

ივანე ჯავახიშვილის სახელობის თბილისის
სახელმწიფო უნივერსიტეტი.



ამირან ჭყონია

ფუძე ბუნების მქონე ზოგიერთი ქირალური ნივთიერების
ენანტიომერების დაყოფა კაპილარული ელექტროფორეზის
გამოყენებით

ქიმიური ექსპერტიზა

ნაშრომი შესრულებულია ქიმიური ექსპერტიზის მაგისტრის
აკადემიური ხარისხის მოსაპოვებლად

სამეცნიერო ხელმძღვანელი
პროფ. ბეჟან ჭანკვეტაძე
საქართველოს მეცნიერებათა ეროვნული აკადემიის აკადემიკოსი

თბილისი

2023 წელი

სარჩევი

ანოტაცია	4
Summary	5
1. შესავალი	6
2.თეორიული ნაწილი	
2.1 ქირალობა, ენანტიომერები და დიასტერეომერები	7
2.2 კაპილარული ელექტროფორეზის ისტორია და გამოყენება.....	9
2.3 ელექტროფორეზის ზოგადი მიმოხილვა.....	9
2.4 ელექტროფორეზის აპარატურა და ნიმუშის ინიცირება.....	16
2.5 კაპილარული ელექტროფორეზის უპირატესობები დაყოფის სხვა მეთოდებთან შედარებით.....	18
2.6 ქირალურ დაყოფებში გამოყენებული მეთოდი და დაყოფის მექანიზმი.....	19
2.7 ციკლოდექტრინები.....	25
3. ექსპერიმენტული ნაწილი	
3.1 გამოყენებული ქირალური ნივთიერებების ზოგადი მიმოხილვა.....	28
3.2 კაპილარული ელექტროფორეზის ანალიზის პირობები.....	30
3.3 გამოყენებული ქირალური სელექტორები.....	31
3.4 კაპილარული ელექტროფორეზის ხელსაწყო.....	32
4. მიღებული შედეგები და განსჯა	
4.1 ნომიფენსინის ენანტიომერების დაყოფა ქირალურ სელექტორებად ციკლოდექსტრინების გამოყენებით.....	33
4.2 მინსერინის ენანტიომერების დაყოფა.....	38

დასკვნა.....	41
გამოყენებული ლიტერატურა.....	42

ანოტაცია

კაპილარული ელექტროფორეზის მეთოდი წარმატებით გამოიყენება ენანტიომერების დასაყოფად. ელექტროფორეზში, გარკვეული უპირატესობების გამო, სელექტორებად გამოიყენება ციკლოდექსტრინები და მათი წარმოებულები. ციკლოდექსტრინები ცალკეულ ენანტიომერებთან არაკოვალენტური ხასიათის მოლეკულათაშორისი კავშირებით წარმოქმნიან განსხვავებული სიმტკიცის კომპლექსებს, რაც განაპირობებს ენანტიომერთა ეფექტური ძვრადობების განსხვავებას და აქედან გამომდინარე მათ დაყოფას.

კაპილარული ელექტროფორეზით შეიძლება ისეთი ნატიფი მოლეკულათაშორისი ურთიერთქმედებების შესწავლა, რომლებიც ენერგიათა მცირე განსხვავების გამო, არცერთ სხვა მეთოდში არ არის შესაძლებელი, რაც დაყოფის ელექტროფორეზული მეთოდის დიდი უპირატესობაა.

წინამდებარე ნაშრომში წარმოდგენილია ნომიფენსინისა და მიანსერინის ენანტიომერების დაყოფა, სადაც ქირალურ სელექტორებად გამოყენებულია სხვადასხვა ტიპის ციკლოდექსტრინები. დადგენილ იქნა ციკლოდექსტრინის ზომისა და ციკლოდექსტინის გარე შრეში ჩანაცვლებული ჯგუფების ქიმიური ბუნების გავლენა ქირალური გამოცნობის უნარზე (სელექტივობაზე) და მიგრაციის რიგზე.

Summary

The capillary electrophoresis method is successfully used to separate enantiomers. In electrophoresis, due to certain advantages, cyclodextrins and their derivatives are used as selectors. Cyclodextrins form complexes of different strength due to non-covalent intermolecular interactions with individual enantiomers, which leads to the difference in effective shifts of enantiomers and hence their separation.

With capillary electrophoresis, it is possible to study such weak interactions between molecules that, due to the small energy difference, are not possible in any other method, which is a great advantage of the electrophoretic method of separation.

The present work describes the separation of nomifensin and mianserin enantiomers with different types of cyclodextrins used as chiral selectors. The influence of cyclodextrin size and the chemical nature of substituted groups in the outer layer of cyclodextrin on the ability of separation of enantiomers and their migration-order was studied.

შესავალი

ჯერ კიდევ 20-ე საუკუნეში იყო ცნობილი, რომ ენანტიომერებს განსხვავებული ბიოლოგიური მოქმედება ჰქონდა. აღნიშნული მიზეზის გამო მეცნიერებმა შეიმუშავეს ენანტიომერების დაყოფის რამდენიმე მეთოდი. ქირალური ნივთიერებების დაყოფა წარმოადგენს თანამედროვე ქიმიის ერთ-ერთ აქტუალურ საკითხს.

რაცეული ნარეგების დასაყოფად გამოიყენება შემდეგი მეთოდები: გაზური ქრომატოგრაფია, სითხური ქრომატოგრაფია, ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფია, კაპილარული ელექტროქრომატოგრაფია და კაპილარული ელექტროფორეზი.

კაპილარული ელექტროფორეზი ითვლება ენანტიომერების დაყოფის ერთ-ერთ მძლავრ მეთოდად.

კაპილარული ელექტროფორეზი საშუალებას იძლევა შევისწავლოთ ქირალური გამოცნობის ისეთი ნატიფი მექანიზმები, რომელთა შესწავლაც დაყოფის სხვა მეთოდებით შეუძლებელია.

ვინაიდან ენანტიომერებს აქვთ იდენტური ფიზიკურ-ქიმიური თვისებები, ამიტომ კაპილარული ელექტროფორეზის მეთოდებიდან, მათი დაყოფისთვის გამოიყენება ელექტროკინეტიკური ქრომატოგრაფია. ეს უკანასკნელი გულისხმობს გადაადგილების ელექტროფორეტულ, ხოლო დაყოფის ქრომატოგრაფიულ მექანიზმს.

ფსევდოფაზად გამოიყენება ქირალური სელექტორები, რადგან მხოლოდ ქირალურ ნივთიერებებს შეუძლია განსხვავების დანახვა (გამოცნობა) ენანტიომერებს შორის.

ქირალურ სელექტორებად იყენებენ ბუნებრივ ციკლოდექსტრინებს და მათ ნაწარმებს. ციკლოდექსტრინები ენანტიომერებთან განსხვავებული სიმკტიცის, არაკოვალენტური ხასიათის კომპლექსებს წარმოქმნის, რის გამოც მიიღწევა მათი დაყოფა.

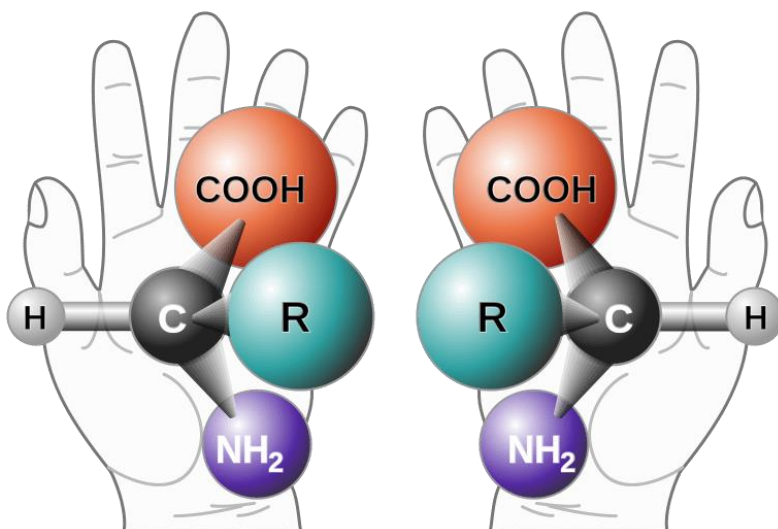
კაპილარული ელექტროფორეზი არ იძლევა პირდაპირ ინფორმაციას ქირალური გამოცნობის მექანიზმებზე. ქირალური გამოცნობის მექანიზმების შესასწავლად გამოიყენება ისეთი ფიზიკურ-ქიმიური მეთოდები, როგორცაა ბირთვულ მაგნიტური რეზონანსი, მას სპექტრომეტრია და ზოგიერთ შემთხვევაში საჭირო ხდება აგრეთვე მოლეკულური მოდელირების მეთოდების გამოყენება.

2. თეორიული ნაწილი

2.1 ქირალობა, ენანტიომერები და დიასტერეომერები

მოლეკულას, რომელიც არათავსებადია საკუთარ სარკულ გამოსახულებასთან, ქირალურს უწოდებენ. ქირალობა მომდინარეობს ბერძნული სიტყვისგან ქიროს (χειρ) , რაც ხელს ნიშნავს.

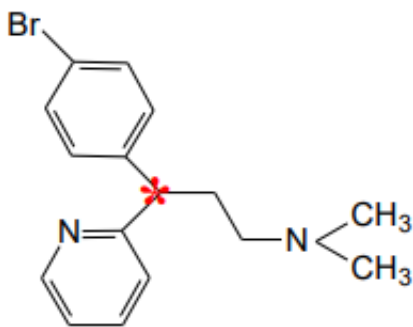
არათავსებად სარკულ მოლეკულებს, ენანტიომერები ეწოდება.



ნახ.1

ორგანული ნივთიერებების შემთხვევაში ქირალობა შეიძლება გამოწვეული იყოს მოლეკულაში ასიმეტრიული ნახშირბადატომის ან სხვა ასიმეტრიულად ჩანაცვლებული ატომის არსებობით. ასიმეტრიული ეწოდება ისეთ ატომს, რომელიც დაკავშირებულია 4 სხვადასხვა ტიპის ჩანაცვლებელთან.

არსებობს ქირალობის სხვა ელემენტებით (ქირალობის სიბრტყე, ქირალობის ღერძი, ტოპოლოგიური ქირალობა) განპირობებული ქირალობის შემთხვევებიც.



ნახ.2. ნახშირბადი, როგორც ქირალური ცენტრი

ენანტიომერებს აქირალურ გარემოში ერთნაირი ფიზიკური და ქიმიური თვისებები ახასიათებთ, მაგრამ ისინი პოლარიზებული სინათლის პოლარიზაციის სიბტყეს სხვადასხვა მიმართულებით აბრუნებენ.

ენანტიომერების ამ თვისებაზე დაფუძნებული კლასიფიკაციის მიხედვით ისინი იყოფიან მარჯვნივმბრუნავ (+) და მარცხნივმბრუნავ (-) იზომერებად. ენანტიომერების წარების 1:1 მოლური თანაფარდობით, რაცემატი ეწოდება. რაცემატს არ ახასიათებს ოპტიკური აქტიურობა.

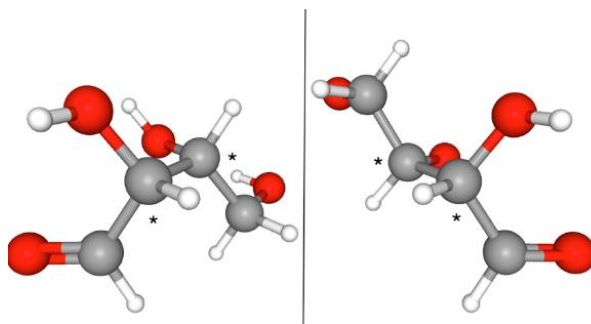
ენანტიომერებს ასევე აქვთ განსხვავებული ბიოლოგიური მოქმედება:

- გემო
- სუნნი
- ტოქსიურობა
- ფარმაკოლოგია

მოლეკულები, რომლებიც შეიცავს ერთსა და იგივე ატომებს ერთი და იგივე კავშირებით, მაგრამ ატომების (ან ჯგუფების) განსხვავებული ორიენტაციით სივრცეში, სტერეოიზომერები ეწოდებათ.

იმ სტერეოიზომერებს, რომლებიც არ წარმოადგენენ ერთმანეთის სარკულ გამოსახულებს, დიასტერეომერები ეწოდებათ.

დიასტერეომერებს წარმოქმნის ისეთი ნივთიერებები, რომელთა მოლეკულაშიც მინიმუმ 2 ქირალური ცენტრია. ქვემოთ მოცემულია დიასტერეომერების ერთ-ერთი მაგალითი:



ნახ.3 დიასტერეომერები

დიასტერეომერების ფიზიკურ-ქიმიური თვისებები განსხვავებულია და შესაბამისად განსხვავებულია მათი ბიოლოგიური აქტიურობაც.

2.2 კაპილარული ელექტროფორეზის ისტორია და გამოყენება.

ელექტროფორეზი წარმოადგენს ნივთიერებათა დაყოფის მინიატურულ მეთოდს, სადაც დაყოფა ხდება ცალკეულ ნივთიერებათა ელექტროფორეტული ძვრადობების განსხვავების ხარჯზე.

კაპილარული ელექტროფორეზის სისტემა პირველად შექმნა ჰერტენმა 1965 წელს, არაორგანული მჟავებისა და ცილების დაყოფის მიზნით. მისი გამოყენება ფარმაცევტულ ინდუსტრიაში 20-ე საუკუნის ბოლოდან იწყება.

