ივანე ჯავახიშვილის სახელობის თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტი
ზუსტ და საბუნებისმეტყველო მეცნიერებათა ფაკულტეტი

თამუნა დანელია

ბრომფერინამინის ენანტიომერების მიგრაციის რიგის შესწავლა კაპილარულ ელექტროფორეზში ქირალურ სელექტორებად დამუხტული ციკლოდექსტრინების გამოყენებით

ქიმიური ექსპერტიზა

ნაშრომი შესრულებულია ქიმიური ექსპერტიზის მაგისტრის აკადემიური ხარისხის მოსაპოვებლად

ხელმძღვანელი: ქიმიის აკადემიური დოქტორი ანა გოგოლაშვილი

თბილისი

2024 წელი

სარჩევი

ანოტაცია..... 3

1. შესავალი.....5

2. თეორიული ნაწილი

2.1 ქირალობა.....6

2.2 ენანტიომერები……..7

2.3 ენანტიომერების საყოფის მნიშვნელობა……10

2.4 გაზური ქრომატოგრაფია……11

2.5 ზეკრიტიკული სითეების ქრომატოგრაფია……12

2.6 სითხური ქრომატოგრაფია……13

2.7 კაპილარული ელექტროფორეზი……15

2.7.1 ისტორია……15

2.7.2 კაპილარული ელექტროფორეზის უპირატესობები სხვა მეთოდებთან შედარებით.....16

2.7.3. ელექტროფორეტული ძვრადობა……17

2.7.4 ელექტროოსმოსი……18

2.7.5 კაპილარული ელექტროფორეზის სახესხვაობები 19

2.7.5 ეფექტები, რომლებიც გავლენას ახდენს პიკების გარჩევითობაზე.....22

2.7.5.1 ჯოული სითბო.....22

2.7.5.2 ელექტროდისპერსია.....23

2.7.5.3 ნივთიერებისა და კაპილარის კედლის ურთიერთქმედება.....23

2.7.5 ხელსაწყო……..24

2.8 ციკლოდექსრინები.....25

2.9 ქირალური ნივთიერებების დაყოფა ციკლოდექსტრინების გამოყენებით.....26

3. ექსპერიმენტული ნაწილი

3.1 ექსპერიმენტისთვის გამოყენებული ნივთიერება- ბრომფერინამინი 28

3.2 ექსპერიმენტი 29

3.3 შედეგები 30

3.4 დასკვნა 33

4. ლიტერატურული ნაწილი.....34

ანოტაცია

დღესდღეობით სამკუნალწარმო ნივთიერებების ნახევარზე მეტი მოლეკულაში შეიცავს ქირალურ ცენტრს, მათი უდიდესი ნაწილი გამოიყენება რაცემანტის სახით, რომლებიც შედგება ენანტიომერების ეკვიმოლეკულური რაოდენობისგან. ენატიომერები თავის მხრივ ქიმიური შედგენილობით და ფიზიკურ-ქიმიური თვისებებით ერთნაირია, მაგრამ ხშირად ავლენენ განსხვავებულ მეტაბოლურ, ფარმაკოლოგიურ, ტოქსიკოლოგიურ და ა.შ მოქმედებას. ასევე აღსანიშნავია ის ფაქტი, რომ ადამიანის ორგანიზმი დიდი რაოდენობით ჰომოქირალურ ნაერთს შეიცავს, რის გამოც იგი მძლავრ ქირალურ სელექტორს წარმოადგენს და განსხვავებულად რეაგირებს სხვადასხვა ენანტიომერზე. ამგვარად, ერთი იზომერი შეიძლება ავლენდეს დადებით ფარმოკოლოგიურ და თერაპიულ მოქმედებას, როდესაც შესაძლოა მეორე ენანტიომერმა გამოვლინოს ძლიერ ტოქსიკური ეფექტი. ამიტომაც ფარმაცევტული საშუალების რეგისტრაციამდე აუცილებელია ენანტიომერის აქტივობის შესწავლა, თუ რომელი ენანტიომერი გამოავლენს დადებით თერაპიულ ეფექტს და მხოლოდ ეს ენანტიომერი იქნას გამოყენებული სუფთა სახით სამკუნალო საშუალებად. აქიდან გამომდინარე, დღესდღეობით ენანტიომერების ნარევის დაყოფის შესწავლა ერთ-ერთ აქტუალურ თემას წარმოადგენს.

