

ივანე ჯავახიშვილის სახელობის თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტი

ზუსტ და საბუნებისმეტყველო მეცნიერებათა ფაკულტეტი

ქიმიის დეპარტამენტი

ლაშა გიუნაშვილი

ზოგიერთი ახალი ფსიქოტროპული საშუალების
ენანტიოსელექტიური ანალიზის მეთოდების დამუშავება
სითხური ქრომატოგრაფია-მას სპექტრომეტრიის გამოყენებით

ქიმიის დოქტორის აკადემიური ხარისხის მოსაპოვებლად
წარმოდგენილი დისერტაცია

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

2024

Ivane Javakhishvili Tbilisi State University
Faculty of Exact and Natural Sciences

Department of Chemistry

Lasha Giunashvili

**Development of Methods for Enantioselective Analysis of Some New
Psychotropic Drugs Using Liquid Chromatography-Mass Spectrometry**

Presented to obtain academic degree of Doctor of Chemistry

Scientific Supervisor: Academician of the Georgian National Academy of Sciences,
Head of the Department of Physical and Analytical Chemistry at
Tbilisi State University
Prof. Bezhan Chankvetadze

Tbilisi, Georgia

2024

აბსტრაქტი

ნარკოდამოკიდებულება თანამედროვე საზოგადოების ერთ-ერთ უმნიშვნელოვანეს პრობლემას წარმოადგენს და მისი ისტორია უკვე ასწლეულს ითვლის. თუმცა, თანამედროვე ტექნოლოგიების განვითარებასთან ერთად, ფსიქოტროპული საშუალებები უფრო მარტივად ხელმისაწვდომი გახდა. ხშირად, ეს ახალი ნივთიერებები უფრო ძლიერი და პოტენციურად საზიანოა, ვიდრე მათი წინამორბედები. განსაკუთრებული გამოწვევა კი მათი არაპროგნოზირებადი შედეგნილობაა: არსებული პროდუქტები შესაძლოა არ შეიცავდეს იმ აქტიურ ნივთიერებებს, რომელთა შეძენასაც მომხმარებლები გეგმავენ.

ტრადიციული ნარკოტიკებისგან (მაგალითად, ჰეროინი, კოკაინი) განსხვავებით, რომელთა მოხმარების დადასტურება შესაძლებელია სპეციალური ანალიზებით, ამ ეტაპზე არ არსებობს კლინიკური ტესტები, რომლებიც ყველა ახალი ფსიქოტროპული საშუალების და მათი მეტაბოლიტების იდენტიფიცირებას უზრუნველყოფს. ამასთან, ძალიან შეზღუდულია ინფორმაცია ამ ნივთიერებებისა და მათი მეტაბოლიტების ენანტიოსელექტიური მოქმედებების შესახებ.

წინამდებარე სადისერტაციო ნაშრომის მიზანია ახალი ქირალური ფსიქოტროპული საშუალებებისა და მათი მეტაბოლიტების ენანტიოსელექტიური ანალიზის მეთოდების დამუშავება ბიოლოგიურ მასალებში და ამ მეთოდების კლინიკურ კვლევებში გამოყენება.

კვლევის ფარგლებში ანალიზურ მეთოდად გამოვიყენეთ სითხური ქრომატოგრაფიისა და მას-სპექტრომეტრის ტანდემი, ხოლო ქირალურ სვეტებად — პოლისაქარიდული ქირალური სტაციონარული ფაზებით შევსებული სვეტები. აღნიშნულმა მიდგომამ არა მხოლოდ საკვლევი ნივთიერებებისა და მათი მეტაბოლიტების ქრომატოგრაფიული დაყოფის, არამედ მათი ენანტიოსელექტიური დიფერენციაციის შესაძლებლობაც მოგვცა.

შეიქმნა ამ ნივთიერებების და მათი მეტაბოლიტების ანალიზის მეთოდები საერთაშორისო ნორმების შესაბამისად. ანალიზის პროცესში მივიღეთ მნიშვნელოვანი შედეგები, როგორც ენანტიომერების ელუირების თავისებურებების, ასევე ამ ნივთიერებების და მათი მეტაბოლიტების ენანტიომერული შედეგნილობის თვალსაზრისით.

Abstract

Drug addiction has been one of the greatest challenges of modern society for over a century. However, with time, new psychotropic substances have become more readily available, often exhibiting stronger effects than their predecessors and posing potentially greater harm. A significant challenge lies in the unpredictable composition of these new psychotropic substances. Products available to consumers may not contain the substances they intend to purchase.

Unlike traditional illegal drugs (e.g., heroin, cocaine), for which consumption can be confirmed through existing analytical methods, there are currently no clinical tests capable of identifying all new psychotropic substances and their metabolites. Additionally, there is limited information regarding the enantioselective effects of these substances and their metabolites.

The objective of this PhD project was to develop enantioselective analytical methods for some new chiral psychotropic substances and their metabolites in biological matrices and to apply these methods in clinical studies.

The analytical approach employed in this study was based on the tandem of liquid chromatography and mass spectrometry. Polysaccharide-based chiral stationary phases were used as chiral selectors, allowing for both chromatographic separation of the substances and their metabolites and the enantioselective separation of these compounds.

The analytical methods were developed and validated according to international standards. During the analysis, significant results were obtained concerning both the elution of enantiomers and the enantiomeric composition of parent compounds and their metabolites.

სარჩევი

აბსტრაქტი.....	1
Abstract.....	2
1. შესავალი.....	5
2. ლიტერატურული ნაწილი.....	10
2.1 ახალი ფსიქოტროპული საშუალებები.....	10
2.1.1 ახალი ფსიქოტროპული საშუალებების კლასიფიკაცია.....	11
2.1.2 კათინონის სინთეზური ნაწარმები.....	12
2.1.3 ფენტანილი და მისი ანალოგები.....	17
2.1.4 სხვა ოპიოიდური ახალი ფსიქოტროპული ნივთიერებები.....	18
2.1.5 სხვა ახალი სინთეზური ფსიქოტროპული საშუალებები.....	20
2.2 ქირალობა.....	26
2.3 ენანტიომერების დაყოფის მეთოდები.....	30
2.4 გაზური ქრომატოგრაფია.....	34
2.5 ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფია.....	35
2.6 სითხური ქრომატოგრაფია.....	37
2.7 კაპილარული ელექტროფორეზი.....	42
2.8 მას-სპექტრომეტრია.....	43
2.9 სითხური ქრომატოგრაფია-მას სპექტრომეტრიის შეუღლება.....	47
2.10 ახალი ფსიქოტროპული საშუალებების ენანტიოსელექტიური ანალიზი.....	48
3. ექსპერიმენტული ნაწილი.....	51
3.1 ექსპერიმენტში გამოყენებული ნივთიერებები.....	51
3.2 ექსპერიმენტში გამოყენებული ბიოლოგიური მასალა.....	52
3.3 ექსპერიმენტში გამოყენებული ქირალური სვეტები.....	52
3.4 ექსპერიმენტში გამოყენებული აპარატურა.....	55
3.5 მეთილონის და მისი ფაზა-1 მეტაბოლიტების ერთდროული ენანტიოსელექტიური ანალიზის სითხური ქრომატოგრაფია-მას სპექტრომეტრული მეთოდის დამუშავება ბიოლოგიურ ნიმუშებში.....	56
3.6 კლეფედრონის და მისი ფაზა-1 მეტაბოლიტების ერთდროული ენანტიოსელექტიური ანალიზის სითხური ქრომატოგრაფია-მას სპექტრომეტრული მეთოდის დამუშავება ბიოლოგიურ ნიმუშებში.....	59

3.7	2-, 3- და 4-ქლორმეთკათინონების სტერეოქიმიური სტაბილურობის გამოკვლევა სხვადასხვა ბიოლოგიურ მატრიცაში.....	61
4.	მიღებული შედეგები და მათი განსჯა.....	66
4.1	მეთილონის და მისი ფაზა-1 მეტაბოლიტების ერთდროული ენანტიოსელექტიური ანალიზის სითხური ქრომატოგრაფია-მას სპექტრომეტრული მეთოდის დამუშავება ბიოლოგიურ ნიმუშებში.....	66
4.2	კლეფედრონის და მისი ფაზა-1 მეტაბოლიტების ერთდროული ენანტიოსელექტიური ანალიზის სითხური ქრომატოგრაფია-მას სპექტრომეტრული მეთოდის დამუშავება ბიოლოგიურ ნიმუშებში.....	72
4.3	2-, 3- და 4-ქლორმეთკათინონების სტერეოქიმიური სტაბილურობის გამოკვლევა სხვადასხვა ბიოლოგიურ მატრიცაში.....	78
5.	დასკვნები	85
6.	გამოყენებული ლიტერატურა	86

1. შესავალი

თემის აქტუალობა: ახალი ფსიქოტროპული საშუალებების მზარდი მოხმარება ერთ-ერთ მნიშვნელოვან გამოწვევას წარმოადგენს მთელ მსოფლიოში. 2019 წლის ბოლოსთვის, გაერთიანებული ერების ორგანიზაციის ნარკოტიკებისა და დანაშაულის ოფისმა (UNODC) 950-ზე მეტი ახალი ფსიქოაქტიური ნივთიერების შესახებ მიიღო ინფორმაცია სხვადასხვა ქვეყნის მთავრობის, ლაბორატორიებისა და პარტნიორი ორგანიზაციებისგან.

ბოლო წლების განმავლობაში გლობალური დონეზე ამ ახალი ნივთიერებების რაოდენობა სამჯერ აღემატება იმ ფსიქოაქტიური საშუალებების რაოდენობას, რომლებიც საერთაშორისო კონტროლს ექვემდებარება. აღნიშნული ტენდენცია მკაფიოდ იკვეთება საქართველოშიც, სადაც ამ ნივთიერებების გავრცელების ზრდა საყურადღებო საკითხს წარმოადგენს.

ფსიქოტროპული საშუალებების კვლევა განსაკუთრებით მნიშვნელოვანი ხდება როგორც ფუნდამენტური მეცნიერების განვითარებისთვის, ასევე პრაქტიკული გამოყენებისათვის. მათი იდენტიფიკაციის, ქიმიური თვისებების და ენანტიოსელექტიური ანალიზის მეთოდების შემუშავება კრიტიკულად მნიშვნელოვანია ნარკოტიკების კონტროლის, საზოგადოებრივი ჯანმრთელობის დაცვის და სამართალდაცვითი ორგანოების ეფექტიანობის გაზრდისთვის.

ამ დისერტაციის მიზანია ახალი ფსიქოტროპული საშუალებების ენანტიოსელექტიური ანალიზის თანამედროვე და ინოვაციური მეთოდების შემუშავება სითხური ქრომატოგრაფია-მას სპექტრომეტრიის გამოყენებით, რაც ხელს შეუწყობს როგორც ამ ნივთიერებების კვლევას, ისე მათი კონტროლის გაუმჯობესებას ეროვნულ და საერთაშორისო დონეზე.

სამეცნიერო სიახლე: სადისერტაციო ნაშრომში წარმოდგენილია ინოვაციური და პრაქტიკული თვალსაზრისით მნიშვნელოვანი შედეგები, რომელიც ორიენტირებულია ახალი ფსიქოაქტიური ნივთიერებების მეთილონისა და კლეფედრონის და მათი მეტაბოლიტების ენანტიოსელექტიური ანალიზის მეთოდების დამუშავებაზე. კვლევის შედეგად დამუშავდა მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფიისა და მას-

სპექტრომეტრიის (HPLC-MS/MS) ტანდემური მეთოდები ამ ნივთიერებების და მათი მეტაბოლიტების ენანტიოსელექტიური ანალიზის მიზნით და მოხდა ამ მეთოდების გამოყენება კლინიკური ნიმუშების ანალიზისთვის.

მთავარი სამეცნიერო სიახლეები მოიცავს:

ენანტიოსელექტიური ანალიზის მეთოდის დამუშავება: პოლისაქარიდული ქირალური სელექტორების (Lux i-Amylose-3 და Lux AMP) გამოყენებით შესაძლებელი გახდა როგორც მეთილონის, ასევე კლეფედრონის და მათი მეტაბოლიტების ერთდროული ქრომატოგრაფიული და ენანტიოსელექტიური დაყოფა.

ფსიქოაქტიური ნივთიერებების სტერეოქიმიური სტაბილურობა: კვლევის დარგლებში პირველად მოხდა 2-, 3- და 4-ქლორმეთაკათინონის სტერეოქიმიური სტაბილურობის შესწავლა მოძრავ ფაზაში და სხვადასხვა ბიოლოგიურ მატრიცაში (სისხლი, ნერწყვი, შარდი), რაც კრიტიკულად მნიშვნელოვანია მათი შენახვისა და ანალიზის პირობების ოპტიმიზაციისთვის.

ენანტიოსელექტიური ფარმაკოკინეტიკის მახასიათებლების შესწავლა: დადგინდა მეთილონის S-(-)-ენანტიომერის უფრო სწრაფი მეტაბოლიზმი R-(+)-ენანტიომერთან შედარებით, რაც არსებითად ახალ ინფორმაციას იძლევა ამ ნივთიერების ფარმაკოკინეტიკური თავისებურებების შესახებ.

ვალიდაცია: მეთოდების ვალიდაცია განხორციელდა საერთაშორისო სტანდარტების შესაბამისად, ხოლო ანალიზის პროცესი მხოლოდ 15 წუთს მოითხოვს, რაც მნიშვნელოვან უპირატესობას წარმოადგენს სასამართლო და ტოქსიკოლოგიურ პრაქტიკაში.

სადისერტაციო ნაშრომი არამარტო ხელს უწყობს მეთილონისა და კლეფედრონის ენანტიოსელექტიური ბიოტრანსფორმაციისა და მეტაბოლიზმის სიღრმისეულ შესწავლას, არამედ წარმოადგენს მნიშვნელოვან წინ გადადგმულ ნაბიჯს ფსიქოტროპული ნივთიერებების სასამართლო და ტოქსიკოლოგიური ანალიზის სფეროში.

სამუშაოს მიზნები: სადისერტაციო ნაშრომის ძირითადი მიზანი იყო ბიოლოგიურ ნიმუშებში ახალი ფსიქოაქტიური ნივთიერებების, მეთილონისა და კლეფედრონის, და მათი მეტაბოლიტების ენანტიოსელექტიური ანალიზის მეთოდების დამუშავება და ოპტიმიზაცია.

სამუშაოს მიზნები მოიცავდა შემდეგ საფეხურებს:

ენანტიოსელექტიური მეთოდის შემუშავება:

სითხური ქრომატოგრაფიისა და მას-სპექტრომეტრიის (HPLC-MS/MS) ტანდემური სისტემის გამოყენებით მეთილონისა და კლეფედრონის, ასევე მათი მეტაბოლიტების ენანტიოსელექტიური ანალიზის პირობების შემუშავება და ოპტიმიზაცია.

პოლისაქარიდული ქირალური სელექტორების, მაგალითად, Lux i-Amylose-3 და Lux AMP გამოყენება, რათა უზრუნველყოფილიყო ნივთიერებების ენანტიომერული დაყოფა.

ქირალური სელექტორების ეფექტურობის შესწავლა:

პოლისაქარიდული ქირალური სვეტების გამოყენებით მეთილონისა და კლეფედრონის ქრომატოგრაფიული და ენანტიოსელექტიური თვისებების გამოკვლევა. სხვადასხვა მოძრავი ფაზის პირობების შესწავლა ოპტიმალური ანალიზისთვის.

ბიოლოგიურ ნიმუშებში მეთოდის გამოყენება:

ნერწყვში მეთილონისა და კლეფედრონის, ასევე მათი მეტაბოლიტების რაოდენობრივი განსაზღვრის ენანტიოსელექტიური მეთოდის დამუშავება.

მეთოდის ვალიდაცია საერთაშორისო ნორმების შესაბამისად და მისი პრაქტიკული გამოყენება.

ენანტიოსელექტიური ფარმაკოკინეტიკის შესწავლა:

მეთილონისა და კლეფედრონის ენანტიომერების მეტაბოლიზმისა და ბიოტრანსფორმაციის მახასიათებლების კვლევა.

ენანტიომერების ელუირების თავისებურებებისა და მათი მეტაბოლიტების ენანტიომერული შემადგენლობის შესწავლა ბიოლოგიურ მატრიცებში.

სტერეოქიმიური სტაბილურობის შეფასება:

2-, 3- და 4-ქლორმეთკათინონის სტერეოქიმიური სტაბილურობის შესწავლა მოძრავ ფაზაში და ბიოლოგიურ მატრიცებში (სისხლი, ნერწყვი, შარდი). ამ მონაცემების გამოყენება ნივთიერებების შენახვისა და ანალიზის პირობების გაუმჯობესებისთვის.

ამ კვლევების მნიშვნელობა კრიმინალისტური და ტოქსიკოლოგიური ანალიზის თვალსაზრისით

მიღებული შედეგების გამოყენება კრიმინალისტურ და კლინიკურ-ტოქსიკოლოგიურ ანალიზში ახალი ფსიქოაქტიური ნივთიერებების იდენტიფიკაციის, კონტროლისა და რისკების შეფასებისთვის.

შესრულებული კვლევა უზრუნველყოფს ახალი ფსიქოაქტიური ნივთიერებების ქიმიური და ბიოლოგიური თავისებურებების სიღრმისეულ შესწავლას და ამ მეთოდის პრაქტიკული გამოყენების შესაძლებლობებს.

პუბლიკაციები:

- 1) A.F. Lo Faro, D. Berardinelli, G. Sprega, A. Tini, L. Poyatos, S. Pichini, M. Farrè, T. Farkas, F.P. Busardò, **L. Giunashvili**, B. Chankvetadze, Development of enantioselective high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for quantitative determination of methylone and some of its metabolites in oral fluid, J. Chromatogr. B. 1228 (2023) 123824. DOI: 10.1016/j.jchromb.2023.123824.
- 2) S. Jorbenadze, T. Khatishvili, **L. Giunashvili**, A. Chelidze, A.F. Lo Faro, S. Pichini, M. Farré, E. Papaseit, M. Nuñez-Monterod, T. Farkas, J. Carlier, F.P. Busardo, B. Chankvetadze, Challenges encountered in the enantioselective analysis of new psychoactive substances exemplified by clephedrone (4-CMC), J. Pharm. Biomed. Anal. 248 (2024) 116275.
- 3) S. Jorbenadze, **L. Giunashvili**, T. Khatishvili, A. Chelidze, V. Tkemaladze, G. Sprega, A.F. Lo Faro, G. Basile, T. Farkas, F.P. Busardo, B. Chankvetadze, Investigation of stereochemical stability of 2-, 3- and 4-chloromethcathinones in various biological matrixes, J. Pharm. Biomed. Anal. 249 (2024) 116350. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2024.116350>

ნაშრომის აპრობაცია: კვლევის შედეგები წარმოდგენილი იყო შემდეგ კონფერენციებზე:

1. ფარმაცევტული და ბიოსამედიცინო ანალიზის 33-ე საერთაშორისო სიმპოზიუმი, სტენდური მოხსენება, 02-06 ივლისი, 2023, ანკარა, თურქეთი.

ნაშრომის მოცულობა: სადისერტაციო ნაშრომი შედგება 6 თავისგან: შესავალი, ლიტერატურის მიმოხილვა, ექსპერიმენტული ნაწილი, მიღებული შედეგები და მათი განსჯა, დასკვნები და გამოყენებული ლიტერატურა. ნაშრომი განთავსებულია 91 გვერდზე, მოიცავს 44 ციტირებულ ლიტერატურას, 43 სურათსა და ნახაზს, 6 ფორმულას და 4 ცხრილს.

2. ლიტერატურული ნაწილი

2.1 ახალი ფსიქოტროპული საშუალებები

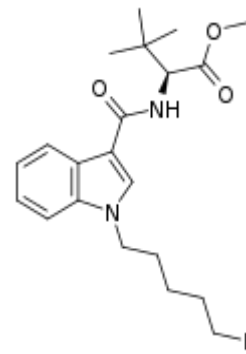
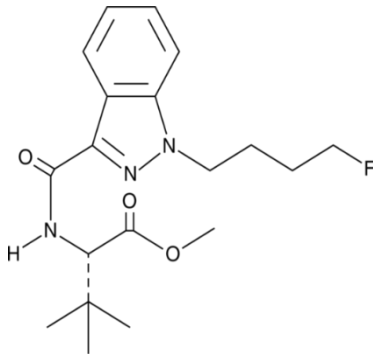
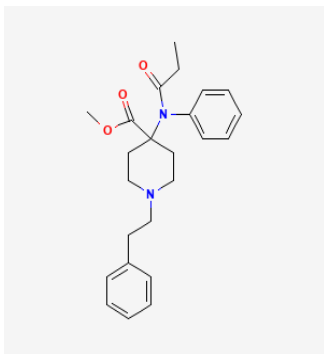
ახალი ფსიქოტროპული საშუალებები განისაზღვრება/განიმარტება როგორც „ნივთიერებები, სუფთა ან პრეპარატის სახით, რომლებიც (ჯერ კიდევ) არ ექვემდებარება ნარკოტიკულ საშუალებათა შესახებ 1961 წლის ერთიანი კონვენციისა და ფსიქოტროპულ ნივთიერებათა შესახებ გაერთიანებული ერების 1971 წლის კონვენციის საფუძველზე სპეციალურ კონტროლს, თუმცა შესაძლოა საფრთხე შეუქმნას საზოგადოებრივ ჯანმრთელობას“ (გაეროს ნარკოტიკებისა და დანაშაულის წინააღმდეგ ბრძოლის ოფისი - UNODC) [1].

ამ ნივთიერებების უმეტესობა ახდენს ისეთივე ან უფრო ძლიერ ეფექტს, როგორც კონტროლს დაქვემდებარებული ნარკოტიკები. ისინი თავდაპირველად შეიქმნა როგორც კანაფის, ჰეროინის, კოკაინის და 3,4-მეთილენდიოქსიმეტამფეტამინის (MDMA) შედარებით უსაფრთხო, უვნებელი და ლეგალური ალტერნატივები.

„კლუბური ნარკოტიკები“ ფსიქოაქტიური ნივთიერებების იმ ჯგუფს მიეკუთვნება, რომლებიც ძირითადად გამოიყენება კლუბებში, წვეულებებზე, ფესტივალებზე და ზოგჯერ სექსუალურ კონტექსტშიც. ეს ტერმინი მოიცავს სხვადასხვა ტიპის ნივთიერებებს, რომელთაც განსხვავებული მოქმედება აქვთ.

საქართველოშიც შეინიშნება ამ ნივთიერებების მოხმარების ზრდა. 2019 წელს საქართველოს შინაგან საქმეთა სამინისტროს მიერ ამოღებული ფსიქოაქტიური ნივთიერებების ჩამონათვალში აღმოჩნდა რამდენიმე ახალი ფსიქოტროპული საშუალება, მათ შორის: ალფა-პვპ ((1-ფენილ-2-(1-პიროლიდინილ)-1-პენტანი), 25I/25G-NBOMe, კარფენტანილი და სხვა [2].

გარდა ამისა, 2019 წელს პირველად დაფიქსირდა სამი ახალი ფსიქოაქტიური ნივთიერების ამოღება, რომლებიც მანამდე არასოდეს ყოფილა გამოვლენილი საქართველოში [2]. ამოღებული საშუალებები შეიცავდა შემდეგ ნივთიერებებს:



ნახაზი 1. კარფენტანილი (CARFENTANIL); 4 ფლურო-მდმბ-ბუტინაკა (4 FLURO-MDMB-BUTINACA); 5 ფლურო-მდმბ-ფიცა (5FLURO-MDMB-PICA).

ეს ტენდენცია ხაზს უსვამს იმის აუცილებლობას, რომ საქართველოსა და სხვა ქვეყნებში აუცილებლად უნდა გაგრძელდეს მონიტორინგი, ისევე როგორც ახალი ფსიქოტროპული საშუალებების ეფექტების შესწავლა და მათი კონტროლის მექანიზმების დანერგვა.

2.1.1 ახალი ფსიქოტროპული საშუალებების კლასიფიკაცია

ახალი ფსიქოტროპული საშუალებების სწორად შეფასებისათვის, საჭიროა მათ მიერ გამოწვეული ზიანის და მისი მართვის საშუალებების სიღრმისეული შესწავლა. ასევე საჭიროა მოცემული საშუალებების კლასიფიკაცია. ახალი ფსიქოტროპული საშუალებების კატეგორიებად დაყოფას საფუძვლად უდევს მათი დაჯგუფება ფსიქოტროპული ზემოქმედების მიხედვით. კერძოდ, მასტიმულირებელი, სედატიური და ჰალუცინოგენური. ამ მეთოდით ახალი ფსიქოტროპული საშუალებების ჯგუფებად კლასიფიკაცია ნაჩვენებია ცხრილ N1-ში.

ცხრილი 1. ახალი ფსიქოაქტიური ნივთიერებების კლასიფიკაცია

სტიმულატორები • სინთეზური კატინონები • პიპერაზინის ნაწარმები • ფენეთილამინები • ტრიფტამინები	სინთეზური კანაბინოიდები • CB1 და CB2 რეცეპტორების აგონისტები
ჰალუცინოგენები • ტრიფტამინები • ლიზერგამინები • ფენეთილამინები	დეპრესანტები • ბენზოდიазეპინები • სინთეზური ოპიოიდები

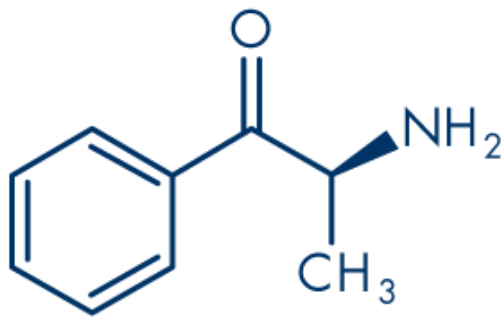
2.1.2 კატინონის სინთეზური ნაწარმები

2008-დან 2012 წლამდე ნარკოტიკების ბაზარზე გამოჩნდა ნივთიერების ახალი კლასი, კერძოდ კატინონის ნაწარმები. კატინონი არის „კატ“-ის ბუჩქის ფოთლების შემადგენელი ნაწილი. მათი ფარმაკოლოგიური მოქმედებების გამო ისინი დღესდღეობით ყველაზე ხშირად გამოყენებადი ნარკოტიკებია სინთეზური კანაბინოიდების შემდეგ.

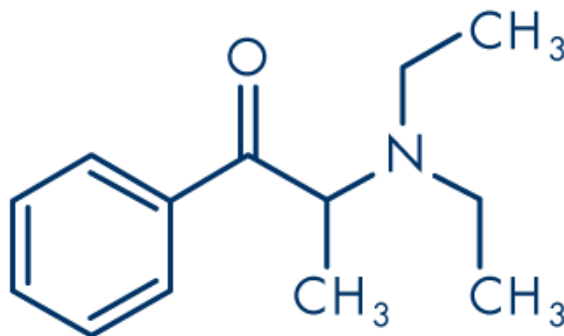
სინთეზური კატინონები წარმოადგენს კატინონის ნაწარმებს (ნახაზი 4), ფენეთილამინის β -კეტო (βk) ანალოგებს [3,4]. მოცემულ ჯგუფში შედის რამდენიმე ნივთიერება, რომელიც გამოიყენებოდა სამკურნალო საშუალებების აქტიურ ფარმაცევტულ

ინგრედიენტად (API), მაგ. ამფეტრამონი (დიეთილპროპიონი; (ნახაზი 5). 2000-იანი წლების შუა პერიოდიდან ევროპის რეკრეაციული ნარკოტიკების ბაზარზე გამოჩნდა არარეგულირებადი კათინონის წარმოებულები. რეკრეაციულ ბაზარზე 2010 წლამდე გაყიდული ყველაზე ხშირად ხელმისაწვდომი კათინონის ანალოგები იყო მეფედრონი (ნახაზი 4) და მეთილონი (ნახაზი 5). ეს პროდუქტები ჩვეულებრივ გვხვდება სუფთა თეთრი ან ყავისფერი ფხვნილის სახით. კათინონის წარმოებულებს აქვთ კოკაინის, ამფეტამინის ან MDMA-ს (ექსტაზი) მსგავსი ეფექტი, მაგრამ ცოტა რამ არის ცნობილი მათი ფარმაკოლოგიის შესახებ. გარდა კათინონის (ნახაზი 2), მეთკათინონის (ნახაზი 6) და ორი API-ის ამფეტრამონისა (ნახაზი 3) და პიროვალერონისა, სხვა კათინონის წარმოებულები არ არის საერთაშორისო კონტროლის ქვეშ.

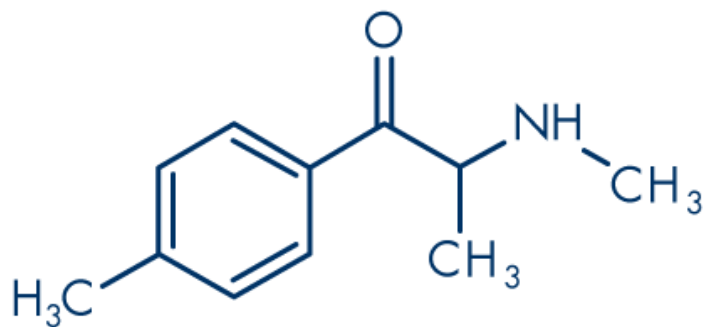
ნახაზები 2-8 გვიჩვენებს კათინონს (ნახაზი 2) და მის ექვს სინთეზურ წარმოებულს (ნახაზები 2-8).