კაპილარულმა ელექტროფორეზმა ჩაანაცვლა დაყოფის სხვა მინიატურული მეთოდები, მისი მეშვეობით შეიძლება დაიყოს ნივთიერებათა ფართო კლასი, როგორც მცირე ზომის ორგანული და არაორგანული ნივთიერებები, ასევე დიდი ზომის მოლეკულები. ეს მეთოდი ასევე აქტიურად გამოიყენება ქირალური ნივთიერებების დაყოფისთვის

2.3 ელექტროფორეზის ზოგადი მიმოხილვა

ელექტროფორეტული ძვრადობა

ელექტროფორეზი ნივთიერებათა დაყოფის მეთოდია, რომელიც ემყარება ნივთიერებათა განსხვავებულ განაწილებას გელში ან ბუფერში მათი ელექტროფორეტული ძვრადობების შესაბამისად. გადაადგილების მექანიზმი ელექტროფორეზში არის ელექტროკინეტიკური, ანუ დამუხტული ნაწილაკები მოძრაობენ კაპილარში არსებული ერთგვაროვანი ელექტრული ველის არსებობის გამო. ელექტრული ველი იქმნება კაპილარის ბოლოებზე ძაბვის მოდების ხარჯზე. ელექტროფორეტული ძვრადობა უდიდეს როლს თამაშობს ელექტროფორეზულ დაყოფებში.

ელექტროფორეტული ძვრადობა არის ვექტორული ფიზიკური სიდიდე, რომელიც წარმოადგენს ნაწილაკის სიჩქარეს, მაშინ, როცა ელექტრული ველის დამაბულობა არის 1 ნ/კ. ცხადია, რომ რაც მეტია მოდებული ძაბვა მით მეტი იქნება ნაწილაკის სიჩქარე. ელექტროფორეტული ძვრადობა იონის თვისების, კერძოდ კი მისი მუხტის და მასის ფუნქციას წარმოადგენს:

$$\mu_{\text{ელ}} = kqM^{-2/3}$$

K მუდმივი სიდიდეა

q იონის მუხტია, ხოლო M- იონის მასა.

დამუხტული ნივთიერების გადაადგილება ელექტროფორეზში რეალურად ხორციელდება არა მარტო საკუთრივ ნაწილაკის ელექტროფორეტული ძვრადობის

ხარჯზე, არამედ ბუფერის ელექტროსმოტური ძვრადობითაც, ანუ ნაწილაკის ეფექტური ძვრადობა განისაზღვრება ამ ორი ძვრადობის ვექტორული ჯამით:

$$\mu_{\text{ეფ}} = \mu_{\text{ელ}} + \mu_{\text{ეო}}$$

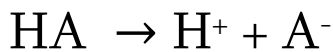
ელექტროსმოტური ძვრადობა დამოკიდებულია კაპილარის შიდა ზედაპირისა და ბუფერული ხსნარის თვისებებზე.

$\mu_{\text{ელ}}$ არის მოცემული იონისთვის მახასიათებელი ფიზიკური სიდიდე მოცემულ პირობებში, იგი გაზომილია სრულიად იონიზირებული ნაწილაკისთვის, მაშინ როცა ხსნარი არის უსასრულოდ განზავებული.

ნაწილაკის ეფექტური ელექტროფორეტული ძვრადობა იზომება რეალურ პირობებში და ამის გამო მისი მნიშვნელობა განსხვავებულია იდეალურისგან გარკვეული მიზეზების გამო:

1. ნაწილაკის ეფექტური მუხტის შემცირება:

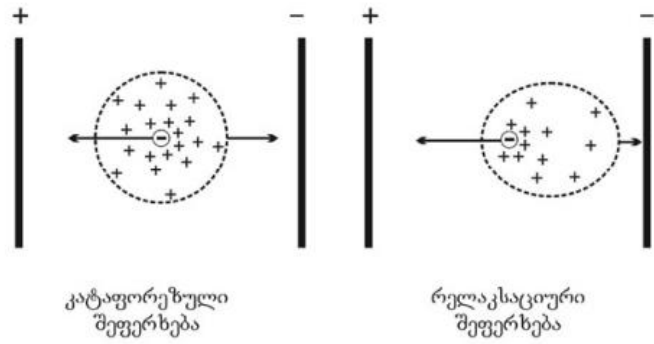
თუ საანალიზო ნივთიერება წარმოადგენს სუსტ ელექტროლიტს, მაშინ ეფექტური მუხტი დამოკიდებულია pH-ზე. მაგალითად, თუ გვაქვს HA ტიპის ელექტროლიტი მისი დისოციაციის რეაქცია იქნება:



შექვევადი რეაქცია ხასიათდება წონასწორობის მუდმივით, აქედან გამომდინარე დისოციაციის ხარისხი და შესაბამისად ეფექტური მუხტი დამოკიდებული იქნება ბუფერული ხსნარის pH-ზე. არასრული დისოციაციის გამო რეალურ სისტემებში ეფექტური მუხტი უფრო დაბალი იქნება იდეალურთან შედარებით.

2. ნაწილაკის მოძრაობის შეფერხება:

ვინაიდან ბუფერში გახსნილი ნივთიერების ხსნარი არ წარმოადგენს უსასრულოდ განზავებულ ხსნარს, ამის გამო ნაწილაკის სიჩქარე იქნება უფრო ნაკლები ვიდრე მისი თეორიული მნიშვნელობა. რაც მეტია ხსნარის კონცენტრაცია (იონური ძალა) მით ნაკლები იქნება ელექტროფორეტული ძვრადობა. ონზაგერის თეორიის მიხედვით ხსნარის კონცენტრაციის გავლენა ძვრადობაზე გამოწვეულია იონური ატმოსფეროს არსებობის გამო, რაც აფერხებს ცენტრალური იონების თავისუფალ გადაადგილებას. არსებობს ორი ტიპის შეფერხება, ესენია კატაფორეზული და რელაქსაციური შეფერხებები.



ნახ.4. კატაფორეზული და რელაქსაციური შეფერხება

ცენტრალურ იონს და მის ატმოსფეროს აქვს საპირისპირო ნიშნები, რის გამოც ელექტროსტატიკურ ველში ისინი მიიზიდება საპირისპირო მიმართულებით, ამის გამო ცენტრალური იონის მოძრაობა ფერხდება. ასეთ შეფერხებას კატაფორეზული შეფერხება ეწოდება.

ხსნარში ცენტრალური იონის გადაადგილებისას ირღვევა იონური ატმოსფეროს სფერული სიმეტრია, რის გამოც ერთ მხარეს აღმოჩნდება მეტი საპირისპიროდ დამუხტული იონი, რაც დამატებით შეაფერხებს ნაწილაკის მოძრაობას. შეფერხების ასეთ ტიპს რელაქსაციური შეფერხება ეწოდება.

იონების გადაადგილების მექანიზმი:

დამუხტული საანალიზო ნივთიერების გადატანა ხდება ელექტრული ველის ძალით. ნიუტონის მეორე კანონის მიხედვით, თუ ნაწილაკზე მოქმედებს ძალა, ნაწილაკი უნდა მოძრაობდეს აჩქარებულად, მაგრამ როგორც ვახსენეთ ნიმუშის მოლეკულები მოძრაობენ მუდმივი სიჩქარით. ამის მიზეზი არის ის, რომ თავდაპირველად ნაწილაკი იწყებს აჩქარებულ მოძრაობას, მაგრამ როცა მიაღწევს სიჩქარის ზღვრულ მნიშვნელობას მასზე მოქმედი ტოლქმედი ძალა გახდება 0-ის ტოლი. ნაწილაკზე მოქმედი ტოლქმედი ძალა წარმოადგენს ველის და ხახუნის ძალათა სხვაობას. ხახუნის ძალა კი დამოკიდებულია ნაწილაკის სიჩქარეზე. სიჩქარის გაზრდით ხახუნის ძალა იზრდება, შესაბამისად მცირდება ნაწილაკზე მოქმედი ჯამური ძალა და გარკვეული სიჩქარის მიღწევის შემდეგ ხახუნის ძალა გაუტოლდება ველის ძალას, ნაწილაკი კი გააგრძელებს ინერციულ მოძრაობას მუდმივი სიჩქარით, რომელიც შეგვიძლია თეორიულად შევაფასოთ შემდეგი ფორმულიდან:

$$qE = 6\pi\eta r v$$

სადაც qE წარმოადგენს q მუხტის მქონე იონზე მოქმედ ველის ძალას, ხოლო $6\pi\eta r v$ -

არის μ სიჩქარით მოძრავ იონზე მოქმედი ხახუნის ძალა.

$$\mu = \frac{qE}{6\pi\eta r}, \text{ ხოლო ელექტროფორეტული ძვრადობა:}$$

$$\mu_{\text{ელ}} = \frac{v}{E} = \frac{q}{6\pi\eta r}$$

ექსპერიმენტულად განსაზღვრული ძვრადობა წარმოადგენს ეფექტურ ძვრადობას (საკუთრივ ნაწილაკის ძვრადობისა და ელექტროსმოსური ძვრადობის ალგებრული ჯამი).

$$\mu_{\text{ექსპ}} = \frac{Ll}{Vt}$$

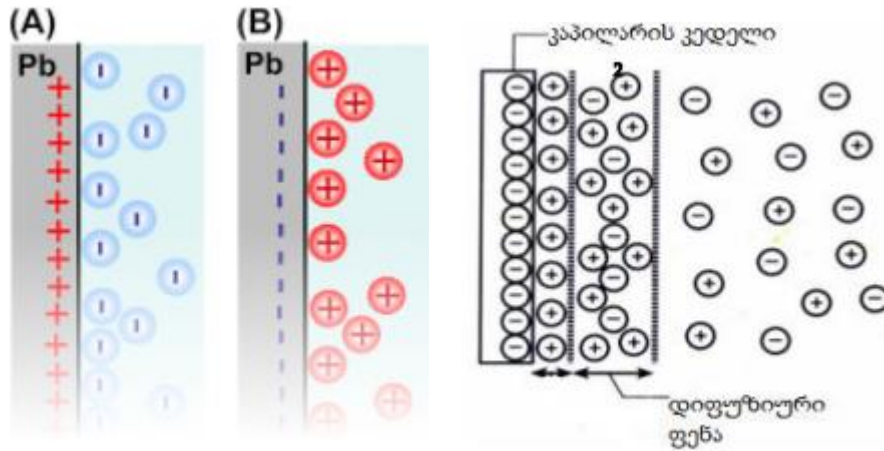
სადაც L და l შესაბამისად არის კაპილარის საერთო და ეფექტური სიგრძეები, V - ძაბვა, ხოლო t -დრო.

ელექტროსმოსი

ელექტროსმოსის მოვლენაზე პირველი დაკვირვება მოხდა 1877 წელს ჰელმჰოლცის მიერ. ჰორიზონტალური მინის კაპილარის ბოლოებზე, რომელიც სავსე იყო ელექტროლიტით, ძაბვის მოდებისას სითხე იწყებდა მოძრაობას ერთ-ერთი ელექტროდისკენ. სითხის ასეთ გადაადგილებას ელექტროსმოსი ეწოდა. ბუფერული ხსნარის მოძრაობა შეიძლება აიხსნას შტერნის ორმაგი ელექტრული შრის მოდელის მიხედვით, რომლის მიხედვითაც ელექტროლიტის ხსნართან კონტაქტში მყოფ მყარ სხეულზე უმეტეს შემთხვევაში ხდება მუხტის დაგროვება. ამის მიზეზი შეიძლება იყოს როგორც ზედაპირის დისოციაცია, ასევე ზედაპირზე ელექტროლიტის იონების ადსორბცია, რის გამოც ხსნარში იქმნება ელექტრული მუხტის სიჭარბე, რაც იწვევს ხსნარის გადაადგილებას კონკრეტული ელექტროდისკენ.

დიფუზიური შრის ζ პოტენციალი

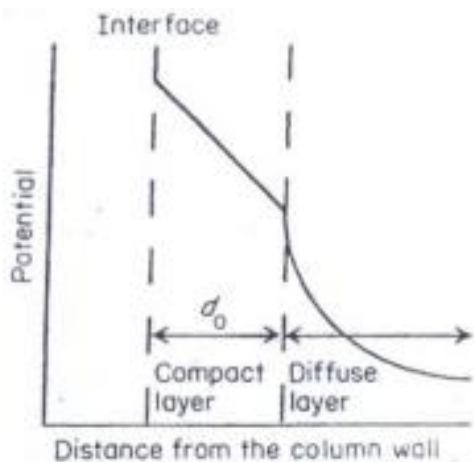
მყარი ფაზის ზედაპირზე იონების ადსორბციით ან პირიქით მყარი ფაზიდან ხსნარში იონების გადასვლით მყარი ფაზის ზედაპირი იძენს შესაბამის მუხტს, ხოლო ხსნარში გროვდება საპირისპირო მუხტის იონები, რომელიც შემდეგ ელექტროსტატიკური და ადსორბციული ძალებით მიიზიდება ზედაპირის მიერ, რის გამოც წარმოიქმნება ორმაგი ელექტრული შრე.



ორმაგი ელექტრული შრე იყოფა ადსორბციულ და დიფუზიურ შრეებად. ადსორბციული შრეში მყოფი იონები მყარ ფაზას არ წყდება, ხოლო დიფუზიურ შრეში არსებული იონები გამოირჩევიან გადაადგილების უნარით, რაც განპირობებულია იმ გარემოებით, რომ მყარი ფაზიდან დიფუზიური შრემდე არსებულ მანძილებზე არ მოქმედებს მიზიდვის ადსორბციული ძალები.

შტერნმა შემოიტანა ადსორბციული პოტენციალის ცნება E_{ads} . ადსორბციული პოტენციალი გამოსახავს სისტემის პოტენციური ენერჯის ცვლილებას (იგივე მუშაობა) 1 მოლი ნივთიერება-იონის ხსნარის სიღრმიდან ზედაპირულ შრეში, ანუ ადსორბენტის ზედაპირზე გადატანისას.

ცხადია, რომ რაც უფრო დაშორებულია წერტილი ზედაპირიდან, მით ნაკლები მუშაობაა საჭირო ხსნარის სიღრმიდან მოცემულ წერტილში იონების გადასატანად. აქედან გამომდინარე მყარი ზედაპირიდან დაშორებისას პოტენციალის მნიშვნელობა ეცემა. დიფუზიური შრის პოტენციალს ძეტა (ζ) პოტენციალი ეწოდება.



