + Amonium formate (5mM)

ნაკადის სიჩქარე: 0.5 მლ/წთ

$R_{S(1,2)}$	$R_{S(2,3)}$	$R_{S(3,4)}$
1.21	2.94	3.83

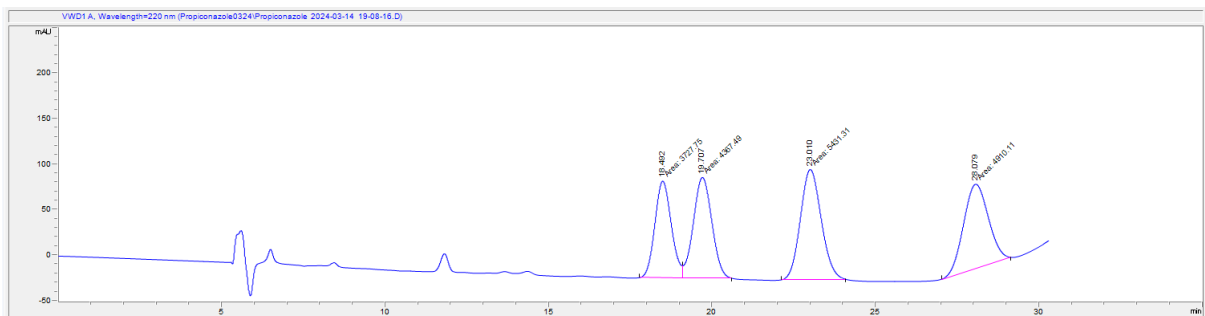


ნახ.57

მოდრავი ფაზა : EtOH/H<sub>2</sub>O/ 70:30 + Amonium formate (10 mM)

ნაკადის სიჩქარე: 0.5 მლ/წთ

$R_{S(1,2)}$	$R_{S(2,3)}$	$R_{S(3,4)}$
1.23	2.98	3.88



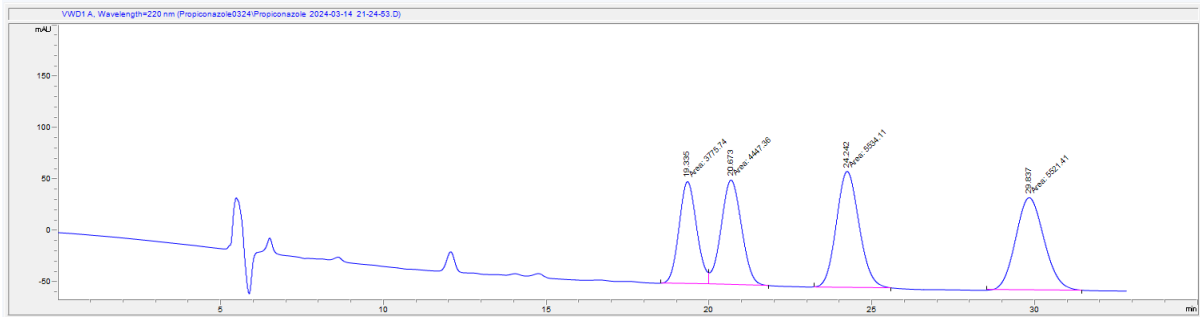
ნახ.58



მოდრავი ფაზა : EtOH/H<sub>2</sub>O/ 70:30 + Ammonium acetate (5mM)