ენანტიომრების დაყოფის ერთ-ერთ მძლავრ მეთოდს წარმოადგენს კაპილარული ელექტროფორეზი. მისი უპირატესობა მდგომარეობს შემდეგში: ხასიათდება მაღალი ეფექტურობით, ანალიზის მსვლელობა მოითხოვს მცირე დროს, განეკუთვნება მინიატურულ მეთოდებს, რომლიც არ აბინძურებს გარემოს. ასევე კაპილარი მდგარდია ძაბვის მიმართ, რაც საშუალებას იძლევა გამოვიყენოთ მაღალი ძაბვა მცირე რაოდენობის სითბოს წარმოქმნის ხარჯზე. ასეთი ძაბვის გამოყენება უზრუნველყოს მეთოდის მაღალ ეფექტურობას, ანალიზის მცირე დროს და მაღალ გარჩევითობას.

კაპილარულ ელექტროფორეზში დაყოფა ქირალური სელექტროების გამოყენებით ხდება. აღნიშნულ მეთოდში უმეტესად ქირალურ სელექტროებად ციკლოდექსტრინები გამოიყენება, რომლებიც ხასიათდებიან ქირალური გამოცნობის უნივერსალური შესაძლებლობებით. ციკლოდექსტრინები კარგად იხსნებიან წყლიან ბუფერებში და არ წარმოადგენენ ტოქსიკურ ნივთიერებებს. მათი ურთიერთქმედება ქირალურ მოლეკულებთან შესაძლოა სხავდასხვა სტერეოსელექტიური მექანიზმით წარიმართოს. ციკლოდექსტრინები ენანტიოსელექტიურად გამოიცნობენ ენანტიომერებს გარადამავლი არაკოვალენტური დიასტერეომერული კომლექსების წარმოქმნით. მიღებული

კომპლექსები ერთმანეთისგან სივრცითი ორიენტაციით ან სპეციფიური მოლეკულათშორისი ურთიერთქმედების ძალებით განსხვავდებიან, რის მეშვეობითც ხდება ელექტროფორეტული ძვრადობებს შორის განსხვავება და ენანტიომერების დაყოფა.

Annotation

Nowadays, more than half of the molecules of herbal substances contain a chiral center, most of them are used as racemates, which consist of equimolecular amounts of enantiomers. By the way Enantiomers, on the other hand, have the same chemical composition and physico-chemical properties, but often exhibit different metabolic, pharmacological, toxicological, etc. actions. It is also worth noting the fact that the human body contains a large amount of homochilar compounds, which is why it is a powerful chiral selector and reacts differently to different enantiomers.

Thus, one isomer may exhibit positive pharmacological and therapeutic effects while the other enantiomer may exhibit severe toxic effects. Therefore, before the registration of the pharmaceutical product, it is necessary to study the activity of the enantiomer, which enantiomer will show a positive therapeutic effect, and only this enantiomer should be used in its pure as a medicinal product. Therefore, the study of the separation of the mixture of enantiomers is one of the topical topics today.

Capillary electrophoresis is one of the powerful methods of enantiomer separation. Its advantage lies in the following: it is characterized by high efficiency, the analysis process requires little time, belongs to miniature methods that do not pollute the environment. Also, the capillary is voltage resistant, which allows high voltages to be used at the expense of generating a small amount of heat. The use of such a voltage ensures high efficiency of the method, short analysis time and high resolution.

In capillary electrophoresis, separation is done using chiral selectors. In this method, cyclodextrins are used as chiral selectors, which are characterized by universal capabilities of chiral detection. Cyclodextrins dissolve well in aqueous buffers and are not toxic substances. Their interaction with chiral molecules may take place by a different stereoselective mechanism. Cyclodextrins enantioselectively resolve enantiomers by forming non-covalent diastereomeric

complexes. The resulting complexes differ from each other in spatial orientation or specific intermolecular interaction forces, through which the difference between the electrophoretic shifts and the separation of enantiomers is made.