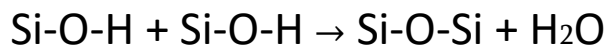
ნახ.5. პოტენციალის ვარდნა, როგორც ზედაპირიდან დაშორების ფუნქცია

ვინაიდან დიფუზიურ შრეში ერთი ნიშნის მუხტების იონების სიჭარბეა, ეს განაპირობებს ხსნარის მოძრაობას (ელექტროოსმოსს) ელექტრულ ველში. ელექტროოსმოსის სიჩქარე დამოკიდებულია დიფუზიური შრის ζ პოტენციალზე:

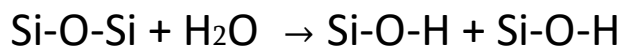
$$\mu_{\text{EOF}} = E\zeta / 4\eta$$

ამ ფორმულის მიხედვით ელექტროოსმოსური ნაკადის სიჩქარე ასევე დამოკიდებულია ველის ძალაზე, დიელექტრიკულ შეღწევადობასა და ხსნარის სიბლანტეზე.

განვიხილოთ ელექტროოსმოსის აღძვრის მექანიზმი კაპილარულ ელექტროფორეზში. ელექტროფორეზში ძირითადად გამოიყენება კვარცის კაპილარები, რომლის შიგა ზედაპირზე არის -Si-OH ჯგუფები. კაპილარების გამოდნობა ხდება 1100 C ან უფრო მაღალ ტემპერატურებზე, ამ პირობებში კი ხდება სილანოლური ჯგუფები განიცდის კონდენსაციას:



სილოქსანური ჯგუფები წყალხსნარებში ჰიდროლიზდება და გადადის სილანოლურ ჯგუფებში:

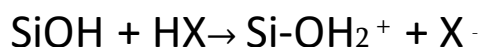


pH -ის მიხედვით კაპილარის შიგა ზედაპირი შეიშლება დაიმუხტოს დადებითად ან უარყოფითად.

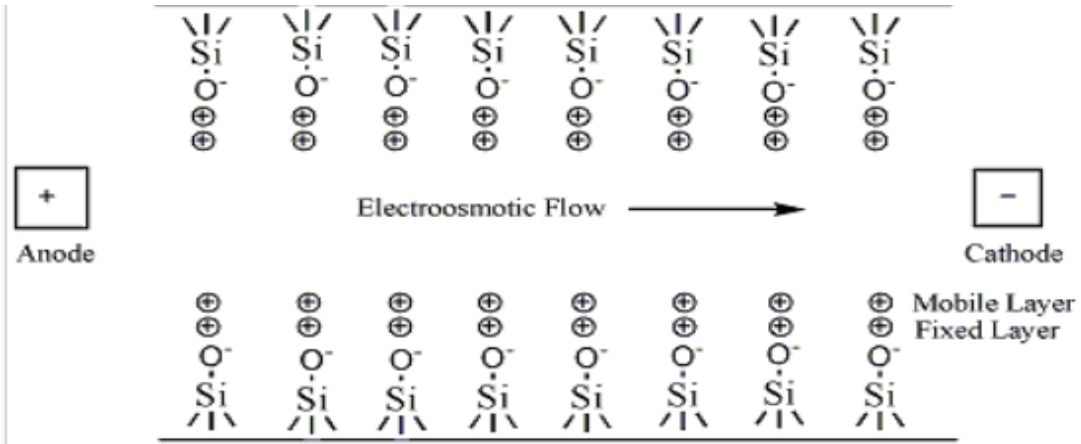
როცა pH>2, შიგა ზედაპირი უარყოფითად იმუხტება, სილანოლური ჯგუფების დისოციაციის გამო:

როცა pH=2, წყალბადიონების გაზრდილი კონცენტრაციის გამო ზედაპირი ნეიტრალურია, რადგან სილანოლური ჯგუფების დისოციაცია შემცირებულია.

თუ pH<2, წყალბადიონების მაღალი კონცენტრაციის გამო ხდება სილანოლური ჯგუფების პროტონირება და კაპილარის შიგა ზედაპირი დადებითად იმუხტება შემდეგი რეაქციის ხარჯზე:



თუ მაგალითად კაპილარის ზედაპირი დამუხტულია უარყოფითად, მაშინ მის ზედაპირთან, მიზიდვის გამო, განლაგდება საპირისპიროდ დამუხტული ჰიდროქსონიუმის იონები, რომლებიც ქმნიან ადსორბციულ შრეს, მოშორებით კი- დიფუზიურ შრეში დადებითი მუხტების სიჭარბეა, ამიტომ ხსნარი იმოძრავებს უარყოფითად დამუხტული ელექტროდისკენ.

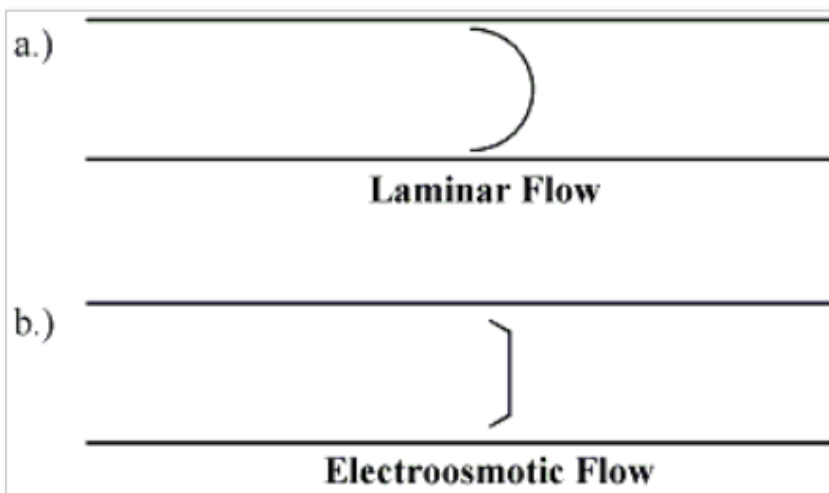


ნახ.6. ელექტროოსმოსური ნაკადი

ნაკადის პროფილი კაპილარულ ელექტროფორეზში და ვან დეემტეერის განტოლება:

ელექტროოსმოსი აღიძვრება კაპილარის კედელთან, ამის გამო მისი სიჩქარე უფრო მაღალი უნდა იყოს მოცემულ არეში, მაგრამ მეორეს მხრივ კედელთან ხახუნის არსებობის გამო უფრო დაბალი უნდა იყოს ვიდრე მოშორებით. ამ ორი ეფექტის ერთდროული მოქმედების გამო მიიღება ნაკადის ჯამური პროფილი, რომელსაც აქვს წაკვეთილი კონუსის ფორმა, რაც განაპირობებს ვიწრო პიკებს.

ქვემოთ ნაჩვენებია ლამინარული და ელექტროოსმოსური ნაკადის პროფილები:



ნახ.7. ელექტროოსმოსური ნაკადის პროფილი

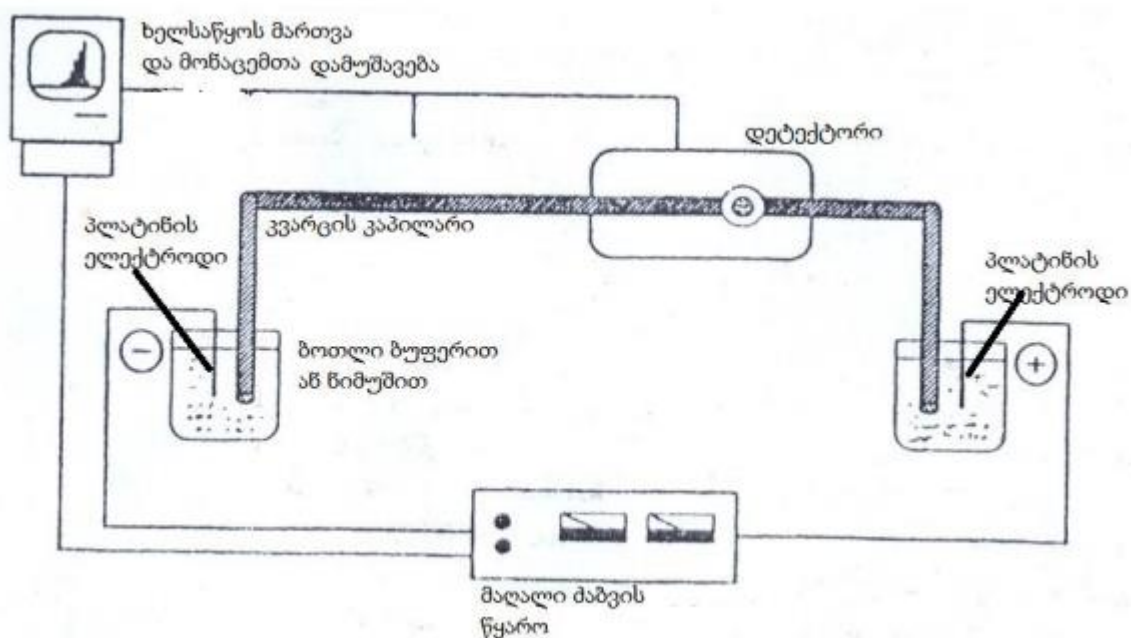
განვიხილოთ ვან დეემტერის განტოლება ელექტროფორეზის ექსპერიმენტისთვის. ზოგადად ქრომატოგრაფიულ ექსპერიმენტში ვან დეემტერის განტოლებას აქვს შემდეგი სახე:

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

ვინაიდან კაპილარული ელექტროფორეზის ექსპერიმენტში კაპილარში არ გვაქვს უძრავი ფაზის ნაწილაკები ამის გამო განტოლებიდან გამოირიცხება A კოეფიციენტი. ამასთანავე ელექტროფორეზში დაყოფა დაფუძნებულია კომპონენტთა განსხვავებულ ძვრადობებს, ამის გამო დაყოფა ხორციელდება მონოფაზაში, აქედან გამომდინარე განტოლებიდან გამოირიცხება C კოეფიციენტიც. განტოლება საბოლოოდ მიიღებს სახეს:

$$H=\frac{B}{U}$$

2.4 ელექტროფორეზის აპარატურა და ნიმუშის ინიცირება



ნახ.8. ელექტროფორეზის ხელსაწყო სქემა.

ხელსაწყო ძირითადი კომპონენტებია:

1. ბუფერული ხსნარით შევსებული ორი ბოთლი, რომელთაგანაც ერთ-ერთი ანალიზის მსველობისას იცვლება ნიმუშის ბოთლით

2. ორი ელექტროდი (ძირითადად პლატინის ელექტროდი), რომელიც დაკავშირებულია მაღალი ძაბვის წყაროსთან და ჩაშვებულია ბუფერის ბოთლებში
3. კვარცის კაპილარი (10-150 მკმ)
5. დეტექტირების ფანჯარა, რომელიც უკეთდება კაპილარს
6. ჩამწერი

ნიმუშის ინიცირება შეიძლება განხორციელდეს ჰიდროდინამიურად ან ელექტროკინეტიკურად. ჰიდრონომიური ინიცირების შემთხვევაში ნიმუშის შეყვანა კაპილარში ხდება წნევით, ხოლო ელექტროკინეტიკური ინიცირებისას- ძაბვით.

კაპილარში შეყვანილი ნიმუშის რაოდენობა ჰიდროდინამიკური და ელექტროკინეტიკური მეთოდების შემთხვევაში:

$$Q = \frac{\pi r^4 \rho g \Delta h}{8 \mu L}$$

- r კაპილარის შიგა რადიუსი
- ρ საკვლევი ნიმუშის სიმკვრივე
- g თავისუფალი ვარდნის აჩქარება
- Δh სიმაღლეთა სხვაობა კაპილარის ბოლოებზე
- C ნიმუშის კონცენტრაცია

$$Q = (\mu_{ელ} + \mu_{ეო}) \frac{V A C t}{L}$$

- V - მოდებული ძაბვა
- A - კაპილარის შიგა კვეთა
- t- ინიცირების დრო
- C- ნიმუშის კონცენტრაცია
- $\mu_{ელ}$ - ელექტროფორეტიული ძვრადობა
- $\mu_{ეო}$ - ელექტროოსმოტური ძვრადობა

2.5 კაპილარული ელექტროფორეზის უპირატესობები დაყოფის სხვა მეთოდებთან შედარებით

1. მკვდარი მოცულობის პრაქტიკული არ არსებობა, რაც განპირობებულია ნივთიერების ინიცირებით და დეტექირებით პირდაპირ კაპილარში
2. კაპილარულ ელექტროფორეზში გამოყენებული კაპილარები არ არის შევსებული უძრავი ფაზის ნაწილაკებით, ამიტომ პიკის გაგანიერებაში არ მონაწილეობს გრიგალისებურ დიფუზია. ამასთანავე ელექტროფორეზში დაყოფა ხორციელდება მონოფაზაში, რის გამოც პიკის გაფართოებაში წვლილი არ შეაქვს არც მასის გადატანის წევრს. ამ ყველა მიზეზის გამო ელექტროფორეზში მიიღება უფრო ეფექტური პიკები.
3. ქირალური სელექტორების ფართო სპექტრი და მათი მარტივად შეცვლის შესაძლებლობა
4. ვინაიდან კაპილარებს აქვთ მაღალი ელექტრული მდგრადობა, შესაძლებელია ანალიზების ჩატარება მაღალი ძაბვით, რაც განაპირობებს ანალიზების მცირე დროს
5. მიკროდიამეტრის მქონე კაპილარების გამოყენების გამო იხარჯება მცირე რაოდენობით გამხსელები, ნიმუშები და ქირალური სელექტორები, რის გამოც მეთოდი იაფი და ეკონომიურია
6. R და S ენანტიომერების კომპლექსწარმოქმნის რეაქციები ხასიათდებიან შესაბამისის სტანდარტული გიბსის ენერჯის ცვლილებით (ΔG°), რაც უკავშირდება კომპლექსწარმოქმნის მუდმივებს:



$$\Delta \Delta G^\circ = \Delta G^\circ_R - \Delta G^\circ_S = -(RT \ln K_R - RT \ln K_S) = -RT \ln \frac{K_R}{K_S} =$$

$$-RT \ln \frac{[RC][S][C]}{[R][C][SC]} = -RT \ln \left(\frac{[RC]}{[R]} \cdot \frac{[SC]}{[S]} \right) = -RT \ln \alpha$$

$$\Delta \Delta G^\circ = -RT \ln \alpha \quad \ln \alpha = \frac{-\Delta \Delta G^\circ}{RT}$$

ამ ფორმულის მიხედვით დაყოფის სელექტივობა დამოკიდებულია კომპლექსწარმოქმნის რეაქციათა გიბსის ენერჯიათა განსხვავებაზე. სუსტი მოლეკულათაშორისი ურთიერთქმედებების დროს, ამ ენერჯიათა მცირე განსხვავების გამო, რაც ნიშნავს დაბალ სელექტივობას, კაპილარული ელექტროფორეზის გარდა დაყოფის არცერთი მეთოდი არ გვამლევს შესაძლებლობას დავაფიქსიროთ სელექტორ-სელექტანდის წყვილში ასეთი ნატიფი

(ენანტიოსელექტიური) მოლეკულათშორისი ურთიერთქმედებები. კაპილარულ ელექტროფორეზში კი თეორიული თეფშების შედარებით მაღალი რიცხვის გამო (ვიწრო პიკები) ასეთი ურთიერთქმედებების დაფიქსირება შესაძლებელია.