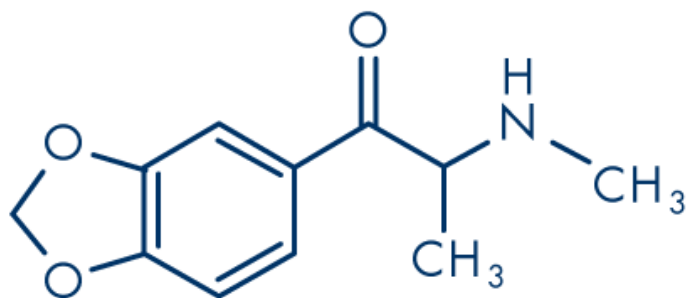
ნახაზი 2: S-კათინონი
მოლეკულური ფორმულა: $C_9H_{11}NO$
მოლეკულური წონა: 149,19 გ/მოლ



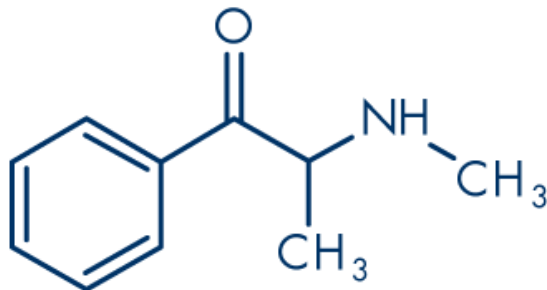
ნახაზი 3: ამფეტრამონი (დიეთილპროპიონი)
მოლეკულური ფორმულა: $C_{13}H_{19}NO$
მოლეკულური წონა: 205,30 გ/მოლ



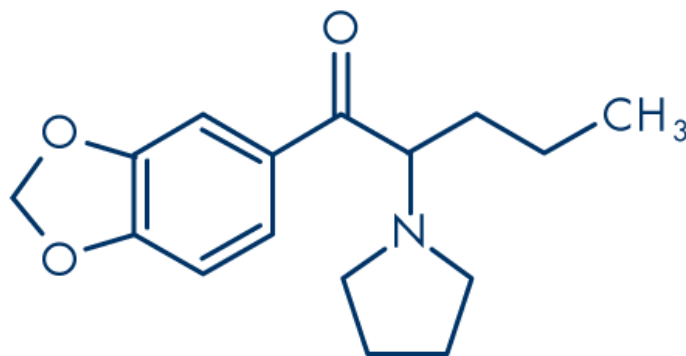
ნახაზი 4: მეფედრონი (4-მეთილმეთკათინონი, 4-MMC)
 მოლეკულური ფორმულა: C₁₁H₁₅NO
 მოლეკულური წონა: 177,24 გ/მოლ



ნახაზი 5: მეთილონი (βk-MDMA, 3,4-მეთილენდიოქსი-N-მეთილკატინონი)
 მოლეკულური ფორმულა: C₁₁H₁₃NO₃
 მოლეკულური წონა: 207,22 გ/მოლ



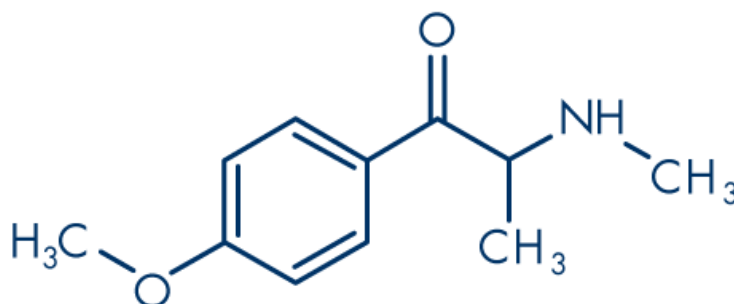
ნახაზი 6: მეთკათინონი (ეფედრონი)
 მოლეკულური ფორმულა: C₁₀H₁₃NO
 მოლეკულური წონა: 163,22 გ/მოლ



ნახაზი 7: MDPV (3,4-მეთილენდიოქსიპიროვალერონი)

მოლეკულური ფორმულა: C₁₆H₂₁NO₃

მოლეკულური წონა: 275,35 გ/მოლ



ნახაზი 8: მეთედრონი (βk-PMMA, 4-მეთოქსიმეთკათინონი)

მოლეკულური ფორმულა: C₁₁H₁₅NO₂

მოლეკულური წონა: 193,24 გ/მოლ

კათინონი (ნახაზი 2) და მისი წარმოებულები სტრუქტურული თვალსაზრისით ახლოს არის ფენეთილამინის ჯგუფთან. ამრიგად, კათინონი არის β-კეტო (βk) ამფეტამინი, 2-ამინოპროპიოფენონი იგივე 2-ამინო-1-ფენილ-1-პროპანონი (IUPAC-ის მიხედვით). პირველი სინთეზური კათინონი, რომელიც გამოჩნდა რეკრეაციულ ნარკოტიკების ბაზარზე, მეთკათინონი (ნახაზი 6), არის βკ-მეტამფეტამინი, ეფედრონი ან N-მეთილკათინონი. კათინონის არარეგულირებადი წარმოებულებიდან, რომლებიც ბაზარზე გამოჩნდა ბოლო რამდენიმე წლის განმავლობაში, ყველაზე გავრცელებული არის მეფედრონი (4-მეთილმეთკათინონი, 4-MMC, ნახაზი 4). ზოგიერთი მსგავსი პროდუქტი, რომელიც არალეგალურ ბაზარზე გვხვდება, შეიცავს სხვადასხვა ქიმიური ნივთიერებების ნარევს. სხვა კათინონები, რომლებიც აკრძალულია, მოიცავს მეთილონს (βk-MDMA; 3,4-მეთილენდიოქსი-N-მეთილკათინონი, ნახაზი 5), MDPV (3,4-მეთილენდიოქსიპიროვალერონი, ნახაზი 7), მეთედრონი (βk-PMMA; 4-მეთოქსიმეთკათინონი, ნახაზი 8) და PPP (α-პიროლიდინოპროპიოფენონი).

ფენეთილამინის მსგავსად, კათინონის წარმოებულები შეიძლება არსებობდეს ორი სტერეოიზომერის სახით, რომლებიც შეიძლება განსხვავდებოდეს მათი ბიოლოგიური მოქმედებით ან მოქმედების სიძლიერით. კათინონი, რომელიც ბუნებრივად გვხვდება, არის S-ენანტიომერები. თუმცა, სავარაუდოა, კათინონის წარმოებულების უმეტესობა რაცემული ნარევია. ასევე ითვლება, რომ კათინონის ყველა წარმოებულის რაცემიზაცია შეიძლება

მოხდეს კეტო-ენოლული ტაუტომერიზაციის გზით [4]. კათინონი თერმულად ლაბილურია და გარდაიქმნება დიმერად (3,6-დიმეთილ-2,5-დიფენილპირაზინი) [4]. კათინონის ყველა ცნობილი წარმოებული ან N-ალკილირებულია, ან აზოტის ატომი არის პიროლიდინის რგოლის ნაწილი და უმეტესობა იწარმოება ჰიდროქლორიდის მარილების სახით. ბევრი არალეგალური პროდუქტი არის N-მეთილირებული, ანუ მეფედრონის წარმოებული, რომლის მიხედვითაც მეფედრონი შეიძლება აღწერილი იყოს, როგორც 4-მეთილმეფედრონი. პიროლიდინის წარმოებულებს (PPP, MDPV) შეიძლება ჩაითვალოს, რომ აქვთ მსგავსი სტრუქტურა, როგორც პიროვალერონს.

სინთეზური კათინონები ძირითადად გვხვდება თეთრი ან ყავისფერი ამორფული ან კრისტალური ფხვნილის სახით, ზოგჯერ კაფსულირებული. ფენეტილამინის მრავალი წარმოებულისგან განსხვავებით (MDMA და ა.შ.), ტაბლეტები ნაკლებად გავრცელებულია, მაგრამ ზოგჯერ ხელმისაწვდომია არალეგალურ ბაზარზე, სავარაუდოდ MDMA (3,4-მეთილენდიოქსი მეტამფეტამინი)-ს შემცველად.

როგორც ფენეტილამინის შემთხვევაში, კათინონები მოქმედებენ როგორც ცენტრალური ნერვული სისტემის (ცნს) სტიმულატორები, თუმცა უფრო სუსტი მოქმედებით, ვიდრე შესაბამისი ფენეტილამინის ანალოგები. შედარებით სუსტი ზემოქმედება გამოწვეულია β -კეტო ჯგუფით, რომელიც ქმნის უფრო პოლარულ მოლეკულას, რომელსაც ნაკლებად შეუძლია გადალახოს ჰემატოენცეფალური ბარიერი. ვირთაგვებსა და ადამიანებში მეტაკათინონის წარმოებულების მეტაბოლიზმზე ჩატარებულმა კვლევებმა აჩვენა, რომ ისინი N-დემეთილირებულია, კეტო ჯგუფი გადადის ჰიდროქსილის ჯგუფში, ხოლო ალკილის ჯგუფები იჟანგება. იმ პაციენტებზე დაკვირვებებიდან, რომლებსაც დაუდგინდათ მეფედრონის მოხმარება, ჩანს, რომ კათინონის წარმოებულები ავლენენ ამფეტამინის წარმოებულების ანალოგიურ ეფექტებს [4]. პირველი ტოქსიკოლოგიურად დადასტურებული ფატალური შემთხვევა, რომელიც პირდაპირ კავშირშია მეფედრონის გამოყენებასთან, დაფიქსირდა შვედეთში 2008 წელს [4].

ლიტერატურაში აღწერილი კვლევების მიხედვით სავარაუდოა, რომ მეფედრონის ტიპური დოზაა 100-250 მგ. კონკრეტული ნივთიერებიდან გამომდინარე, მომხმარებლები ამტკიცებენ, რომ ეფექტი ჰგავს კოკაინის, ამფეტამინის ან MDMA (3,4-მეთილენდიოქსი მეტამფეტამინი) მოქმედებას, კოკაინის მსგავსად, მეფედრონის მოქმედების პიკი ხანმოკლეა. შესაბამისად, მომხმარებლები ხშირად იღებენ რამდენიმე დოზას ზედიზედ, 1

გ-მდე. ამას ადასტურებს ისიც, რომ გაერთიანებულ სამეფოში პოლიციის მიერ ამოღებული მეფედრონის ყველაზე გავრცელებული „შეფუთვის ზომა“ 750 მგ-ია.

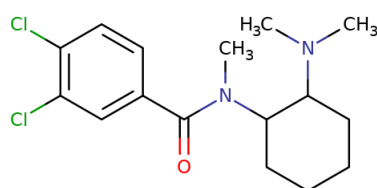
პიროლიდინის ჯგუფმა და მესამეულმა ამინო ჯგუფმა MDPV-ში შეიძლება გამოიწვიოს უფრო ლიპოფილური, ანუ უფრო ძლიერი მოქმედება; ინტერნეტის მომხმარებელთა ფორუმები ვარაუდობენ, რომ საშუალო დოზა არის 5-10 მგ-მდე. გარდა ამისა, უნდა აღინიშნოს, რომ 3-მეთოქსიფენეთილამინს (მაგ. PMA, PMMA) ახასიათებს განსაკუთრებით მაღალი ტოქსიკურობა და ეს თვისება შესაძლოა ვრცელდებოდეს მათ β -ანალოგებზე. მაგალითად, მეთედრონი (3-მეთოქსიმეთკათინონი), რომელთა მოხმარებაც ხშირად ფატალურად სრულდება.

2.1.3 ფენტანილი და მისი ანალოგები

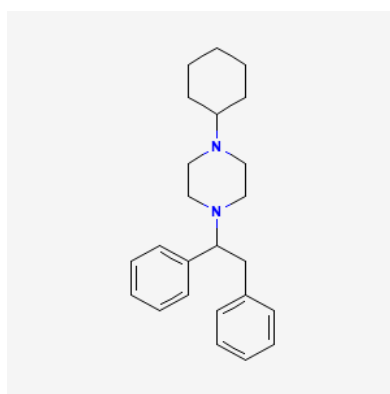
ფენტანილი (N-[1-(2-ფენილეთილ)-4-პიპერიდინილ]-N-ფენილპროპანამიდი) წარმოადგენს ძლიერ ოპიოიდს, რომელიც გამოიყენება როგორც მედიცინაში, ასევე ვეტერინარიაში. ფენტანილი არის ოპიოიდური რეცეპტორის სრული აგონისტი. ის სულ მცირე 80-ჯერ უფრო ძლიერია ვიდრე მორფინი, არასწორი გამოყენების შემთხვევაში შესაძლოა მისი გამოყენება ფატალურად დასრულდეს. ფენტანილის არამიზნობრივად გამოყენება აღწერილია მრავალი ქვეყნის წლიურ ანგარიშებში. ფენტანილის ძლიერი არაფარმაცევტული ანალოგების ფართო სპექტრის ახალი ნაწარმების მიღება და რეალიზაცია ხდება არალეგალურად, როგორც „სინთეზური ჰეროინი“ ან ჰეროინთან შერეული სახით ფსიქოაქტიური ეფექტის გასაძლიერებლად. ამჟამად არსებული მწირი მონაცემები აჩვენებს, რომ ფენტანილის ანალოგი წარმოადგენს სელექტიურ და ძლიერ ოპიოიდური რეცეპტორის აგონისტს, მსგავსად ფენტანილისა. თუმცა არსებული მონაცემები ახალი არაფარმაცევტული ანალოგების შესახებ ძალიან მწირია, აღნიშნული ნარკოტიკული საშუალებები შესაძლოა განსხვავდებოდნენ ერთმანეთისგან სიძლიერით, ეფექტით და მოქმედების ხანგრძლივობით. ზოგიერთი მათგანი გაცილებით უფრო ძლიერია და ხანგრძლივი მოქმედებით ხასიათდება, ვიდრე სამედიცინო ფენტანილი.

2.1.4 სხვა ოპიოიდური ახალი ფსიქოტროპული ნივთიერებები

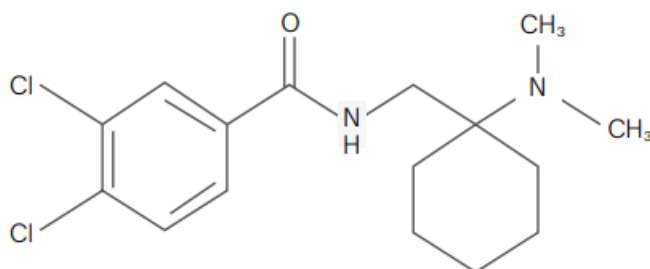
ბოლო რამდენიმე წლის განმავლობაში ოპიოიდების/ოპიატების არალეგალურ ბაზარზე გამოჩნდა ახალი სინთეზური ოპიოიდები, რომლებიც თავდაპირველად ფარმაცევტული კომპანიების მიერ იქნა შექმნილი, მაგრამ მათი წარმოება როგორც სამედიცინო პროდუქტის აღარ გაგრძელდა. ისინი ამჟამად რეკრეაციულ ნარკოტიკებს წარმოადგენენ. მაგალითად,



ნახაზი 9. 3,4-დიქლორ-N-[2-(დიეთილამინ)ციკლოჰექსილ]-N-მეთილბენზამიდი (U-47700)



ნახაზი 10. 1-ციკლოჰექსილ-4-(1,2-დიფენილეთილ)პიპერაზინი (MT-45)



ნახაზი 11. 3,4-დიქლორ-N-[[1-(დიმეთილამინ)ციკლოჰექსილ]მეთილ]ბენზამიდი (AH-7921)

ახალ სინთეზურ ოპიოიდებს ძირითადად გააჩნიათ უფრო სუსტი მოქმედება, ვიდრე ფენტანილს მაგრამ, როგორც წესი, უფრო ძლიერი ვიდრე მორფინი. ახალი ოპიოიდური ფსიქოტროპული ნივთიერებები ძირითადად გვხვდება ვებ-გვერდებზე, სადაც მათი რეალიზაცია ძირითადად ხდება, როგორც „საკვლევი ქიმიკატები“. მათი შეძენა შესაძლებელია როგორც დამოუკიდებელი პროდუქტების, ასევე ჰეროინის და ფალსიფიცირებული ოპიოიდური მედიკამენტების მინარევების სახით. ძირითადი მოხმარების გზაა პერორალური, თუმცა შეიძლება გამოიყენონ ინჰალაციის (შესუნთქვის) გზითაც, ინტრავენური ინექციით ან რექტალურად. იყიდება ფხვნილის, ტაბლეტის ან კაფსულის სახით.

AH-7921 (ნახაზი 11) და U-47700 (ნახაზი 9) ძირითადად მოქმედებენ , როგორც μ -ოპიოიდური რეცეპტორის აგონისტები. MT-45 (ნახაზი 10) კომპლექსურად მოქმედებს როგორც ოპიოიდურ, ისე არა-ოპიოიდურ რეცეპტორებზე (დეტალები არაა ცნობილი). მომხმარებლის მიერ მოწოდებული ინფორმაციით U-47700 (ნახაზი 9) მოქმედებს უფრო ხანგრძლივად ვიდრე AH-7921 (ნახაზი 11).

ოპიოიდური ახალი ფსიქოტროპული ნივთიერებების მიერ გამოწვეული ეფექტები სხვა ოპიოიდების მსგავსია და მოიცავს მსუბუქ ეიფორიას, რელაქსაციას, მომატებულ ენერგიას, სოციალური თავშეკავების შემცირებას. მათი მომხმარებელთა ნაწილი აღნიშნავდა თვითმკურნალობის ეპიზოდებს ტკივილის გასაყუჩებლად, ზოგიერთი კი სიმპტომების შესამსუბუქებლად, სხვა ოპიოიდებზე დამოკიდებულების გამო.

AH-7921 (ნახაზი 11) და U-47700 (ნახაზი 9) ხასიათდებიან მორფინზე მეტი ტოქსიკურობით. აღწერილია, რომ U-47700 იწვევს ძლიერად გამოხატული, მაგრამ ხანმოკლე ეიფორიის შეგრძნებას, რაც იწვევს განმეორებითი დოზის მიღების მოთხოვნილებას. ამ ნარკოტიკთან დაკავშირებული ზიანი მსგავსია სხვა ოპიოიდების და მოიცავს ცნობიერების დაქვეითებას, ღრმა კომას, გულყრებს და სუნთქვის გაჩერებას. ასევე გასათვალისწინებელია, რომ სხვა ხშირად გამოყენებული ოპიოიდური ნარკოტიკებისგან განსხვავებით, MT-45 (ნახაზი 10)-ს გააჩნია მცირე მიოზური ეფექტი.

მომხმარებლებისგან მიღებული ინფორმაცია გვიჩვენებს, რომ MT-45, AH-7921 და U-47700-ის დამოკიდებულების ჩამოყალიბება და აღკვეთის სიმპტომები სხვა ოპიოიდების

მსგავსია (თუმცა მორფინის შემთხვევაში, დეპრესიული ეპიზოდები და უძილობა უფრო მკვეთრად არის გამოხატული).

დამოკიდებულების მართვა მსგავსია სხვა ოპიატების და საჭიროებს ბიოფსიქო-სოციალურ დახმარებას. ზოგიერთ შემთხვევაში თერაპიის დაგეგმვის და მკურნალობის კონტექსტში, ხელსაყრელია ოპიოიდურ აფნ-ზე დამოკიდებული პაციენტების სტაბილიზაცია რეცეპტული ოპიოიდებით (მეთადონი ან ბუპრენორფინი). ამისთვის პაციენტი სიფრთხილით უნდა იქნას გადაყვანილი ჩამანაცვლებელ მედიკამენტზე.

2.1.5 სხვა ახალი სინთეზური ფსიქოტროპული საშუალებები

უნდა აღინიშნოს, რომ კანაბინოიდური რეცეპტორების სინთეზური აგონისტები (SCRAs) მოცემულია მეოთხე განცალკევებულ კატეგორიაში, რადგან ისინი ფარმაკოლოგიურად ძალიან განსხვავებული ჯგუფია და ხასიათდება ფსიქოაქტიური თვისებების ფართო სპექტრით. ზოგადად, ძალიან ბევრ ნარკოტიკს აქვს კომბინირებული ეფექტი, რომელიც დამოკიდებულია მიღებულ დოზაზე. მაგალითად, შესაძლოა მას ჰქონდეს მასტიმულირებელი ეფექტი მცირე დოზით მიღებისას, მაგრამ დამთრგუნველი ეფექტი — დიდი დოზით მოხმარებისას.

ახალი ფსიქოტროპული საშუალებების მოხმარებით გამოწვეული მწვავე და ქრონიკული ზიანის კლინიკური მართვა ეფუძნება პრინციპებს, რომლებიც იმავე კლასის არალეგალური ნარკოტიკების შემთხვევაში გამოიყენება. ექიმები მოქმედებენ, ეროვნული და ადგილობრივი პროტოკოლების ფარგლებში. თუმცა, მაინც არსებობს გარკვეული განსხვავებები ზოგიერთ ახალი ფსიქოტროპული საშუალებებისა და იმ არალეგალურ ნარკოტიკს შორის, რომლის ეფექტის იმიტირებასაც ის ახდენს.

ტრადიციული არალეგალური ნარკოტიკებისგან განსხვავებით, (მაგ. ჰეროინი, კოკაინი) რომელთა მოხმარების დასადასტურებლად შესაძლებელია ანალიზების გაკეთება, ამ ეტაპზე, არ არის ხელმისაწვდომი კლინიკური ტესტები, რომლებიც ყველა ახალი ფსიქოტროპულ საშუალებებს გამოავლენს.

სპეციალისტებისთვის მნიშვნელოვან გამოწვევას წარმოადგენს ახალი ფსიქოტროპული საშუალებების უცნობი შემადგენლობა.

უმეტეს შემთხვევაში, ახალი ფსიქოტროპული საშუალებები გაცილებით ძლიერი მოქმედებისაა, ვიდრე მათი წინამორბედები და შეიძლება უფრო დიდი ზიანის მომტანი იყოს, მაგალითად ესენია: SCRA-ის ახალი თაობის ნაწარმები (მაგ. AB-FUBINACA), სინთეზური კათინონების ახალი თაობა - ისეთი ნაერთები, როგორიცაა ალფა-PVP (1-ფენილ-2-(1-პიროლიდინილ)-1-პენტანი) ან MDPHP (3',4'-მეთილენდიოქსი- α -პიროლიდინჰექსაფენონი) და ჰალუცინოგენების ახალი თაობა - მაგალითად, 25B-NBOMe (2-(4-ბრომ-2,5-დიმეთოქსიფენილ)-ნ-(2-მეთოქსიბენზილ)ეთანამინი).

ბოლო ათწლეულში გამოჩნდა ახალი ფსიქოაქტიური ნივთიერებები (აფნ), რომლებსაც გააჩნიათ ბენზოდიაზეპინების მსგავსი ეფექტები. უმეტესობამ ჩაანაცვლა არალეგალურად გაყიდული ფარმაცევტული ბენზოდიაზეპინები, მაგალითად დიაზეპამი და ალპრაზოლამი. ამ ჯგუფს მიეკუთვნება: ფენაზეპამი, ეთიზოლამი, ნიმეტაზეპამი, პირაზოლამი, დიკლაზეპამი, ფლუბრომაზეპამი, პირაზოლამი, კლონაზოლამი, დესქლოროეთიზოლამი, ფლუბრომაზოლამი, ნიფოქსიპამი, მეკლონაზეპამი, ადინაზოლამი, ნიტრაზოლამი, მეთიზოლამი და ფლუალპრაზოლამი. ამასთანავე, ზოგიერთ ქვეყანაში მედიკამენტებად რეგისტრირებული ბენზოდიაზეპინები-ეთიზოლამი და ფენაზეპამი, UNODC და ევროკავშირის მიერ კლასიფიცირდებიან ახალ ფსიქოაქტიურ ნივთიერებებად [4].

ბენზოდიაზეპინური აფნ აძლიერებენ γ -ამინოჰერბოს მჟავას (GABA) ბმას უპირატესად GABAA რეცეპტორზე და ნაკლებად GABAB რეცეპტორზე, რაც იწვევს სედაციურ-ჰიპნოზურ ეფექტს. მრავალი ბენზოდიაზეპინური აფნ მნიშვნელოვნად უფრო ძლიერია ვიდრე დიაზეპამი.

ბენზოდიაზეპინური აფნ იყიდება ტაბლეტების, კაფსულების ან ფხვნილის სახით. როგორც სხვა არალეგალურად წარმოებული ნარკოტიკის შემთხვევაში, არსებობს მნიშვნელოვანი რისკი, რომ ტაბლეტირებული ფორმები შეიძლება მკვეთრად განსხვავდებოდეს აქტიური ნივთიერების შემადგენლობით და დოზირებით. ფხვნილების ან ფილტრის ქაღალდის შემთხვევაში დოზის ზუსტი განსაზღვრა კიდევ უფრო გართულებულია.

სასურველი ეფექტები- ბენზოდიაზეპინური აფნ იწვევს თავშეკავების დარღვევას (დისინჰიბიცია), ეიფორიას, სედაციას და აძლიერებენ სხვა ფსიქოაქტიური ნივთიერებების ეფექტებს.

ბენზოდიაზეპინური აფნ-ის ტოქსიკოლოგიის და ზიანის შესახებ ამჟამად მწირი ინფორმაციაა ხელმისაწვდომი. სავარაუდოა, რომ მათ მიერ გამოწვეული რისკები, შესწავლილი ბენზოდიაზეპინების მსგავსია და იზრდება სხვა არალეგალურ ნარკოტიკთან ან ალკოჰოლთან ერთად გამოყენებისას. ეფექტების დოზა დამოკიდებულია და მოიცავს შემდეგ სიმპტომებს:

- თავის ტკივილი
- ლეტარგია/ზოგადი სისუსტე
- ძილიანობა/ძლიერი სედაცია,
- “ნაბახუსევის ეფექტი”
- გონების დაბინდვა
- მეხსიერების/კონცენტრაციის/ ყურადღების დაქვეითება
- დეპრესია
- ნისტაგმი
- ჰიპოტონია
- ატაქსია
- ჰიპოტენზია
- დიზართრია.

დოზის გადაჭარბებისას შეიძლება გამოვლინდეს მძიმე დარღვევები, როგორიცაა: რაბდომიოლიზი, ჰიპოთერმია, ღვიძლის ფუნქციური მაჩვენებლების გაუარესება, ეკგ-ზე პათოლოგიური ცვლილებები, მათ შორის გარდამავალი პირველი და მეორე ხარისხის პარკუჭთაშორისი ბლოკადა და QT-ინტერვალის გახანგრძლივება. არსებობს

მტკიცებულებები, რომ ზოგიერთი ბენზოდიაზეპინური აფნ იწვევს ძლიერ გვერდით ეფექტებს, გააჩნია უფრო ძლიერი ეფექტი და მოქმედების მეტი ხანგრძლივობა, ვიდრე ტრადიციულ ბენზოდიაზეპინებს, რამაც თავის მხრივ შეიძლება გამოიწვიოს მომატებული სედაცია და/ან ამნეზია[5].

ფლუბრომაზოლამი ხასიათდება, როგორც ძლიერი და ხანგრძლივი მოქმედების ცენტრალური ნერვული სისტემის (ცნს) დეპრესანტი და გააჩნია არაპროგნოზირებადი დოზა-ეფექტი დამოკიდებულება. მომხმარებლები აღნიშნავენ მოქმედების სისწრაფეს (10 წუთი), მაგრამ ამასთანავე სედაციური ეფექტის გახანგრძლივებას რამდენიმე დღის განმავლობაში. შემთხვევათა ანალიზმა აჩვენა რომ ფლუბრომაზოლამის მოხმარება ასოცირებულია შემდეგ მდომარეობებთან: • პროლონგირებულ ჰიპოტენზია • რაბდომიოლიზი • გახანგრძლივებულ ბრადიკარდია • კომატოზურ მდგომარეობა დიდი დოზებით სხვა ნივთიერებებთან ერთად (ალკოჰოლი, სხვა დეპრესანტები) ან მათ გარეშე პერორალურად მიღებისას, ბენზოდიაზეპინების ტოქსიკური ეფექტი ძლიერდება და იწვევს სიცოცხლისთვის საშიში რესპირატორული დეპრესიის განვითარებას.

ბენზოდიაზეპინური აფნ გამოვლენა ტესტირებით შესაძლოა ვერ მოხდეს სამედიცინო დაწესებულებებში.

ბენზოდიაზეპინების სედაციური ეფექტის მოსახსნელად და სუნთქვის დათრგუნვის პრევენციისთვის რეკომენდირებულია ფლუმაზენილის გამოყენება.

ბენზოდიაზეპინური აფნ-ის ხანგრძლივი და რეგულარული გამოყენება იწვევს დამოკიდებულების, ტოლერანტობის და აღკვეთის სიმპტომების განვითარებას, რომელიც შეიძლება იყოს ძალიან მძიმე. გამოწვეული ეფექტები მსგავსია ფარმაცევტული ბენზოდიაზეპინების. აღკვეთის მდგომარეობის სიმპტომატიკა [6]

- ოფლიანობა
- გულისრევა და ღებინება
- თავის ტკივილი
- ქოშინი

- გაღიზიანება/მოუსვენრობა
- მომატებული შფოთვა /ნევროზულობა
- ძილის დარღვევები / ჰიპერსომნია
- დეპრესიული სიმპტომები
- ფსიქოზი
- ტაქიკარდია და ჰიპერტენზია
- ტრემორი
- კუნთების დაჭიმულობა
- დიზესთეზია, კინესთეტიკური დარღვევები, კანკალი და ფასციკულაციები
- კოგნიტიური აშლილობები მეხსიერების დარღვევების ჩათვლით
- შეგრძნებითი დარღვევები
- ჰიპერაკუზია
- ფოტოფობია
- გულყრების მომატებული რისკი
- დეპერსონალიზაცია და დერეალიზაცია
- აზნევა/დელირიუმი

კეტამინი კარგად ნაცნობი ნარკოტიკული საშუალებაა, თუმცა ბოლო პერიოდში ევროპაში გახშირდა მისი რეკრეაციულ ფსიქოაქტიურ ნივთიერებად გამოყენება. არალეგალური კეტამინი, როგორც წესი იწარმოება არალეგალურ ლაბორატორიებში. ამჟამად ხელმისაწვდომია კეტამინის ძლიერმოქმედი ანალოგები, რომლებიც გაცილებით დიდ ზიანს იწვევენ, ვიდრე წინამორბედი ფორმები.

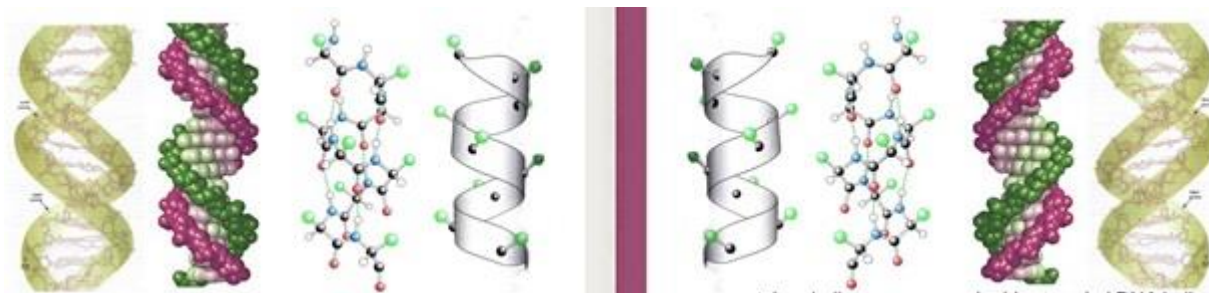
კეტამინი უპირატესად სედაციური ნარკოტიკია, თუმცა მას რთული ნეიროქიმიური პროფილი გააჩნია და მოქმედებს, როგორც ფსიქოსტიმულანტი, დისოციაციური, საანესთეზიო, ანალგეზიური და ამნეზიური საშუალება. კეტამინი წარმოადგენს NMDA (N-მეთილ-დ-ასპარატატის მჟავა) - რეცეპტორების არაკონკურენტულ ანტაგონისტს და ფენციკლიდინის (PCP) წარმოებულს, ორივე მათგანი მიეკუთვნება ადილციკლოპქსილამინს. კეტამინს გააჩნია აფინობა მიუ, დელტა და სიგმა ოპიოიდური რეცეპტორების მიმართ და მოქმედებს მონოამინიების ტრანსპორტერებზე. კეტამინი ასევე მოქმედებს დოფამინის D2 და სეროტონინის 5-HT_{2A} რეცეპტორებზე.

ბოლო ათწლეულში ბაზარზე გამოჩნდა სინთეზური დისოციაციური ნარკოტიკების ახალი თაობა: კეტამინის და PCP-ს ანალოგები, მეთოქსეტამინი (MXE), მეთოქსფენიდინი, დიფენიდინი, ფენციკლიდინის წარმოებულები (მაგ. 4-MeOPCP) და ა.შ აღნიშნული ნივთიერებები (არა მხოლოდ ისინი) ბაზარზე იყიდება, როგორც არალეგალური კეტამინის და PCP ჩამნაცვლებლები, რომლებიც თვისებებით კეტამინის და PCP-ს მსგავსია, თუმცა გააჩნიათ განსხვავებული მახასიათებლებიც. მაგალითად: კეტამინთან შედარებით მეთოქსეტამინი (MXE) უფრო ძლიერად და ხანგრძლივად მოქმედებს. შესაბამისად ასოცირებულია გაზრდილ ფსიქოპათიურ ეფექტებთან და ტოქსიკურობასთან. მეთოქსეტამინი მოქმედებას გაცილებით გვიან იწყებს ვიდრე კეტამინი (90 წუთამდე). აღნიშნული განსხვავება, ზოგჯერ იწვევს განმეორებით მოხმარებას, რაც დოზის გადაჭარბების მიზეზი ხდება იმ პირებში, რომლებიც ფიქრობენ რომ ნარკოტიკს ეფექტი არ აქვს.

2.2 ქირალობა

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

ცოცხალი ორგანიზმები არის ჰომოქირალური, რაც იმას ნიშნავს, რომ მოლეკულები, რომლებსგანაც შედგება ცოცხალი ორგანიზმები, ე.წ. RNA, DNA, ამინომჟავები, ცილები და შაქრები არის ქირალური და ორგანიზმში არსებობს ძირითადად ერთი ენანტიომერის სახით [7]. მაგ.: მარჯვნივმბრუნავი B-DNA, მარცხნივმბრუნავი Z-DNA, L-ამინომჟავები და D-შაქრები (სურ. 12). ამ უმნიშვნელოვანეს ბიოლოგიურ სელექტიურობას ეწოდება ჰომოქირალობა [7]. (თუმცა ამ ბოლო ათწლეულის მანძილზე ცოცხალ ორგანიზმებში L-ამინომჟავებთან ერთად აღმოჩენილია აგრეთვე მცირე რაოდენობებით ზოგიერთი D-ამინომჟავაც).