შესავალი

ქირალობის ფუძემდებელი ფრანგი მიკრობიოლოგი ლუი პასტერია, რომელმაც 1848 წელს ხელით დაყო ღვინის მჟავას ენანტიომერები. ქირალობის ნიშვნელობის შესწავლას დაახლოებით ერთი საუკუნე დასჭირდა. მას მნიშვნელოვანი როლი უკავია მცენარეებში, ცოცხალ ორგანიზმებში, ქიმიურ თუ სასოფლო- სამეურნეო ინდუსტრიაში. დღეის მონაცემებით, სამკურნალო საშუალებათა ნახევარზე მეტი ქირალური ცენტრის შემცველია, რომელთა უმეტესი ნაწილი რაცემატის სახით გამოიყენება.მოქმედების მიხედვით ენანტიომერების სამ სახეს განარჩევენ : 1. როდესაც ერთ ენანტიომერს აქვს დადებითი ფარმაკოლოგიური მოქმედება, მეორეს კი ტოქსიკური. 2. როდესაც ერთი ენანტიომერის მოქმედება ბევრად აჭარბებს მეორე ენანტიომერისას და 3. როდესაც ერთ ენანტიომერს გააჩნია დადებითი მოქმედება, მაგრამ ორგანიზმში ენზიმების მოქმედების შედეგად მეორე ენანტიომერი გარდაიქმნება აქტიურ ენანტიომერად. ენანტიომერების განსხვავებული ფარმოკოლოგიური თუ მეტაბოლური მოქმედებიდან გამომდინარე, სამკურნალო საშუალება იწარმოება მხოლოდ ერთი ენანტიომერის სახით. სამეცნიერო მიმართულებით თუ ნებისმიერი სახის ინდუსტრიისთვის ქირალობის უდიდესი მნიშვნელობიდან გამომდინარე, ახალი გაუმჯობესებული მეთოდების შექმნა ენანტიომერების დასაყოფად ძალიან აქტუალურ თემას წარმოადგენს. ინსტრუმენტული თვალსაზრისით ენანტიომერების დაყოფის ერთ-ერთ ძლიერ მეთოდან კაპილარული ელექტროფორეზი მოიაზრება. ეს მეთოდი საინეტრესოა როგორც ენანტიომერების დაყოფისთვის, ასევე არაკოვალენტური მოლეკულური ურთიერეთქმედების კვლევისთვისთვისაც. ექსპერიმენტი ძალზედ საინტერესოა, ვინაიდან ენანტიომერები განსხვავებული მექანიზმით მოქმედებს და უკავშირდება ქირალურ სელექტორს, რომელთაც სხვადასხავა შეკავშირების მუდმივები გააჩნიათ. ასევე აღსანიშნავია რომ კაპილარული ელექტროფორეზი არ იძლევა პირდაპირ ინფორმაციას წარმოქმნილი

კომპლექსის ტიპის შესახებ. სელექტორ/სელექტანდის კომპლექსწარმოქმნის მექანიზმის კვლევისთვის გამოიყენება ბირთვულ მაგნიტური რეზონანსის სპექტროსკოპია. ბმრ სპექტროსკოპია წარმოადგენს ინფორმატიულ და ზუსტ ტექნიკას კომპლექსის სტრუქტურისა და სტექიომეტრიის შესასწავლად.