2.6 ქირალურ დაყოფებში გამოყენებული მეთოდი და დაყოფის მექანიზმი:

რაცემატის შემადგენელ ორივე ენანტიომერს აქვს მუხტის ერთნაირი სიმკვრივე, იდენტური გეომეტრიული ზომა, ერთი და იგივე pK სიდიდეები, აქედან გამომდინარე მათი დაყოფა შეუძლებელია კაპილარულ ზონური ელექტროფორეზის, კაპილარულ გელ-ელექტროფორეზის, კაპილარული იზოელექტრული ფოკუსირების და კაპილარული იზოტახოფორეზის მეთოდებით. კაპილარული ელექტროფორეზის მეთოდებიდან ენანტიომერული ნარევიების დასაყოფად გამოიყენება ელექტროკინეტიკური ქრომატოგრაფიის მეთოდი.

კაპილარული ელექტროკინეტიკური ქრომატოგრაფია:

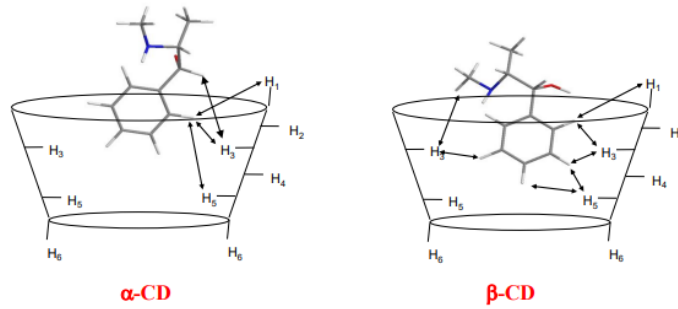
კაპილარული ელექტროკინეტიკური ქრომატოგრაფია მეორე გავრცელებული მეთოდია ზონური ელექტროფორეზის შემდეგ. მეთოდი ეფუძნება ნივთიერებათა გადაადგილების ელექტროფორეტულ და დაყოფის ქრომატოგრაფიულ პრინციპს. ეს უკანასკნელი ნიშნავს, რომ დაყოფას განაპირობებს კომპონენტების განსხვავებული განაწილება ბუფერსა და უძრავ ფსევდოფაზას შორის. ყველაზე ხშირად ფსევდოფაზებად იყენებენ ბუნებრივ და სინთეზურ მიცელებს, პროტეინებს, პეპტიდებს, ნეიტრალურ და დამუხტულ მაკრომოლეკულებს, ოლიგოსაქარიდებს. ელექტროკინეტიკური ქრომატოგრაფიით შესაძლებელია ნეიტრალური მოლეკულების დაყოფაც.

კაპილარული ელექტროკინეტიკური მეთოდი წარმატებით გამოიყენება ენანტიომერების დაყოფაში. ენანტიომერების დაყოფა ეფუძნება ენანტიომერთა განსხვავებულ განაწილებას მოძრავ და უძრავ ფსევდო-ფაზას, ანუ ბუფერსა და მასში გახსნილ ქირალურ სელექტორს შორის.

ქირალურ სელექტორად იყენებენ ქირალური ბუნების ნივთიერებებს, რომლებიც განსხვავებული სიმტკიცის კომპლექსებს წარმოქმნის ენანტიომერებთან.

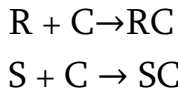
ქირალურ სელექტორსა და ენანტიომერებს შორის წარმოქმნილი მოლეკულათაშორისი ძალებით განპირობებულია შემდეგი სახის ურთიერთქმედებები:

- 1) წყალბადური ბმა
- 2) π - π ურთიერთქმედება
- 3) იონური ურთიერთქმედება და ა.შ.



ნახ.9. ეფედრინის ჩართული კომპლექსები a- და b-CD-თან.
ენანტიომერთა ელექტროფორეტული ძვრადობები

რაცემატი შეიცავს R და S ენანტიომერებს, რომლებიც ქირალურ სელექტორთან წარმოქმნიან შესაბამის კომპლექსებს:



კომპლექსთა მძვრადობის (შეკავშირების) მუდმივები, რაც უკავშირდება აფინურობას გამოსახება შემდეგნაირად:

$$K_R = \frac{[RC]}{[R][C]} \quad (1)$$

$$K_S = \frac{[SC]}{[S][C]} \quad (2)$$

R და S ენანტიომერები იმყოფება როგორც, თავისუფალ, ასევე კომპლექსირებულ მდგომარეობაში.

თუ დავუშვებთ, რომ ორივე კომპლექსის ძვრადობები თანაბარია, ანუ $\mu_{SC} = \mu_{RC} = \mu_C$,

ხოლო თავისუფალი ენანტიომერის ძვრადობას ავლნიშნავთ μ_f -ით, მაშინ თითოეული ენანტიომერისთვის მიიღება ჯამური ელექტროფორეტული ძვრადობის შემდეგი გამოსახულება:

მაგალითად R ენანტიომერისთვის:

$$\mu_R = n_R \mu_f + n_{RC} \mu_C = \frac{[R]}{[R]+[RC]} \mu_f + \frac{[RC]}{[R]+[RC]} \mu_C = \frac{\mu_f [R] + \mu_C [RC]}{[R]+[RC]} \quad (3)$$

$[R] + [RC]$ ჯამი წარმოადგენს ენანტიომერის ჯამურ (ანალიზურ) კონცენტრაციას.

μ_R წარმოადგენს თავისუფალი (არაკომპლექსირებული) R ენანტიომერის წილს, ხოლო

μ_{RC} კომპლექსირებული ენანტიომერის წილს წონასწორულ მდგომარეობაში.

წონასწორობის დამყარებისას RC- ს კონცენტრაცია (1) განტოლების მიხედვით იქნება:

$$[RC] = K_R [R][C]$$

ჩავსვათ ეს შედეგი (3) განტოლებაში:

$$\mu_R = \frac{[R]\mu_f + \mu_c K_R [R][C]}{[R] + K_R [R][C]} = \frac{[R](\mu_f + \mu_c K_R [C])}{[R](1 + K_R [C])} = \frac{\mu_f + \mu_c K_R [C]}{1 + K_R [C]}$$

ანალოგიურად დაიწერება S ენანტიომერისთვის:

$$\mu_S = \frac{\mu_f + \mu_c K_S [C]}{1 + K_S [C]}$$

ე.ი თუ დიასტერეომერულ კომპლექსებს აქვთ თანაბარი ძვრადობა, მაგრამ განსხვავებული შეკავშირების მუდმივები, მაშინ ძვრადობათა სხვაობა გამოითვლება ფორმულით:

$$\Delta\mu = \mu_R - \mu_S = \frac{\mu_f + \mu_c K_R [C]}{1 + K_R [C]} - \frac{\mu_f + \mu_c K_S [C]}{1 + K_S [C]} = \frac{[C](\mu_f - \mu_c)(K_S - K_R)}{1 + [C](K_S + K_R) + K_S K_R [C]^2}$$

$$\text{ან } \Delta\mu = \mu_1 - \mu_2 = \frac{[C](\mu_f - \mu_c)(K_2 - K_1)}{1 + [C](K_1 + K_2) + K_1 K_2 [C]^2} \quad (4)$$

- მიღებულ ფორმულაში გათვალისწინებულია ენანტიომერისა და კომპლექსის ურთიერთგადაადგილების მიმართულება, ანუ ფორმულა ჩაწერილია ვექტორულად. მიგრაციის რიგის განხილვისას უმჯობესია ეს ფორმულა ჩაიწეროს გეგმილებში. პირობითათ, თუ ღერძს მივმართავთ დეტექტორის მიმართულებით და μ_f და μ_c ძვრადობათა ვექტორებს დავაგეგმილებთ ამ ღერძზე, მაშინ იგივე ფორმულით

მივიღებთ არა $\Delta\mu$ ვექტორს, არამედ $\Delta\mu$ ვექტორის გეგმილს, $\Delta\mu_x$ – ს (ანუ ვექტორის სიგრძის რიცხვით მნიშვნელობას შესაბამისი ნიშნით). $\Delta\mu_x$ – ის ნიშნის შეცვლა ერთი ქირალური გარემოდან მეორე ქირალურ გარემოში გადასვლისას ნიშნავს, რომ იცვლება მიგრაციის რიგი.

თუ დიასტერეომერეთა ძვრადობები და შეკავშირების მუდმივები განსხვავებულია სამართლიანი შემდეგი გამოსახულება:

$$\Delta\mu = \mu_1 - \mu_2 = \frac{\mu_f + \mu_{c1} K_1 [C]}{1 + K_1 [C]} - \frac{\mu_f + \mu_{c2} K_2 [C]}{1 + K_2 [C]} \quad (5)$$

თუ დიასტერეომერთა მდგრადობის მუდმივები ტოლია ($K_1 = K_2 = K$), მაგრამ განსხვავებულია მათი ძვრადობები, (5)-დან მიიღება შემდეგი თანაფარდობა:

$$\Delta\mu = \mu_1 - \mu_2 = \frac{\mu_f + \mu_{c1} K [C]}{1 + K_1 [C]} - \frac{\mu_f + \mu_{c2} K [C]}{1 + K_2 [C]} = \frac{K [C] (\mu_{c1} - \mu_{c2})}{1 + K [C]} \quad (6)$$

(4) ფორმულიდან გამომდინარეობს რომ:

თუ ენანტიომერთა დიასტერეომერული კომპლექსთა ძვრადობები თანაბარია და ამასთანავე უტოლდება თავისუფალი ენანტიომერის ძვრადობას, დაყოფას ვერ დავინახავთ. შესაბამისად ნეიტრალური ენანტიომერები ნეიტრალური ქირალური სელექტორით არ დაიყოფა.

იმისათვის რომ კაპილარულ ელექტროფორეზში ენანტიომერების დაყოფას მივაღწიოთ, არ არის აუცილებელი შეკავშირების მუდმივები განსხვავებული იყოს ერთმანეთისაგან. (5) ფორმულის მიხედვით თეორიულად შესაძლებელია ენანტიომერების ერთმანეთისგან დაყოფა, როდესაც მათ გააჩნიათ ერთნაირი შეკავშირების მუდმივები, მაგრამ შესაბამის დიასტერეომერულ კომპლექსებს განსხვავებული ძვრადობა აქვთ.

ე.ი კაპილარულ ელექტროფორეზში შეიძლება ვერ დავინახოთ ენანტიომერების დაყოფა იმ შემთხვევაშიც კი, როდესაც სელექტორი მაღალი სელექტივობით გამოიყენება ენანტიომერებს და პირიქით, მივიღოთ ენანტიომერების კარგი დაყოფა იმ შემთხვევაშიც კი, როდესაც ორივე ენანტიომერის შეკავშირების მუდმივები ქირალურ სელექტორთან ერთნაირია.

ენანტიომერთა მიგრაციის რიგი ქირალურ ანალიზში

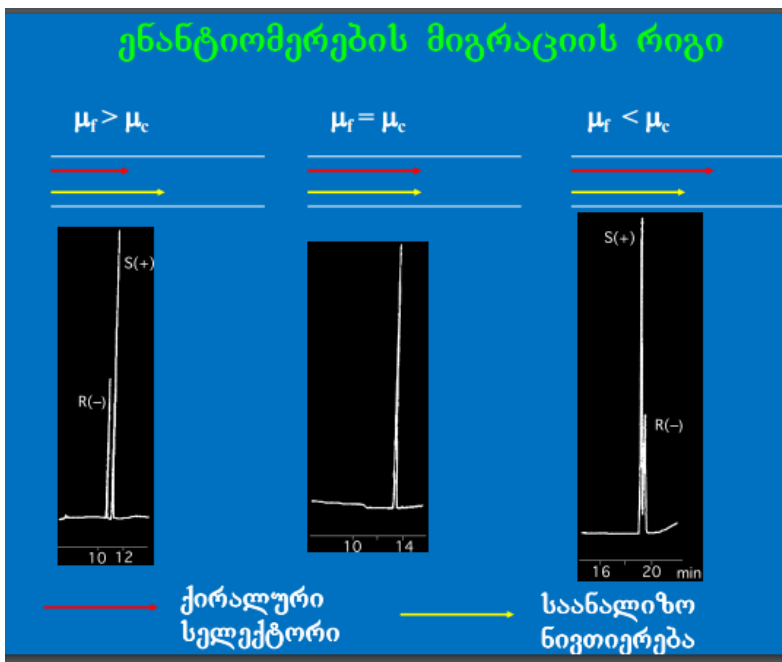
ენანტიომერთა მიგრაციის რიგი დამოკიდებულია გამოყენებული ქირალური სელექტორის ქიმიურ ბუნებაზე.