სურათი. 12 ჰომოქირალობის მაგალითები ცოცხალ ორგანიზმებში

ცოცხალი ორგანიზმების ჰომოქირალობა განაპირობებს მათ განსხვავებულ რეაქციას ერთი და იმავე საკვებდანამატის, არომატიზატორის და სამკურნალწამლო საშუალების ორი განსხვავებული ენანტიომერის მიმართ. საუკეთესო მაგალითად გამოდგება ასპარგინის შემთხვევა: S-ასპარგინი არის მწარე გემოსი, ხოლო R-ასპარგინი ტკბილია. ცოცხალი ორგანიზმის ასეთი განსხვავებული აღქმა ერთი და იმავე ნაერთის ცალკეულ ენანტიომერის

მიმართ განაპირობებს, რომელი ენანტიომერი არის უფრო მისაღები ცოცხალი ორგანიზმისთვის.

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

ენანტიომერების თანამედროვე კლასიფიკაცია/ნომენკლატურა შეიქმნა კანის, ინგოლდის და პრელოგის მიერ და ეწოდა კან-ინგოლდ-პრელოგის ნომენკლატურა, რომლის მიხედვითაც, ენანტიომერების კლასიფიკაცია ხდება ქირალური ცენტრის გარშემო არსებული ჯგუფების განლაგების მიხედვით სივრცეში. ეს კლასიფიკაცია დაფუძნებულია პრიორიტეტების წესზე, პრიორიტეტობის ბევრი წესი არსებობს, მაგალითად რიგობრივი ნომრის, ბმების ჯერადობის, და ა.შ. დალაგება, რომელიც გამოიყენება ორგანულ ქიმიაში ჩამნაცვლებელი ჯგუფების პრიორიტეტების განსაზღვრისთვის [7].

უნდა აღინიშნოს, რომ არ არსებობს პირდაპირი კორელაცია კონკრეტული ენანტიომერის აბსოლიტურ სტერეოქიმიურ კონფიგურაციასა და ბრტყლად პოლარიზებული სინათლის ბრუნვის მიმართულებას შორის. კონკრეტული მოლეკულის თვისებებიდან გამომდინარე შეიძლება გვექონდეს R-(+) ან R-(-) და S-(+) ან S-(-). უნდა აღინიშნოს, რომ მოლეკულების აბსოლიტური სტერეოქიმიური კონფიგურაციის პირდაპირი დადგენა მხოლოდ რენტგენოსტრუქტურული ანალიზის სპეციალური მეთოდის, ანომალური დისპერსიის მეთოდის გამოყენებით არის შესაძლებელი. დღეისთვის ამ მიზნით გამოიყენება აგრეთვე რხევითი წრიული დიქროიზმი და ცალკეულ შემთხვევებში ელექტრონული წრიული დიქროიზმი მოლეკულური მოდელების

მეთოდებთან (ძირითადად სიმკვრივის ფუნქციონალზე დამყარებული) კომბინაციაში. მოლეკულის ოპტიკური აქტიურობა განისაზღვრება პოლარიმეტრის ან წრიული დიქროიზმის სპექტრომეტრის მეშვეობით, ხოლო ჩამნაცვლებელი ჯგუფების ფარდობითი სივრცული განლაგება ბირთვულ-მაგნიტურ რეზონანსული სპექტროსკოპიის და რენტგენოსტრუქტურული ანალიზის გამოყენებით. ქირალური მოლეკულების სამგანზომილებიანი კონფიგურაცია საშუალებას გვაძლევს ავხსნათ ენანტიომერების განსხვავებული ურთიერთქმედება ცოცხალ ორგანიზმებში არსებულ რეცეპტორებთან.

როდესაც მოლეკულაში არის ერთი ან რამდენიმე ქირალური ცენტრი, ადგილი აქვს სტერეოიზომერიის მოვლენას. სტერეოიზომერები ერთმანეთისგან განსხვავდება ჩამნაცვლებლების სივრცული ორიენტაციით. ორი ქირალური ცენტრის შემთხვევაში გვექნება დიასტერეომერები. ენანტიომერები და დიასტერეომერები წარმოადგენენ სტერეოიზომერების ოჯახს. დიასტერეომერებისგან განსხვავებით, ენანტიომერებს აქვთ ერთნაირი ფიზიკური და ქიმიური თვისებები, მაგრამ შეიძლება ჰქონდეთ განსხვავებული ბიოლოგიური მოქმედება. სასურველი ფარმაცოლოგიური აქტივობის მქონე ენანტიომერს ეწოდება ეუტომერი, ხოლო ენანტიომერს რომელსაც არ გააჩნია ბიოლოგიური აქტივობა ან არასასურველი აქტივობა გააჩნია დისტომერი ეწოდება [7].

ენანტიომერების თანაბარი რაოდენობის ნარევს ეწოდება რაცემატი ან რაცემული ნარევი და ნივთიერების დასახელებასთან წინ პრეფიქსით გამოისახება. ვინაიდან, ენანტიომერების მიერ ბრტყლად პოლარიზებული სინათლის სხივის ბრუნვის კუთხის სიდიდე ტოლია, მაგრამ განსხვავებული ნიშნისაა, რაცემატს ოპტიკური აქტივობა არ გააჩნია [7].

დღეისათვის გამოყენებული სინთეზურ ფარმაცევტულ მოქმედ საფუძველთა უმეტესობა წარმოადგენს ქირალურ ნივთიერებებს და ხშირ შემთხვევაში რაცემული ნარევის (ორი ენანტიომერის ნარევი 50/50 თანაფარდობით) სახით გამოიყენება. ენანტიომერები ერთმანეთისგან განსხვავდება ბიოლოგიური შეთვისების, განაწილების, ცილებთან შეკავშირების და რეცეპტორებთან ურთიერთქმედების უნარით და ხშირ შემთხვევაში მათ განსხვავებული მეტაბოლიზმი ახასიათებთ [7].

ძირითადად ენანტიომერები სამი განსხვავებული მიმართულებით მოქმედებს ცოცხალ გარემოში:

1) მხოლოდ ერთ ენანტიომერს აქვს დადებითი ფარმაკოლოგიური ეფექტი, მეორე ენანტიომერი ან ბალასტია, ან უარეს შემთხვევაში, შეიძლება ჰქონდეს უარყოფითი გვერდითი ეფექტიც. მაგალითად ნაპროქსენის და ომეპრაზოლის შემთხვევებში მხოლოდ ერთ ენანტიომერს (S ფორმა) აქვს სამკურნალო მოქმედება;

2) ერთი ენანტიომერის ფარმაკოლოგიური მოქმედება ბევრად აღემატება მეორე ენანტიომერისას, როგორც კეტოპროფენის შემთხვევაში, კერძოდ, კეტოპროფენის S-ენანტიომერს გააჩნია ბევრად ძლიერი ფარმაკოლოგიური მოქმედება, ვიდრე R-ენანტიომერს;

3) მესამე შემთხვევაში შეიძლება მხოლოდ ერთ ენანტიომერს ჰქონდეს დადებითი ფარმაკოლოგიური ეფექტი, მაგრამ ორგანიზმში ენზიმების მოქმედების შედეგად მეორე ფარმაკოლოგიურად არააქტიური ენანტიომერი ასევე გარდაიქმნებოდეს აქტიურ ენანტიომერად, ანუ ადგილი ჰქონდეს რაცემიზაციის ან ენანტიომერიზაციის მოვლენას [10]. ამის მაგალითად გამოდგება იბუპროფენის შემთხვევა, რომლის (R-ფორმა)- ს არ აქვს დადებითი ფარმაკოლოგიური მოქმედება, მაგრამ ცოცხალ ორგანიზმში მეტაბოლიზმის შედეგად გარდაიქმნება R-CoA-თიოეთერად, რომელიც შემდეგ განიცდის ეპიმერიზაციას S-CoA-თიოეთერად და საბოლოოდ გარდაიქმნება S-იბუპროფენად, რომელსაც გააჩნია დადებითი ფარმაკოლოგიური მოქმედება.

სწორედ აღნიშნულის გამო ფარმაცევტულ მრეწველობაში ძალიან მნიშვნელოვანი არის რაცემული ნარევების ენანტიომერებად დაყოფა. ენანტიომერების დაყოფის განსაკუთრებით ეფექტურ მეთოდებს წარმოადგენს დაყოფის ინსტრუმენტული მეთოდები თხევად ფაზაში, როგორებიც არის: მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფია (HPLC) და ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფია (SFC). ენანტიომერების დაყოფა მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფიით და ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფიით დამყარებულია ქირალური სტაციონარული ფაზების (ქსფ) გამოყენებაზე. ქსფ-ები შესაძლებელია გამოყენებული იქნას ანალიზური მიზნებით ენანტიომერების დასაყოფად აგრეთვე ნანოქრომატოგრაფიასა და კაპილარულ

ელექტროქრომატოგრაფიაში (CEC). ქსფ-ები წარმოადგენს სპეციალურად მომზადებულ ქირალურ მასალებს, რომლებიც შეიცავს დაბალი ან მაღალი მოლეკულური მასის მქონე ქირალურ მოლეკულებს, ე.წ. ქირალურ სელექტორებს (ქს), როლებიც აკმაყოფილებს მთელ რიგ სპეციფიურ მოთხოვნებს, რათა მათი გამოყენება შესაძლებელი იყოს ენანტიომერების დასაყოფად თხევად ფაზაში.

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

2.3 ენანტიომერების დაყოფის მეთოდები

1849 წელს ლუი პასტერმა პირველად დაჰყო ღვინის ფერმენტაციის და დაძველების დროს კრისტალების სახით გამოყოფილი ნატრიუმ-ამონიუმის ტარტრატის რაცემული ნარევი ენანტიომერებად და შეისწავლა მათი ოპტიკური აქტივობა. მიკროსკოპით შესწავლისას ლუი პასტერმა აღმოაჩინა, რომ რაცემის მჟავა (ღვინის მჟავას ძველი სახელწოდება), შედგებოდა ორი განსხვავებული ფორმის კრისტალებისგან, რომლებიც ფორმით ერთმანეთის სარკულ გამოსახულებს წარმოადგენდა. პასტერმა დიდი ძალისხმევის შედეგად მექანიკურად შეძლო განსხვავებული კრისტალების ერთმანეთისგან გამოცალკავება. კრისტალების შესწავლის შედეგად პასტერმა დაადგინა, რომ გასხვავებულ კრისტალებს იდენტური ფიზიკური და ქიმიური თვისებები გააჩნდა, გარდა მათი ხსნარების მიერ პოლარიზებული სინათლის შემობრუნების კუთხის ნიშნისა.

ენანტიომერული ნარევების დაყოფა თანამედროვე ქიმიის ერთ-ერთ აქტუალურ ამოცანას განეკუთვნება როგორც თეორიული, ისე პრაქტიკული თვალსაზრისით. ამ

პრობლემის აქტუალობა პრაქტიკული თვალსაზრისით განპირობებულია იმ ფაქტით, რომ ბიოლოგიურად აქტიურ ქირალურ ნივთიერებათა (როგორცაა სამკურნალწამლო საშუალებები, საკვების დანამატები, სასოფლო სამეურნეო დანიშნულების შხამქიმიკატები და ა.შ.) ენანტიომერები როგორც წესი ერთმანეთისაგან განსხვავდება მათი სასურველი (დანიშნულების შესაბამისი) ბიოლოგიური აქტივობით, ტოქსიურობით, მეტაბოლიზმის უნარით და ა.შ. [8] დღესდღეობით გამოყენებული სამკურნალწამლო საშუალებების დაახლოებით 40% წარმოადგენს ქირალურ ნივთიერებებს და მათგან მხოლოდ 25% გამოიყენება სუფთა ენანტიომერის სახით. როგორც აღვნიშნეთ, ენანტიომერები ერთმანეთისაგან განსხვავდება რეცეპტორებისადმი განსხვავებული აფინობის უნარით. ადამიანის ორგანიზმი შეიცავს დიდი რაოდენობით ჰომოქირალურ ნაერთებს, რის გამოც იგი წარმოადგენს მძლავრ ქირალურ სელექტორს, რომელიც არამარტო განსხვავებულად რეაგირებს სხვადასხვა ენანტიომერზე, არამედ ახდენს რაცემატის ცალკეული ენანტიომერის გამოცნობას, რის შედეგადაც თითოეული მათგანი განიცდის განსხვავებულ მეტაბოლიზმს, ეს კი საბოლოოდ იწვევს ენანტიომერების განსხვავებულ ფარმაკოლოგიურ მოქმედებას [8]. ამდენად, ერთ ენანტიომერს შესაძლოა გააჩნდეს დადებითი თერაპიული და ფარმაკოლოგიური მოქმედება, მაშინ როდესაც მეორე ენანტიომერი შეიძლება წარმოადგენდეს ბალასტს ან გააჩნდეს ტოქსიკური მოქმედება. ამერიკის შეერთებულ შტატების საკვებისა და ფარმაცევტული საშუალებების რეგისტრაციის სააგენტო (FDA), ევროპის სამედიცინო სააგენტო (EMA), იაპონიის და მთელი რიგი სხვა ქვეყნების შესაბამისი უწყებები მოითხოვს ახალი ქირალური სამკურნალწამლო საშუალების რეგისტრაციამდე ჩატარდეს თითოეული ენანტიომერის აქტივობის შესწავლა და მხოლოდ ის ენანტიომერი იქნას გამოყენებული ენანტიომერულად სუფთა სახით, როგორც სამკურნალო საშუალება, რომელი ენანტიომერიც გამოავლენს დადებით თერაპიულ ეფექტს [8].

ქირალური ნივთიერებების სიმრავლემ და მათმა ფართო პრაქტიკულმა გამოყენებამ სამკურნალწამლო საშუალებებში, სოფლის მეურნეობასა თუ სხვა სფეროებში ქირალური დაყოფა განსაკუთრებით აქტუალური გახდა. ქირალური დაყოფის განსაკუთრებით მძლავრ და პოპულარულ მეთოდებს კაპილარული ელექტროფორეზი და ქრომატოგრაფიული მეთოდები წარმოადგენს. ამ მეთოდების უპირატესობას წარმოადგენს ის, რომ მათი საშუალებით შესაძლებელია როგორც ქირალური დაყოფის განხორციელება, ასევე ენანტიომერული სისუფთავის კონტროლი სინთეზის სხვადასხვა ეტაპზე,

რაცემიზაციის პროცესი და პარალელურად მოვახდინოთ ხარისხის კონტროლი. შედარებით ახალ, მაგრამ საკმაოდ მძლავრ მეთოდს ქირალურ დაყოფებში წარმოადგენს კაპილარული ელექტროქრომატოგრაფია, რომელიც აერთიანებს როგორც კაპილარული ელექტროფორეზის, ასევე ქრომატოგრაფიის უპირატესობებს.

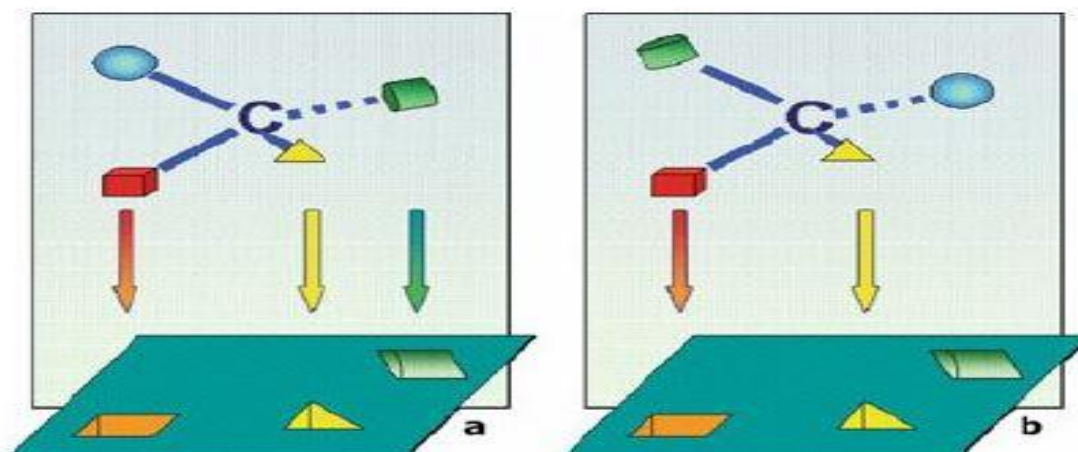
იმისათვის, რომ ქირალური დაყოფა მოხდეს, ყველა ზემოთ ნახსენებ მეთოდში აუცილებელია ქირალური სელექტორების გამოყენება, რომლებიც წარმოადგენენ ქირალურ ნივთიერებებს და შესაბამისად, განსხვავებულად ურთიერთქმედებს თითოეულ ენანტიომერთან. ეს განსხვავებული ურთიერთქმედება შეიძლება გამოიხატოს, როგორც განსხვავებულ ადსორბცია-დეადორბციაში, ასევე განსხვავებული სტრუქტურის კომპლექსის წარმოქმნაში. დღეისთვის ქირალური სელექტორების საკმაოდ ფართო სპექტრი არსებობს, რომელთაგან ოპტიმალურის ამორჩევა ხდება ემპირიულად გამოყენებული მეთოდისა და ექსპერიმენტის მიზნებიდან გამომდინარე.

არსებობს ენანტიომერების დაყოფის არაპირდაპირი და პირდაპირი მეთოდები, კერძოდ:

1) ენანტიომერების დაყოფის არაპირდაპირი მეთოდია მათი გადაყვანა დიასტერეომერულ ფორმაში და მიღებული პროდუქტების შემდგომი დაყოფა კრისტალიზაციის და ქრომატოგრაფიის გამოყენებით. ამ მეთოდის ნაკლს წარმოადგენს ის, რომ მისი გამოყენება შესაძლებელია მხოლოდ შეზღუდული რაოდენობის ნივთიერებებისთვის.

2) პირდაპირი დაყოფის მეთოდად შესაძლებელია გამოყენებული იქნას ენანტიომერების ფერმენტული დაყოფა, კერძოდ, ბიოლოგიური უჯრედის ან ფერმენტის საშუალებით ხდება ერთ-ერთი ენანტიომერის გარდაქმნა და გამოყოფა რაცემული ნარევიდან.

ქირალური გამოცნობის მექანიზმის აღსაწერად ხშირად გამოიყენება სამწერტილოვანი ურთიერთქმედების მოდელი, რომელიც დაღვლიშის მიერ იქნა შემუშავებული. ზემოთხსენებული მოდელი გულისხმობს, რომ ქირალური გამოცნობისათვის აუცილებელია სამწერტილოვანი სელექტორ-სელექტანდის არაკოვალენტური ურთიერთმოქმედება და მოცემული სამი სახის ურთიერთქმედებიდან ერთ-ერთი მაინც უნდა იყოს სტერეოსელექტიური/ენანტიოსელექტიური (სურ. 13).



სურათი 13. სამწერტილიანი ურთიერთქმედების მოდელის დიაგრამა.

ასევე მნიშვნელოვანია ლიპკოვიცის მიერ მოცემული მოდელი, რომელიც საკვლევი ნივთიერებისა და ქირალური სელექტორის ურთიერთქმედებას აღწერს ატომურ დონეზე. ამ მოდელის საფუძველზე ქირალური დაყოფის ძირითად მოლეკულათშორის არაკოვალენტურ ძალებს წარმოადგენს შემდეგი სახის ურთიერთქმედებები:

- 1) წყალბადური ბმა
- 2) π - π ურთიერთქმედება
- 3) იონური ურთიერთქმედება

2.4 გაზური ქრომატოგრაფია

პირველად ინსტრუმენტული მეთოდებიდან ენანტიომერების დასაყოფად გაზური ქრომატოგრაფია გამოიყენეს 1966 წელს, გილ-ავის ჯგუფში [9].

გაზურ ქრომატოგრაფიაში ქირალური დაყოფა დაფუძნებულია ქირალური სტაციონარული ფაზის გამოყენებაზე.

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

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

გაზური ქრომატოგრაფიის მაღალი ეფექტურობა საშუალებას იძლევა ერთ ანალიზში მოხდეს როგორც ქირალური, ასევე აქირალური დაყოფა, რას ნიშნავს, რომ გარდა ენანტიომერული დაყოფისა, ამავდროულად მოხდეს ქიმიური დაყოფაც.

გაზური ქრომატოგრაფიის უპირატესობას წარმოადგენს გამოყენებული სვეტების მაღალი ეფექტურობა, ანალიზის სისწრაფე, სვეტის გაწონასწორების მცირე დრო, ასევე შესაძლებელია გაზური ქრომატოგრაფის შეუღლება მას-სპექტრომეტრულ დეტექტორთან. ეს უკანასკნელი დეტექტორი კი გამოირჩევა განსაკუთრებით მგრძნობიარობით [15].

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

2.5 ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფია

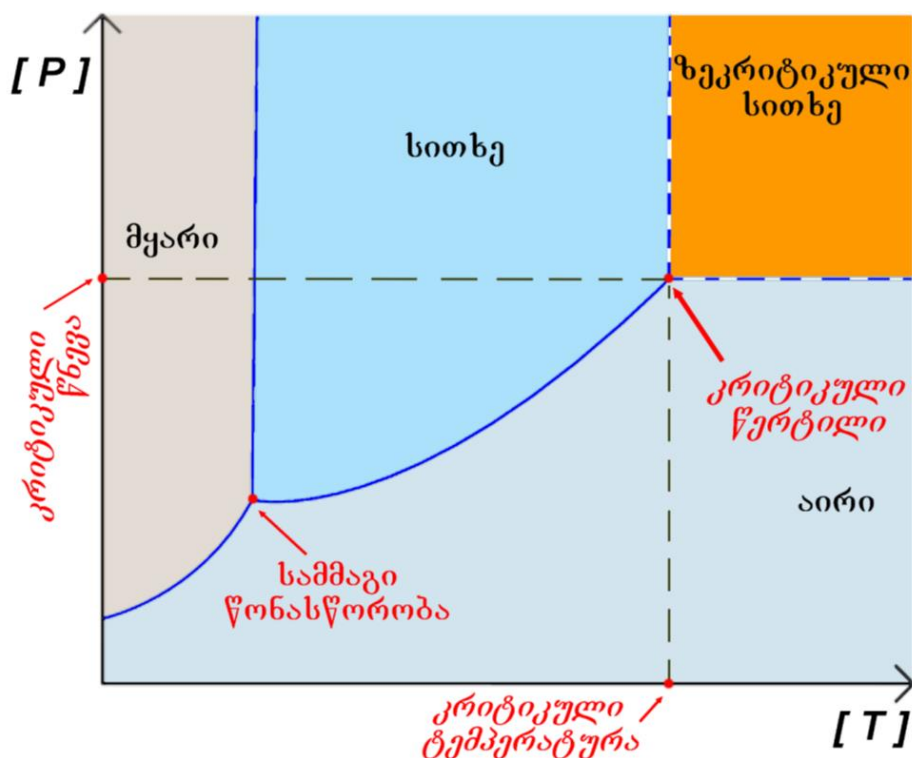
ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფიის განვითარება დაიწყო 1960-იანი წლებიდან და იგი მოიაზრებოდა როგორც გაზური ქრომატოგრაფიის, ან მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფიის ჩამნაცვლებელი, თუმცა დღესდღეობით წარმოადგენს დამოუკიდებელ მეთოდს და აერთიანებს როგორც გაზური, ისე სითხური ქრომატოგრაფიის უპირატესობებს.

1980-იანი წლებიდან განვითარდა მეთოდები, რომლებიც იყენებდა კაპილარულ სვეტებს და დეტექტორებს, რომლებიც გადმოღებული იყო გაზური ქრომატოგრაფიიდან, ხოლო ინჟექტორების და მოძრავი ფაზის მიწოდების სისტემებს სითხური ქრომატოგრაფიიდან. განსაკუთრებული გამოყენება ამ მეთოდმა მოიპოვა დაბალი პოლარობის მქონე ნივთიერებების ანალიზში (როგორებიცაა ნახშირწყალბადური და სილოქსანური პოლიმერები, ნავთობპროდუქტები, ცხიმები და ზეთები). ამ ნივთიერებების გაზ-ქრომატოგრაფიული დაყოფა გართულებული იყო, რადგანაც საჭირო აქროლადობის მისაღწევად ძალზე მაღალი ტემპერატურები იყო საჭირო. თუმცა ამავდროულად კაპილარული ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფია არ იყო მისაღები პოლარული ნივთიერებების ანალიზისთვის [10].

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

ზეკრიტიკული სითხე, ეს არის ნივთიერება მის კრიტიკულ ტემპერატურაზე მაღლა, როდესაც ამავდროულად ის შეკუმშულია მის კრიტიკულ წნევაზე მაღლა. კრიტიკული ტემპერატურის გამო სითხე უნდა გადავიდეს აირში, თუმცა კრიტიკული წნევის გამო ეს არ ხდება, მიიღება მდგომარეობა, როდესაც შეუძლებელია მოხდეს ფაზათა გაყოფა სითხესა და აირს შორის, ამიტომ ეს არ არის ნივთიერების ახალი აგრეგატული მდგომარეობა [10].

ზეკრიტიკული სითხე შესაძლოა გამოვსახოთ ფაზათა დიაგრამაზე (სურ. 14), კრიტიკული წნევისა და ტემპერატურის მაღლა გვექნება ზეკრიტიკული სითხის რეგიონი:



სურათი 14. ფაზათა დიაგრამა ზეკრიტიკული სითხეებისათვის.

ფლუიდი (ინგლისურად - fluid) ნიშნავს ნივთიერების ისეთ მდგომარეობას, როდესაც მისი მოლეკულები თავისუფლად გადაადგილდება, 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 ფაზურ გადასვლას (აგრეგატული მდგომარეობის ცვლილებას). ზეკრიტიკული სითხის ფიზიკური თვისებები, როგორებიცაა სიმკვრივე, სიბლანტე, დიფუზიის უნარი და ა.შ. ადვილად იცვლება კრიტიკული წერტილის ზემოთ წნევის ან/და ტემპერატურის ცვლილებით. ზეკრიტიკული სითხე შესაძლოა იქცეოდეს როგორც სითხე, ან აირი, თუკი პირობები ახლოსაა ზღვართან [10] (წყვეტილი ხაზები სურათი 14-ზე კრიტიკული წერტილის მაღლა და მარჯვნივ). ზეკრიტიკული სითხის მახასიათებლები იცვლება ზეკრიტიკულ რეგიონში კოორდინატებზე (ტემპერატურა-T, წნევა-P) დამოკიდებულებით.

ნახშირორჟანგის ზეკრიტიკული სითხისთვის პრაქტიკულად შესაძლებელია სიმკვრივის დიდი ზღვარის-0.1-დან 1.0-მდე მიღება შედარებით „რბილ“ პირობებში, რაც ნიშნავს ზეკრიტიკული სითხის თვისებების ფართო ვარიაციებს და შესაბამისად CO₂ არის პრაქტიკულად შეუცვლელი მოძრავი ფაზა ზეკრიტიკული სითხის ქრომატოგრაფიაში. ამასთან, ის იაფია, ეკოლოგიურად სუფთა, არატოქსიკური და ინერტული.

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

2.6 სითხური ქრომატოგრაფია

ქრომატოგრაფია წარმოადგენს ნარევების ცალკეულ კომპონენტებად დაყოფის მეთოდს, რომელიც დაფუძნებულია კომპონენტების განსხვავებულ განაწილებაზე ორ ერთმანეთთან შეურევად ფაზას შორის. ერთ-ერთი ამ ფაზებიდან უძრავია, ხოლო მეორე მოძრავი. უძრავ ფაზას უწოდებენ სტაციონარულ ფაზას. ნიმუშის კომპონენტები მოძრაობენ ქრომატოგრაფიულ სისტემაში მხოლოდ მაშინ, როდესაც ისინი არიან მოძრავ ფაზაში. მოძრაობის სწორხაზოვანი სიჩქარე წარმოადგენს ორ ფაზაში ამ წონასწორული

განაწილების ფუნქციას. კომპონენტები, რომლებიც ძირითადად განაწილებულნი არიან სტაციონარულ ფაზაში, მოძრაობენ უფრო ნელა, ვიდრე კომპონენტები, რომლებიც ძირითადად განაწილებულნი არიან მოძრავ ფაზაში. ამგვარად დაყოფა გამოწვეულია მათი მოძრაობის სწორხაზოვან სიჩქარეებს შორის სხვაობით, რაც გამოწვეულია მათ წონასწორულ განაწილებათა შორის სხვაობით [11].

მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფია (მესქ) გამოიყენება ორგანული და არაორგანული ნივთიერებების დაყოფისა და რაოდენობრივი განსაზღვრისათვის სხვადასხვა ნარევებში. რაოდენობრივი გაანგარიშებისათვის გამოიყენება, როგორც შინაგანი, ასევე გარეგანი სტანდარტები. მესქ-ს (სურათი 15) გამოყენება ძირითადად შემდეგი ტიპის ანალიზებისთვის:

1. ფარმაცევტულ საშუალებებში მოქმედი ნივთიერების და მინარევების განსაზღვრა;
2. ენანტიომერების დაყოფა;
3. კვების პროდუქტებში, ჩამდინარე და სასმელ წყლებში პესტიციდების რაოდენობრივი განსაზღვრა;
4. ამინომჟავების განსაზღვრა;
5. კვების პროდუქტებში ნარჩენი ანტიბიოტიკების, აფლატოქსინების და სხვა ტოქსიური ნივთიერებების განსაზღვრა;
6. კვების პროდუქტებში სტაბილიზატორების, არომატიზატორების, ემულგატორების, ვიტამინების და ა.შ. სხვა საკვებდანამატების რაოდენობრივი განსაზღვრა;
7. ბიოლოგიურ ნიმუშებში სამკურნალო საშუალებების და მათი მეტაბოლიტების, ნარკოტიკული საშუალებების და მათი მეტაბოლიტების, ტოქსიური ნივთიერებების და მათი მეტაბოლიტების განსაზღვრა.

მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფის ხელსაწყო შემდეგი ძირითადი ბლოკებისაგან შედგება:

1. გამხსნელების შემრჩევი სისტემა;
2. დეგაზატორი;
3. ტუმბო;
4. ნიმუშების ინჟექტორი (ავტომატური ან მანუალური);

5. სვეტების თერმოსტატი;
6. დეტექტორი;
7. მონაცემთა დამუშავები მოწყობილობა (კომპიუტერი).



სურათი 15. მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფი.

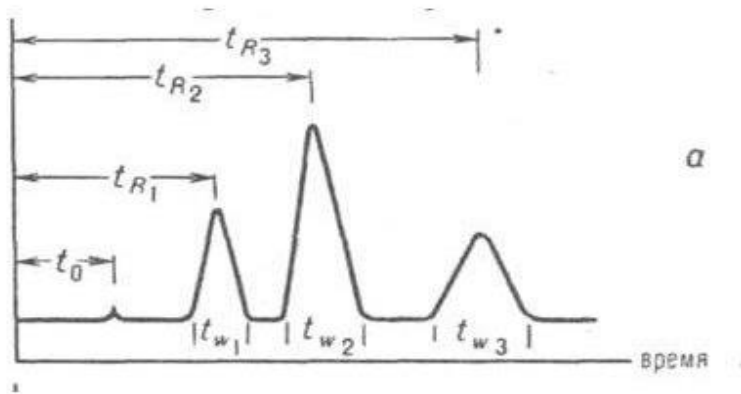
ქრომატოგრაფიული დაყოფის მახასიათებელი პარამეტრები არის:

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

შეკავების ფაქტორი k გამოითვლება ფორმულით:

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

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

$$\alpha = \frac{k'_2}{k'_1} \quad (2)$$

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

სვეტის ეფექტურობა ხასიათდება თეორიული თეფშების რიცხვით N

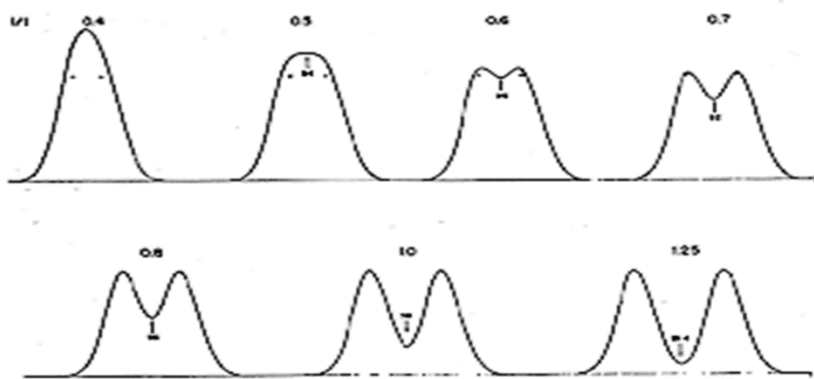
$$N = 16 \left(\frac{t_R}{W} \right)^2 \quad (3)$$

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

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

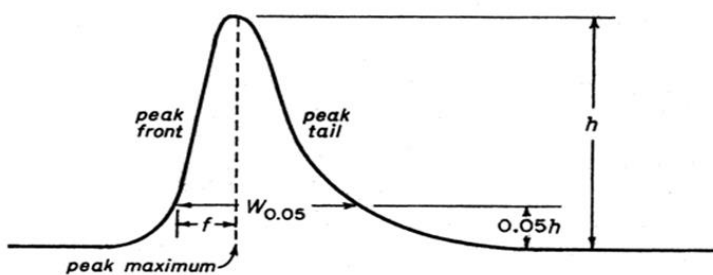
$$R_s = \frac{(t_2 - t_1)}{0.5(W_1 + W_2)} \quad (4)$$

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:

$$As = W_{0.05} / 2 f \quad (5)$$



როგორც ზემოთ აღნიშნულიდან ჩანს, ქრომატოგრაფიული ანალიზის მეთოდის დამუშავების პროცესში აუცილებელია სელექტიურობის და ეფექტურობის გაზრდის გზით გარჩევითობის მაქსიმალურად მაღალი (ცალკეულ შემთხვევაში ოპტიმალური) მნიშვნელობის მიღწევა [11].