ლიტერატურული მიმოხილვა

ქირალობა

მოლეკულური ქირალობის ფუძემდებელია ფრანგი მიკრობიოლოგი ლუი პასტერი. მან 1848 წელს დაადიგინა რომ ღვინის მჟავას მარილები ასიმეტრიული აგებულების მქონე ორი სახის კრისტალის ნარევს წარმოადგენენ და მათი განცალკევებით აღმოაჩინა რომ თითეული ამ სახეობის კრისტალები საპირისპირო მიმართულებით აბრუნებენ სინათლის პოლარიზაციის სიბრტყეს. თითქმის ერთი საუკუნე დასჭირდა ქირალობის ფენომენის დადგანეს, რომელიც მნიშვენოლოვან როლს ასრულებს ცოცხალ ორგანიზმებში, მცენარეებში, ფარმაცევტულ, სასოფლო-სამეურნეო თუ ქიმიურ ინდუსტრიაში. „ქირალობა“ ძველბერძნული სიტყვაა და ხელს ნიშნავს. ქირალობა აღნიშნავს, რომ ნებისმიერი ორი საგანი (მოლეკულა) ისეთი შესაბამისია ერთმანეთის, როგორც მარჯვენა და მარცხენა ხელი, ან საგანი და მისი სარკული გამოსახულება. ქირალური შეიძლება იყოს ნივთიერება, რომლის მოლეკულაში არის ოთხი განსხვავებული ჩამნაცვლების მქონე ნახშირბადატომი,რომელსაც სტრეოგენულ ნახშირბადს უწოდებენ, მაგრამ ამასთნავე არსებობს სხვა ატომებით (აზოტი, გოგირდი, ფოსფორი) ან ქირალობის სხვა ელემენტებით (ღერძი, სიბრტყე) განპირობებული ქირალობის შემთხვევებიც. მაგალითად ომეპრაზოლის ციკლოფოსფამიდის და მეტაქვალონის მოლეკულებში,შესაბამისად.

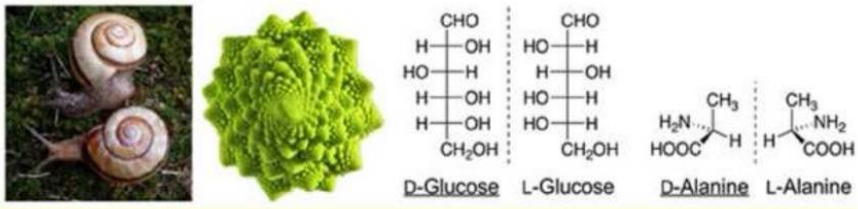
აუცილებელია აღინიშნოს, რომ ცოცხალი ორგანიზმები არის ჰომოქირალური, რაც იმანს ნიშნავს, რომ მოლეკულები, რომლისგანაც შედგება ცოცხალი ორგანიზმები ე.წ რიბონუკლეინისმჟავა, დიოქსირიბონუკლეინის მჟავა, ამინომჟავები, პროტეინები და შაქრები ყველა არის ქირალური. ცოცხალ ორგანიზმში ისინის ერთი ენანტიომერის სახით არსებობს. მაგ: მარჯვნივმრუნავი B-დიოქსირიბონუკლეინისმჟავა, მარცხნივმბრუნავი Z-დიოქსირიბონუკლეინისმჟავა, 1- ამინომჟავები და d-შაქრები. ამ უმნიშვნელოვანეს ბიოლოგიურ სელექტიურობას ეწოდება ჰომოქირალობა.

ცოცხალი ორგანიზმების ჰომოქირალობა განაპირობებს მათ განსხვავებულ

დამოკიდებულებას ერთ და იმავე საკვებდანამატების, არომატიზატორის და სამკურნალწარმო საშუალების ორი განსხვავებული ენანტიომერის მიმართ. მაგალითდ ასპარგინის შემთხვევა: S-ასპარგინი არის მწარე გემოსი, ხოლო R-ასპარგინი ტკბილია. ცოცხალი ორგანიზმის ასეთი გასხვავებული აღქმა ერთი და იმავე ნაერთის ცალკეულ ენანტიომერის მიმართ განაპირობებს, რომელი ენანტიომერი არის უფრო მისაღები ცოცხალი ორგანიზმისთვის და რომელს „ჩამოართმევს ხელს“. (1)