თუ ორივე ენანტიომერის დიასტერეომერული კომპლექსების ძვრადობები თანაბარია ორივე ქირალურ გარემოში, მაშინ:

$$\Delta\mu_x = (\mu_1 - \mu_2)_x = \frac{[C](\mu_{fx} - \mu_{cx})(K_2 - K_1)}{1 + [C](K_1 + K_2) + K_1 K_2 [C]^2}$$

და ასეთ პირობებში რიგის ცვლილებას ადგილი ექნება იმ შემთხვევაში, თუ:

1. ქირალური სელექტორის შეიცვლით შეიცვლება $\mu_{fx} - \mu_{cx}$ სხვაობის ნიშანი და არ შეიცვლება $K_2 - K_1$ სხვაობის ნიშანი.



2. ქირალური სელექტორის შეიცვლით შეიცვლება $K_2 - K_1$ სხვაობის ნიშანი და არ შეიცვლება $\mu_{fx} - \mu_{cx}$ სხვაობის ნიშანი.

თუ ენანტიომერების დიასტერეომერთა მდგრადობის მუდმივები თანაბარია, როგორ პირველ, ასევე მეორე ქირალურ გარემოში, მაშინ შეგვიძლია ვისარგებლოთ შემდეგი ფორმულით:

$$\Delta\mu_x = (\mu_1 - \mu_2)_x = \frac{K [C](\mu_{c1X} - \mu_{c2X})}{1 + K [C]}$$

ასეთ პირობებში მიგრაციის რიგის ცვლილებას ადგილი ექნება იმ შემთხვევაში, თუ:

3. ქირალური სელექტორის შეცვლით შეიცვლება $\mu_{c1X} - \mu_{c2X}$ -ის ნიშანი (ანუ, თუ შეიცვლება პირობითათ, პირველ და მეორე ენანტიომერთა კომპლექსთა ძვრადობის მნიშვნელობათა სხვაობის ნიშანი).

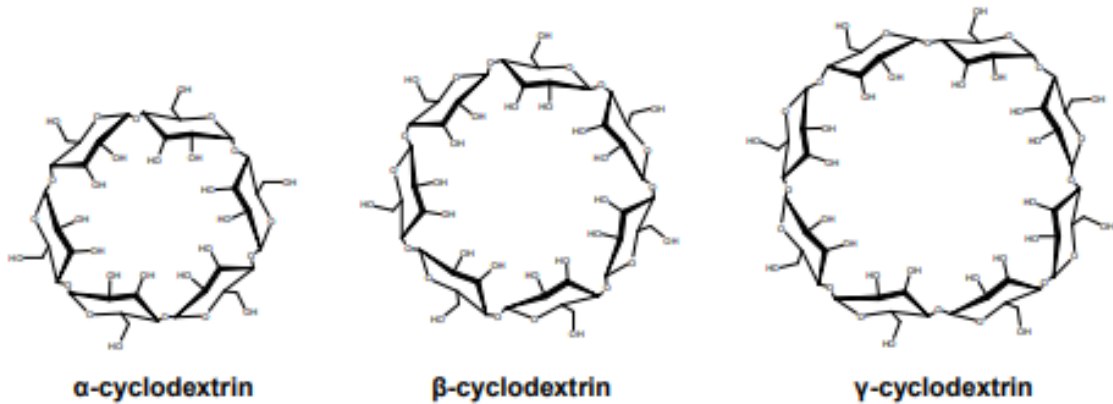
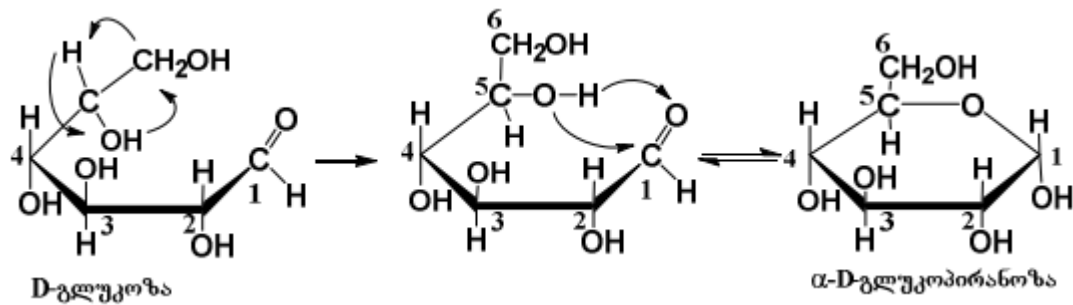
განვიხილოთ შემთხვევა, როცა პირველ ქირალურ გარემოში, ორივე ენანტიომერის დიასტერეომერული კომპლექსის ძვრადობები ტოლია, მაგრამ მეორე ქირალურ გარემოში -არა. ასეთ პირობებში რიგის ცვლილებას ადგილი ექნება, მაშინ, როცა

4. $K_2 - K_1$ (პირველ ქირალურ გარემოში) და $\mu_{c1X} - \mu_{c2X}$ (მეორე ქირალურ გარემოში) სხვაობათა ნიშნები განსხვავებულია. იგულისხმება რომ ნივთიერება არ არის ნეიტრალური.

2.7 ციკლოდექტრინები

დღეს ქირალური სელექტორების ფართო არჩევანია. ყველაზე ხშირად გამოიყენება ციკლოდექსტინები. ციკლოდექსტინები წარმოადგენენ ციკლურ ოლიგოსაქარიდებს, რომლებიც შეიცავს 6, 7 ან 8 ერთმანეთთან α -(1,4) ბმებით დაკავშირებულ α -D გლუკოპირანოზას ერთეულებს. შესაბამისად ციკლოდექსტინი შეიძლება იყოს α , β და γ .

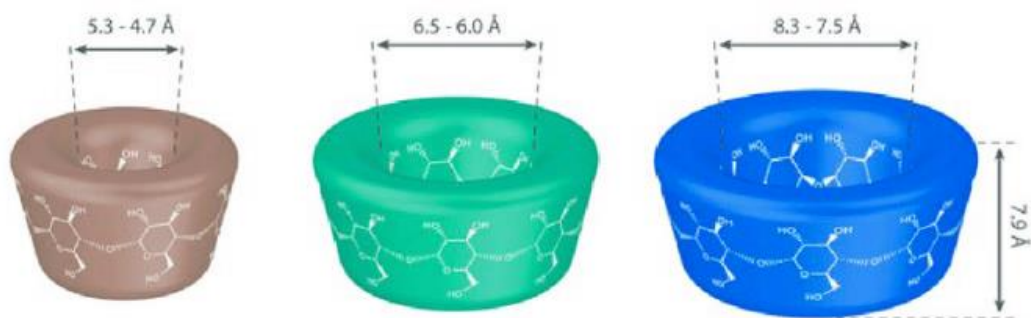
გლუკოპირანოზა წარმოადგენს ციკლურ ნაერთს, რომელიც მიიღება გლუკოზის მოლეკულის ციკლიზაციით:



ნახ.10. α , β და γ ციკლოდექსტრინები

ციკლოდექსტრინებს აქვთ კალათის ფორმა. მათი მოლეკულები შეიცავს პირველად (6C მდგომარეობაში) და მეორეულ ჰიდროქსილის ჯგუფებს (2 და 3C მდგომარეობაში), რომლებიც განლაგებული არიან გარე ზედაპირზე, ხოლო შიგა ღრუ წარმოადგენილია ეთერული ბმებითა და ნახშირბადოვანი ჯაჭვით, რის გამოც შიგა ღრუ ჰიდროფობურია, ხოლო გარე შრე ჰიდროფილური. გარე ზედაპირის ჰიდროფილურობა განაპირობებს მათ წყალში ხსნადობას. წყალში ხსნადობის გაზრდა შეიძლება შიგა შრის მოდიფიცირებით.

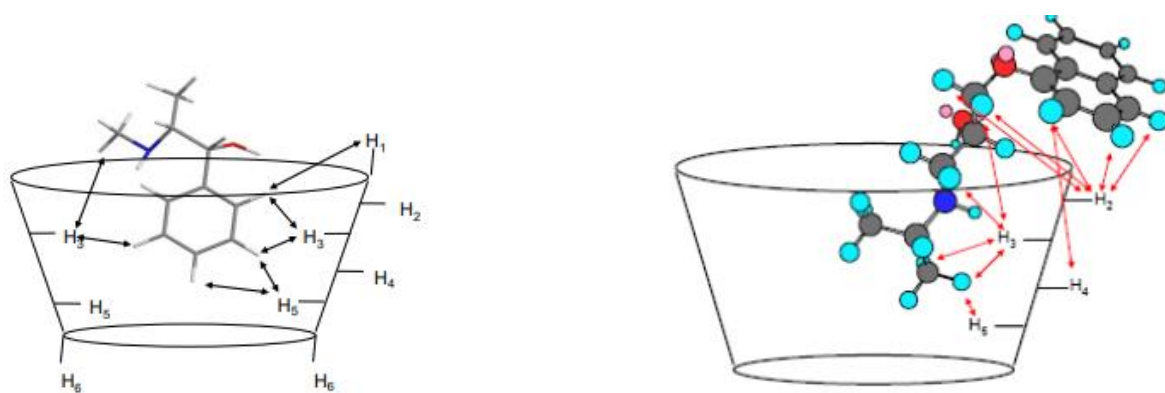
2 და 3C მდგომარეობაში მიერთებული ჰიდროქსიდის ჯგუფები იმყოფება ღრუს განიერ მხარეს, ხოლო 6C მდგომარეობაში მიერთებული ჰიდროქსიდები-ღრუს ვიწრო მხარეს:



ნახ.11. ციკლოდექსტრინების გეომეტრიული ფორმა.

შიგა ღრუს ჰიდროფობურობა განაპირობებს, ციკლოდექსტრინებს უნარს წარმოქმნან ჩართული კომპლექსები ჰიდროფობურ მოლეკულებთან.

საანალიზო ნივთიერებების მიერ ციკლოდექსტრინებთან წარმოქმნილი კომპლექსები უმთავრესად არის ჩართული კომპლექსები, თუმცა ხშირად ხდება, განსაკუთრებით მოდიფიცირებულ ციკლოდექსტრინებში, გარე შრით ურთიერთქმედებაც, რომელიც მოიცავს წყალბადურ ბმებს და დიპოლ-დიპოლურ ურთიერთქმედებას.



ნახ.12. ეფედრინის ჩართული კომპლექსი β -CD-თან და S-პროპრანოლოლის კომპლექსი HDAS- β -CD-თან.

ციკლოდექსტრინის სტრუქტურის სტაბილურობას განაპირობებს ის გარემოება, რომ მეზობლად მყოფი გლუკოპირანოზის ნაშთების 2C და 3C ნახშირბადთან არსებული ჰიდროქსილის ჯგუფებით მყარდება შიგამოლეკულური წყალბადური ბმები, რის გამოც წარმოიქმნება წყალბადური ბმების სარტყელი. γ ციკლოდექსტრინების შემთხვევაში ეს სარტყელი სრულია, ხოლო α , β -CD-ში-არასრული, რაც განპირობებულია კუთხური დაძაბულობით.

ამ მიზეზის გამო γ -CD-ის ხსნადობა შედარებით დაბალია.

ციკლოდექსტრინის მოლეკულაში ჰიდროქსილიონების არსებობა, მათი მოდიფიცირების საშუალებას იძლევა.

ენანტიომერსა და ციკლოდექტრინს შორის წარმოქმნილ კომპლექსს ხშირად გააჩნია ერთმანეთისგან განსხვავებული ძვრადობა და კომპლექსის მდგრადობა, სწორედ ეს ფაქტი განაპირობებს ციკლოდექსტრინების მიერ ენანტიომერების გამოცნობის უნარს.

ქირალურ სელექტორებად ციკლოდექსტრინების გამოყენების უპირატესობები:

- ჰიდროფობური ღრუ და ჰიდროფილური ზედაპირი
- წყლიან ბუფერში კარგი ხსნადობა და ულტრაიისფერ უბანში გამჭვირვალობა
- მოლეკულაში ჰიდროქსილიონების არსებობის გამო მარტივად შეიძლება მათი მოდიფიცირება
- არატოქსიკურობა
- საშუალო ზომის მაკროციკლები ქირალური ცენტრების მაღალი სიმკვრივით

3. ექსპერიმენტული ნაწილი

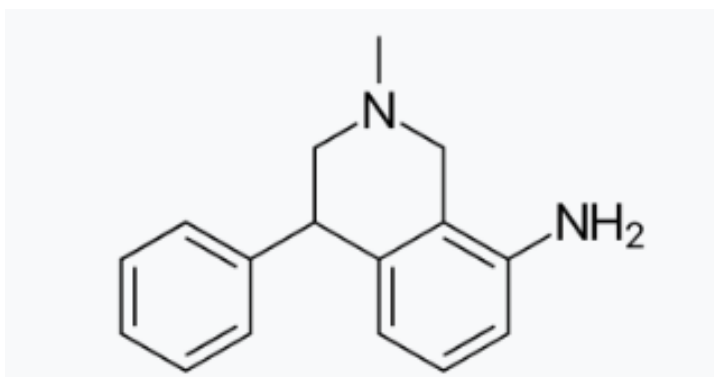
3.1 დაყოფილი ენანტიომერების ზოგადი მიმოხილვა

ნომიფენსინი:

ნომიფენსინი ეფექტური ანტიდეპრესანტია რომელიც პირველად 1960 წლებში დასინთეზდა ამერიკის შეერთებულ შტატებში და არ გააჩნია სედატიური მოქმედება. მიუხედავად იმისა, რომ ნომიფენსინი არ ავლენს უარყოფით სიმპტომებს ალკოჰოლთან ურთიერქმედებისას და არც დამოკიდებულებას იწვევდა პაციენტებში 6 თვიანი თერაპიის ფარგლებში, 1980 წლებში ჩატარებული კვლევების შემდეგ, გაჩნდა მოსაზრება, რომ ნომიფენსინს გააჩნია პოტენციური ფსიქოდელიური დამოკიდებულების ჩამოყალიბების საშიშროება. 1989 წელს ექსპერიმენტულად დადგინდა, რომ ნომიფენსინი ყურადღების ნაკლებობის ჰიპერაქტიური აშლილობის სინდრომის მქონე პაციენტების სამკურნალოდ საკმაოდ ეფექტურია, ისევე როგორც პარკინსონის დაავადებისა და პარკინსონიზმის საფუძველზე განვითარებული დეპრესიისათვის. ნომიფენსინის გვერდითი მოვლენებია, წყურვილის მოჭარბებული შეგრძნება, თავის ტკივილი, პარანოიდული ტენდენციები, ტაქიკარდია და ანემია.