ნაკადის სიჩქარე: 0.5 მლ/წთ

R <sub>S(1,2)</sub>	R <sub>S(2,3)</sub>	R <sub>S(3,4)</sub>
1.24	2.93	3.87

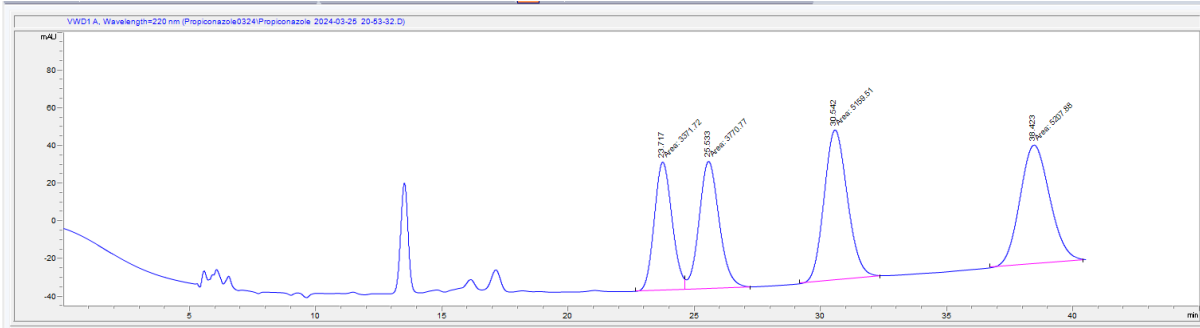


ნახ.59

მოდრავი ფაზა : EtOH/H<sub>2</sub>O/ 70:30 + Ammonium acetate (10mM)

ნაკადის სიჩქარე: 0.5 მლ/წთ

R <sub>S(1,2)</sub>	R <sub>S(2,3)</sub>	R <sub>S(3,4)</sub>
1.23	2.95	3.80



ნახ.60

ყველაზე კარგი შედეგი მივიღეთ EtOH/H<sub>2</sub>O/ 70:30 მოდრავ ფაზაზე 5 ან 10 mM ამონიუმის აცეტატის დამატებით

## 4.2 მიღებული შედეგების შედარება

ანალიზის პირობები:

ტემპერატურა: 20 °C

ტალღის სიგრძე: 220 ნმ

სვეტი: Lux i-Amylose-3  
 მოძრავი ფაზა: EtOH/H<sub>2</sub>O/FA 70 : 30 : 0.1  
 ნაკადის სიჩქარე; 0.5 მლ/წთ

პარამეტრები	სტერეო- იზომერი 1	სტერეო- იზომერი 2	სტერეო- იზომერი 3	სტერეო- იზომერი 4
შეკავების დრო	22.757	24.320	29.000	35.801
თეორიული თევშების რიცხვი	5535	5100	5505	5400
გარჩევითობა	-	1.21	3.19	3.87

სვეტი: Lux i-Amylose-3  
 მოძრავი ფაზა: EtOH/H<sub>2</sub>O/AF 70 : 30 : 5 mM  
 ნაკადის სიჩქარე; 0.5 მლ/წთ

პარამეტრები	სტერეო- იზომერი 1	სტერეო- იზომერი 2	სტერეო- იზომერი 3	სტერეო- იზომერი 4
შეკავების დრო	18.815	20.058	23.449	28.626
თეორიული თევშების რიცხვი	6328	5330	6101	5863
გარჩევითობა	-	1.21	2.94	3.83

სვეტი: Lux i-Amylose-3  
 მოძრავი ფაზა: EtOH/H<sub>2</sub>O/AF 70 : 30 : 10 mM  
 ნაკადის სიჩქარე; 0.5 მლ/წთ

პარამეტრები	სტერეო- იზომერი 1	სტერეო- იზომერი 2	სტერეო- იზომერი 3	სტერეო- იზომერი 4
შეკავების დრო	18.492	19.707	23.010	28.079
თეორიული თეფშების რიცხვი	6328	5720	6161	6092
გარჩევითობა	-	1.23	2.98	3.88

სვეტი: Lux i-Amylose-3  
 მოძრავი ფაზა: EtOH/H<sub>2</sub>O/Ammonium Acetate 70 : 30 : 5 mM  
 ნაკადის სიჩქარე; 0.5 მლ/წთ

პარამეტრები	სტერეო- იზომერი 1	სტერეო- იზომერი 2	სტერეო- იზომერი 3	სტერეო- იზომერი 4
შეკავების დრო	19.335	20.673	24.242	28.079
თეორიული თეფშების რიცხვი	6328	5330	6161	5863
გარჩევითობა	-	1.21	2.94	3.83