მოლეკულის არათავსებად სარკულ გამოსახულებას ენანტიომერს უწოდებენ. მათი ქიმიური და ფიზიკური თვისებები იდენტურია, გარდა პოლარიზებული სინათლის მობრუნების კუთხის ნიშნისა. ენანტიომერების ოპტიკური თვისებაზე დაყრდნობით გვაქვს ორი კლასიფიკაცია: მარცხნივ მბრუნავ (levorotary- 1 იზომერი) და მარჯვნივ მბრუნავ (dextrorotary- d იზომერი) იზომერებად. შესაბამისად ხშირად აღინიშნებიან „ – ‘’ მარცხნივ მბრუნავი და „ + ‘’ მარჯვნივ მბრუნავი ნიშნებით. ხოლო d და 1 იზომერების ექვიმოლური (50/50) ნარევს რაცემატი ეწოდება და აღინიშნება „±’’ ნიშნით ან (d,1). ასევე აღსანიშნავია, რომ რაცემატს არ გააჩნია ოპტიკური აქტივობა.

ენანტიომერების თნამედროვე ნომენკლატურა შეიქმნა სამი მეცნიერის, კანის, ინგოლის და პრელოგის მიერ და შესაბამისად ეწოდა კან-ინგოლ-პრელოგის ნომენკლატურა, რომლის მეხედვითაც ენანტიომერების კლასიფიკაცია ხდება ქირალური ცენტრის გარშემო ჩამნაცვლებლების ჯგუფების 3 განზომილებიანი სივრცული გალგაბის მიხედვით მოლეკულაში. ეს კლასიფიკაცია დაფუძნებულია ჩამნაცვლებელი ჯგუფების პრიორიტეტის წესზე. ასიმეტრიულ ნახშირბადთან ჩანაცვლებული ჯგუფების



სურ. 1 ქირალობის მაგალითები ცოცხალ ორგანიზმებში.

პრიორიტეტების განსაზღვრა ხდება რამდენიმე უმარტივესი წესით.

მაგალითად ატომთა რიგობრივი ნომრის მიხედვით : I > Br > Cl > S > P > F > O > N > C > H ასევე იზოტოპების მასური რიცხვის მიხედვით : [^{18}O > ^{16}O or ^{15}N > ^{14}N or ^{13}C > ^{12}C or T (^{3}H) > D (^{2}H) > H]. და სხვა.

როდესაც ყველაზე მაღალი პრიორიტეტის ჯგუფიდან ყველაზე დაბალი პრიორიტეტის ჯგუფისკენ ათვლა მიმდიონარეობს საათის ისრის მიმართულებით, მაშინ ენანტიომერის კოფიგურაციაა R (rectus- მარჯვნივ) , ხოლო თუ ატლა მიმდიონარეობს საათის ისრის საწინააღმდეგო მიმართულებით, მაშინ ენანტიომერის კონფიგურაციაა S (sinestra - მარცხენა). R,S - აღინიშნება რაცემული ნაერთი.

აღსანიშნავია, რომ არ არსებობს პირდაპირი კორელაცია კონკრეტული ენანტიომერის აბსოლიტურ სტრეოქიმიურ კონფიგურაციასა და ბრტყლად პოლარიზებული სინათლის ბრუნვის მიმართულებას შორის. კოკრეტული მოლეკულის თვისებიდან გამომდინარე შეიძლება გვქონდეს R(+), R (-), S(+) ან S(-). მოლეკულის ოპტიკური აქტივობა ისაზღვრება პოლარიმეტრის ან წრიული დიქროიზმის მეშვეობით, ხოლო ჩამნაცვლებელი ჯგუფების სივრცული განლაგება ბირთვულ მაგნიტური რეზონანსის ან რენტგენოსტრუქტურული ანალიზით.

თუ მოლეკულაში არის ერთი ან რამდენიმე ქირალური ცენტრი ეს მოლეკულა სტერეოიზომერია. სტერეოიზომერები ჩამნაცვლებლის სივრცული ორიენტაციით გასხვავდებიან ერთმანეთისგან. თუ ორი ქირალური ცენტრი გვაქვს ესენი დიასტრეომერები არიან. ენანტიომერები და დიასტერეომერები წარმოადგენენ სტრეოიზომერების ოჯახს. განსხვავება მათ შორის ისაა, რომ დიასტერეომერებისგან გასხვავებით, ენანტომერებს აქვთ ერთნაირი ფიზიკური და ქიმიური თვისებები, მაგრამ ბიოლოგიური მოქმედება შესაძლოა გასხვავებული ჰქონდეთ. ეუტომერია ენანტიომერი სასურველი ფარმაკოლოგიური აქტივობით, ხოლო დისტომერს არ გააჩნია ან არასასურველი ბიოლოგიური აქტივობისაა.