2.7 კაპილარული ელექტროფორეზი

კაპილარული ელექტროფორეზის სისტემა პირველად შეიქმნა ცილების, ნუკლეინის მჟავებისა და არაორგანული იონების დასაყოფად 1965 წელს. ამ მეთოდის უდიდესი პოტენციალი მას შემდეგ გამოჩნდა, რაც ჯორგენსონმა და ლუკასმა 1980 წელს პირველად გამოაქვეყნეს მაღალეფექტური დაყოფები.

კაპილარული ელექტროფორეზის მეთოდი ფარმაცევტულ ანალიზში მე-20 საუკუნის ბოლოდან გამოიყენება. კაპილარული ელექტროფორეზის მთავარ უპირატესობას ინსტრუმენტული ანალიზის სხვა მეთოდებთან შედარებით წარმოადგენს ის, რომ ამ მეთოდის გამოყენებით შესაძლოა გაანალიზდეს ნივთიერებათა ფართო კლასი დაწყებული მცირე ზომის ორგანულ და არაორგანული ნივთიერებებით და დამთავრებული დიდი ზომის მოლეკულებით [12, 13].

კაპილარულმა ელექტროფორეზმა ზოგიერთ ანალიზში ჩაანაცვლა ტრადიციული გელ-ელექტროფორეზი და ქრომატოგრაფიული ანალიზის მეთოდები. აღნიშნული მეთოდი განსაკუთრებით წარმატებით გამოიყენება მცირე ზომის ქირალური მოლეკულებისათვის, აქირალური მინარევების განსაზღვრისათვის სამკურნალო საშუალებებში, მეტალების იონებისა განსაზღვრისათვის და ა.შ..

კაპილარული ელექტროფორეზი წარმოადგენს ნივთიერებათა დაყოფის მეთოდს, რომელიც დაფუძნებულია ნარევის შემადგენელი კომპონენტების განსხვავებულ ეფექტურ ძვრადობაზე ელექტრულ ველში. ელექტროფორეტული ძვრადობა აღიძვრება საკვლევი ნიმუშის თითოეულ დამუხტულ კომპონენტში და იწვევს მათ გადაადგილებას ელექტრულ ველში. მუხტის სიმკვრივე კომპონენტების pK სიდიდეზეა დამოკიდებული, შესაბამისად საჭიროა ისეთი pH -ის შერჩევა, რომელზეც საკვლევი ნიმუშის ყველა კომპონენტს მუხტის განსხვავებული სიმკვრივე ექნებათ [13].

2.8 მას-სპექტრომეტრია

მას-სპექტრომეტრიას საფუძველი ჩაეყარა 1890-იან წლებში ჯოზეფ ტომპსონის ექსპერიმენტებით, მოგვიანებით მსგავსი ექსპერიმენტები გააგრძელა ფრენსის ვ. ასტონმა, რომელსაც მიენიჭა ნობელის პრემია ქიმიაში აღნიშნული კვლევისთვის. მას შემდეგ ბევრმა ტექნოლოგიურმა და თეორიულმა მიღწევებმა განაპირობა ის, რომ მას-სპექტრომეტრია გახდა თითქმის შეუცვლელი ტექნიკა მრავალი დარგის მეცნიერისთვის.

მას-სპექტრომეტრია ქიმიური ნივთიერებების იდენტიფიკაციის ერთ-ერთი მძლავრი მეთოდია, როგორც ინდუსტრიულ ლაბორატორიებში, ასევე სამეცნიერო კვლევებშიც. მის ასეთ ფართო გამოყენებას ხელს უწყობს ისიც, რომ მას-სპექტრომეტრიაში არსებობს ე.წ. სპეციალური ბიბლიოთეკები, რომელიც ნივთიერებების სწრაფი იდენტიფიცირების საშუალებას იძლევა.

მას-სპექტრომეტრი წარმოადგენს იონურ ოპტიკურ სისტემებს, რომელიც შედგება ელექტროსტატიკური ლინზებისგან მაღალი ვაკუუმის პირობებში, რომელსაც შეუძლია იონური სიგნალის ფოკუსირება, გადაცემა, ფილტრაცია და გაზომვა.

მას-სპექტრომეტრიით ხდება იონების დაყოფა მათი მასის მუხტთან ფარდობის მიხედვით, თუმცა დაყოფამდე აუცილებელია მოხდეს იონიზაცია, რომელიც იონიზაციის წყაროში ხდება. როგორც იონიზაციის, ასევე მას-ანალიზატორების მხრივ განასხვავებენ რამდენიმე ტიპის მას-სპექტრომეტრებს.

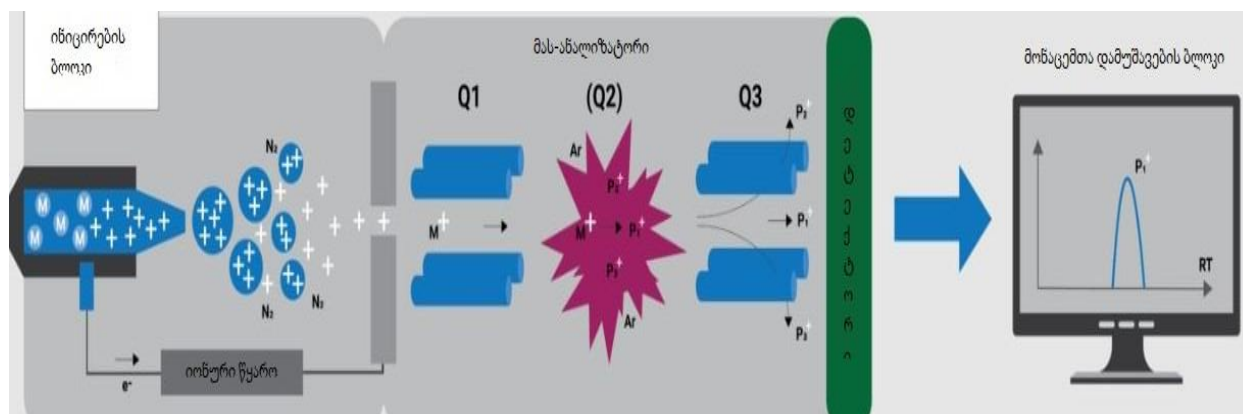
მას-სპექტრომეტრული მეთოდებით ნაერთების ფართო სპექტრის გაანალიზება შესაძლებელი, პრობლემური შეიძლება იყოს ის ნივთიერებები, რომლებიც იშლება იონიზაციის პროცესში.

მას-სპექტრომეტრიისა და იონების მასის მუხტთან ფარდობით დაყოფა პირველად 1912 წელს განხორციელდა ჯოზეფ ტომსონის მიერ ნეონის იზოტოპების მაგალითზე.

მას-სპექტრომეტრიაში სხვა მსგავსი (სპექტრალური) მეთოდებისაგან განსხვავებით ანალიზის პროცესში ელექტრომაგნიტური გამოსხივების უშუალო ურთიერთქმედება საკვლევი ნივთიერების მოლეკულებთან არ ხდება. ამის გამო, მას არ მიაკუთვნებენ სპექტროსკოპულ მეთოდებს [14].

მას-სპექტრომეტრი შედგება ხუთი ძირითადი ბლოკისაგან: ინიცირების ბლოკი, იონიზაციის წყარო, მას-ანალიზატორი, დეტექტორი და მონაცემთა დამუშავების ბლოკი (კომპიუტერი).

მას-სპექტრომეტრიაში თითოეული ზემოაღნიშნული ბლოკი მნიშვნელოვან ფუნქციას ასრულებს, რაც თავის მხრივ ანალიზის პასუხის სისწორესა და სიზუსტეს უზრუნველყოფს.



სურათი 16. მას-სპექტრომეტრის ძირითადი ბლოკები.

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

იონური წყაროები - აირადი ფაზის მეთოდები

- ელექტრონებით იონიზაცია (EI)
- ქიმიური იონიზაცია (CI)

- პირდაპირი ანალიზი რეალურ დროში (DART)
- ინდუქციურად შეწყვილებული პლაზმა (ICP)

იონური წყაროები - დესორბციის მეთოდები

- მატრიცით სტიმულირებული ლაზერულ-დესორბციული იონიზაცია (MALDI)
- სწრაფი ატომებით ბომბარდირების მეთოდი (FAB)
- თერმული იონიზაციის წყაროები
- პლაზმის იონიზაციის წყაროები
- თხევადი ლითონის იონის წყაროები (LMIS)

იონის წყაროები - სპრეი მეთოდები

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

3) მას-ანალიზატორი ფორმირებული იონების დაყოფა მიმდინარეობს მას-ანალიზატორში. არსებობს სხვადასხვა ტიპის მას-ანალიზატორი, რომლებიც ერთმანეთისაგან განსხვავდება მოქმედების პრინციპით, თუმცა, ნებისმიერი მას-ანალიზატორის ფუნქცია არის იონების დაყოფა მათი მასის მუხტთან ფარდობის მიხედვით. მას-სპექტრომეტრი ზოგჯერ მოიცავს ორი ან მეტი მას-ანალიზატორის კომბინაციას. თითოეულ მას-ანალიზატორს აქვს განსხვავებული m/z სამუშაო დიაპაზონი, მასის სიზუსტე და განსაკუთრებით მასის გარჩევადობა. MS გარჩევადობა არის მთავარი პარამეტრი. ძირითადად გამოარჩევენ რამდენიმე ტიპის მას-ანალიზატორებს:

- დროში ფრენის მას-ანალიზატორები
- სექტორული მას-ანალიზატორები
- კვადრუპოლური მას-ანალიზატორი
- სამგანზომილებიანი მას-ანალიზატორი
- ორგანზომილებიანი მას-ანალიზატორი
- ფურიე-ტრანსფორმაციის იონურ-ციკლოტრონული რეზონანსი
- ორბიტალური იონური მახე

4) **დეტექტორი-** რაც შეეხება დეტექტირებას, ამ მხრივაც მას-სპექტრომეტრული ტექნიკა გამოირჩევა თავისი მრავალფეროვნებით, შესაბამისად საკვლევი ნივთიერების და ანალიზის მიზნების მიხედვით შესაძლებელია შეირჩეს ის დეტექტირების მეთოდი, რომელიც ყველაზე კარგად მოერგება კონკრეტულ ექსპერიმენტს.

დეტექტორები:

- ფარადეის ჯამი
- მეორეული ელექტრონების გამრავლების დეტექტორი
- არხის ტიპის დეტექტორები
- მიკროარხული თევში
- დეტექტორი ფოკალური სიბრტყით
- კრიოგენური დეტექტორები.

5) **მონაცემთა დამუშავების ბლოკი-** მონაცემთა დამუშავებისთვის გამოიყენება კომპიუტერი, სპეციალიზირებული პროგრამების გამოყენებით შესაძლებელია, როგორც რაოდენობრივი, ასევე თვისობრივი ანალიზი და შედეგების დამუშავება, ასევე სწორედ ამ საფეხურზე ხდება ნივთიერებათა იდენტიფიკაციისათვის არსებული ბიბლიოთეკების გამოყენება [14].

2.9 სითხური ქრომატოგრაფია-მას სპექტრომეტრიის შეუღლება

სითხური ქრომატოგრაფია-მას სპექტრომეტრიის ტექნიკა გულისხმობს სითხურ ქრომატოგრაფიას, როგორც კომპონენტების დასაყოფ საშუალებას, ხოლო მას სპექტრომეტრია, როგორც კომპონენტების დეტექტირებისთვის. იგი შეიძლება ჩაითვალოს ჰიბრიდულ მეთოდად და შემუშავებულია იმისათვის, რომ გაერთიანდეს თითოეული მათგანის საუკეთესო თვისებები ერთ ინსტრუმენტში, რომლის დროსაც სითხურ ქრომატოგრაფში ხდება ნარევის ცალკეული კომპონენტები ჯერ დაყოფა, რასაც მოჰყვება იონიზაცია და იონების განცალკევება მათი მასა/მუხტის თანაფარდობის საფუძველზე. გამოყოფილი იონები შემდეგ მიმართულია ფოტო ან ელექტრონის მულტიპლიკატორი მილის დეტექტორზე, რომელიც განსაზღვრავს და რაოდენობრივად ითვლის თითოეულ იონს. იონური წყარო მნიშვნელოვანი კომპონენტია ნებისმიერი მას-სპექტრომეტრული ანალიზისთვის, რადგან სწორედ მასში ხდება იონიზაცია, ანუ იონების წარმოქმნა.

ამ მეთოდის მრავალფეროვანი გამოყენება განპირობებულია რამდენიმე ფაქტორით, როგორიცაა ეფექტურობა, საიმედოობა, გამძლეობა და მრავალფეროვნება [15]. ამ მეთოდით შესაძლებელია გაანალიზდეს სხვადასხვა კლასის ნივთიერებები, მათ შორის ფარმაცევტული და ვეტერინარული სამკურნალო საშუალებები, კოსმეტიკური დანიშნულების პროდუქტები, პესტიციდები, ენდოგენური ბიომოლეკულები.

კომერციულად ხელმისაწვდომი უძრავი ფაზები და ხელსაწყო განსხვავებული კონფიგურაციები აადვილებს თითქმის ნებისმიერი ხსნადი ნაერთის ანალიზს სხვადასხვა კომპლექსურ მატრიცაში [15].

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

- (i) რადგან სითხური ქრომატოგრაფი მუშაობს მაღალი წნევის პირობებში, ხოლო მას-სპექტრომეტრი მოითხოვს მაღალ ვაკუუმს, MS რეგიონში შეყვანილი მოძრავი ფაზის მოცულობა უნდა იყოს კონტროლირებადი;
- (ii) მოძრავი ფაზის შემადგენლობა - სასურველია არ შეიცავდეს არააქროლად დანამატებს, როგორიცაა ფოსფატური ბუფერები, რადგან ამან შეიძლება გამოიწვიოს სიგნალის ჩახშობა ან დააზიანოს MS-ის იონიზაციის წყარო;

(iii) მნიშვნელოვანია ასევე მატრიცის ბუნება და გასაანალიზებელი ნივთიერებები.

2.10 ახალი ფსიქოტროპული საშუალებების ენანტიოსელექტიური ანალიზი.

ქირალობას გადამწყვეტი როლი აქვს ფსიქოტროპული პრეპარატების ფარმაცოდინამიკაში და ფარმაცოკინეტიკაში. ეს პრეპარატები ხშირად არსებობს ენანტიომერების ნარევის სახით, რომელთაგან თითოეული გამოირჩევა უნიკალური ფარმაცოლოგიური თვისებებით. ამ ნაერთების ენანტიოსელექტიური მეტაბოლიზმის შესწავლა აუცილებელია მათი თერაპიული გამოყენების ოპტიმიზაციისა და გვერდითი ეფექტების მინიმალიზაციისთვის. ფსიქოტროპული პრეპარატები, როგორებიცაა ანტიდეპრესანტები, ანტიფსიქოზური საშუალებები, სტიმულატორები და ანქსიოლიტიკები, ხშირად შეიცავენ ქირალურ ცენტრებს. მაგალითად, მეთორფანის ენანტიომერები მოიცავს დექსტრომეთორფანს (DXM), რომელიც გამოიყენება ხველის საწინააღმდეგო საშუალებად, ხოლო ლევომეთორფანი (LVM) მოქმედებს როგორც ძლიერი ოპიოიდური ანალგეტიკი [16]. მეთამფეტამინის (MAMP) (S)-ენანტიომერი უფრო ძლიერი ცენტრალური ნერვული სისტემის სტიმულატორია, ვიდრე მისი (R)-ანალოგი. სელექტიური სეროტონინის რეაბსორბციის ინჰიბიტორები (SSRIs), როგორებიცაა ფლუოქსეტინი და ციტალოპრამი, გამოირჩევიან ენანტიოსელექტიური ფარმაცოკინეტიკით, სადაც ერთი ენანტიომერი უფრო მეტად უწყობს ხელს თერაპიულ ეფექტს. კეტამინის ენანტიომერებიც ავლენენ განსხვავებულ მოქმედებას, სადაც (S)-კეტამინი უფრო ძლიერია NMDA რეცეპტორების ანტაგონისტად, რაც გავლენას ახდენს მის ანტიდეპრესანტულ ეფექტზე.

ქირალური ფსიქოტროპული პრეპარატების მეტაბოლიზმი ხშირად სტერეოსელექტიურია, რაც გავლენას ახდენს პრეპარატის ბიოშედლწევადობაზე და აქტიური მეტაბოლიტების წარმოქმნაზე. რამდენიმე ძირითადი ფაქტორი განსაზღვრავს ენანტიოსელექტიურ მეტაბოლიზმს, მათ შორისაა ციტოქრომ P450 ფერმენტები (CYPs), რომლებიც კატალიზირებენ I ფაზის მეტაბოლურ რეაქციებს. მაგალითად, CYP2D6 უპირატესად მეტაბოლიზებს (S)-MDMA-ს მის აქტიურ მეტაბოლიტად. II ფაზის მეტაბოლიზმი, როგორიცაა გლუკურონიდაცია და სულფატირება, განსხვავდება

ენანტიომერებს შორის, რაც გავლენას ახდენს პრეპარატების ექსკრეციაზე. ფარმაცოკინეტიკურადაც ენანტიომერები განსხვავდებიან ერთმანეთისაგან, განსხვავებული ნახევარგამოყოფის პერიოდითა და პლაზმის ცილებთან შეკავშირების უნარით, რაც განაპირობებს განსხვავებულ თერაპიულ შედეგებს [17].

ენანტიოსელექტიური მეტაბოლიზმის შესწავლა მნიშვნელოვანია მრავალი მიზეზის გამო. თერაპიული ეფექტის ოპტიმიზაციისთვის აუცილებელია განისაზღვროს, თუ როგორ ახდენენ ენანტიომერები დოზირების რეჟიმზე გავლენას, რადგან შესაძლოა სხვადასხვა ენანტიომერს განსხვავებული თერაპიული დოზა დასჭირდეს. ზოგი ენანტიომერი დაკავშირებულია გაზრდილ გვერდით ეფექტებთან ან ტოქსიკურობასთან, რის გამოც საჭიროა მათი მონიტორინგი. მრავალი ფარმაცევტული სააგენტო ამჟამად მოითხოვს ახალი ქირალური პრეპარატების ენანტიოსელექტიური შეფასების ჩატარებას მათი ეფექტურობისა და უსაფრთხოების დასადგენად. ენანტიოსელექტიური ანალიზი კრიტიკულია არალეგალური პრეპარატების კონტროლშიც, განსაკუთრებით იმ განსხვავებების გამოვლენისთვის, რომლებიც ფარმაცევტულ და არალეგალურ პრეპარატებს შორის არსებობს.

ენანტიოსელექტიური პრეპარატების ეფექტების შემთხვევები ხაზს უსვამს მის მნიშვნელობას. მეთორფანის ენანტიომერების კლინიკური და სასამართლო ტოქსიკოლოგია გვიჩვენებს, რომ DXM ფართოდ გამოიყენება ხველის საწინააღმდეგოდ, ხოლო LVM-ს აქვს მაღალი ოპიოიდური აქტივობა და კონტროლირებადი ნივთიერებაა. LVM-ის DXM-ად მცდარმა იდენტიფიკაციამ შეიძლება სასამართლო გამოძიებისას შეცდომები გამოიწვიოს. დამატებით, პოსტმორტემულმა ანალიზებმა აჩვენა შემთხვევები, სადაც LVM იყო გადაჭარბებული დოზის სიკვდილის გამომწვევი ფაქტორი, რაც კიდევ უფრო ზრდის ენანტიოსელექტიური ანალიზის საჭიროებას ტოქსიკოლოგიაში. ამფეტამინები, მათ შორის მეთამფეტამინი და MDMA, ავლენენ მნიშვნელოვან ენანტიოსელექტიურ ფარმაცოლოგიას. (S)-მეთამფეტამინი უფრო ძლიერია ცენტრალური ნერვული სისტემის სტიმულაციაში, ვიდრე (R)-ენანტიომერი, რაც გავლენას ახდენს როგორც თერაპიულ, ასევე არალეგალურ მოხმარებაზე. სასამართლო კვლევებმა აჩვენა, რომ ამოღებული პრეპარატები ხშირად შეიცავს (S)-მეთამფეტამინის ენანტიომერულად

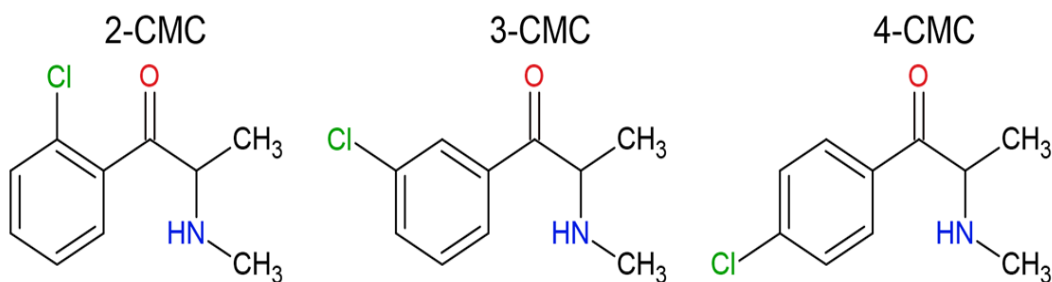
სუფთა ნიმუშებს, მაშინ როცა არალეგალური წარმოებისას უფრო ხშირად გვხვდება რაცემური ნარევი. ენანტიომერული განაწილების გაანალიზება კრიტიკულია ნარკოტიკების მოხმარების ტენდენციებისა და წარმოების წყაროების დადგენისთვის. მრავალი ანტიდეპრესანტი, მათ შორის ციტალოპრამი და ფლუოქსეტინი, კომერციულად ხელმისაწვდომია რაცემური ნარევის სახით, მიუხედავად იმისა, რომ მათ შორის არსებობს მნიშვნელოვანი ენანტიოსელექტიური განსხვავებები ეფექტურობასა და უსაფრთხოებაში. ციტალოპრამის (S)-ენანტიომერი პასუხისმგებელია მის სეროტონინის რეაბსორბციის ინჰიბიტორულ მოქმედებაზე, ხოლო (R)-ენანტიომერს უფრო მეტად უკავშირდება გვერდითი ეფექტები. ამან გამოიწვია ენანტიომერულად სუფთა პრეპარატების, როგორცაა ესციტალოპრამი, განვითარება, რაც აუმჯობესებს თერაპიულ შედეგებს და ამცირებს გვერდით ეფექტებს. კეტამინი, რომელიც ფართოდ გამოიყენება როგორც საანესთეზიო და ანტიდეპრესანტი, მისი ენანტიომერების მიხედვით განსხვავებულ ფარმაკოლოგიურ პროფილს ავლენს. (S)-კეტამინი უფრო ძლიერია NMDA რეცეპტორების ანტაგონისტად, რაც გავლენას ახდენს მის თერაპიულ ეფექტზე. კვლევებმა აჩვენა, რომ ენანტიომერები განიცდიან განსხვავებულ მეტაბოლიზმს, რაც გავლენას ახდენს როგორც თერაპიულ, ასევე გვერდით ეფექტებზე. კეტამინის მზარდი გამოყენება კლინიკურ პირობებში და მის არალეგალურ მოხმარებაში კიდევ უფრო ზრდის მისი ენანტიოსელექტიური მეტაბოლიზმის შესწავლის აუცილებლობას.

ენანტიოსელექტიური პრეპარატების ანალიზი გადამწყვეტ როლს ასრულებს როგორც სასამართლო, ისე კლინიკურ სფეროში. სასამართლო ტოქსიკოლოგიაში ენანტიომერების გარჩევა ხელს უწყობს ნარკოტიკების წყაროს დადგენას, არალეგალური სინთეზის მონიტორინგს და ნარკოტიკებთან დაკავშირებული სიკვდილიანობის გამოძიებას. კლინიკურ პრაქტიკაში, ენანტიოსელექტიური მეტაბოლიზმის ცოდნა ხელს უწყობს პრეპარატების ოპტიმიზაციას, გვერდითი ეფექტების მინიმიზაციას და მედიცინის პერსონალიზაციას პაციენტის სპეციფიური მეტაბოლური პროფილის მიხედვით.

3. ექსპერიმენტული ნაწილი

3.1 ექსპერიმენტში გამოყენებული ნივთიერებები

2-ქლორმეთკათინონი (2-CMC), 3-ქლორმეთკათინონი (3-CMC) (ნახ. 17), N-მეთილპენტედრონი და ასევე შინაგან სტანდარტად გამოყენებული მეთილონ-d₃-ის სტანდარტები შეძენილი იყო Cayman Chemical-ისგან (ან არბორი, მიჩიგანი, აშშ), ხოლო კლეფედრონის (4-ქლორმეთკათინონი, 4-CMC) სტანდარტი შეძენილი იყო Lipomed-ისგან (ბაზელი, შვეიცარია). მეთილონი (MET), 4-ჰიდროქსი-3-მეთოქსი-N-მეთილკათინონი (HMMC) და 3,4-მეთილენდიოქსიკათინონი (MDC)-ის სტანდარტები შეძენილი იყო Cerilliant-ისგან (რაუნდ როკი, ტეხასი, აშშ). სტანდარტები გამოყენებამდე ინახებოდა -20-დან -25-მდე °C-ზე.



ნახაზი 17. 2-CMC, 3-CMC და 4-CMC-ის სტრუქტურული ფორმულები.

LC-MS ხარისხის წყალი, აცეტონიტრილი და მეთანოლი, ისევე როგორც ქლოროფორმი, ჰიანჭველმჟავა, ამონიუმის ჰიდროქსიდი (25% w/w წყალხსნარი), მარილმჟავა (37% w/w წყალხსნარი), ამონიუმის ფორმატი, ამონიუმის აცეტატი და ეთილაცეტატი შევიძინეთ Carl Roth GmbH-დან (კარლსრუე, გერმანია). ჰეპატოციტები მოწოდებული იქნა Lonza-დან (ბაზელი, შვეიცარია), ხოლო HEPES, Williams medium E, β-გლუკორონიზადა Sigma Aldrich-დან (მილანი, იტალია).

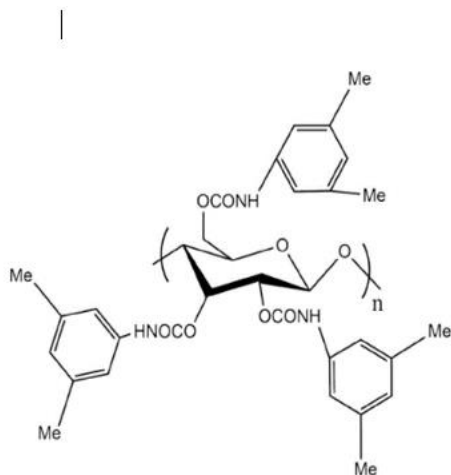
3.2 ექსპერიმენტში გამოყენებული ბიოლოგიური მასალა

მეთილონის პროექტში 12 ადამიანი იღებდა კლინიკურ კვლევაში მონაწილეობას. კლინიკური კვლევები ჩატარდა ესპანეთში. პაციენტების საშუალო ასაკი იყო 23 წელი, ხოლო საშუალო წონა 70 კგ. ყველა მათგანს კვლევის დაწყებამდე ჰქონდა ნარკოტიკული საშუალებების (კოკაინი, ამფეტამინი, MDMA და სხვა.) გამოყენების პრაქტიკა (იყო ნარკოტიკული საშუალებების მომხმარებელი). კვლევის დაწყებამდე ყველა მათგანს ჩაუტარდა სამედიცინო გამოკვლევა. კვლევა ერთ თვეს გაგრძელდა და მასში მონაწილე მოხალისეები დაყოფილი იყო 4 ჯგუფად. თითოეული ჯგუფი იღებდა მეთილონის სხვადასხვა დოზა 100, 150, და 200 მგ მეთილონს და ნერწყვის ნიმუშის აღება ხდებოდა პრეპარატის მიღებამდე და მიღების შემდეგ შემდეგი დროის ინტერვალში 0.25, 0.5, 0.75, 1, 1.5, 2, 3, 4, 6, 8, 10 და 24 საათი. ნიმუშის შენახვა მის საანალიზოდ მომზადებამდე ხდებოდა -20 გრადუსზე.

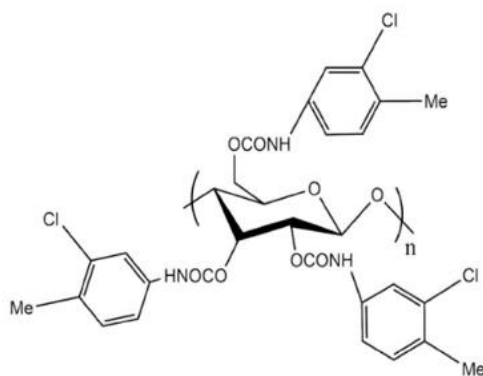
კლედრონის პროექტში გამოყენებული იქნა როგორც ნერწყვის, ასევე შარდისა და ოფლის ნიმუშები, რომელთა მოწოდებაც მოხდა ესპანეთიდან და იტალიიდან. ნიმუშის აღებისთანავე ხდებოდა მათი შენახვა -20 გრადუსზე საანალიზოდ მომზადებამდე.

3.3 ექსპერიმენტში გამოყენებული ქირალური სვეტები

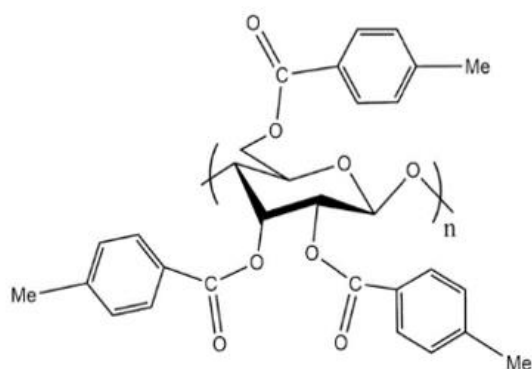
კვლევებში გამოვიყენეთ პოლისაქარიდული ბუნების 9 სხვადასხვა ქირალური სვეტები. ეს სვეტები დაფუძნებულია შემდეგ ქირალურ სელექტორებზე: ცელულოზა ტრის (3,5- დიმეთილფენილკარბამატი) (Lux Cellulose-1), ცელულოზა ტრის (3-ქლორ-4-მეთილფენილკარბამატი) (Lux Cellulose-2), ცელულოზა ტრის (4-მეთილბენზოატი) (Lux Cellulose-3),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



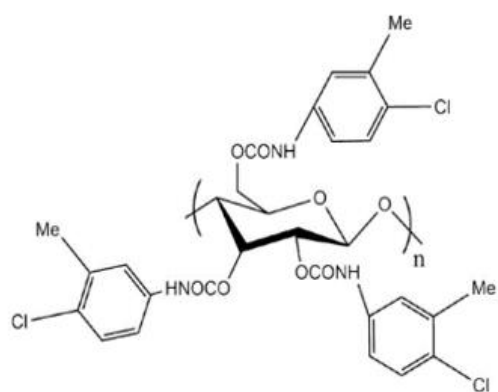
ნახაზი 18. ცელულოზა ტრის (3,5- დიმეთილფენილკარბამატი) (Lux Cellulose-1).