## 5. დასკვნები

- მოძრავი ფაზის ოპტიმიზაციის დროს პროპიკონაზოლის სტერეოიზომერების დაყოფის შესწავლა მოხდა 8 ქირალურ სვეტზე, აქედან იყო შერჩეული 2 სვეტი Lux i-Amylose-3 და Lux Cellulose-4, რომლითაც გაგრძელდა ანალიზის ჩატარება. Lux i-Amylose-3 სვეტის შედეგები უკეთესი იყო ვიდრე Lux Cellulose-4, თითოეული მოძრავი ფაზისთვის. Lux i-Amylose-3 სვეტზე იქნა მიღებული პროპიკონაზოლის ოთხივე სტერეოიზომერის დამაკმაყოფილებელი დაყოფა.
- შესწავლილი იქნა მოძრავ ფაზაში წყლის შემცველობის გავლენა პროპიკონაზოლის სტერეოიზომერების დაყოფაზე. წყლის დამატებამ მოძრავ ფაზაში გაზარდა შეკავების დრო, დაყოფა კი გააუმჯობესა.
- სვეტის და მოძრავი ფაზის ოპტიმიზაციით მივაღწიეთ 4-ვე სტერეოიზომერის სასურველ დაყოფას. შეირჩა Lux i-Amylose-3 სვეტი, მოძრავი ფაზით EtOH/H<sub>2</sub>O 70:30 + Ammonium acetate, ნაკადის სიჩქარე 0.5 მლ/წთ.

## 6. გამოყენებული ლიტერატურა

- [1] Chong D. & Mooney J. Chirality and Stereoisomers. LibreTexts™ Chemistry.
- [2] Tazzini N. Chirality: definition and meaning in organic chemistry. (2020).
- [3] Sykes P. A guidebook to mechanism in organic chemistry.
- [4] გ. ჯიბუტი დისერტაცია „ქირალური ნივთიერებების დაყოფის ოპტიმიზაცია მაღალეფექტურ სითხურ ქრომატოგრაფიაში პოლისაქარიდული ქირალური სტაციონარული ფაზების გამოყენებით.
- [5] მ. რუხაძე „ნარევთა დაყოფის ინსტრუმენტალური მეთოდები“ სალექციო კურსი.
- [6] Liquid Chromatography Fundamentals and Instrumentation. Fanali S. Haddad P.R. Poole C. Schoenmakers P. Lloyd D. Waltham USA. Elsevier. 2013. 520
- [7] Dr. D. Turner Gas Chromatography – How a Gas Chromatography Machine Works, How To read a Chromatograph and GCxGC
- [8] Capillary Electrophoresis in Chiral Analysis. B. Chankvetadze. West Sussex, England. Wiley & Sons L.T.D. 1997. 561.
- [9] F. David & P. Sandra Oil, Fat and Waxes : Supercritical Fluid Chromatography. (2000)
- [10] S. Aryal HPLC: Principle, Parts, Types, Uses, Diagram (2024)
- [11] G. Menon Plate and Rate Theories of Chromatography (2020)
- [12] Chiral Chromatography. LibreTexts™ Chemistry
- [13] Berthod A. (2006). Chiral Recognition Mechanisms. American Chemical Society
- [14] Henderson G.M. Rule H.G. A new method of resolving a racemic compound. Journal of the Chemical Society. 1939. Issue 0. 1568-1573
- [15] J. Teixeira, M.E. Tiritan, Madalena M.M Pinto and C. Fernandes. Chiral Stationary Phases for Liquid Chromatography: Recent Developments
- [16] Chankvetadze B. Yashima E. Okamoto Y. (1993) Tris(chloro- and methyl-disubstituted phenylcarbamate)s of Cellulose as Chiral Stationary Phase for Chromatographic Enantioseparation. Chemistry Letters.
- [17] Wahab M.F. Weatherly C. A. Patil R. A. Armstrong D.W. (2018) Chiral Liquid Chromatography. Chapter 12.
- [18] G. Utzeri, P.M.C. Matias, D. Murtinho, A.J.M. Valente. Cyclodextrin-Based Nanosponges: Overview and Opportunities (2022)