მოლური მასა: 238.334 გ/მოლი

ემპირიული ფორმულა: $C_{16}H_{18}N_2$



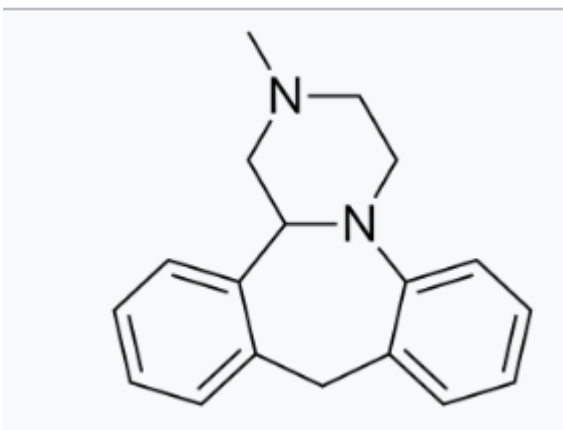
ნახ. 13. ნომიფენსინის სტრუქტურული ფორმულა

მიანსერინი:

მიანსერინი ტეტრაციკლური ანტიდეპრესანტია რომლის თერაპიული აქტივობა დეპრესიისა და შფოთვის სამკურნალოდ გამოიყენება. მას გააჩნია ანტიჰისტამინური და ჰიპნოსედატიური (ანუ ჰიპნოზისა და ძილის კომბინირებული) ეფექტები. მიანსერინი ურთიერთქმედებს სეროტონინის რეცეპტორებთან ცენტრალურ ნერვულ სისტემაში, ის ასევე წარმოადგენს ნორეპინეფრინის სუსტ ინჰიბიტორს. მიანსერინის ეფექტი ძირითადად შეინიშნება გამოყენებიდან 1-3 კვირის შემდეგ. შესაძლო გვერდითი მოვლენები შეიცავს დაღლილობას, სისუსტეს, ლეტარგიასა და ჰემატოლოგიურ პრობლემებს (ანუ სისხლის დაავადებებს).

მოლური მასა: 264.372 გ/მოლი

ემპირიული ფორმულა: $C_{18}H_{20}N_2$



ნახ.14. მიანსერინის სტრუქტურული ფორმულა

3.2 კაპილარული ელექტროფორეზის ანალიზის პირობები:

1. 100 mM H₃PO₄ /TEA (ტრიეთანოლამინი)
2. ბუფერის pH 4.5
3. ტემპერატურა 20°C
4. კვარცის კაპილარი, დაუმუშავებელი შიდა ზედაპირით
5. კაპილარის შიდა დიამეტრი 50 მკმ
6. კაპილარის მთლიანი სიგრძეა 24 სმ

3.3 გამოყენებული ქირალური სელექტორები:

1. α -ციკლოდექსტრინი
2. β -ციკლოდექსტრინი
3. γ -ციკლოდექსტრინი
4. ჰეპტაკის (2,3-დი-O-მეთილ-6-O-სოლფო)- α -CD (HDMS- α -CD).
5. 2-მონოკარბოქსიმეთილ β -CD
6. ჰეპტაკის (2,3,6-ტრი-O-მეთილ)- β -CD

3.4 კაპილარული ელექტროფორეზის ხელსაწყო:

ექსპერიმენტისთვის გამოვიყენეთ კომპანია „Agilent Technologies“-ის კაპილარული ელექტროფორეზის ხელსაწყო. აღნიშნული ხელსაწყო აღჭურვილი იყო ინიცირების ავტომატური სისტემით, ულტრაიისფერი დეტექტორით და ტემპერატურის კონტროლირებადი სისტემით. დეტექტირება ხდებოდა ულტრაიისფერი დეტექტორით 210 ნმ ტალის სიგრძეზე. ასევე გამოიყენებოდა 10Kv ძაბვა. დამყოფ კაპილარად კვარცის კაპილარი, რომლის შიდა დიამეტრი 50 მკმ, ხოლო ეფექტური სიგრძით 24 სმ, რომელიც მოწოდებული იყო „Polymicro Technology“-ის მიერ. ნიმუშის ინიცირება კაპილარში ხდებოდა 5 მილიბარი წნევის საშუალებით 3 წამის განმავლობაში. ანალიზები ტარდებოდა მუდმივი დენის 150 მიკროამპერის და 20 °C პირობებში

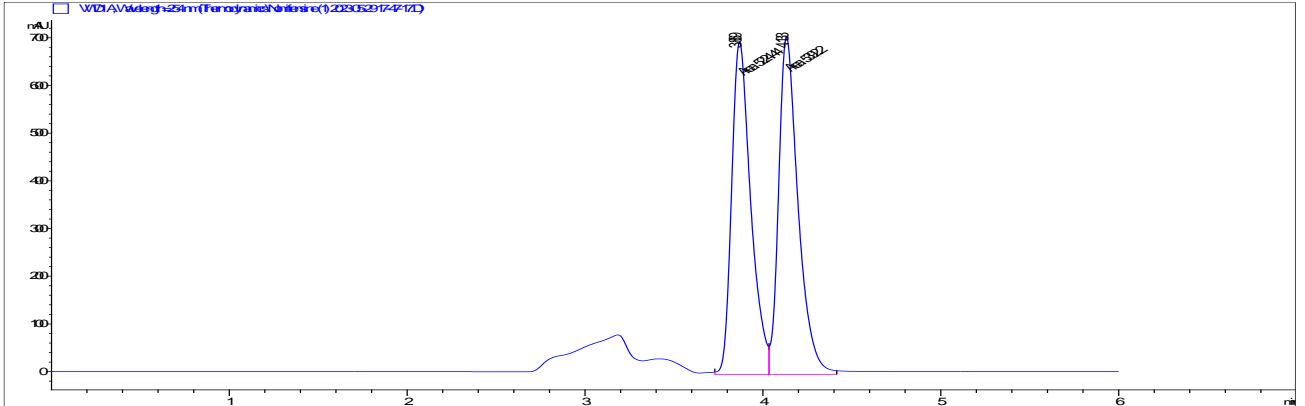


ნახ.15. კაპილარული ელექტროფორეზის აპარატურა.

4. მიღებული შედეგები და განსჯა.

4.1. ნომიფენსინის ენანტიომერების დაყოფა ქირალურ სელექტორებად ციკლოდექსტრინების გამოყენებით

სანამ დავიწყებდით ენანტიომერების დაყოფას კაპილარული ელექტროფორეზით, მანამდე მოვახდინეთ სითხური ქრომატოგრაფიით რაცემატის სისუფთავის შემოწმება და ცალკეული ენანტიომერების ფრაქციების შეგროვება. მოძრავი ფაზა: MeOH+0.1% DEA

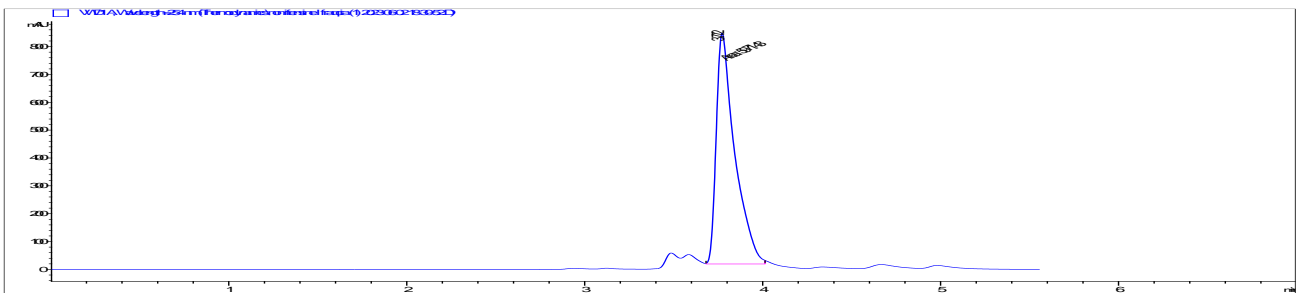


ნახ.16. ნომიფენსინის რაცემული ნარევის ქრომატოგრამა

მოძრავი ფაზა: MeOH+0.1% DEA

N1=6630

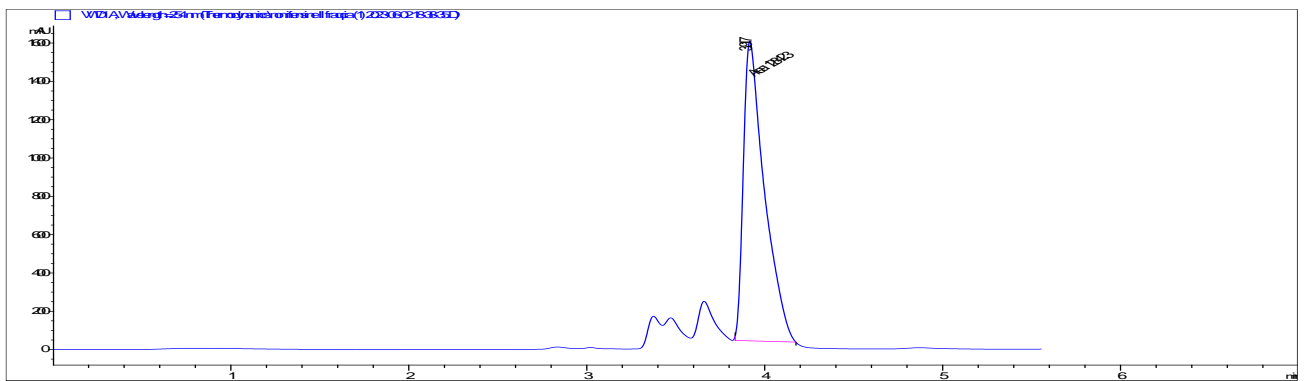
N2=7517



ნახ.17. I ფრაქციის შესაბამისი პიკი.

მოძრავი ფაზა: MeOH+0.1% DEA

N=7231



ნახ.18. II ფრაქციის შესაბამისი პიკი.

მომრავი ფაზა: MeOH+0.1% DEA

N=5441

სამუშაოს ძირითად მიზანს წარმოადგენდა ზოგიერთი ფუძე ბუნების ენანტიომერების ქირალური გამოცნობის მექანიზმების კვლევა. ამ მიზნით მოვახდინეთ მათი დაყოფა სხვადასხვა სტრუქტურის მქონე ციკლოდექსტრინებზე. შედეგად შევისწავლეთ ციკლოდექსტრინების ზომის, სტრუქტურის და შედგენილობის გავლენა ენანტიომერთა აფინობაზე ამ ციკლოდექსტრინის მიმართ.

ანალიზებს თავდაპირველად ვატარებდით აქირალურ ბუფერში, ჯერ მხოლოდ წნევით, შემდეგ კი ერთდროულად წნევით და ძაბვით, ხოლო ბოლოს მხოლოდ ძაბვით.

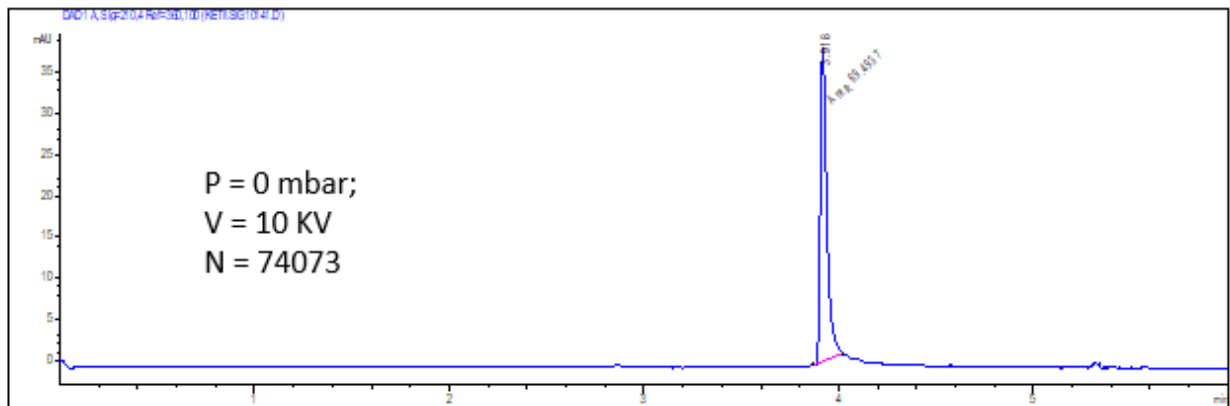
აქირალურ ბუფერში ენანტიომერების დაყოფა არ ხდებდა. აქირალურ ანალიზებს ვატარებდით, რათა დაგვედგინა როგორი იყო პიკის ზომა, ფორმა, ასევე ძვრადობა და ხომარ შეიცავდა საანალიზო ნივთიერება აქირალურ მინარევს.

შემოწმების შემდეგ ვატარებდით ანალიზს ქირალურ გარემოში, მუდმივი 10 კვ ძაბვით.