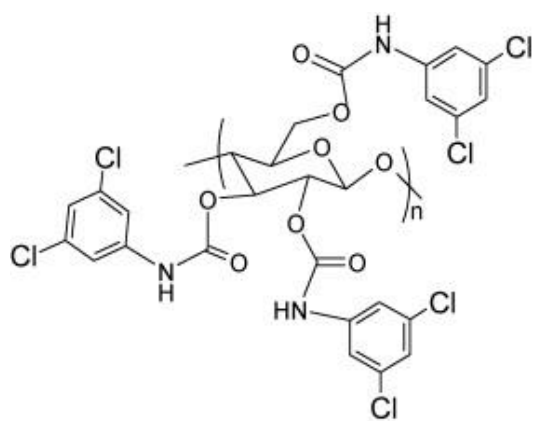
ნახაზი 19. ცელულოზა ტრის (3-ქლორ-4-მეთილფენილკარბამატი) (Lux Cellulose-2).



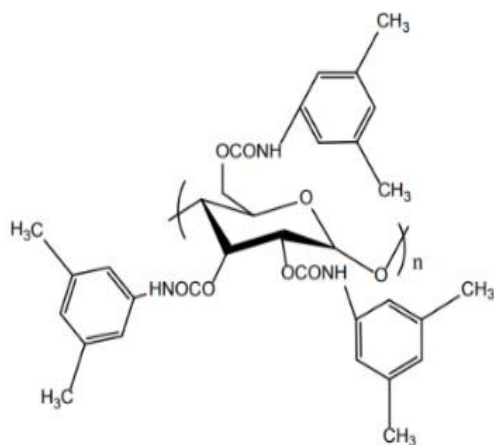
ნახაზი 20. ცელულოზა ტრის (4-მეთილბენზოატი) (Lux Cellulose-3)



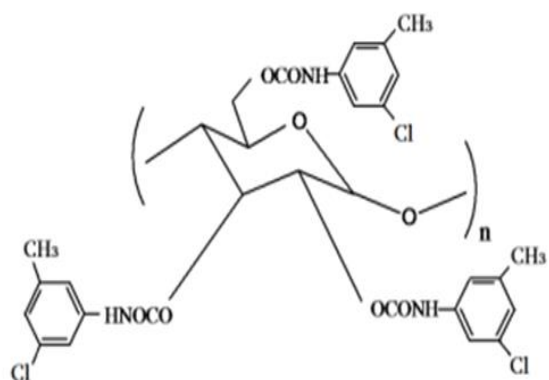
ნახაზი 21. ცელულოზა ტრის (4-ქლორ-3-მეთილფენილკარბამატი) (Lux Cellulose-4)



ნახაზი 22. ცელულოზა ტრის (3,5-დიქლორფენილკარბამატი) (Lux i-Cellulose-5)



ნახაზი 23. ამილოზა ტრის (3,5-დიმეთილფენილკარბამატი) (Lux Amylose-1 და Lux i-Amylose-1)



ნახაზი 24. ამილოზა ტრის (3-ქლორ-5-მეთილფენილკარბამატი) (Lux i-Amylose-3).

3.4 ექსპერიმენტში გამოყენებული აპარატურა

ექსპერიმენტში გამოყენებული იყო შემდეგი ხელსაწყოები:

1. Agilent 1260 მოდელის სითხური ქრომატოგრაფი



სურათი 25. Agilent 1260 სერიის მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფი.

გამოყენებული სითხური ქრომატოგრაფი შედგებოდა შემდეგი მოდულებისგან:

1. G4220A ბინარული ტუმბო;
2. G1329B ნიმუშების ავტომატური მიმწოდებელი ავტომატური ინიცირების სისტემით;

3. G1316A სვეტების თერმოსტატი;

4. G1314D ცვლად ტალღიანი დეტექტორი, რომელიც ერთი ანალიზის მსვლელობისას მხოლოდ ერთი ტალღის სიგრძის ჩაწერის შესაძლებლობას იძლევა;

2. Agilent G6410B მოდელის მას-სპექტრომეტრი



სურათი 26. Agilent 6410B მოდელის მას-სპექტრომეტრი.

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

3.5 მეთილონის და მისი ფაზა-1 მეტაბოლიტების ერთდროული ენანტიოსელექტიური ანალიზის სითხური ქრომატოგრაფია-მას სპექტრომეტრული მეთოდის დამუშავება ბიოლოგიურ ნიმუშებში

პროექტის ფარგლებში ანალიზურ მეთოდად გამოვიყენეთ სითხური ქრომატოგრაფიისა და მას-სპექტრომეტრიის ტანდემი, ხოლო ქირალურ ადსორბენტად სილიკაგელზე დამაგრებული პოლისაქარიდული ქირალური სელექტორი, ამილოზა ტრის (5-ქლორო-3-დიმეთილფენილკარბამატი). ამ ქირალური სვეტის კომერციული სახელწოდება არის Lux i-Amylose-3. ქრომატოგრაფიული დაყოფისათვის მოძრავ ფაზად გამოყენებული იყო მეთანოლისა და 0.4 % ამონიუმის ჰიდროქსიდის ნარევი

(მოცულობით), რაც არამარტო მეთილონისა და მისი მეტაბოლიტების, არამედ მათი ენანტიომერების ქრომატოგრაფიული დაყოფის საშუალებასაც გვაძლევს.

მეთოდის ვალიდაცია ჩატარდა შესაბამისი საერთაშორისო ნორმატივების მიხედვით. ეს არის მეთილონის და მისი ძირითადი ფაზა-1 მეტაბოლიტების ერთდროული ენანტიოსელექტიური ანალიზის პირველი მეთოდი სითხური ქრომატოგრაფიის გამოყენებით. ანალიზის ამ მეთოდის ერთ-ერთი უპირატესობა არის ანალიზის მოკლე დრო. ამ მეთოდის გამოყენება წარმატებით მოხდა მეთილონისა და მისი მეტაბოლიტების ენანტიოსელექტიური ფარმაკოკინეტიკის შესასწავლად კლინიკური კვლევის შედეგად მოგროვებული ნერწყვის ნიმუშებში.

ჩვენი სამუშაო მოიცავდა რამდენიმე ეტაპს:

- 1) მეთილონისა და მისი მეტაბოლიტების სკრინინგი ცხრა ქირალური სვეტის გამოყენებით, ასევე სხვადასხვა მოძრავი ფაზების სკრინინგი, რათა შეგვეჩია ანალიზის ოპტიმალური პირობები, როგორც სითხური ქრომატოგრაფიის, ასევე მას-სპექტრომეტრიის შემთხვევაში.

ცხრილი 2. მოლეკულური მასა, დედა იონი, შვილობილი იონი და დაჯახების ენერგიები მეთილონისთვის და მისი მეტაბოლიტებისთვის.

ნივთიერება	მოლეკულური მასა, g/mol	დედა იონი, m/z	შვილობილი იონი, m/z	დაჯახების ენერგია, eV
მეთილონი	207.2	208.2	160.1	17
			132.1	29
მეთილონი-d ₃	210.2	211.2	163.1	16
			135.1	12
HMMC	209.1	210.1	192.1	12
			160.1	16
			132.1	32
HMMC-glu	385.1	386.1	210.1	32
HHMC	195.1	196.1	160.1	21
			132.1	31
HHMC-glu	371.1	372.1	196.1	32
MDC	193.1	194.1	146.0	25
			118.1	35

- 2) ნიმუშის მომზადება

ნიმუშის მოსამზადებლად 10 მკლ შინაგანს სტანდარტს, მეთილონ-D3, 100 ნანოგრამი/მლ კონცენტრაციით, ემატებოდა 2 მკლ 2%-იანი ამიაკის წყალხსნარი (pH 9) და 2 მლ ქლოროფორმი: ეთილ აცეტატი 9:1 მოცულობით ნარევი 100 მიკროლიტრ საანალიზო ნერწყვის ნიმუშთან ერთად. ამის შემდეგ ნიმუშის შენჯღრევა ხდებოდა 10 წუთის განმავლობაში სანჯღრევლაზე, შემდეგ ნიმუშის ცენტრიფუგირება 3500 ბრუნვა/წთ-ზე 5 წუთის განმავლობაში და ორგანული ფაზის გადატანა სუფთა ბოთლებში.

დანაკარგის შესამცირებლად ნიმუშს ემატებოდა 100 მიკროლიტრი მარილმჟავით შემჟავებული მეთანოლი და შემდეგ ხდებოდა ორგანული ფაზის ამოშრობა მშრალი ჰაერის ნაკადით დაახლოებით 30 წუთის განმავლობაში. ამომშრალი ნიმუში იხსნებოდა 100 მიკროლიტრ მოძრავ ფაზაში, ხოლო ხელსაწყოში ხდებოდა 2 მკლ მოცულობის ნიმუშის ინიცირება.

3) მეთოდის დამუშავება, ოპტიმიზაცია და ვალიდაცია

მეთოდის ვარგისიანობის შეფასება ჩატარდა ანალიზის სიზუსტისა და სისწორის კოეფიციენტის გამოყენებით სხვადასხვა კონცენტრაციაზე. მეთოდმა აჩვენა მაღალი სიზუსტე, 20%-ზე ნაკლები ცდომილებით.

ასევე შემოწმებული იქნა განზავების კოეფიციენტის სიზუსტე და ნიმუშის სტაბილურობა გარკვეული დროის განმავლობაში. ანალიზმა აჩვენა, რომ მიუხედავად განზავებისა და გარკვეული დროის განმავლობაში დაყოვნებისა, ნიმუში ინარჩუნებდა პირვანდელ შედგენილობას.

ყველა ზემოაღნიშნულიდან გამომდინარე შეგვიძლია ვთქვათ, რომ მეთოდის გამოყენებისას მიღებული შედეგები სარწმუნო და ხარისხის სტანდარტების შესაბამისია.

4) მეთოდის ვალიდაცია

ანალიზის მეთოდის ვალიდაცია ჩატარდა შესაბამისი საერთაშორისო სტანდარტის მიხედვით. ვალიდაციისთვის გამოყენებული პარამეტრებია: აღმოჩენის ზღვარი, რაოდენობრივი ანალიზის ზღვარი, მეთოდის სპეციფიურობა, სტაბილურობა და წრფივობის დიაპაზონი. მეთოდის ვალიდაციისთვის გამოყენებულია რვა საკალიბრო წერტილი.

**3.6 კლეფედრონის და მისი ფაზა-1 მეტაბოლიტების ერთდროული
ენანტიოსელექტიური ანალიზის სითხური ქრომატოგრაფია-მას სპექტრომეტრული
მეთოდის დამუშავება ბიოლოგიურ ნიმუშებში**

ჩვენი სამუშაო მოიცავდა რამდენიმე ეტაპს:

- 1) კლეფედრონის და მისი მეტაბოლიტების სკრინინგი ცხრა ქირალური სვეტის გამოყენებით, ასევე სხვადასხვა მოძრავი ფაზების სკრინინგი, რათა შეგვეჩია ანალიზის ოპტიმალური პირობები, როგორც სითხური ქრომატოგრაფიის, ასევე მას-სპექტრომეტრიის შემთხვევაში.

ცხრილი 3. მოლეკულური მასა, დედა იონი, შვილობილი იონი და დაჯახების ენერგიები კლეფედრონისთვის, მისი მეტაბოლიტებისთვის და N-მეთილპენტედრონისთვის.

ნივთიერება	მოლეკულური მასა, g/mol	დედა იონი, m/z	შვილობილი იონი, m/z	დაჯახების ენერგია, eV
კლეფედრონი	197.6	198.6	180.1	12
			158.1	12
			145.1	18
N-ეთილპენტედრონი	205.3	206.0	161.3	12
			146.2	30
I მეტაბოლიტი	183.6	184.6	131.2	18
			112.8	18
			102.0	18
II მეტაბოლიტი	199.6	200.6	182.1	10
			145.2	20
III მეტაბოლიტი	213.6	214.6	186.2	20
			157.1	30
			131.2	30
IV მეტაბოლიტი	198.6	199.6	158.1	14
			100.1	12
			98.8	14
V მეტაბოლიტი	185.6	186.6	168.0	10
			116.0	20
VI მეტაბოლიტი	215.6	216.6	125.9	15
			98.0	30
			70.0	30

2) ნიმუშების მომზადება

ნიმუშის მოსამზადებლად 10 მკლ შინაგანს სტანდარტს, N-ethylpentedrone-ს, 100 ნანოგრამი/მლ კონცენტრაციით, 5 მლ ქლოროფორმი: ეთილ აცეტატი 9:1 მოცულობით ნარევი ემატებოდა 100 მიკროლიტრ საანალიზო ნერწყვის ნიმუშთან ერთად. ამის შემდეგ ნიმუშის შენჯღრევა ხდებოდა 5 წუთს განმავლობაში საწვანო ფერზე, შემდეგ ნიმუშის

ცენტრიფუგირება 6000 ბრუნვა/წთ-ზე 12 წუთის განმავლობაში და ორგანული ფაზის გადატანა სუფთა ბოთლებში.

დანაკარგის შესამცირებლად ნიმუშს ემატებოდა 100 მიკროლიტრი მარილმჟავით შემჟავებული მეთანოლი და შემდეგ ხდებოდა ორგანული ფაზის ამოშრობა მშრალი ჰაერის ნაკადით დაახლოებით 30 წუთის განმავლობაში. ამომშრალი ნიმუში იხსნებოდა 100 მიკროლიტრ მეთანოლში, ხოლო ხელსაწყოში ხდებოდა 5 მკლ მოცულობის ნიმუშის ინიცირება.

3) მეთოდის დამუშავება, ოპტიმიზაცია და ვალიდაცია

რაოდენობრივი ანალიზის ჩატარების მიზნით ავაგეთ საკალიბრო წრფე.

მეთოდის ვარგისიანობის შეფასება ჩატარდა ანალიზის სიზუსტისა და სისწორის კოეფიციენტის გამოყენებით სხვადასხვა კონცენტრაციაზე. მეთოდმა აჩვენა მაღალი სიზუსტე.

ასევე შემოწმებული იქნა განზავების კოეფიციენტის სიზუსტე და ნიმუშის სტაბილურობა გარკვეული დროის განმავლობაში. ანალიზმა აჩვენა, რომ მიუხედავად განზავებისა და გარკვეული დროის განმავლობაში დაყოვნებისა, ნიმუში ინარჩუნებდა პირვანდელ შედგენილობას.

ყველა ზემოაღნიშნულიდან გამომდინარე შეგვიძლია ვთქვათ, რომ მეთოდის გამოყენებისას მიღებული შედეგები სარწმუნოა და ხარისხის სტანდარტების შესაბამისია.

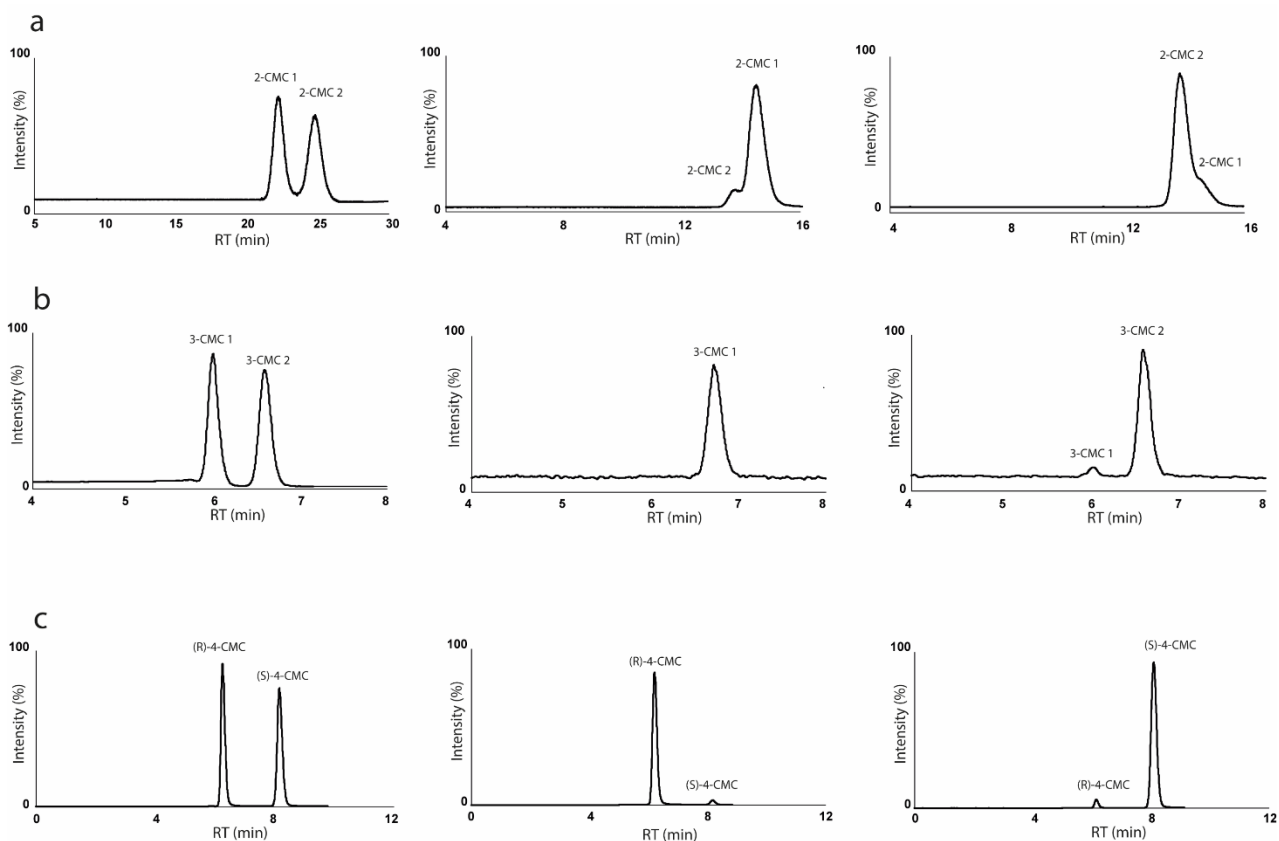
4) მეთოდის ვალიდაცია

ანალიზის მეთოდის ვალიდაცია ჩატარდა შესაბამისი საერთაშორისო სტანდარტის მიხედვით. ვალიდაციისთვის გამოყენებული პარამეტრებია: აღმოჩენის ზღვარი, რაოდენობრივი ანალიზის ზღვარი, მეთოდის სპეციფიურობა, სტაბილურობა და წრფივობის დიაპაზონი.

3.7 2-, 3- და 4-ქლორმეთკათინონების სტერეოქიმიური სტაბილურობის გამოკვლევა სხვადასხვა ბიოლოგიურ მატრიცაში

ქრომატოგრაფიული დაყოფა ჩატარდა HPLC 1290 Infinity I (Agilent Technologies, ვალდბრონი, გერმანია) (სურ. 25) ტანდემური მას-სპექტრომეტრული მეთოდით (G6410A Triple Quadrupole LC-MS) (სურ. 26), რომელიც აღჭურვილი იყო ელექტროშეფრქვევის იონიზაციის წყაროთი (ESI), დადებითი იონების რეჟიმში. ავტოსამპლერის ტემპერატურა იყო 7 °C-ზე ან 25 °C-ზე და სვეტის თერმოსტატის ტემპერატურა იყო 25 °C. მონაცემები დამუშავებული იქნა MassHunter® Workstation Qualitative Analysis B.04.00 პროგრამული უზრუნველყოფით (Agilent Technologies). MS/MS-ის მეთოდის ოპტიმიზაცია განხორციელდა ნაწილობრივ ავტომატურად და ნაწილობრივ ხელით. მას-სპექტრომეტრული პარამეტრები 2-, 3- და 4-CMC-ების აღმოსაჩენად იყო შემდეგი: მთავარი იონი 198,1 მ/ზ, პროდუქტ იონები 180,1 და 145,1 მ/ზ, შეჯახების ენერგია 12 და 18 ევ პირველი და მეორე პროდუქტ იონისთვის, შესაბამისად. სკანირების სიჩქარე 0,93. ESI პირობების ოპტიმიზაცია მოხდა შემდეგნაირად: ძაბვა 3500 V, წყაროს ტემპერატურა 300 °C, ნაკადის სიჩქარე 10 ლ/წთ, დესოლვაციური აირის ნაკადი 12 ლ/წთ. მოძრავი ფაზის ნაკადის სიჩქარე იყო 1 მლ/წთ, ხოლო ტალღის სიგრძე 254 ნმ.

2-, 3- და 4-CMC ენანტიომერების ფრაქციონირება



ნახაზი 27. საწყისი რაცემიული ნარევის და შეგროვებული ფრაქციების ქრომატოგრამები, რომლებიც შეიცავს 2-CMC (a), 3-CMC (b) და 4-CMC (c) გამდიდრებულ ენანტიომერებს. მოძრავი ფაზები იყო: მეთანოლი 5 მილიმოლური ამონიუმის ბიკარბონატით pH 11.0 (50:50, მოცულობითი თანაფარდობა) 2-CMC რაცემატის დასაყოფად Lux AMP სვეტზე, მეთანოლი: 5 მილიმოლური ამონიუმის აცეტატი წყალში (50:50, მოცულობითი თანაფარდობა) 2-CMC-ის ენანტიომერულად გამდიდრებული ფრაქციების ანალიზისთვის Lux Cellulose-1 სვეტზე (a) და მეთანოლზე 5 მილიმოლური ამონიუმის ბიკარბონატით pH 11.0 (90:10, მოცულობითი თანაფარდობა) (b და c).

3-CMC და 4-CMC ენანტიომერები დავყავით Lux AMP სვეტზე, გამოვიყენეთ მოძრავი ფაზა, რომელიც შედგებოდა მეთანოლისა და 10% (მოცულობითი თანაფარდობა) 5 მილიმოლური ამონიუმის ბიკარბონატის წყალხსნარისგან, მიყვანილი pH 11.0-ზე ამონიუმის ჰიდროქსიდით. იგივე მოძრავი ფაზის კომპონენტები, მაგრამ 50:50 თანაფარდობით (მოცულობით თანაფარდობა) გამოიყენებოდა 2-CMC ენანტიომერების დაყოფისა და ფრაქციონირებისათვის იმავე ქირალური სვეტით. თუმცა, ამ მოძრავ ფაზაში სწრაფი რაცემიზაციის გამო, 2-CMC ენანტიომერები გაანალიზდა Lux Cellulose-1 სვეტზე მოძრავი ფაზით მეთანოლი/5 მილიმოლური ამონიუმის აცეტატი წყალში (50:50, მოცულობითი თანაფარდობა). 35 მკლ რაცემული ნარევი 1 მგ/მლ კონცენტრაციით განმეორებით იქნა შეყვანილი ქრომატოგრაფიულ სისტემაში და თითოეული

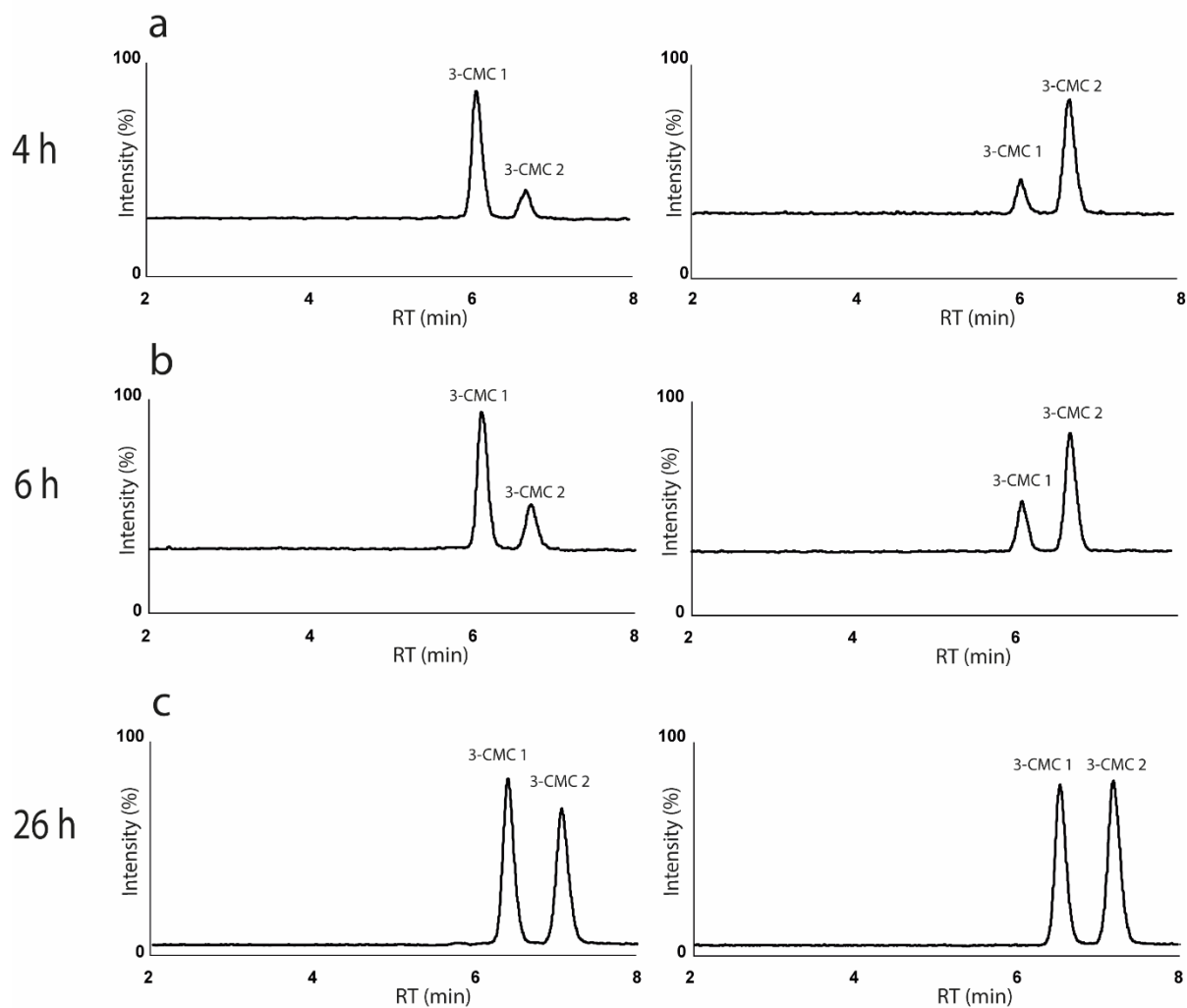
ქრომატოგრაფიული პიკის შესაბამისი ენანტიომერი ხელით შეგროვდა. განმეორებითი ინიცირებების რაოდენობა იყო 4 თითოეული ნაერთისთვის. 3-CMC და 4-CMC ენანტიომერების შემცველი ფრაქციები შეგროვდა სუფთა მინის ბოთლებში და შემდგომში აორთქლდა აზოტის რბილი ნაკადით ოთახის ტემპერატურაზე, რათა შემცირებულიყო ნიმუშის მოცულობა დაახლოებით 600 μ L-მდე.

2-CMC-ის შემთხვევაში ხდებოდა სწრაფი რაცემიზაცია, გამოვიყენეთ სხვადასხვა საშუალებები ამ პროცესის თავიდან აცილების და შენელების მიზნით: 1) ქირალური სვეტისა და მოძრავი ფაზის შეცვლით, რათა ჩავგენაცვლებინა 5 მილიმოლური ამონიუმის ბიკარბონატის ბუფერი pH 11.0. 2) სვეტის ტემპერატურის შემცირება ნიმუშის შეგროვების დროს და შეგროვებული ფრაქციების შემდგომი ანალიზის დროს; 3) შესაგროვებელი ფლაკონების ყინულით გაგრილება; 4) მცირე რაოდენობით მარილმჟავას დამატება თავისუფალი ფუძეების მათ მარილებში გადასაყვანად; 5) ფრაქციონირების შემდეგ ნიმუშის წინასწარი კონცენტრაციის ეტაპის თავიდან აცილება.

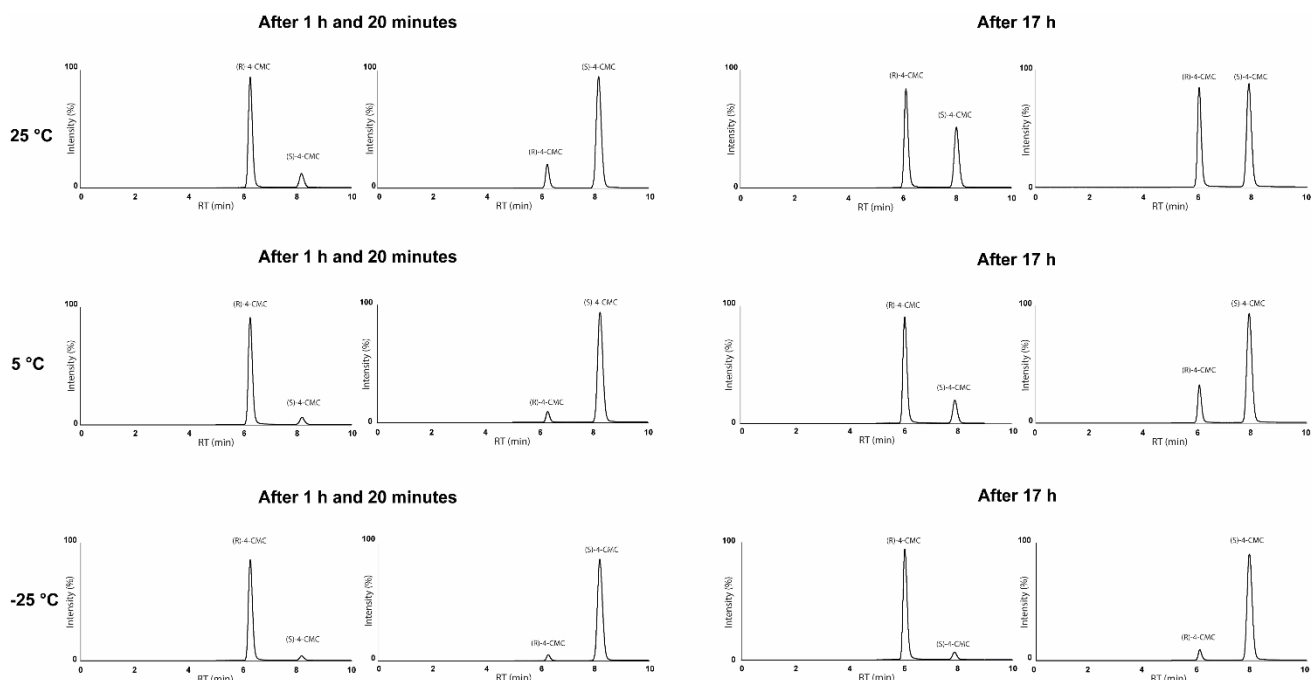
სამწუხაროდ, ყველა ამ შემთხვევაში ორივე შეგროვებული ენანტიომერის რაცემიზაცია მაინც მოხდა, ხოლო მარილმჟავით დამუშავებულ ნიმუშში არ იქნა აღმოჩენილი 2-CMC, შესაძლოა მისი სრული დეგრადაციის გამო.

ჩვენ მოვახერხეთ 2-CMC-ის რაცემიზაციის პროცესის გამოკვლევა შემდეგ პირობებში: 2-CMC-ის ფრაქციები შეგროვდა Lux AMP სვეტზე მოძრავი ფაზით, რომელიც შედგებოდა მეთანოლისა და 50% (მოცულობითი თანაფარდობა) 5 მილიმოლური ამონიუმის ბიკარბონატისგან. წყალხსნარი მიყვანილი იქნა pH 11.0 ამონიუმის ჰიდროქსიდით. ცალკეული ენანტიომერების შემცველი ფრაქციების შეგროვების შემდეგ, ისინი გაანალიზდა Lux Cellulose-1 სვეტზე მეთანოლის/5 მილიმოლური ამონიუმის აცეტატის 50:50 (მოცულობითი თანაფარდობა) გამოყენებით, როგორც მოძრავი ფაზა. ეს მოძრავი ფაზა ქიმიურად ნაკლებად აგრესიულია მის წინამორბედ მოძრავ ფაზასთან შედარებით, რომელიც გამოიყენება 2-CMC ენანტიომერების ფრაქციონირებისთვის. გარდა ამისა, ფრაქციების განმეორებით შეგროვების ნაცვლად (4-ჯერ) იმავე 20 მლ ფლაკონებში, მცირე ალიკვოტები შეგროვდა წინასწარ გაცივებულ ფლაკონებში, მხოლოდ ერთხელ. ეს ფლაკონები დაუყონებლივ გადავიტანეთ თერმოსტატირებულ ავტოსემპლერში, რომელიც ინახებოდა 7 °C-ზე და გავანალიზეთ HPLC-MS-ზე. ამ ექსპერიმენტულ პირობებში

მოვახერხეთ შეგვენელებინა შეგროვებული 2-CMC ენანტიომერების რაცემიზაცია და დავკვირვებოდით ამ პროცესის კინეტიკასაც.