ენანტიომერები ერთმანეთისგან განსხვავდება ბიოლოგიური შეთვისებით, განაწილებით, ცილებთან შეკავებით და რეცეპტორთან ურთიერთქმედებით. დღესდღეობით, სამკურნალწარმო საშუალებების ნახევარზე მეტი შეიცას ქირალურ ცენტრს მოლეკულაში და მათი უმეტესობა რაცემატის სახით გამოიყენება.

ენანტიომერები ძირითადად სამი განსხვავებული მიმართულებით მოქმედებს ცოცხალ გარემოში:

1. მხოლოდ ერთ ენანტიომერს აქვს დადებითი ფარმაკოლოგიური ეფექტი. მეორე ენანტიომერი ან ბლასტია ან შეიძლება ჰქონდეს უარყოფითი გვერდითი ეფექტიც. მაგალითად ომეპრაზოლის შემთხვევაში მხოლოდ ერთ ენანტიომერს (S-ფორმას) აქვს სამკურნალო მოქმედება.

2. ერთი ენანტიომერის მოქმედება ბევრად აღემატება მეორე ენანტიომერისას, მაგალითად კეტოპროფენი, რომლის S-ფორმას გააჩნია ბევრად ძლიერი მოქმედება, ვიდრე R-ფორმა.

3. ერთ ენანტიომერს ჰოდენს დადებითი ეფექტი, მაგრამ ორგანიზმსი ენზიმების მოქმედების შედეგად მეორე ენანტიომერი გარდაიქმნებოდეს აქტიურ ენანტიომერად, მაგალითად იბუპროფენი, რომლის R- ფორმას არ აქვს დადებითი ფარმაკოლოგიური მოქმედება, მაგრამ ცოცხალ ორგანიზმში მეტაბოლიზირდება RCoA- თიოეთერად, რომლის შემდეგ ეპიმერიზდება S-CoA - თიოეთერად და საბოლოოდ გარდაიქნება S იბუპროფენად.

ვინაიდან ენანტიომერებს გააჩნიათ ერთნაირი სტრუქტურა, მაგრამ უმეტეს შემთხვევაში ახასიათებთ განსხავევბული ფარმაკოლოგიური, ტოქსიკური, მეტაბოლური თვისებები, სამკურნალო საშუალებები იწარმოება ერთი ენანტიომერის სახით. ქირალობას უდიდესი მნიშვნელოა აქვს ცოცხალი ორგანიზმებისთვის, ნებისმიერი სახის ინდუსტრიია თუ სამეცნიერო მიმართულებით, ახალი გამოუჯობესებული მეთოდების შემუშავება ენანტიომერების დასაყოფად მათი კვლევის თვალსაზრისთ ძალიან მნიშვნელოვანია. ინსტრუმენტული მეთოდებით პირველი ენანტიომერული დაყოფები გაზურ ქრომატოგრაფიას ეკუთვნის, მოგვიანებით კი დამკვიდრდა კაპილარული ელექტროფორეზი, რომელიც დღესდღეობით ფართოდ გამოიყენება ენანტიომერერული ნარევის დასაყოფად. ასევე ღსანიშნავია არაკოვალენტური ურთიერთქმედების მექანიზმებით ენანტიომერების დაყოფა. ექსპერიმენტის მსვლელობისას, თითეული ენანტიომერი განსხვავებული მექანიზმით მოქმედებს და უკავშირდება ქირალურ სექლექტორს. კაპილარული ელექტროფორეზის ნაკლად მიიჩნევა ის ფაქტი, რომ არ იძლევა პირაპირ ინფორმაციას კომპლექსის ტიპის შესახებ. ბმრ სპექტროსკოპია წარმოადგენს ინფორმატიულ და ზუსტ ტექნიკას, რომლიც ინფორმაციას იძლევა კოპლექსის სტრუქტურისა და სტექიომეტრიის შესახებ.