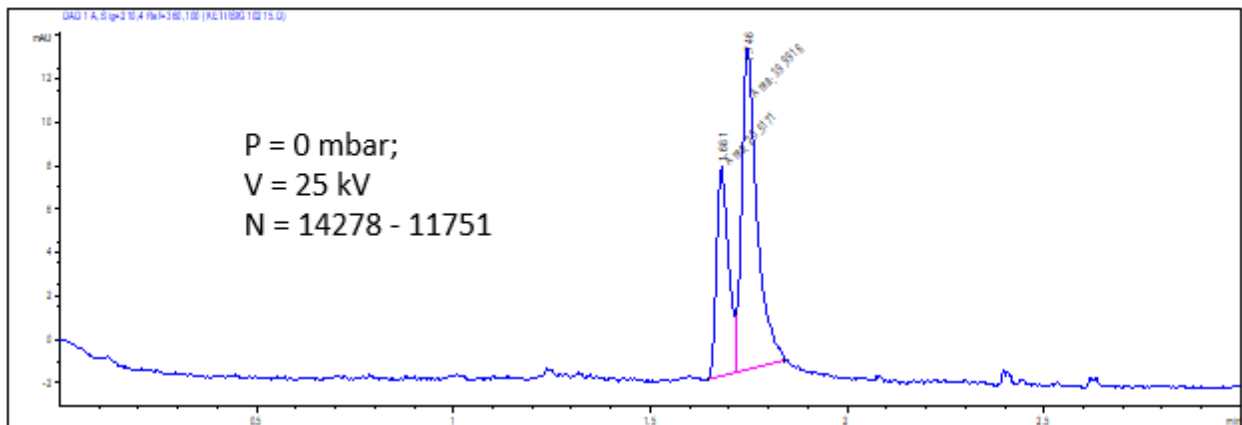
ექსპერიმენტი 1:

მოვახდინეთ ნომიფენსინის ენანტიომერების დაყოფა სხვადასხვა ქირალურ გარემოში, სადაც ქირალურ სელექტორებად გამოვიყენეთ α , β და γ ციკლოდექსტრინები. ანალიზებს ვატარებდით 100 mM ფოსფატურ ბუფერში H_3PO_4 / TEA pH=4.5.

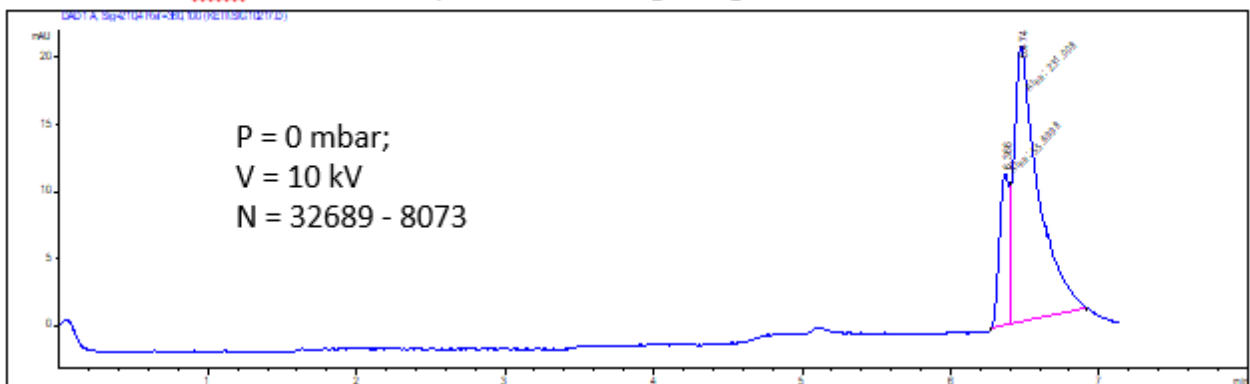
chiral analysis: 100 mM H₃PO₄/TEA pH= 4.5 +25mg/mL alpha-CD



Chiral: 100 mM H₃PO₄ / TEA pH=4.5 + 18mg/mL B-CD



Chiral: 100 mM H₃PO₄ / TEA pH=4.5 + 100 mg/mL gamma-CD



ნახ.19. α , β და γ ციკლოდექსტრინებზე მიღებული ელექტროფეროგრამა.

შედეგებიდან ირკვევა, რომ α ციკლოდექსტრინის მიმართ ორივე ენანტიომერს ერთნაირი აფინობა აქვს.

ბეტა ციკლოდექსტრინზე გადასვლისას მოხდა დაყოფა, ანუ ცალკეულ ენანტიომერთა აფინობები (კომპლექსწარმოქმნის მუდმივები) შეიცვალა.

ბუნებრივი α , β და γ ციკლოდექსტრინები ერთმანეთისგან განსხვავდება ციკლში გლუკოპირანოზის ნაშთების რაოდენობით და შესაბამისად შიგა ღრუს ზომით. შედეგებიდან გამოიკვეთა ციკლოდექსტრინის ციკლის ზომის გავლენა აფინობაზე და შესაბამისად დაყოფაზე.

ვინაიდან α -CD -ზე დაყოფა არ ხდება, ხოლო β და γ -CD -ზე ნარევი დაიყო, შეგვიძლია ვივარაუდოთ, რომ α -CD-ის შიგა ღრუს ზომა ოპტიმალური არ აღმოჩნდა ჩართული კომპლექსის წარმოქმნისთვის, ხოლო ციკლის ზომის გაზრდით ქირალური გამოცნობა გაუმჯობესდა.

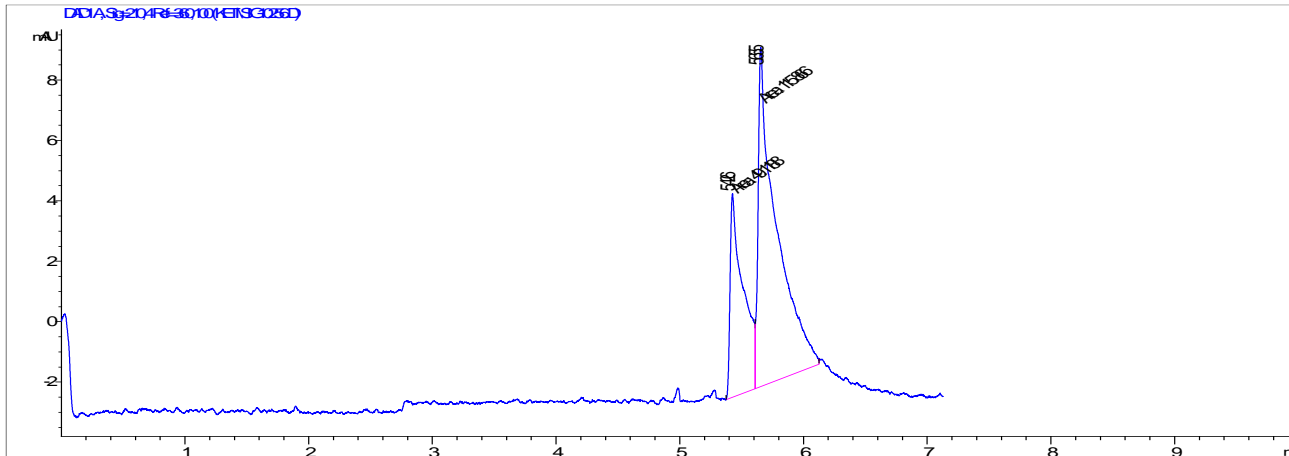
მოცემულ შემთვევაში ადგილი არ ჰქონია მიგრაციის რიგის ცვლილებას.

ექსპერიმენტი 2

ამის შემდეგ ანალიზები განვახორციელეთ თითოეული ტიპის ციკლოდექსტრინით მოდიფიცირებულ ქირალურ გარემოში.

საწყის ეტაპზე ანალიზი ჩავატარეთ ჰეპტაკის (2,3,6-ტრი-*O*-მეთილ)- α -CD-ზე.

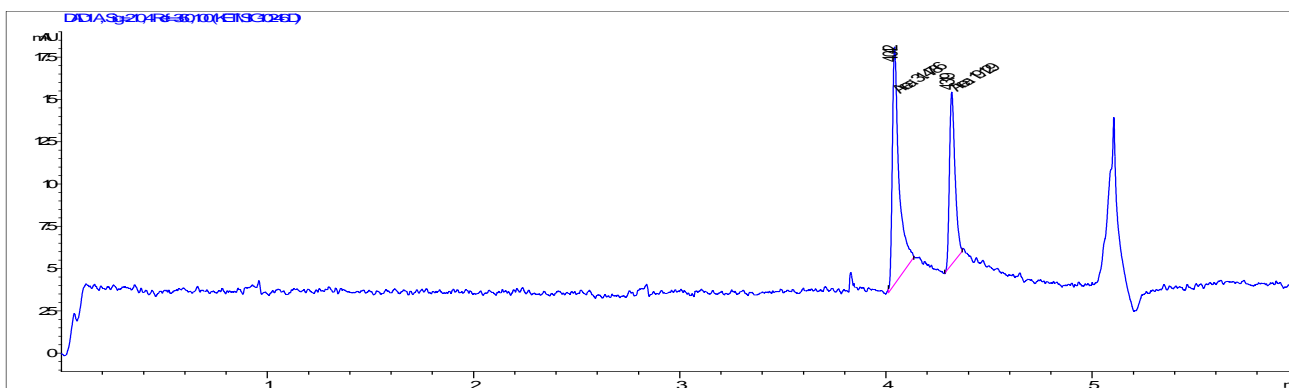
მივიღეთ შემდეგი დაყოფა:



ნახ.20. ჰეპტაკის (2,3,6-ტრი-*O*-მეთილ)- α -CD-ზე მიღებული ელექტროფეროგრამა.

როგორც, ჩანს α -CD-ში 2,3 და 6 გლუკოპირანოზულ ნახშირბადებზე -OH ჯგუფების მოდიფიცირებამ მოახდინა კომპლექსწარმოქმნის მექანიზმის შეცვლა, მოხდა გარე შრის ჯგუფებთან ურთიერთქმედებაც, რაც სავარაუდოდ აიხსნება გარე შრის ჰიდროფობურობის გაზრდით. ამ უკანასკნელმა გამოიწვია ენანტიომერთა განსხვავებული აფინურობა, რის გამოც მივიღეთ დაყოფა.

2,3-დი-*O*-მეთილ-6-სულფო- α -CD (HDMS- α -CD)-ზე ადგილი ჰქონდა მიგრაციის რიგის ცვლილებას:

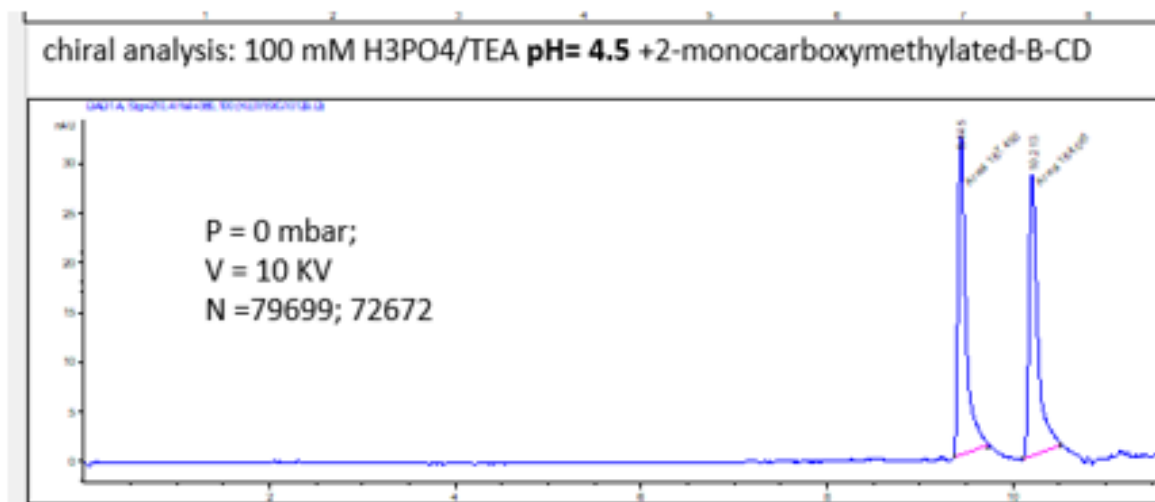


ნახ.21. 2,3-დი-0-მეთილ-6-სულფო- α -CD (HDMS- α -CD)-ზე მიღებული ელექტროფეროგრამა.

როგორც ჩანს მოცემულ შემთხვევაში შეიცვალა კომპლექსწარმოქმნის მექანიზმი, რამაც განაპირობა მიგრაციის რიგის შებრუნება.

ე.ი შედეგებიდან გაირკვა, რომ ნომიფენსინის ენანტიომერების აფინობაზე ციკლოდექსტრინების მიმართ გავლენას ახდენს შიგა ღრუს გეომეტრიული ზომები (რაც განვიხილეთ ბუნებრივ ციკლოდექსტრინებზე) და ქიმიური შედგენილობა. მიგრაციის რიგზე კი გავლენა მხოლოდ ციკლოდექსტრინის ქიმიურ შედგენილობს აქვს.

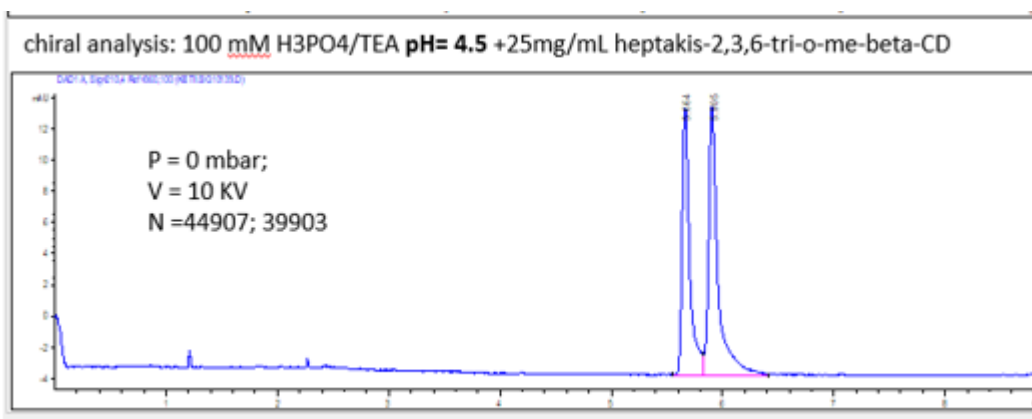
შემდეგ ეტაპზე ანალიზი ჩავატარეთ 2-მონოკარბოქსიმეთილირებულ β -CD-ზე. მივიღეთ შემდეგი დაყოფა:



ნახ.21. 2-მონოკარბოქსიმეთილირებულ β -CD-ზე მიღებული ელექტროფეროგრამა.