ნახაზი 28. 3-CMC-ის გამდიდრებული ენანტიომერული ფრაქციების ქრომატოგრამები, რომელიც ინახებოდა 4 (a), 6 (b) და 26 სთ (c) ოთახის ტემპერატურაზე მეთანოლში 5 მილიმოლური ამონიუმის ბიკარბონატით pH 11.0 (90:10, ვ/ვ), რომელიც გამოყენებული იყო, როგორც ფრაქციონირებისთვის, ასევე ანალიზისთვის.



ნახაზი 29. 4-CMC ენანტიომერული ფრაქციების ქრომატოგრამები, ნიმუშები ინახებოდა 1 სთ 20 წთ და ალტერნატიულად, 17 სთ 25 °C (a), 5 °C (b) და -25 °C (c) მეთანოლში 5 მილიმოლური ამონიუმის ბიკარბონატით, pH 11.0 (90:10, ვ/ვ), რომელიც გამოიყენებოდა როგორც ფრაქციონირებისთვის, ასევე ანალიზისთვის.

სტერეოქიმიური სტაბილურობის ექსპერიმენტები

3-CMC და 4-CMC შემცველი ფრაქციები ჯერ გაანალიზდა LC-MS/MS გამოყენებით (იგივე ქრომატოგრაფიული პირობების გამოყენებით, როგორც შეგროვებისთვის) და შემდეგ გამოვიყენეთ 3 ვიალა თითოეული ენანტიომერისთვის. ერთი ვიალა ინახება ოთახის ტემპერატურაზე (დაახლოებით 25 °C), მეორე მაცივარში (დაახლოებით 5 °C) და მესამე საყინულეში (-25 °C). 1 საათის შემდეგ ოთახის ტემპერატურაზე და 4 საათის შემდეგ მაცივარში ან საყინულეში, ნიმუშები ხელახლა გაანალიზდა და მიღებული შედეგების საფუძველზე გადაწყდა შემდეგი ანალიზების დრო. CMC-ების სტაბილურობის კვლევებისთვის სხვადასხვა მატრიცებში, შეგროვებული ფრაქციები, რომლებიც შეიცავს ენანტიომერებს, ჯერ გაანალიზდა LC-MS/MS-ით და შემდეგ თითოეული ფრაქციის 100 მლ გადავიტანეთ 4.8 მლ სხვადასხვა მატრიცებში, კერძოდ სისხლში, შარდში და ნერწყვში. თითოეული ნიმუში დაყოფილი იყო 3 ნაწილად, დაახლოებით 1,6 მლ თითოეული. შემდეგ თითოეული მატრიცის ერთი ნიმუში ინახება ოთახის ტემპერატურაზე, მეორე მაცივარში და მესამე საყინულეში. 10 წუთის შემდეგ ოთახის ტემპერატურაზე და 1 საათის შემდეგ მაცივარში ან საყინულეში, გავანალიზეთ და მიღებული შედეგების საფუძველზე გადაწყდა შემდეგი ანალიზების დრო.

ნიმუშის მომზადება HPLC-MS ანალიზისთვის

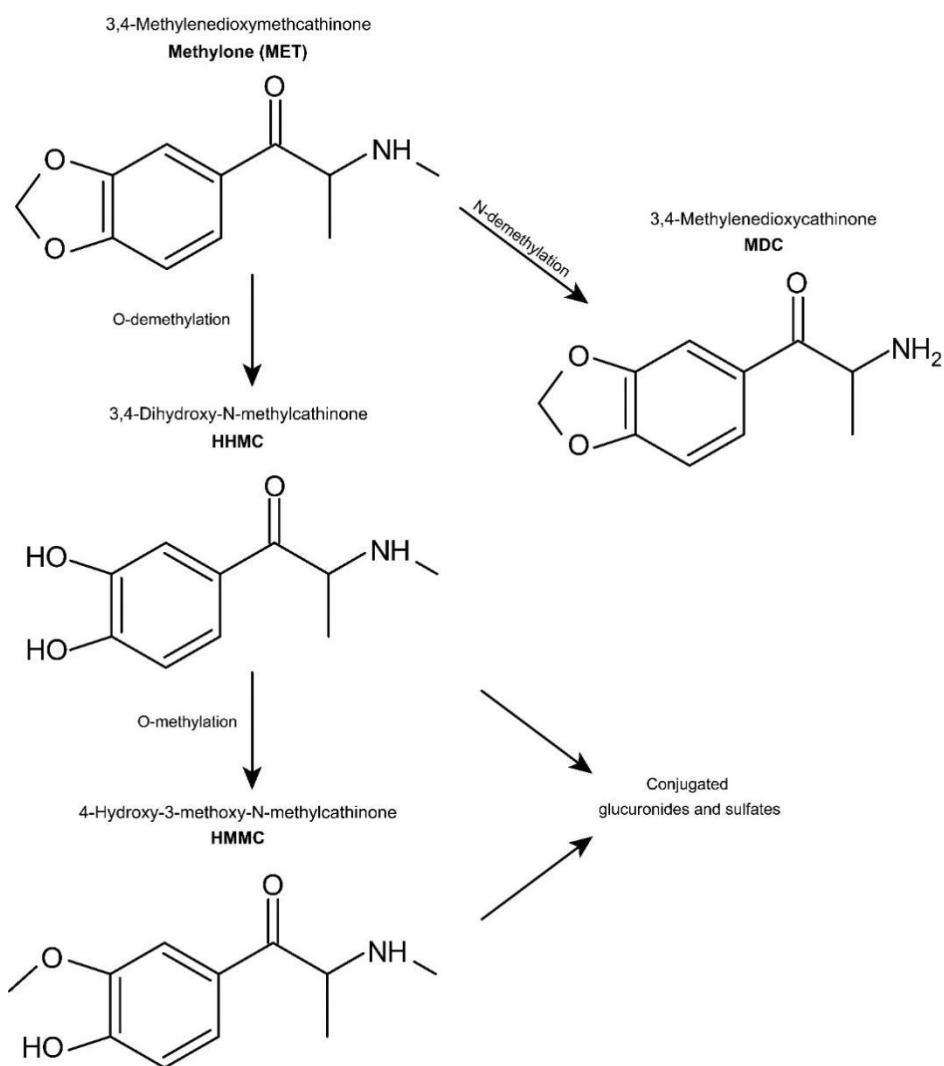
თითოეული მატრიცის 200 მკლ ალიქვოტი გადავიტანეთ 10 მლ ცენტრიფუგის ვიალაში და დავუმატეთ 5 მლ ქლოროფორმი: ეთილ-აცეტატი 9:1 მოცულობით ნარევი, შემდეგ მოხდა 5 წუთი შენჯღრევა და 5 წუთი ულტრაბგერით აბაზანაში დაყოვნება, ვიალების ცენტრიფუგირება მოხდა 5 წუთის განმავლობაში 6000 ბრუნი/წთ სიჩქარით, ამის შემდეგ 5 წუთი დავაყოვნეთ. ორგანული ფაზა გამოვყავით და დავამატეთ 100 μ L მეთანოლი, რომელსაც დამატებული ჰქონდა 0.1% HCl, ნიმუშების ამოშრობა მოხდა აზოტის ნაკადით ოთახის ტემპერატურაზე, ამის შემდეგ დავუმატეთ 50 μ L მეთანოლი, მოვათავსეთ ულტრაბგერით აბაზანაში 1 წუთი და ქრომატოგრაფიული ანალიზის დროს ნიმუშის ინიცირება მოხდა 10 μ L-ის ოდენობით.

4. მიღებული შედეგები და მათი განსჯა

4.1 მეთილონის და მისი ფაზა-1 მეტაბოლიტების ერთდროული ენანტიოსელექტიური ანალიზის სითხური ქრომატოგრაფია-მას სპექტრომეტრული მეთოდის დამუშავება ბიოლოგიურ ნიმუშებში

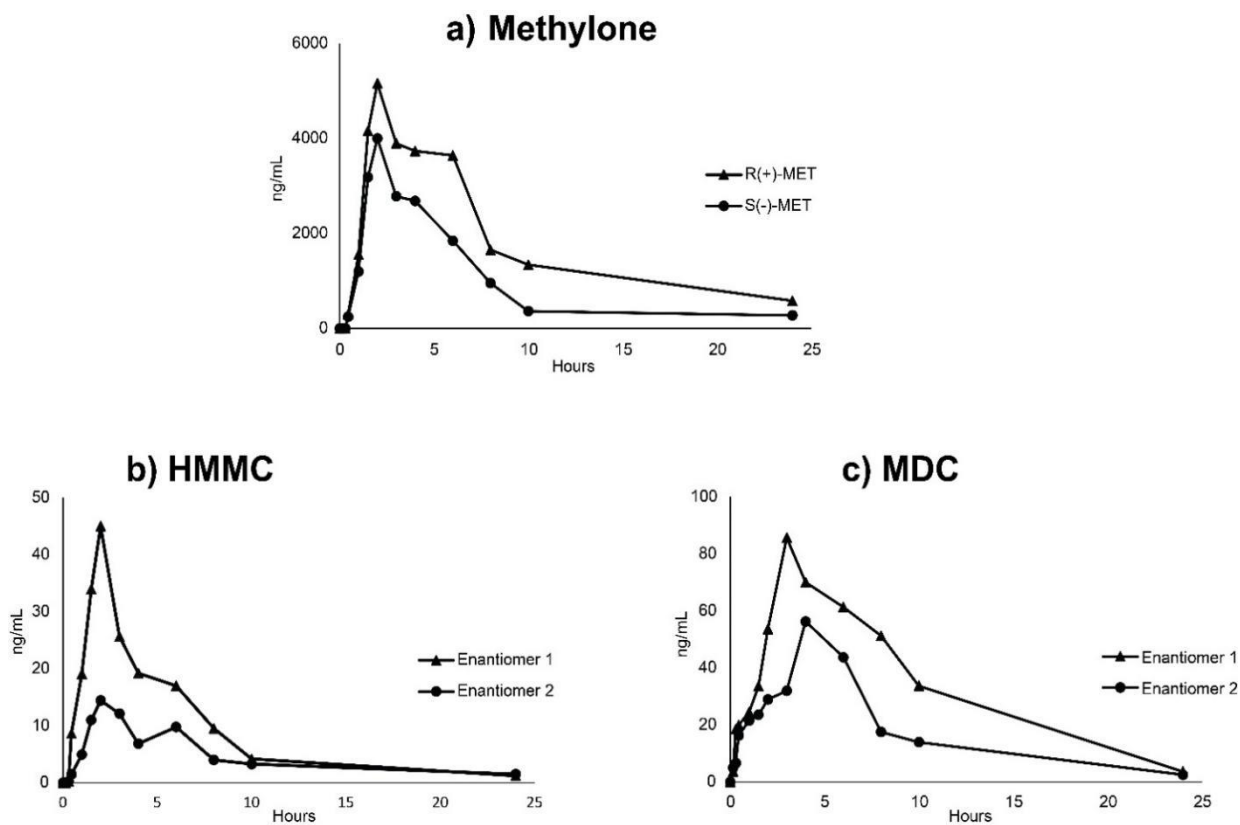
ჩვენ შევიმუშავეთ პირველი ენანტიოსელექტიური მეთოდი მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფია-მას სპექტრომეტრიის გამოყენებით ფსიქოაქტიური ნივთიერების მეთილონის და მისი ძირითადი ფაზა-1 მეტაბოლიტების ანალიზისათვის ადამიანის ნერწყვში. მეთოდმა აჩვენა, რომ მეთილონი განიცდის ენანტიოსელექტიურ ბიოტრანსფორმაციას, კერძოდ, S-(-)-ენანტიომერი მეტაბოლიზდება და ორგანიზმიდან გამოიყოფა უფრო სწრაფად, ვიდრე R-(+)-ენანტიომერი.

მეთილონი ადამიანის ორგანიზმში (ღვიძლში) მეტაბოლიზმს განიცდის ორი განსხვავებული გზით (ნახაზი 30), პირველი O-დემეთილენირებით, რომლის შედეგადაც წარმოიქმნება 3,4-დიჰიდროქსი-N-მეთილკათინონი (HHMC). ეს უკანასკნელი სწრაფადვე გარდაიქმნება 4-ჰიდროქსი-3-მეთოქსი-N-მეთილკათინონად (HMMC), მეორე N-დემეთილირება, რომელიც წარმოქმნის 3,4-მეთილენდიოქსიკათინონს (MDC) [10,11].

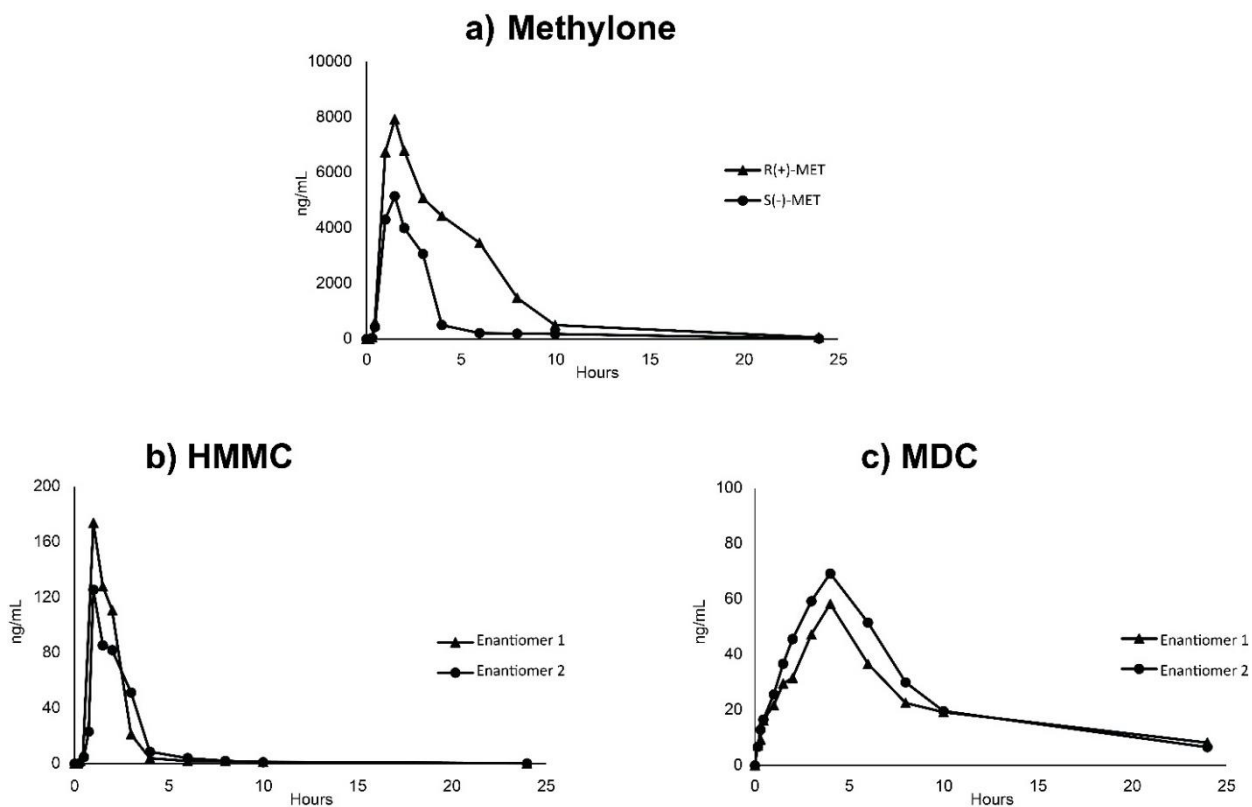


ნახაზი 30. მეთილონი და მისი მეტაბოლიზმის სქემა ცოცხალ ორგანიზმში.

ჩვენს მიერ ენანტიოსელექტიურად იქნა შესწავლილი მეთილონისა და მისი თოთეული მეტაბოლიტის კონცენტრაცია ადამიანის ორგანიზმში. მოხალისეებისთვის გამოყენებული კაფსულები შეიცავდა 50 მგ მეთილონს, რათა მომხდარიყო მეთილონის განსხვავებული დოზების მიცემა, 100, 150 და 200 მგ. ნერწყვის ნიმუშის აღება მოხდა 0.25, 0.5, 0.75, 1, 1.5, 2, 3, 4, 6, 8, 10 და 24 საათის ინტერვალში, ნიმუში აღებისთანავე ინახებოდა -20°C , სანამ მოხდებოდა მისი გაანალიზება. განმეორებითი კვლევები ტარდებოდა ყოველი 7 დღის შემდეგ. დავადგინეთ თითოეული ენანტიომერის კონცენტრაცია ამ დროის განმავლობაში და კონცენტრაციების ცვლილება დროის მიხედვით.

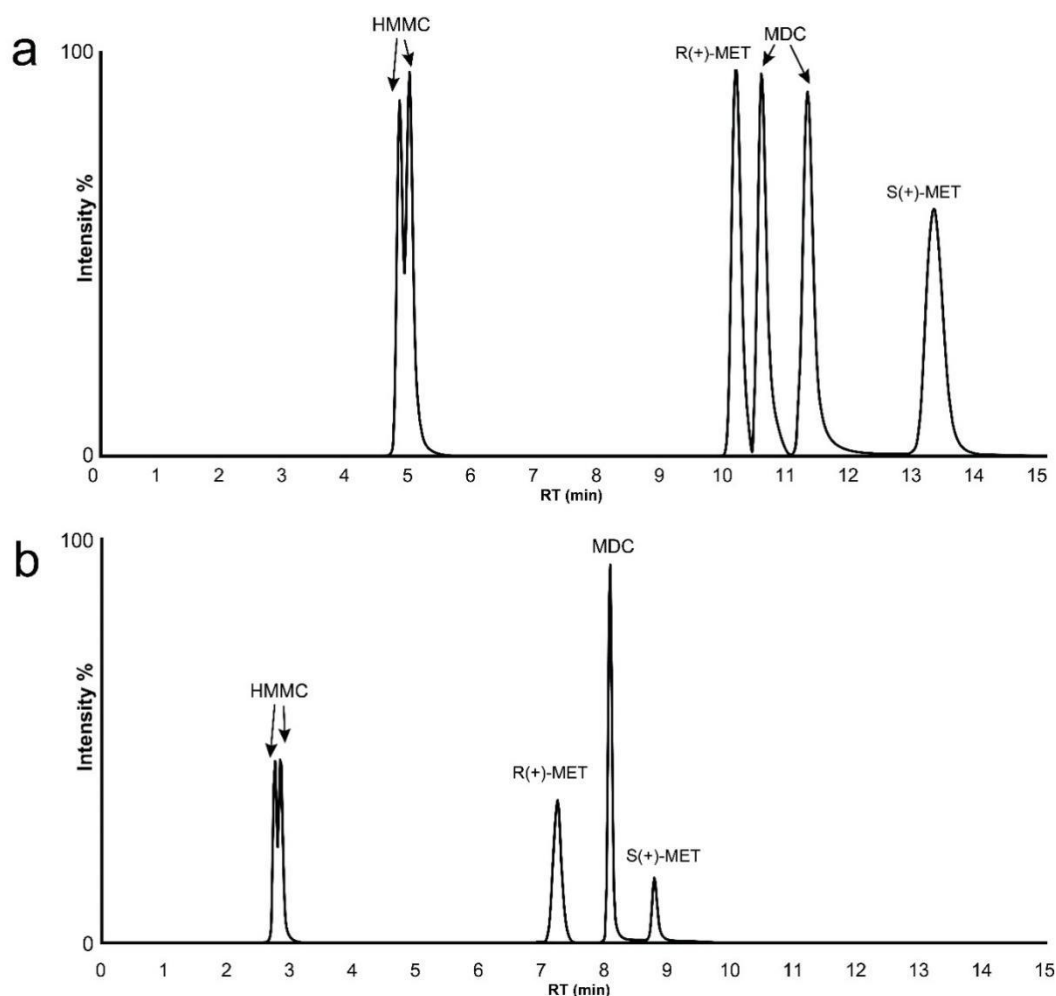


ნახაზი 31. მეთილონის და მისი მეტაბოლიტების ენანტიომერების კონცენტრაციის დროზე დამოკიდებულება ნერწყვში მოხალისის მიერ 150 მგ მეთილონის მიღებისას.



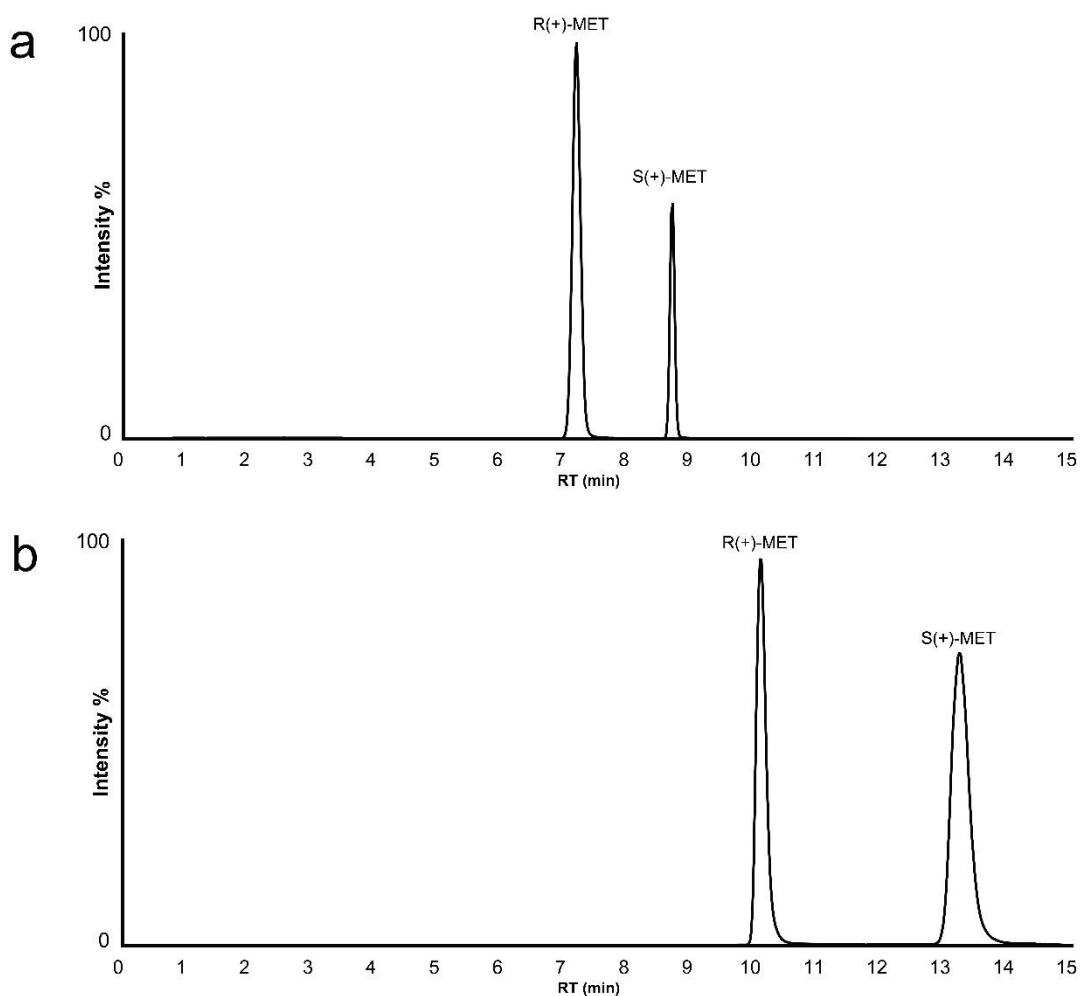
ნახაზი 32. მეთილონის და მისი მეტაბოლიტების ენანტიომერების კონცენტრაციის დროზე დამოკიდებულება ნერწყვში პირველი დოზის მიღებიდან 7 დღის შემდეგ მეთილონის ახალი 200 მგ ულუფის მიღებისას.

ჩვენს მიერ მოხდა რამდენიმე განსხვავებული მოძრავი ფაზის გამოყენება, ნახაზი 33-ზე წარმოდგენილია ქრომატოგრამა, რომელზეც მკვეთრად ჩანს განსხვავება, მეთილონისა და მისი მეტაბოლიტების დაყოფის მხრივ Lux AMP ქირალურ სელექტორსა და Lux i-Amylose-3 ქირალურ სელექტორს შორის.



ნახაზი 33. მეთილონის და მისი მეტაბოლიტების ენანტიოსელექტიური დაყოფა Lux AMP 33(b) ქირალური სვეტისა და Lux i-Amylose-3 33(a) ქირალური სვეტის გამოყენებით.

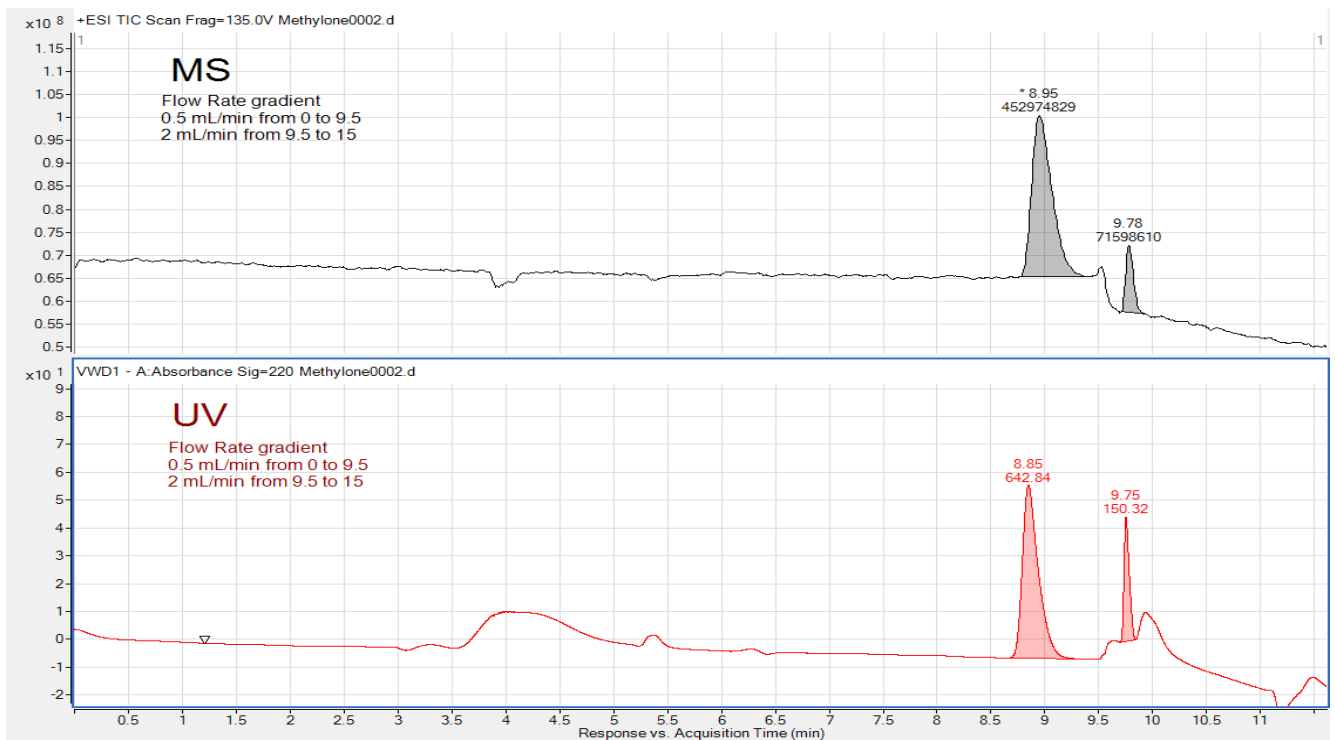
მეთილონის ენანტიომერების დაყოფა ორივე ქირალური სვეტის გამოყენებით მოხდა და ასევე არ შეცვლილა ენანტიომერების ელუირების რიგი. ნახაზი 34.



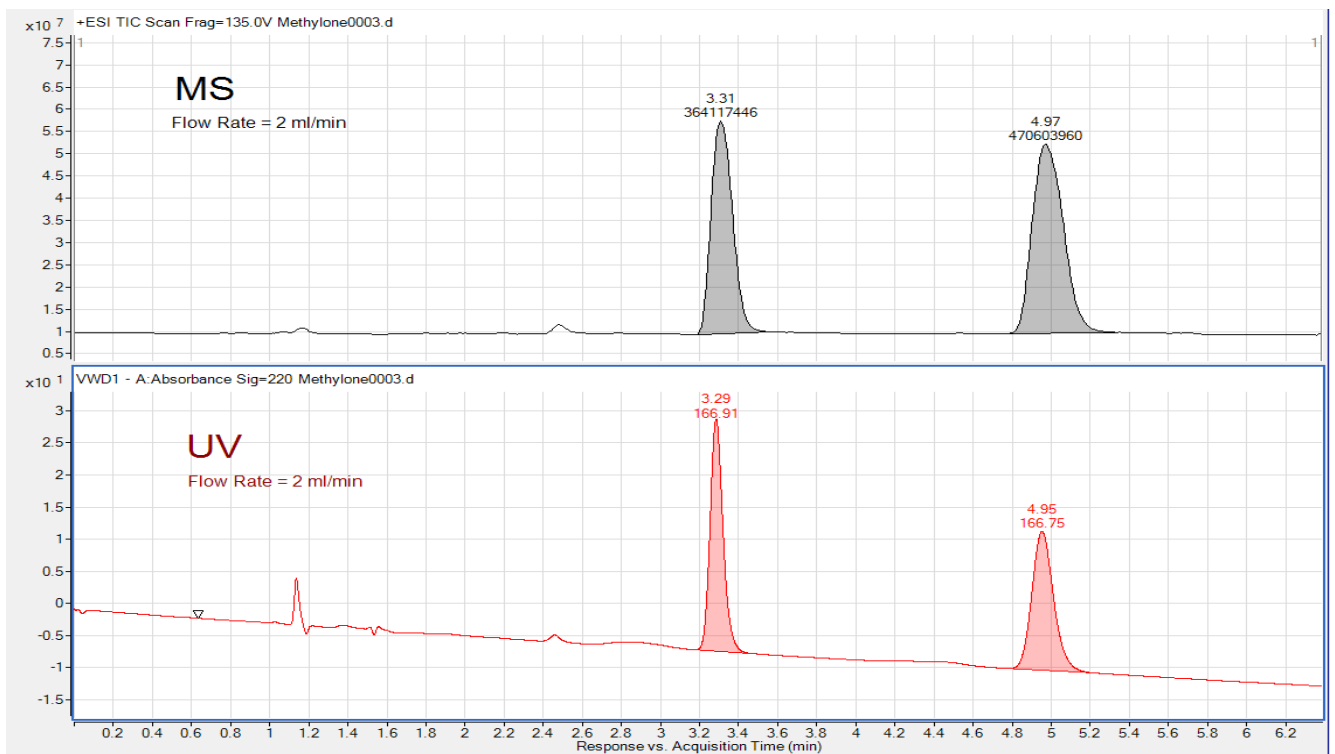
ნახაზი 34. მეთილონის ენანტიომერების დაყოფა Lux AMP (34a) ქირალური სვეტის და Lux i-Amylose-3 (34b) ქირალური სვეტის გამოყენებით.

როგორც ნახაზი 34a-ში ჩანს S(+) ენანტიომერის პიკის ფართობი გაცილებით მცირეა ვიდრე R(+) ენანტიომერის. თავდაპირველად, ვიფიქრეთ ხომ არ ხდებოდა იონიზაცია მას-სპექტრომეტრში ენანტიოსელექტიურად, ამის შესამოწმებლად პარალელურად ანალიზი ჩავატარეთ ულტრაიისფერ დეტექტორში და იგივე სურათი მივიღეთ, ამით გამოვრიცხეთ იონიზაციის მიზეზი.

შემდგომი დაკვირვების შედეგად დავადგინეთ რომ მოძრავი ფაზის ნაკადის გრადიენტის გამო მეორე ენანტიომერის ელუირება ხდებოდა გაზრდილი ნაკადით, რაც იწვევდა ენანტიომერის განზავებას. მეთილონის ენანტიომერების დაყოფა Lux amp სვეტზე ხდებოდა ზედმეტად კარგად, მეორე პიკის ელუირება ხდებოდა საკმაოდ გვიან, ამის გამო გამოვიყენეთ ნაკადის გრადიენტი და დავაჩქარეთ მეორე ენანტიომერის ელუირება.



ნახაზი 35. მეთილონის ენანტიომერების დაყოფა Lux AMP ქირალური სვეტის გამოყენებით ერთდროული მას-სპექტრომეტრის და ულტრაიისფერი დეტექტორის გამოყენებით. მოძრავი ფაზის გრადიენტული მეთოდის გამოყენებით.



ნახაზი 36. მეთილონის ენანტიომერების დაყოფა Lux AMP ქირალური სვეტის გამოყენებით ერთდროული მას-სპექტრომეტრის და ულტრაიისფერი დეტექტორის გამოყენებით. მოძრავი ფაზის იზოკრატული მეთოდის გამოყენებით.

4.2 კლუფედრონის და მისი ფაზა-1 მეტაბოლიტების ერთდროული ენანტიოსელექტიური ანალიზის სითხური ქრომატოგრაფია-მას სპექტრომეტრული მეთოდის დამუშავება ბიოლოგიურ ნიმუშებში

პროექტის ფარგლებში ანალიზურ მეთოდად გამოვიყენეთ სითხური ქრომატოგრაფიისა და მას-სპექტრომეტრიის ტანდემი, ქირალურ სელექტორად გამოვიყენეთ 9 სხვადასხვა პოლისაქარიდული ქირალური სვეტები. ყველა ქირალური სვეტის ზომა იყო 250 მმ x 4.6 მმ, ენანტიოსელექტიურად ყველაზე კარგი დაყოფა მივიღეთ ამილოზა ტრის (3-ქლორო-5-დიმეთილფენილკარბამატი)-ის და Lux AMP-ის სვეტზე. ასევე მოვახდინეთ მოძრავი ფაზების ოპტიმიზაცია და ყველაზე კარგი დაყოფა მივიღეთ აცეტონიტრილი/წყალი 97/3 პროცენტიათი თანაფარდობით, რომელსაც დამატებული ჰქონდა 5 მილიმოლი ამონიუმის აცეტატი, რაც არამარტო კლუფედრონის და მისი მეტაბოლიტების ქრომატოგრაფიული დაყოფის საშუალებას, არამედ მათი ენანტიომერების დაყოფის საშუალებასაც გვაძლევს.

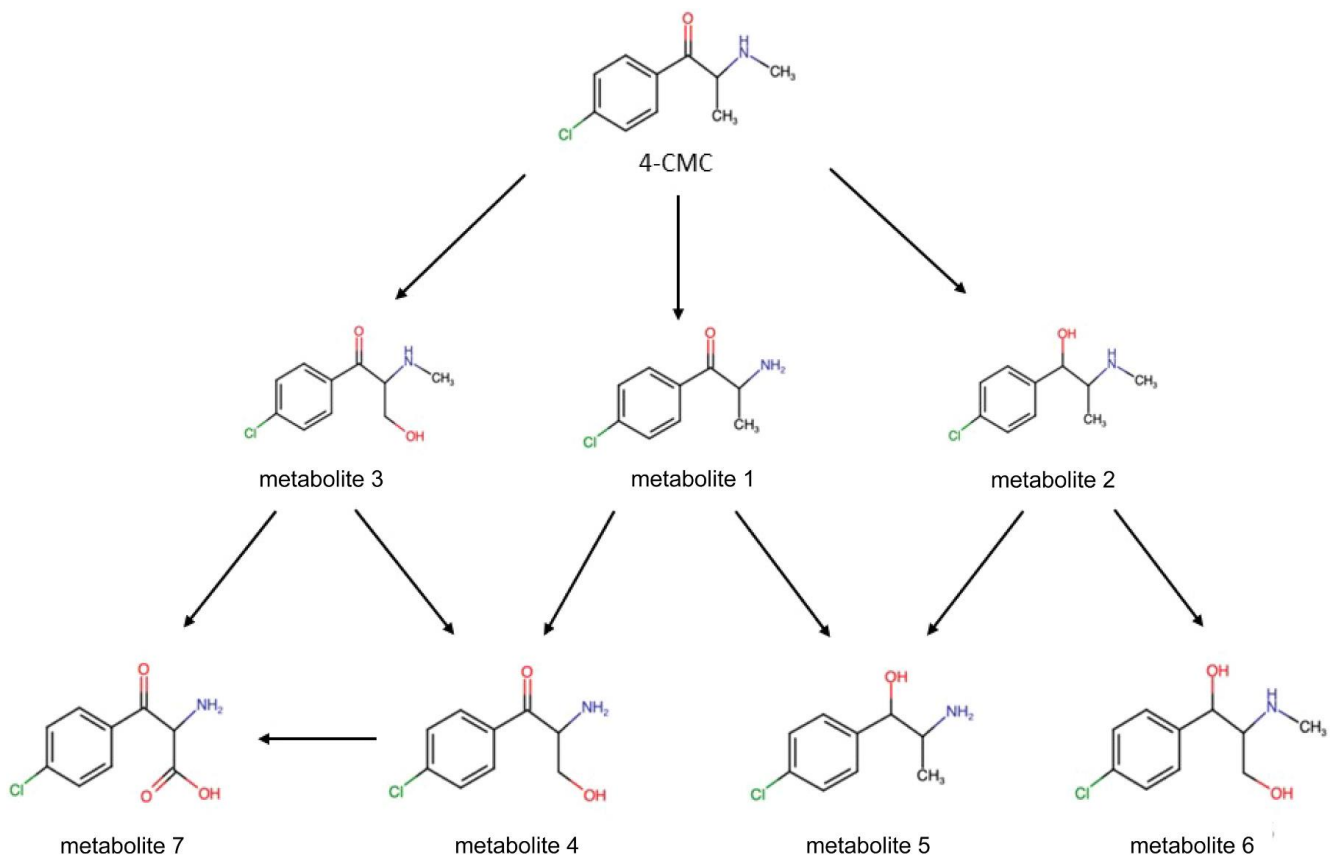
რამდენადაც ჩვენ ვიცით, აქამდე არ იყო არცერთი ნაშრომი გამოქვეყნებული და არ არსებობდა მეთოდი 4-CMC-ის და მისი ფაზა-1 მეტაბოლიტების ენანტიოსელექტიური განსაზღვრის შესახებ ადამიანის ბიოლოგიურ მატრიცებში და ასევე არ არის ხელმისაწვდომი მონაცემები შესაძლო ენანტიოსელექტიური მეტაბოლიზმისა და ფარმაკოკინეტიკის შესახებ არც *in-vitro* და არც *in-vivo* კვლევებით.

საიმედო ენანტიოსელექტიური მეთოდის დამუშავება 4-CMC და მისი ფაზა-1 მეტაბოლიტებისთვის HPLC-MS/MS ხელსაწყოს გამოყენებით რაოდენობრივი განსაზღვრისათვის ბიოლოგიურ ნიმუშებში, რამდენიმე სირთულესთან იყო დაკავშირებული: 1) 4-CMC არალეგალურ ბაზარზე ხელმისაწვდომია თავის ორ იზომერთან ერთად, 2- და 3-CMC. არსებობდა გაზურ ქრომატოგრაფზე მათი დაყოფის მეტნაკლებად მისაღები მეთოდი, თუმცა არ არსებობდა სითხური ქრომატოგრაფის გამოყენებით ასეთი მეთოდი; 2) 4-CMC, ისევე როგორც მისი იზომერები, არის ქირალური ნივთიერებები, მათ აქვთ ერთი ქირალური ცენტრი. ეს ნივთიერებები ენანტიომერულად სუფთა სახით არ არის კომერციულად მისაწვდომი; 3) გამოქვეყნებულ ნაშრომებზე და ჩვენს საკუთარ ექსპერიმენტებზე დაყრდნობით შეგვიძლია დავასკვნათ, რომ 4-CMC განიცდის ინტენსიურ მეტაბოლიზმს ცოცხალ ორგანიზმში და წარმოქმნის მინიმუმ 7 ფაზა-1

მეტაბოლიტს, მათგან მხოლოდ ორი არის ხელმისაწვდომი სტანდარტული ხსნარის სახით. ამრიგად, სტანდარტების მიუწვდომლობა შეუძლებელს ხდის მათ რაოდენობრივი განსაზღვრას ბიოლოგიურ ობიექტებში; 4) ყველა ფაზა-1 მეტაბოლიტი ქირალურია, რამოდენიმე მათგანი შეიცავს 2 ქირალურ ცენტრს კარბონილის ჯგუფის აღდგენის გამო. ამრიგად, ბიოლოგიურ ნიმუშებში დიდი რაოდენობითაა სტერეოიზომერები და ენანტიომერები; 5) როგორც მოხსენებულია წინა კვლევებში და დადასტურებულია წინამდებარე კვლევაში, 4-CMC და მისი პოზიციური იზომერები ქიმიურად არასტაბილურია, განსაკუთრებით სისხლში და ზოგიერთ სხვა ბიოლოგიურ მატრიცაში.

ამის საფუძველზე, წინამდებარე კვლევის მიზნები იყო ენანტიოსელექტიური მეთოდის დამუშავება 4-CMC და მისი ფაზა-1 მეტაბოლიტებისთვის HPLC-MS/MS ხელსაწყოთა გამოყენებით და ამ მეთოდის გამოყენება ადამიანის ნერწყვში და შარდის ნიმუშებში ამ ნივთიერებების განსაზღვრის მიზნით.

მეთოდის ვალიდაცია მოხდა შესაბამისი საერთაშორისო ნორმატივების მიხედვით. მოცემული ანალიზის ერთ-ერთი უპირატესობა არის ანალიზის მოკლე დრო. ამ მეთოდის გამოყენება წარმატებით მოხდა კლეფედრონის და მისი მეტაბოლიტების ენანტიოსელექტიური ფარმაკოკინეტიკის შესასწავლად.



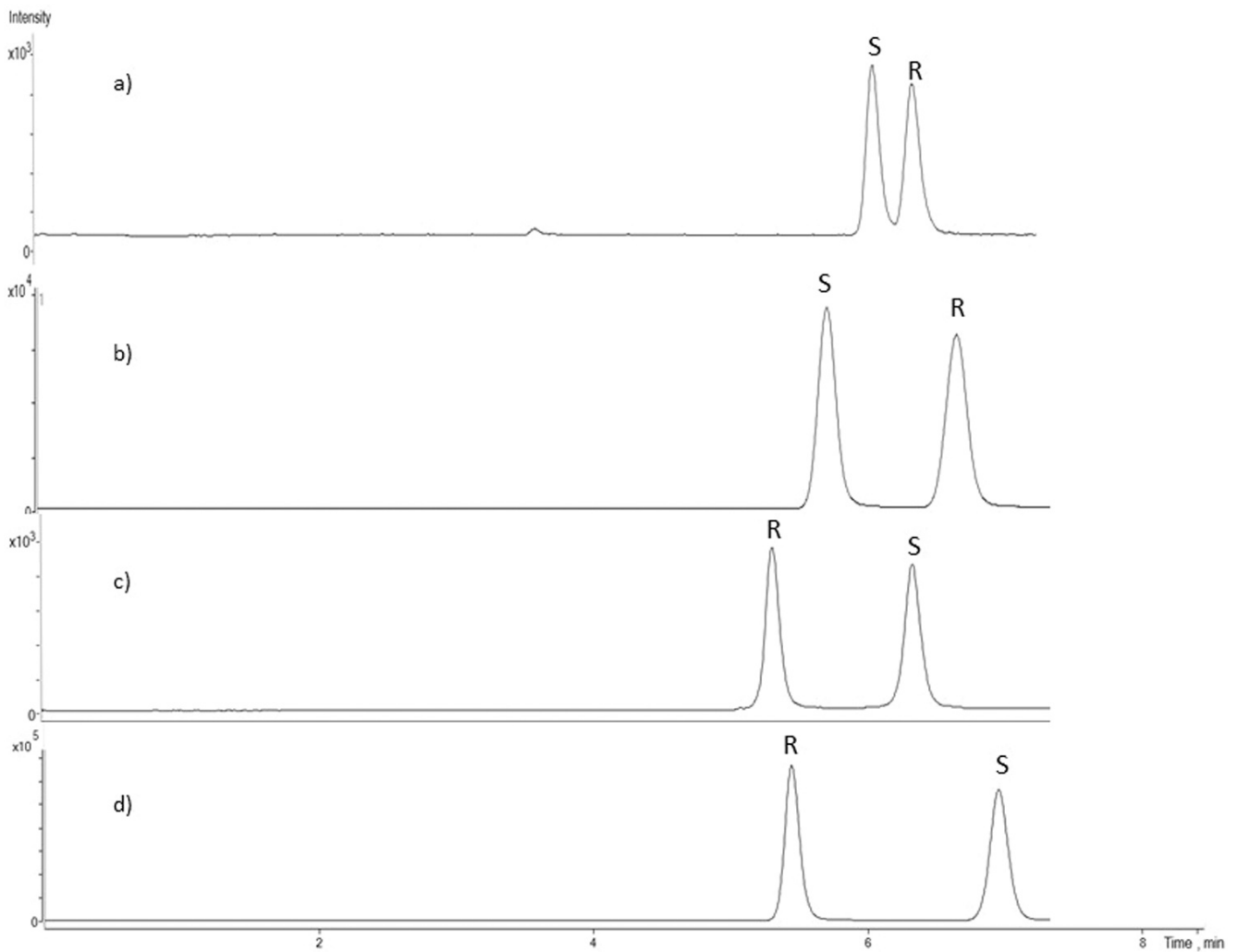
ნახაზი 37. კლეფედრონისა და მისი მეტაბოლიზმი ორგანიზმში

ჩვენ შევიმუშავეთ პირველი ენანტიოსელექტიური მეთოდი მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფია-მას სპექტრომეტრიის გამოყენებით ფსიქოაქტიური ნივთიერების კლეფედრონის და მისი ძირითადი მეტაბოლიტების ანალიზისათვის ადამიანის ნერწყვში.

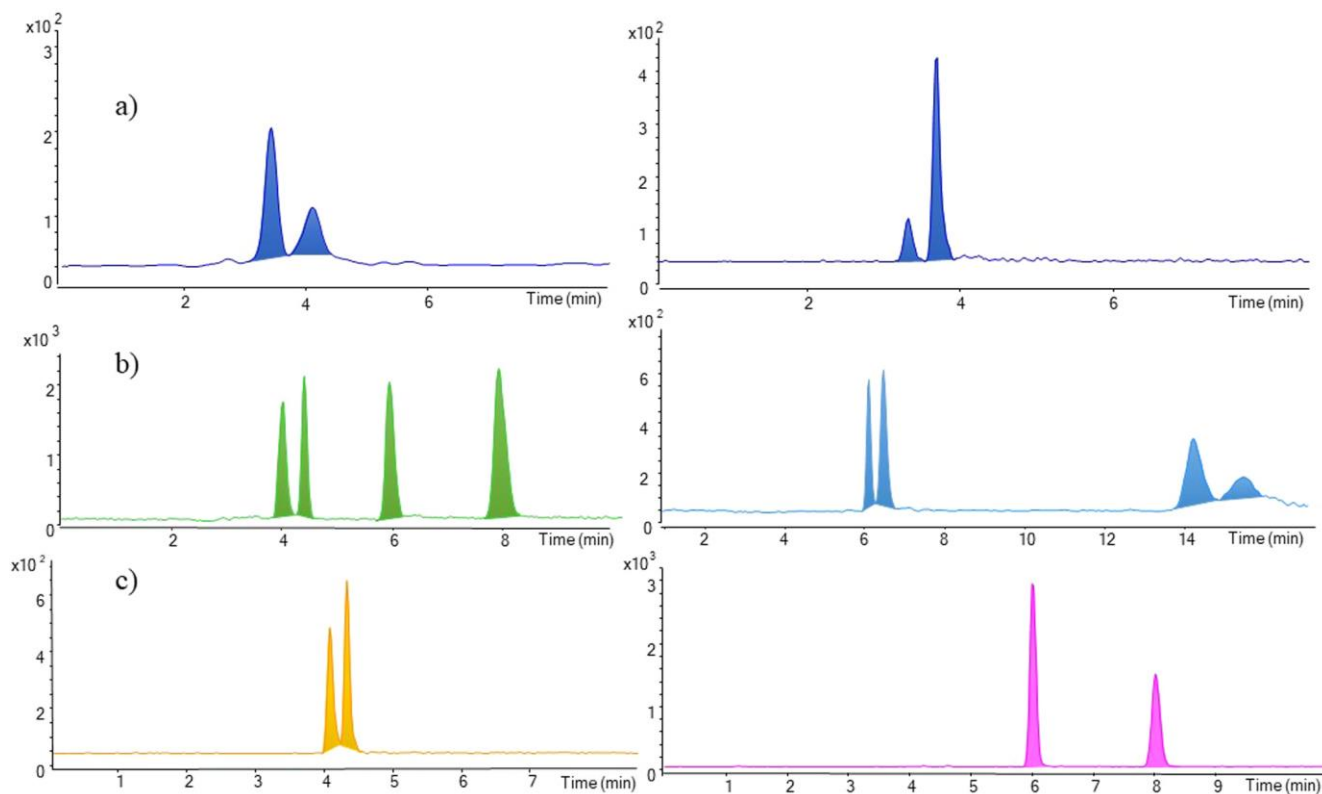
კლეფედრონი ადამიანის ორგანიზმში (ღვიძლში) მეტაბოლიზმს განიცდის და წარმოქმნის შვიდ სხვადასხვა მეტაბოლიტს, რომელთა ანალიზი მოხდა ჩვენს მიერ შერჩეული მეთოდის საშუალებით.

ჩვენს მიერ ენანტიოსელექტიურად შესწავლილი იქნა კლეფედრონის და მისი თოთხული ენანტიომერის კონცენტრაცია ადამიანის ორგანიზმში. კლინიკური კვლევები ჩატარებულ იქნა ესპანეთში, მოხალისეებისთვის გამოყენებული კაფსულები შეიცავდა 50 მგ კლეფედრონს, რათა მომხდარიყო კლეფედრონის განსხვავებული დოზების (100, 150 და 200 მგ) მიცემა. ნერწყვის ნიმუშის აღება მოხდა 0, 0.3, 1, 1.5, 2, 3, 4, და 5 საათის ინტერვალში, ნიმუში აღებისთანავე ინახებოდა -20°C , საწამ მოხდებოდა მისი გაანალიზება. დავადგინეთ

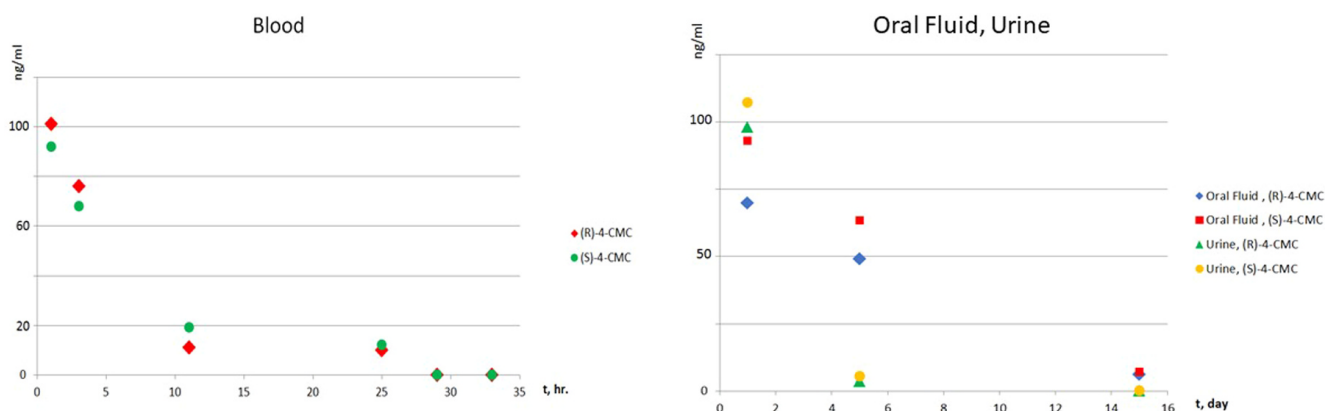
თითოეული ენანტიომერის კონცენტრაცია ამ დროის განმავლობაში და კონცენტრაციების ცვლილება დროის მიხედვით.



ნახაზი 38. კლუფედრონის ენანტიომერების დაყოფა Lux i-Amylose-3 სვეტზე (a,c), Lux AMP სვეტზე (b,d), მოძრავი ფაზა აცეტონიტრილი + 3% წყალი + 5 მილიმოლური ამონიუმის აცეტატი (a,b) და მეთანოლი + 5 წყალი + 5 მილიმოლური ამონიუმის ბიკარბონატი pH=11.0 (c,d).



ნახაზი 39. 4-CMC მეტაბოლიტი 1-ის (a) სტერეოიზომერების დაყოფა, Lux AMP და Lux Cellulose-1 სვეტებზე (a), შესაბამისად მარცხენა და მარჯვენა, მეტაბოლიტი 2-ის სტერეოიზომერების დაყოფა, Lux AMP და Lux i-Amylose-3 სვეტებზე (a), შესაბამისად მარცხენა და მარჯვენა და მეტაბოლიტი 4-ის სტერეოიზომერების დაყოფა, Lux Cellulose-1 და Lux Cellulose-3 სვეტებზე (c), შესაბამისად მარცხენა და მარჯვენა. მოძრავი ფაზა მეთანოლი + 5 წყალი + 5 მილიმოლური ამონიუმის ბიკარბონატი pH=11.0 Lux AMP სვეტისთვის, ხოლო სხვა დანარჩენი სვეტებისთვის აცეტონიტრილი + 3% წყალი + 5 მილიმოლური ამონიუმის აცეტატი.



ნახაზი 40. 4-CMC-ის კონცენტრაციის დროზე დამოკიდებულების გრაფიკი. ინკუბაცია განხორციელდა სისხლში, ნერწყვში და შარდში 23°C-ზე.

ახალი ფსიქოტროპული ნივთიერებების ბიოანალიზი მნიშვნელოვან გამოწვევებს აწყდება მათი სტანდარტების არარსებობის გამო, განსაკუთრებით მათი მეტაბოლიტების სტანდარტების არარსებობის გამო. როდესაც ისინი ქირალური ნივთიერებებია, მაშინ დამატებითი გამოწვევები წარმოიქმნება მათი ენანტიომერულად სუფთა სტანდარტების არარსებობის გამო. ასევე, თუ ახალი ფსიქოტროპული ნივთიერება არის სინთეზური კათინონი, მაშინ ძირითადი ნაერთის და მისი მეტაბოლიტების არასტაბილურობა ბიოლოგიურ მატრიცებსა და გამხსნელებში, როგორც ნიმუშის მომზადების დროს, ასევე ქრომატოგრაფიული დაყოფის დროს, დამატებით პრობლემებს ქმნის. ყველა ეს საკითხი გულდასმით უნდა იქნას განხილული, რათა შემუშავდეს საიმედო ენანტისელექტიური ბიოანალიზური მეთოდი ახალი ფსიქოტროპული ნივთიერებისთვის და მისი ფარმაცოლოგიურად აქტიური მეტაბოლიტების ერთდროული ანალიზისთვის ბიოლოგიურ მატრიცებში. ამ კვლევაში აღწერილი HPLC-MS/MS მეთოდი საშუალებას იძლევა ბიოლოგიურ ნიმუშებში 4-CMC და მისი ფაზა-1 მეტაბოლიტების ერთდროული ენანტისელექტიური ანალიზისთვის.

4.3 2-, 3- და 4-ქლორმეთკათინონების სტერეოქიმიური სტაბილურობის გამოკვლევა სხვადასხვა ბიოლოგიურ მატრიცაში

ნარკოდამოკიდებული პირების მხრიდან ფართოდ გამოყენებული ნარკოტიკული საშუალებების 2-, 3- და 4-ქლორმეთკათინონის სტერეოქიმიური სტაბილურობა შესწავლილი იყო მოძრავ ფაზაში, რომელიც გამოიყენება მისი ენანტიომერების დასაყოფად მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფიით (HPLC), ასევე მოხდა იგივე მიმართულებით მოცემული პრეპარატის შესწავლა სხვადასხვა ბიოლოგიურ მატრიცებში, როგორცაა სისხლი, ნერწყვი, და შარდი. თითოეული შემთხვევაში ამ ნივთიერებისთვის განისაზღვრა მათი პირველი რიგის რაცემიზაციის რეაქციების სიჩქარის მუდმივები და ნახევარგარდაქმნის პერიოდი. აღმოჩნდა, რომ 25 °C ტემპერატურაზე, რაცემიზაციის სიჩქარის მუდმივა მცირდება შემდეგი თანმიმდევრობით: 2-CMC > 3-CMC > 4-CMC. მათი სტერეოქიმიური სტაბილურობა ბიოლოგიურ მატრიცებში მცირდება თანმიმდევრობით: შარდი > ნერწყვი > სისხლი. ეს ინფორმაცია მნიშვნელოვანია ამ ნივთიერებების ენანტიომერულად სუფთა ფრაქციების სათანადოდ შესანახად და ადამიანის ორგანიზმში მათ ენანტიოსელექტიურ ტრანსფორმაციაზე ორიენტირებული კვლევებში გასათვალისწინებლად.

კათინონები არის სინთეზური ქიმიური ნაერთების დიდი ჯგუფი, რომლებსაც აქვთ კათინონის მსგავსი სტრუქტურა. კათინონის წარმოებულები არის ახალი ფსიქოაქტიური ნივთიერებების (NPS) სიდიდით მეორე ჯგუფი ნარკოტიკების ევროპულ ბაზარზე. მათ შორის, 3-ქლორმეთკათინონი (3-CMC) შეადგენდა 2022 წელს ამოღებული ნარკოტიკული საშუალებების მთლიანი რაოდენობის 60 %-ზე მეტს [20]. 3-CMC (კლოფედრონი, მეტაკლოფედრონი) და 4-ქლორმეთკათინონი (4-CMC, კლეფედრონი) პირველად აღმოაჩინეს ნარკოტიკულ ნივთიერებათა არალეგალურ ბაზარზე ევროგაერთიანების ქვეყნებში 2014 წელს [18-21]. 2020 წლამდე, 4-CMC-ის ბოროტად გამოყენება ფიქსირდებოდა უფრო ხშირად, ვიდრე 3-CMC [20,21]. თუმცა, როგორც კი 2020 წელს 4-CMC კონტროლირებადი გახდა ნარკომანიის წინააღმდეგ ბრძოლის საერთაშორისო კანონებით, 3-CMC-ის ამოღება მნიშვნელოვნად გაიზარდა [23]. უახლესი სტატისტიკის თანახმად, 3-CMC ახლა არის ყველაზე ფართოდ გავრცელებული ნარკოტიკი. კვლევები ასევე აჩვენებს, რომ 2-CMC პოპულარული ხდება ნარკომიმწოდებლებში და მომხმარებლებში [20]. მნიშვნელოვანია აღინიშნოს, რომ მსოფლიოს კრიმინალისტური ლაბორატორიები ამ

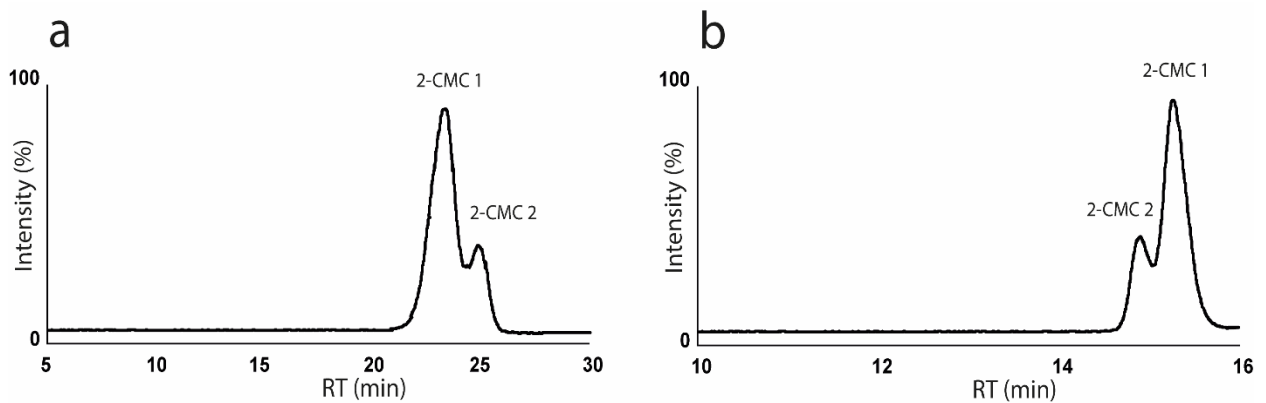
ეტაპზე არ იყენებს მეთოდებს, რომლებიც ერთმანეთისგან განასხვავებენ 2-, 3- და 4-CMC იზომერებს. ამ იზომერების განსხვავება მხოლოდ მას-სპექტრომეტრით თითქმის შეუძლებელია. ეს შეიძლება განხორციელდეს ქრომატოგრაფიული დაყოფის მეთოდის მასის სპექტრომეტრთან კომბინაციით [24,26-30]. როდესაც ლაბორატორია ვერ განასხვავებს 2-, 3- და 4-CMC, კეთდება დასკვნა იმის შესახებ, რომ მოხმარებული იზომერი იყო 4-CMC (კლეფედრონი). ჩვენმა ბოლო კვლევამ ნერწყვის ნიმუშების მცირე ჯგუფზე (9 ნიმუში) აჩვენა, რომ დღესდღეობით 3-CMC მოიხმარება უფრო ხშირად, ვიდრე 4-CMC (მაგალითად, ბელგიაში 2023 წელს) [24]. იმავე კვლევამ ასევე აჩვენა, რომ 2-CMC-ის გამოყენებაც საკმაოდ ხშირია [24].

ჩვენ შევიმუშავეთ მეთოდები HPLC-MS/MS-ისთვის 4-CMC და მისი ძირითადი ფაზა-1 მეტაბოლიტების ენანტიოსელექტიური რაოდენობრივი განსაზღვრისთვის ბიოლოგიურ სითხეებში [24]. ჩვენ გამოვიყენეთ ეს მეთოდები ადამიანის ბიოლოგიურ ნიმუშებზე კონტროლირებადი კლინიკური გამოკვლევებიდან [24] და ნერწყვის ნიმუშებზე, რომლებიც შეგროვდა ბელგიაში სატრანსპორტო პოლიციის მიერ [25]. ჩვენდა გასაკვირად, ყველა ეს ნიმუში შეიცავდა კლეფედრონს, ძირითადად, მათი რაცემული ფორმით. ამ დაკვირვებამ და CMC-ების ბიოლოგიურ მატრიცებში ქიმიური არასტაბილურობის შესახებ ლიტერატურაში არსებულმა მონაცემებმა [26,27,28], გააჩინა ეჭვი CMC-ების სტერეოქიმიური არასტაბილურობის შესახებ. ამრიგად, კვლევის მთავარი მიზანი იყო 2-, 3- და 4-CMC-ის რაოდენობრივი ანალიზის მეთოდების შემუშავება, რომელიც განხორციელდა ჩვენი კვლევითი ჯგუფის მიერ და მათი სტერეოქიმიური სტაბილურობის გამოკვლევა ენანტიოსელექტიური HPLC-MS/MS გამოყენებით.