როგორც ჩანს გლუკოპირანოზულ ერთეულში 2C ნახშირბადთან დაკავშირებული ჰიდროქსიდონების კარბოქსიმეთილირებამ გამოიწვია დაყოფის სელექტივობის გაზრდა, რაც სავარაუდოდ გამოწვეულია ციკლოდექსტრინის გარე შრის ჰიდროფობურობის გაზრდით.

2,3,6 მდგომარეობაში მეთილირებულ ციკლოდექტრინზე კი დაყოფა ოდნავ გაუარესდა:



ნახ.22. ჰეპტაკის (2,3,6-ტრი-*O*-მეთილ) β ციკლოდექტრინზე მიღებული ელექტროფეროგრამა.

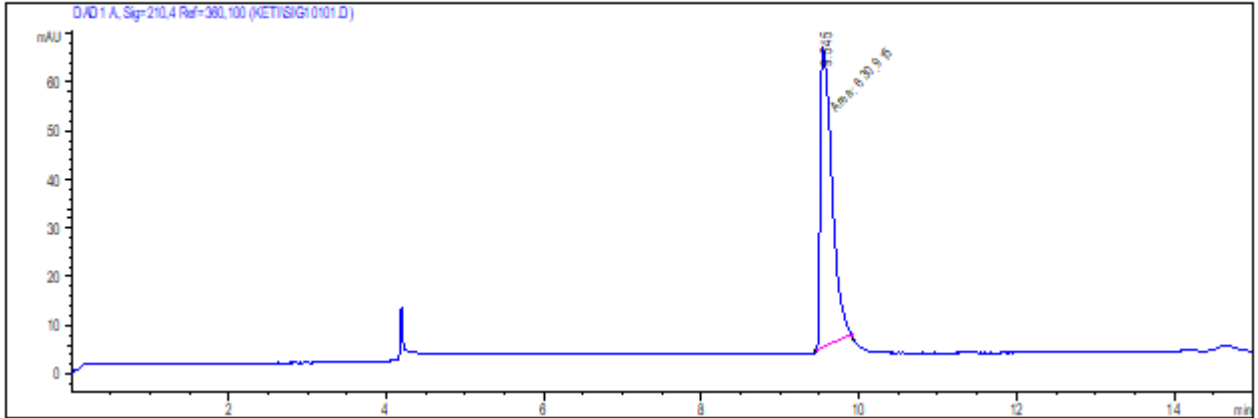
ორივე ციკლოდექსტრინში (2,3-დი-*O*-მეთილ-6-*O*-სოლფო-α-CD და 2,3,6-ტრი-*O*-მეთილ- α-CD) 2,3 გლოკუპირანოზულ ნახშირბადებზე ერთნაირი ჩამნაცვლებლება. ისინი განსხვავდებიან მხოლოდ 6C მდგომარეობაში ჩამნაცვლებული ჩამნაცვლებლით, რომელიც ციკლოდექსტრინის ვიწრო მხარესაა, რაც გავლენას ვერ მოახდენდა აფინურობის შეცვლაზე და სელექტივობაზე, რადგან 6C- მდგომარეობაში მიერთებული ჯგუფები მდებარეობენ ციკლოდექსტრინის ღრუს ვიწრო მხარეს, ხოლო 2C და 3C მდგომარეობაში მიერთებულნი- ღრუს განიერ მხარეს მოცემული ციკლოდექსტრინზე 2,3-დი-*O*-მეთილ-6-*O*-სოლფო-α-CD-თან შედარებით ენანტიომერთა ოდნავ განსხვავებული სელექტივობა შეიძლება აიხსნას ციკლოდექსტრინის კონცენტრაციის განსხვავებით.

4.2 მიანსერინის ენანტიომერების დაყოფა ქირალურ სელექტორებად ციკლოდექსტრინების გამოყენებით

ექსპერიმენტი 3

მიანსერინის ენანტიომერების დაყოფის ანალიზებს ვატარებდით 100 mM H₃PO₄ -ის ბუფერში, pH=4.5.

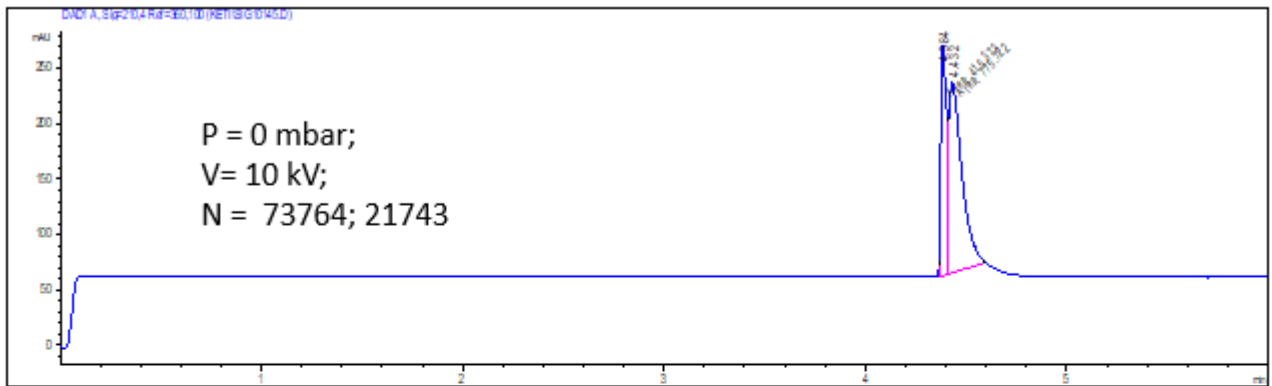
chiral (100 mM H₃PO₄; pH = 4.5 + 50 mg/ml Heptakis(2,6-di-o-Methyl) – B-CD)



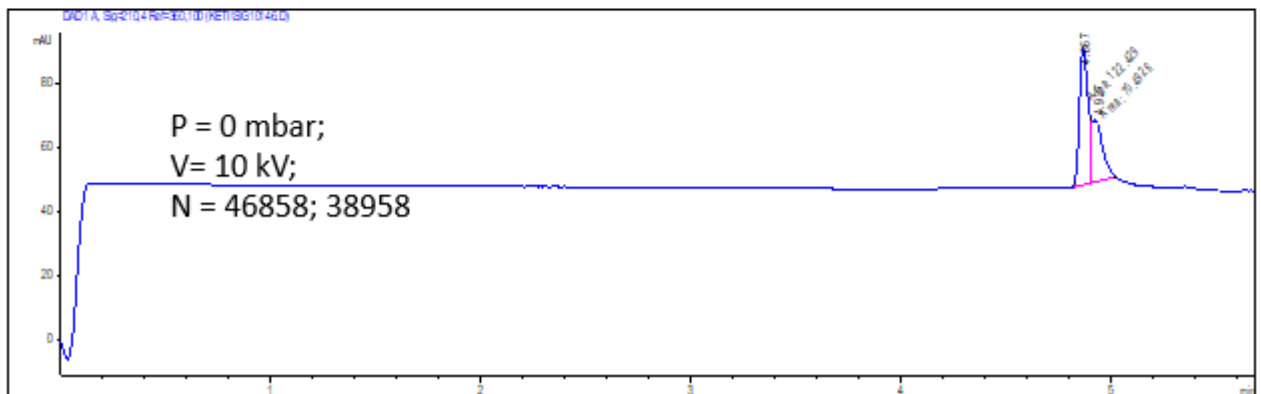
ნახ.23. ჰეპტაკის (2,6-დი-*O*-მეთილ)- β ციკლოდექტრინზე მიღებული ელექტროფეროგრამა.

2,3 მდგომარეობაში აცეტილის ჯგუფების შეყვანისას გამოიკვეთა მეორე პიკიც:

(rac) chiral (100 mM H₃PO₄; pH = 4.5 + 20 mg/mL heptakis-2,3-diacetyl-B-CD)

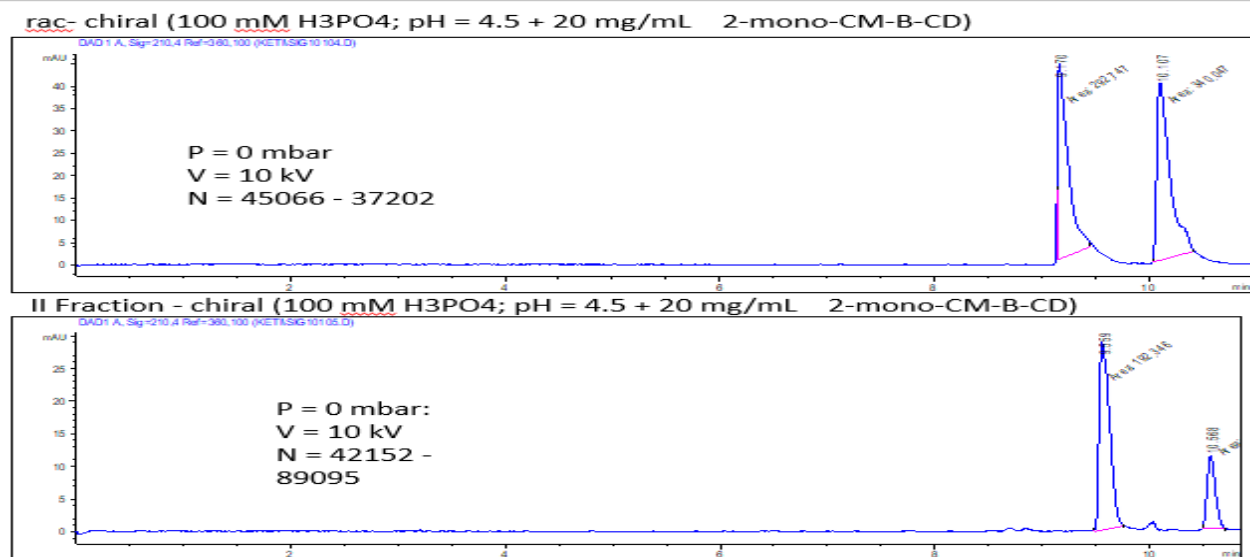


(II Fraction) chiral (100 mM H₃PO₄; pH = 4.5 + 20 mg/mL heptakis-2,3-diacetyl-B-CD)



ნახ.24. ჰეპტაკის (2,3-დიააცეტილ)- β ციკლოდექტრინზე მიღებული ელექტროფეროგრამა.

მიანსერინის ენანტიომერების დაყოფა ქირალურ სელექტორებად ჰეპტაკის 2,3-დიაცეტილ- β -CD და 2-მონო-CM-CD-ის გამოყენებით.



ნახ.25. 2-მონო-CM- β ციკლოდექტრინზე მიღებული ელექტროფეროგრამა.

დასკვნა

1. მოვახდინეთ ქირალური სამკურნალო საშუალებების, ნომიფენსინისა და მიანსერინის ენანტიომერების დაყოფა კაპილარულ ელექტროფორეზში სხვადასხვა ტიპის ციკლოდექსტრინების გამოყენებით. შევისწავლეთ მოცემულ ნივთიერებათა ენანტიომერების დაყოფის სელექტივობასა და მიგრაციის რიგზე ციკლოდექსტრინის ზომისა და ქიმიური შედგენილობის გავლენა.
2. დადგენილი იქნა, რომ ნომიფენსინის ენანტიომერების შემთხვევაში დაყოფის სელექტივობაზე გავლენას ახდენს ციკლოდექსტრინის ზომა. ქირალური გამოცნობა გაუმჯობესდა α -ციკლოდექსტრინიდან β -ციკლოდექსტრინზე გადასვლისას, რაც აიხსნება ქირალური სელექტორის შიგა ჰიდროფობური ზომის გაზრდით. მოცემულ შემთხვევაში მიგრაციის რიგზე ციკლოდექსტრინის ზომის გავლენა არ გამოვლენილა.
3. α , β და γ ციკლოდექსტრინებში გარე შრის ჰიდროქსიდების მოდიფიცირებით სხვადასხვა ჯგუფებით მივიღეთ უკეთესი დაყოფები.
4. აღსანიშნავია, რომ 2,3,6-ტრი- O -მეთილ-6- O - α -CD-იდან 2,3-დი- O -მეთილ-6-სულფო- α -CD (HDMS- α -CD)-ზე გადასვლისას მიგრაციის რიგი შებრუნდა.
5. შედეგებიდან გამოიკვეთა, რომ ნომიფენსინის ენანტიომერების სელექტივობაზე გავლენას ახდენს ციკლოდექსტრინის გარე შრეში ჩამნაცვლებელთა ქიმიური ბუნება, ხოლო მიგრაციის რიგზე ამ შემთხვევაში არ გამოიკვეთა მათი გავლენა.

გამოყენებული ლიტერატურა

1. History, advancement, bottlenecks, and future of chiral capillary electrochromatography Salvatore Fanali, Bezhan Chankvetadze. Journal of Chromatography
2. B. Chankvetadze, Capillary Electrophoresis in Chiral Analysis
3. <https://en.wikipedia.org/wiki/Nomifensine>
4. <https://en.wikipedia.org/wiki/Mianserin>
5. კაპილარული ელექტროფორეზის საფუძვლები, ბეჟან ჭანკვეტაძე
6. Contemporary theory of enantioseparations in capillary electrophoresis, bezhan chankvetadze. journal of chromatography
7. ბ. ჭანკვეტაძე, გ. ბეზარაშვილი, სასწავლო კურსი: ფიზიკური ქიმია – 2