მიღებული ფრაქციების ენანტიომერული სისუფთავე

2-CMC-ის ენანტიომერების დაყოფა ყველაზე დაბალი სელექტიურობით მოხდა, ხოლო 4-CMC-ის ყველაზე მაღალით. 3-CMC და 4-CMC ენანტიომერების დაყოფა შესაძლებელია, ისევე როგორც მათი გაანალიზება იმავე მოძრავ ფაზაში და, შესაბამისად, მათი სტერეოქიმიური სტაბილურობის შედარება ამ მოძრავ ფაზაში უფრო გამართლებულია. 2-CMC ენანტიომერების დაყოფა (ნახ. 27a) ქირალურ სელექტორთან მათი დაბალი აფინურობის გამო იყო უფრო რთული და საჭირო იყოს განსხვავებული მოძრავი ფაზის გამოყენება, მეთანოლი და 50% (მოცულობითი თანაფარდობა) 5 მმ ამონიუმის

ბიკარბონატის ბუფერი pH 11.0., სწორედ ამ მოძრავი ფაზით, ხოლო განსხვავებული თანაფარდობის (90:10) გამოყენებით მოხდა 3-CMC და 4-CMC ენანტიომერების ფუძისეული დაყოფა (ნახ. 27b და 27c). ამრიგად, 2-CMC-ის დაბალი სტერეოქიმიური სტაბილურობა, რომელიც დაფიქსირდა ამ კვლევაში, შეიძლება გამოწვეული იყოს არა მხოლოდ მისი სტრუქტურული თავისებურებით, არამედ ნაწილობრივ მაინც ასევე მოძრავი ფაზის ბუნებით, რომელშიც ფრაქციები შეგროვდა, ინახებოდა და გაანალიზდა. ქრომატოგრაფიული ანალიზის დროს 2-CMC ენანტიომერების რაცემიზაციის თავიდან აცილების მიზნით, იგი შეგროვდა Lux AMP სვეტზე, ინახებოდა მოძრავ ფაზაში, რომელიც გამოიყენებოდა ფრაქციებისთვის და შემდგომ გაანალიზებული იყო Lux Cellulose-1 სვეტზე სხვადასხვა მოძრავ ფაზაში. უნდა აღინიშნოს, რომ 2-CMC ენანტიომერების ელუირების რიგი იყო ერთმანეთის საპირისპირო ორ სვეტზე (ნახ. 41).



ნახაზი 41. 2-CMC ენანტიომერების ელუირების რიგის ცვლილება. შეგროვდა Lux AMP სვეტზე (41a) და შემდგომ გაანალიზებული იყო Lux Cellulose-1 სვეტზე (41b).

პირველი რიგის კინეტიკური პარამეტრები 2-, 3- და 4-CMC ენანტიომერების რაცემიზაციისთვის

ქრომატოგრამები, რომლებიც ასახავს 3-CMC-სთვის შეგროვებული ფრაქციების ენანტიომერულ შემადგენლობას შეგროვებიდან 4, 6 და 26 საათის მოძრავ ფაზაში ოთახის ტემპერატურაზე შენახვის შემდეგ, ნაჩვენებია ნახ. 28-ზე. პროცესები მიმდინარეობს შედარებითი მაღალი სიჩქარით. ტემპერატურის გავლენა რაცემიზაციის პროცესზე გამოსახულია ნახ. 29-ზე 4-CMC ენანტიომერებისთვის. როგორც ჩანს, 4-CMC ენანტიომერების სტერეოქიმიური სტაბილურობის გასაუმჯობესებლად საჭიროა შენახვა დაბალ ტემპერატურაზე.

2-, 3- და 4-CMC ენანტიომერების რაცემიზაციის პროცესის კინეტიკა საკმაოდ კარგად აღიწერება კლასიკური პირველი რიგის რეაქციის სიჩქარის განტოლებით (განტოლება 6) როგორც შეგროვების მოძრავ ფაზაში შენახვის შემთხვევაში, ასევე სხვა შემთხვევაშიც. სამივე შესწავლილი მატრიციდან:

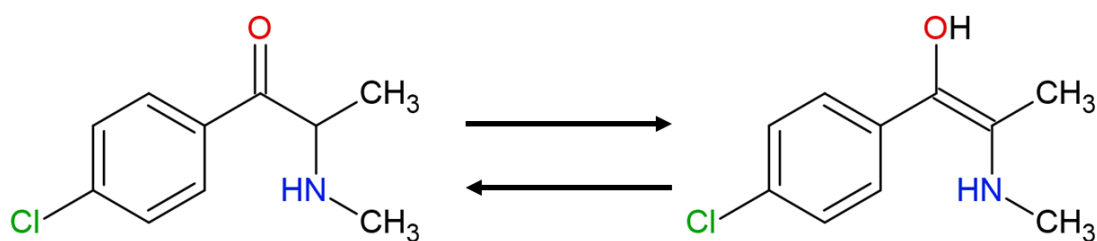
$$C_t = C_0 \times e^{-kt} \quad (6)$$

2-, 3- და 4-CMCs ენანტიომერების რაცემიზაციის ნახევარდაშლის პერიოდების საშუალო მნიშვნელობები სხვადასხვა ტემპერატურაზე შეჯამებულია ცხრილში 4. ეს მონაცემები ნათლად მიუთითებს, რომ შესწავლილი CMC-ების სტერეოქიმიური სტაბილურობა 25 °C-ზე მცირდება შემდეგი თანმიმდევრობით: 4-CMC > 3-CMC > 2-CMC. უნდა აღინიშნოს, რომ 2-CMC-ის მნიშვნელოვნად დაბალი სტერეოქიმიური სტაბილურობის მიზეზი მის ქიმიურ სტრუქტურასთან ერთად შეიძლება იყოს მაღალი pH (pH 11.0)-ის მქონე ბიკარბონატული ბუფერის მაღალი შემცველობა შეგროვების დროს გამოყენებულ მოძრავ ფაზაში, რომელში ასევე ხდებოდა ამ ენანტიომერის შენახვა. CMC ენანტიომერების ამ დაბალმა სტერეოქიმიურმა სტაბილურობამ შეიძლება ახსნას ჩვენს ადრინდელ კვლევებში მოხსენებულ კლინიკურ და კრიმინალისტურ ნიმუშებში გამოვლენილი თითქმის რაცემული CMC-ები [29,30].

ცხრილი 4. 4-CMCs ენანტიომერების რაცემიზაციის ნახევარდაშლის პერიოდების (სთ.) საშუალო მნიშვნელობები სხვადასხვა ტემპერატურაზე.

ტემპ., °C	2-CMC	3-CMC	4-CMC
	მეთანოლი და 10% (მოცულობითი თანაფარდობა) 5 მმ ამონიუმის ბიკარბონატი pH 11.0-ზე	მეთანოლი და 10% (მოცულობითი თანაფარდობა) 5 მმ ამონიუმის ბიკარბონატი pH 11.0-ზე	მეთანოლი და 50% (მოცულობითი თანაფარდობა) 5 მმ ამონიუმის ბიკარბონატი pH 11.0-ზე
-25	10.2±0.1	1751.6±0.9	607.5±2.0
+5	6.9±0.2	161.3±0.9	115.3±3.0
+25	2.3±0.5	28.6±0.9	37.5±4.0

საინტერესოა აღინიშნოს 3-CMC-ის სტერეოქიმიური სტაბილურობა 5 °C-ზე და -25 °C-ზე უფრო მაღალი იყო 4-CMC-თან შედარებით (ცხრილი 4) ეს აიხსნება 3-CMC-ის რაცემიზაციის უფრო მაღალი აქტივაციის ენერგიით 4-CMC-თან შედარებით ($52,5 \pm 1,2$ და $35,3 \pm 2,4$ კჯ/მოლი, შესაბამისად). დიდი ალბათობით, რაცემიზაცია მიმდინარეობს 4-CMC-სთვის ნაჩვენები რეაქციის სქემით (ნახაზი 42). კარგად არის ცნობილი, რომ ქირალური კარბონილის ჯგუფის შემცველი ნაერთებმა, რომლებიც შეიცავს ენოლიზირებად წყალბადს სტერეოგენურ ცენტრთან (C α), შეიძლება განიცადონ რაცემიზაცია კეტო-ენოლური ტაუტომერიზაციის გზით. იმის გათვალისწინებით, რომ ამ კვლევის ფარგლებში გამოყენებული ქლორმეთილკათინონები ხასიათდება ზემოთ ხსენებული სტრუქტურული ელემენტით, ჩვენს მიერ გამოყენებულ ქრომატოგრაფიულ პირობებში ბუფერის უკიდურესად მაღალი pH მნიშვნელობებისა და პოლარული გამხსნელების გამოყენებით, რაცემიზაცია შეიძლება მოხდეს აქირალური ენამინოლ ტაუტომერის წარმოქმნის გზით (ნახაზი 42). ამ შემთხვევაში, მოძრავ ფაზაში ბუფერის შემცველობის გაზრდა, განსაკუთრებით pH 11.0-ის მქონე მოძრავ ფაზაში, ნამდვილად ხელს შეუწყობს რაცემიზაციას. ეს შეიძლება იყოს, ნაწილობრივ იმის ახსნა, თუ რატომ განიცდის 2-CMC ენანტიომერები მნიშვნელოვნად უფრო სწრაფი რაცემიზაციას 3-, და განსაკუთრებით 4-CMC-თან შედარებით.

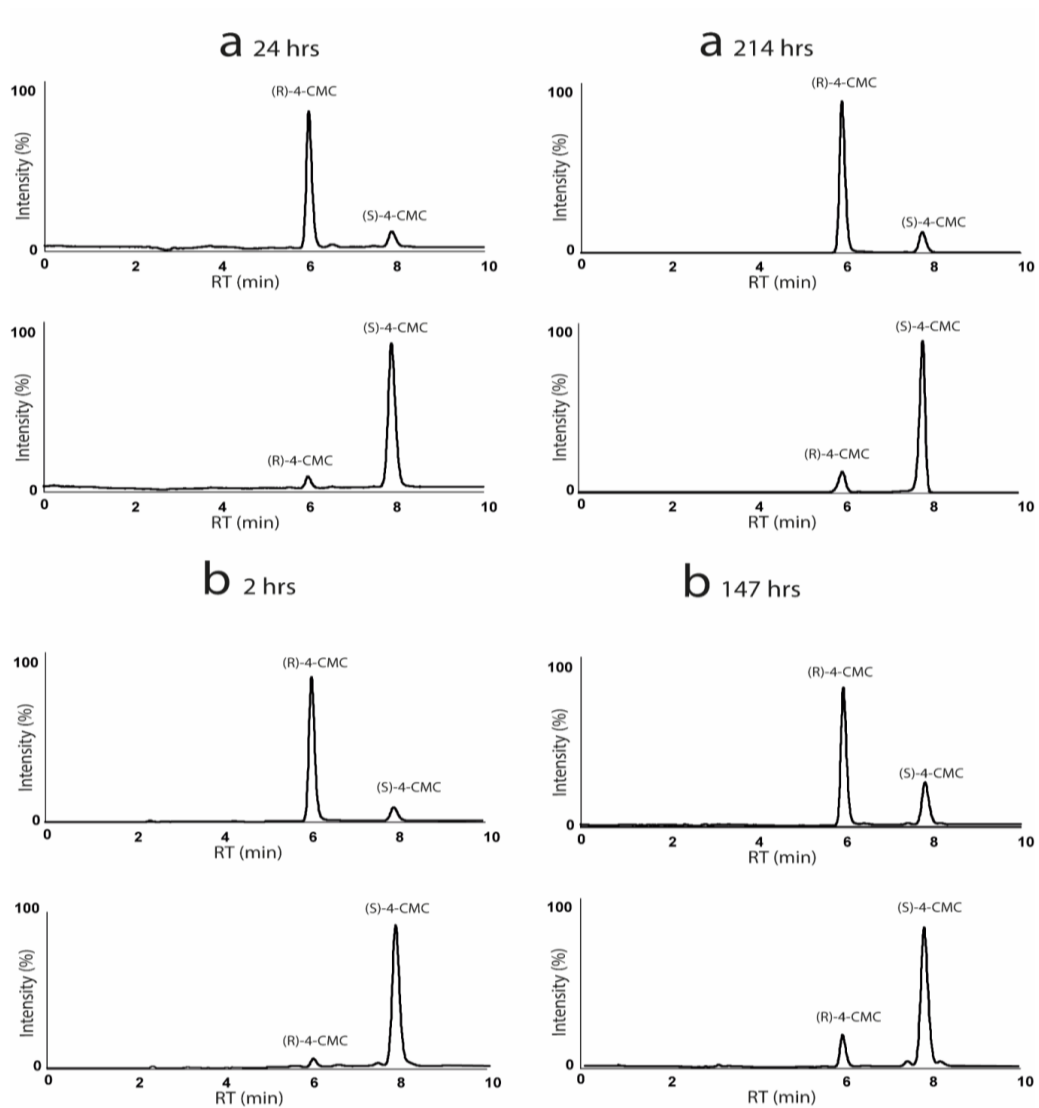


ნახაზი 42. რაცემიზაციის შესაძლო სქემა ნაჩვენები 4-CMC-ის მაგალითზე.

CMC ენანტიომერების სტერეოქიმიური სტაბილურობა ბიოლოგიურ მატრიცებში.

ამ ნაერთების სტერეოქიმიური სტაბილურობა განსაკუთრებულ ინტერესს იწვევს ბიოლოგიურ ნიმუშებში [31,32]. როგორც აქამდე დავადგინეთ, CMC-ები ქიმიურად არასტაბილურია ზოგიერთ ბიოლოგიურ მატრიცაში, განსაკუთრებით სისხლში. მაშასადამე, მათი რაცემიზაციის პროცესის ზუსტი კინეტიკური პარამეტრების შეფასება არ

ჩანს სანდო ასეთ პირობებში. ჩვენ დავადგინეთ, რომ 4-CMC-ის ერთ-ერთი ენანტიომერის შემცველ სისხლის ნიმუშში რაცემიზაცია მიმდინარეობდა 15 საათის განმავლობაში. თუმცა, 120 საათის შემდეგ არცერთი ენანტიომერი არ დაფიქსირებულა ნიმუშში, სავარაუდოდ მათი სრული ქიმიური დაშლის გამო (მონაცემები არ არის ნაჩვენები). ამის საპირისპიროდ, 4-CMC აღმოჩნდა ქიმიურად და სტერეოქიმიურად საკმაოდ სტაბილური სისხლში, რომელიც ინახება -25°C -ზე 8 დღის განმავლობაში (ნახ. 43a). CMC-ების ენანტიომერები ბევრად უფრო სტაბილური იყო როგორც ქიმიურად, ასევე სტერეოქიმიურად ნერწყვში და განსაკუთრებით შარდის ნიმუშებში (ნახ. 43b). ამ მატრიცებში, თუნდაც ოთახის ტემპერატურაზე (25°C) ორივე ენანტიომერის არსებობა შეიძლება დადასტურდეს 6 დღის შემდეგაც, რაცემიზაცია ხდება შეზღუდული ხარისხით, ხოლო შეგროვებულ ფრაქციებში მნიშვნელოვანი ენანტიომერული სიჭარბის შენარჩუნებით. საყინულეში შენახულ ერთსა და იმავე ნერწყვსა და შარდის ნიმუშებში თითქმის არ გამოვლენილა ქიმიური და სტერეოქიმიური ცვლილება 6 დღის განმავლობაში დაკვირვების პერიოდში.



ნახაზი 43. (R)-4-CMC და (S)-4-CMC ქრომატოგრამები, 24 სთ და 214 სთ კონტაქტის შემდეგ მთლიან სისხლთან -25°C (a) და იგივე ენანტიომერები 2 სთ და 147 სთ შარდთან კონტაქტის შემდეგ 25°C .

5. დასკვნები

- 1) შევიმუშავეთ ნარკოტიკული საშუალება მეთილონისა და მისი ფაზა 1 მეტაბოლიტების HMMC და MDC ენანტიოსელექტიური იზოკრატიული HPLC-MS/MS ანალიზის მეთოდი ნერწყვის ნიმუშებისთვის.
- 2) დადგენილ იქნა, რომ მეთილონი განიცდის ენანტიოსელექტიურ ბიოტრანსფორმაციას მისი მეტაბოლიტების HMMC და MDC წარმოქმნით. S-(+)-ენანტიომერი უფრო სწრაფ მეტაბოლიზმს განიცდის და გამოიყოფა ორგანიზმიდან.
- 3) დადგენილ იქნა კონცენტრაცია დროზე დამოკიდებულების მრუდები როგორც მეთილონისთვის, ასევე მისი ფაზა ერთი მეტაბოლიტებისთვის.
- 4) ენანტიოსელექტიურად განისაზღვრა ზოგიერთი ძირითადი ფარმაცოკინეტიკური პარამეტრი მეთილონისთვის, HMMC და MDC-ისთვის .
- 5) შევიმუშავეთ ნარკოტიკული საშუალება კლეფედრონის და მისი ზოგიერთი მეტაბოლიტის ენანტიოსელექტიური იზოკრატიული HPLC-MS/MS ანალიზის მეთოდი ბიოლოგიურ ნიმუშებში.
- 6) ენანტიოსელექტიურად შესწავლილ იქნა ფარმაცოკინეტიკური მრუდები კლეფედრონისა და მისი ზოგიერთი მეტაბოლიტისთვის.
- 7) დადგენილი იქნა, რომ 2-, 3- და 4-ქლორმეთკათინონების ენანტიომერები განიცდიან სწრაფ რაცემიზაციას. მათი სტერეოქიმიურ სტაბილურობა მცირდება შემდეგი თანმიმდევრობით: 4-CMC > 3-CMC > 2-CMC.
- 8) რაცემიზაციის პროცესი ხდება კეტო-ენოლური ტაუტომერიზაციით, რომელიც ჩქარდება ექსტრემალური pH-ით და პოლარული გამხსნელების გავლენით.
- 9) შესწავლილი სხვადასხვა ბიოლოგიური მატრიცებიდან, 2-, 3- და 4-ქლორმეთკათინონები ქიმიურად, ისევე როგორც სტერეოქიმიურად ყველაზე არასტაბილურია სისხლში, რომელიც ინახება ოთახის ტემპერატურაზე (25 °C) და უფრო სტაბილურია ნერწყვში და განსაკუთრებით შარდში.
- 10) დადგინდა რომ 4-ქლორმეთკათინონის ენანტიომერები, როგორც ქიმიურად, ასევე სტერეოქიმიურად სტაბილურია -25 °C-ზე ნერწყვსა და შარდში, გარკვეული ქიმიური და სტერეოქიმიური სტაბილურობა აღნიშნულ ტემპერატურაზე შეინიშნებოდა სისხლის ნიმუშებშიც კი.

6. გამოყენებული ლიტერატურა

- [1] Single Convention of Narcotic Drugs, 1961 As amended by the 1972 Protocol amending the Single Convention on Narcotic Drugs, 1961, https://www.unodc.org/pdf/convention_1961_en.pdf
- [2] ნარკოვითარების წლიური ანგარიში 2019, ნარკოვითარების მონიტორინგის ეროვნული ცენტრი, თბილისი, 2021, <https://justice.gov.ge/files/RDPg8NVq60F6.pdf>
- [3] P. Jacob, A.T. Shulgin, Novel n-substituted-2-amino-3',4'-methylenedioxypropiofenones, WIPO Patent WO1996039133A1.
<https://patentimages.storage.googleapis.com/66/e4/41/78d0d55fdbdae1/WO1996039133A1.pdf>
1996 (accessed 13 March 2023).
- [4] Synthetic cathinones drug profile, https://www.euda.europa.eu/publications/drug-profiles/synthetic-cathinones_en
- [5] J. B. Zawilska, J. Wojcieszak, An expanding world of new psychoactive substances—designer benzodiazepines, <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0161813X19300178>
- [6] M. Kang; M. A. Galuska; S. Ghassemzadeh, Benzodiazepine Toxicity, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK482238/>
- [7] D. Blackmond, The origin of biological homochirality, https://www.researchgate.net/publication/51654839_The_origin_of_biological_homochirality#fullTextFileContent
- [8] M. Gumustas, S. A. Ozkan, B. Chankvetadze, Analytical and preparative scale separation of enantiomers of chiral drugs
- [9] E. Gil-Av, B. Feibush, R. Charles-Sigler, Separation of enantiomers by gas liquid chromatography with an optically active stationary phase, Tetrahedron Lett. 7 (1966) 1009e1015. [https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(00\)70231-0](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(00)70231-0).
- [10] C. West, Recent trends in chiral supercritical fluid chromatography, Trac. Trends Anal. Chem. 120 (2019), 115648. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.115648>.
- [11] S. Fanali, P. R. Haddad, C. Poole, D. K. Lloyd, Liquid Chromatography Fundamentals and Instrumentation
- [12] B. Chankvetadze, Contemporary theory of enantioseparations in capillary electrophoresis, J. Chromatogr. A 1567 (2018) 2–25, <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2018.07.041>.

- [13] P. Peluso, B. Chankvetadze, Native and substituted cyclodextrins as chiral selectors for capillary electrophoresis enantioseparations: structures, features, application, and molecular modeling, *Electrophoresis* 42 (2021) 1676–1708, <https://doi.org/10.1002/elps.202100053>.
- [14] ქეთევან ლომსაძე, მას-სპექტრომეტრია, ძირითადი პრინციპები და გამოყენება.
- [15] S. Fanali, B. Chankvetadze, P. R. Haddad, C. F. Poole, M. Riekkola, *Liquid Chromatography: Fundamentals and Instrumentation*, Third Edition.
- [16] S. Jorbenadze, T. Khatiaashvili, A. Chelidze, A.F. Lo Faro, T. Farkas, A. Tini, G. Sprega, D. Berardinelli, F.P. Busardo, B. Chankvetadze, Development of a novel enantioselective high-performance liquid chromatography-mass spectrometry method for the differentiation of dextro- and levo-methorphan and their O-demethylated metabolites in human blood and its application to postmortem samples, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 237 (2024) 115769, <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2023.115769>.
- [17] F. P. Busardo, A. Tini, A. F. Lo Faro, G. Basile, T. Farkas, B. Chankvetadze, Enantioselective separation techniques in forensic analysis and clinical toxicology, <https://doi.org/10.1016/j.trac.2024.117733>
- [18] K.M. Yang, Organization of Scientific Area Committees (OSAC) for Forensic Science Standard Practices for Method Development. <http://www.nist.gov/osac>
- [19] L.J. De Felice, R.A. Glennon, S.S. Negus, Synthetic cathinones: chemical phylogeny, physiology, and neuropharmacology, *Life Sci.* 97 (2014) 20–26, <https://doi.org/10.1016/J.LFS.2013.10.029> .
- [20] M.H. Baumann, H.M. Walters, M. Niello, H.H. Sitte, Neuropharmacology of synthetic cathinones, *Handb Exp. Pharmacol.* 252 (2018) 113–142, https://doi.org/10.1007/164_2018_178 .
- [21] N. Centazzo, M.R. Chojnacki, J.S. Elmore, R. Rodriguez, T. Acosta, M. Suzuki, K. C. Rice, M.H. Baumann, M. Concheiro, Brain concentrations of methylone and its metabolites after systemic methylone administration: relationship to pharmacodynamic effects, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 377 (2021) 398–406, <https://doi.org/10.1124/JPET.121.000531> .
- [22] H.T. Kamata, N. Shima, K. Zaitzu, T. Kamata, A. Miki, M. Nishikawa, M. Katagi, H. Tsuchihashi, Metabolism of the recently encountered designer drug, methylone, in humans and rats, *Xenobiotica* 36 (2006) 709–723, <https://doi.org/10.1080/00498250600780191>

- [23] M.R. Meyer, J. Wilhelm, F.T. Peters, H.H. Maurer, Beta-keto amphetamines: studies on the metabolism of the designer drug mephedrone and toxicological detection of mephedrone, butylone, and methylone in urine using gas chromatography-mass spectrometry, *Anal. Bioanal. Chem.* 397 (2010) 1225–1233, <https://doi.org/10.1007/S00216-010-3636-5> .
- [24] J.S. Elmore, O. Dillon-Carter, J.S. Partilla, K.N. Ellefsen, M. Concheiro, M. Suzuki, K.C. Rice, M.A. Huestis, M.H. Baumann, Pharmacokinetic profiles and pharmacodynamic effects for methylone and its metabolites in rats, *Neuropsychopharmacol.* 42 (2017) 649–660, <https://doi.org/10.1038/NPP.2016.213> .
- [25] D. Luethi, K.E. Kolaczynska, M. Walter, M. Suzuki, K.C. Rice, B.E. Blough, M. C. Hoener, M.H. Baumann, M.E. Liechti, Metabolites of the ring-substituted stimulants MDMA, methylone and MDPV differentially affect human monoaminergic systems, *J. Psychopharmacol.* 33 (2019) 831–841, <https://doi.org/10.1177/0269881119844185> .
- [26] L. Poyatos, A.F. Lo Faro, D. Berardinelli, G. Sprega, S. Malaca, S. Pichini, M. A. Huestis, E. Papaseit, C. P´erez-Ma˜n´a, F.P. Busard`o, M. Farr´e, Methylone and MDMA pharmacokinetics following controlled administration in humans, *Int. J. Mol. Sci.* 23 (2022) 14636, <https://doi.org/10.3390/ijms232314636> .
- [27] R.A. Glennon, M.D. Schechter, J.A. Rosecrans, Discriminative stimulus properties of S(-)- and R(+)-cathinone, (+)-cathine and several structural modifications, *Pharmacol. Biochem. Behav* 21 (1984) 1–3, [https://doi.org/10.1016/0091-3057\(84\)90121-7](https://doi.org/10.1016/0091-3057(84)90121-7) .
- [28] R.A. Glennon, R. Young, B.R. Martin, T.A. Dal Cason, Methcathione (“cat”): an enantiomeric potency comparison, *Pharmacol. Biochem. Behav* 50 (1995) 601–606, [https://doi.org/10.1016/0091-3057\(94\)00348-3](https://doi.org/10.1016/0091-3057(94)00348-3) .
- [29] H.L. Philogene-Khalid, S.J. Simmons, S. Nayak, R.M. Martorana, S.H. Su, Y. Caro, B. Ranieri, K. Difurio, L. Mo, T.A. Gentile, A. Murad, A.B. Reitz, J.W. Muschamp, S. M. Rawls, Stereoselective differences between the reinforcing and motivational effects of cathinone-derived 4-methylmethcathinone (mephedrone) in selfadministering rats, *ACS Chem. Neurosci.* 8 (2017) 2648–2654, <https://doi.org/10.1021/ACSCHEMNEURO.7B00212> .
- [30] R.A. Gregg, M.H. Baumann, J.S. Partilla, J.S. Bonano, A. Vouga, C.S. Tallarida, V. Velvadapu, G.R. Smith, M.M. Peet, A.B. Reitz, S.S. Negus, S.M. Rawls, Stereochemistry of mephedrone

- neuropharmacology: enantiomer-specific behavioural and neurochemical effects in rats, *Br. J. Pharmacol. (BJP)* 172 (2015) 883–894, <https://doi.org/10.1111/bph.12951> .
- [31] A. Vouga, R.A. Gregg, M. Haidery, A. Ramnath, H.K. Al-Hassani, C.S. Tallarida, D. Grizzanti, R.B. Raffa, G.R. Smith, A.B. Reitz, S.M. Rawls, Stereochemistry and neuropharmacology of a “bath salt” cathinone: S-enantiomer of mephedrone reduces cocaine-induced reward and withdrawal in invertebrates, *Neuropharmacol.* 91 (2015) 109–116, <https://doi.org/10.1016/J.NEUROPHARM.2014.11.010> .
- [32] B.M. Gannon, A. Williamson, M. Suzuki, K.C. Rice, W.E. Fantegrossi, Stereoselective effects of abused “bath salt” constituent 3,4-methylenedioxypyrovalerone in mice: drug discrimination, locomotor activity, and thermoregulation, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 356 (2016) 615–623, <https://doi.org/10.1124/JPET.115.229500> .
- [33] B. Silva, C. Fernandes, M.E. Tiritan, M.M.M. Pinto, M.J. Valente, M. Carvalho, P. G. De Pinho, F. Remi~ao, Chiral enantioresolution of cathinone derivatives present in “legal highs”, and enantioselectivity evaluation on cytotoxicity of 3,4-methylenedioxypyrovalerone (MDPV), *Forensic Toxicol.* 34 (2016) 372–385, <https://doi.org/10.1007/S11419-016-0324-Y> .
- [34] M.D. Hambuchen, H.P. Hendrickson, M.G. Gunnell, S.J. McClenahan, L.E. Ewing, D.M. Gibson, M.D. Berquist, S.M. Owens, The pharmacokinetics of racemic MDPV and its (R) and (S) enantiomers in female and male rats, *Drug Alcohol Depend.* 179 (2017) 347–354, <https://doi.org/10.1016/J.DRUGALCDEP.2017.07.011> .
- [35] R. Kolanos, J.S. Partilla, M.H. Baumann, B.A. Hutsell, M.L. Banks, S.S. Negus, R. A. Glennon, Stereoselective actions of methylenedioxypyrovalerone (mdpv) to inhibit dopamine and norepinephrine transporters and facilitate intracranial selfstimulation in rats, *ACS Chem. Neurosci.* 6 (2015) 771–777, <https://doi.org/10.1021/ACSCHEMNEURO.5B00006> .
- [36] B. Silva, J.A. Pereira, S. Cravo, A.M. Araújo, C. Fernandes, M.M.M. Pinto, P.G. De Pinho, F. Remi~ao, Multi-milligram resolution and determination of absolute configuration of pentedrone and methylone enantiomers, *J. Chromatogr. B Anal.*
- [37] M. Grifell, M. Ventura, X. Carb´on, P. Quintana, L. Galindo, ´A. Palma, I. Fornis, C. Gil, M. Farre, M. Torrens, Patterns of use and toxicity of new para-halogenated substituted cathinones: 4-CMC (clephedrone), 4-CEC (4-chloroethcathinone) and 4- BMC (brephedrone), *Hum. Psychopharmacol.* 32 (2017), <https://doi.org/10.1002/hup.2621> .

- [38] E. Tomczak, M. Kacper Woźniak, M. Kata, M. Wiergowski, B. Szpiech, M. Biziuk, Blood concentrations of a new psychoactive substance 4-chloromethcathinone (4-CMC) determined in 15 forensic cases, *Forensic Toxicol.* 36 (2018) 476–485, <https://doi.org/10.1007/s11419-018-0427-8>.
- [39] United Nations Commission on Narcotic Drugs Report on the sixty-third session (13 December 2019 and 2–6 March 2020).
- [40] M. Taschwer, J.A. Weiß, O. Kunert, M.G. Schmid, Analysis and characterization of the novel psychoactive drug 4-chloromethcathinone (clephedrone), *Forensic Sci. Int.* 244 (2014) e56–e59, <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2014.09.007>.
- [41] K. Synowiec, S. Rojek, M. Maciów-Głąb, K. Kula, A. Romańczuk, M. Kłys, The role of GC-EI-MS and derivatization in the detection of new psychoactive substances exemplified by 49 synthetic cathinones, *J. Anal. Chem.* 77 (2022) 1315–1324, <https://doi.org/10.1134/S106193482210015X>.
- [42] A. Romańczuk, S. Rojek, K. Synowiec, M. Maciów-Głąb, K. Kula, E. Rzepecka-Woźniak, The stability of synthetic cathinones and the study of potential intake biomarkers in the biological material from: a case of 3-CMC poisoning, *J. Anal. Toxicol.* 47 (2023) 470–480, <https://doi.org/10.1093/jat/bkad010>.
- [43] M. Wiergowski, J. Aszyk, M. Kaliszan, K. Wilczewska, J. Sein Anand, A. Kot-Wasik, Z. Jankowski, Identification of novel psychoactive substances 25B-NBOMe and 4-CMC in biological material using HPLC-Q-TOF-MS and their quantification in blood using UPLC-MS/MS in case of severe intoxications, *J. Chromatogr. B* 1041–1042 (2017) 1–10, <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2016.12.018>.
- [44] https://www.emcdda.europa.eu/publications/european-drug-report/2024/new-psychoactive-substances_en

სადისერტაციო ნაშრომის ფარგლებში გამოქვეყნებული პუბლიკაციები:

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

- [46] S. Jorbenadze, T. Khatiashvili, L. Giunashvili, A. Chelidze, A.F. Lo Faro, S. Pichini, M. Farré, E. Papaseit, M. Nuñez-Monterod, T. Farkas, J. Carlier, F.P. Busardo, B. Chankvetadze, Challenges encountered in the enantioselective analysis of new psychoactive substances exemplified by clephedrone (4-CMC), *J. Pharm. Biomed. Anal.* 248 (2024) 116275.
- [47] S. Jorbenadze, L. Giunashvili, T. Khatiashvili, A. Chelidze, V. Tkemaladze, G. Sprega, A.F. Lo Faro, G. Basile, T. Farkas, F.P. Busardo, B. Chankvetadze, Investigation of stereochemical stability of 2-, 3- and 4-chloromethcathinones in various biological matrixes, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 249 (2024) 116350. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2024.116350>