ენანტიომერების დაყოფის ინსტრუმენტული მეთოდები.

ენანტიომერების დაყოფა ერთ-ერთ აქტუალურ ამოცანად მიიჩნევა ქიმიაში. ვინაიდან ქირალურ ნივთიერებათა, როგორიცაა სამკუნალწარმო საშუალებები, საკვები დანამატები, შხამქიმიკატები და სხვა, ენანტიომერები ერთმანეთისგან განსხვავდება ბიოლოგიური აქტივობით, ტოქსიკურობით და ა.შ. ენანტიომერები ასევე ერთმანეთისგან განსხვავდება რეცეტორებისადმი განსხვავეული აფინურობით.

ქირალურ ნივთიერებათა დაყოფისთვის გამოიყენება კაპილარული ელექტროფორეზი და ქრომატოგრაფიული მეთიდები. ეს მეთოდები მაშტაბურად გამოიყენება, ვინაიდან ყველაზე ეფექტურია ქირალური დაყოფის განხორციელებაში, ასევე პარარელურად შესაძლებებლია ენანტიომერების სისუფთვის კონტროლი სინთეზის სხვადასხვა ეტაპზე, რაცემიზაციის პროცესი და ხარისხის კონტროლი. დღესდღეობით ყველაზე მძლავრ მეთოდ კი კაპილარული ელექტროქრომატოგრაფია წარმოადგენს, რომელიც აერთიანებს ელექტროფორეზზსა და ქრომატოგრაფიის უპირატესობებს.

ქირალური დაყოფის განსახორციელებლად აუცილებელია ქირალური სელექტორების გამოყენება, რომელიც ქირალურ ნივთიერებაა და განსხვავებულად ურთიერთქმედებს თითეულ ენანტიომერთან. განსხვავებულ უერთიერთქმედებაში იგულიხმება: განსხვავებული ადსორცია-დესორბცია, გასხავებული კომპლექსის წარმოქმნა. ქირალური სელექტორის არჩევა კი ხდება გამოყენებული მეთოდებისა და ექსპერიმენტის მიზნიდან გამომდინარე.

ენანტიომერების დაყოფის მეთოდები:

1. არაპირდაპირი მეთოდ, რომლის დროცა ხდება ენანტიომერების გაყვანა დიასტერეომერულ ფორმაში და შემდეგ მიღებული პროდუქტის დაყოფა კრისტალიზაციის და ქრომატოგრაფიის გამოყენებით.

   მეთოდის ნაკლი-მეთოდის გამოყენება შესაძლებელია მხოლოდ შეზღუდული რაოდენობის ნივთიერებებისთვის.

2. პირდაპირი დაყოფა- ენანტიომერების ფერმენტული დაყოფა, ანუ ფერმენტების ან ბილოგიური უჯრედის საშუალებით ხდება ერთი-ერთი ენანტიომერის გარდაქმნა და გამოყოფა რაცემული ნარევიდან. ამ მეთოდში ყოველთვის არ გამოიყენება ქირალური

სელექტორები.

3. ინსტრუმენტული მეთოდები: სითხური და გაზური ქრომატოგრაფია, ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფია, კაპილარული ელექტროფორეზი. ამ მეთოდებში აუცილებელია ქირალური სელექტორის გამოყენება, რომლის საშულებითაც მოხდება ენანტიოერების დაყოფა. (2)

გაზური ქრომატოგრაფია

გაზური ქრომატოგრაფია გამოიყენება დაბალმოლეკულური მასის მქონე აქროლადი ნივთიერებებისთვის. მაღალმოლეკულური მასის მქონე არააქროლადი ნივთიერებებისთვის მისი გამოყენება შეზრუდულია, თუმცა ზოგჯერ ხდება ნივთიერების დერივატიზაცია და აქროლად ფორმაში გადაყვანა.

გაზური ქრომატოგრაფიის საშუალებით ენანტიომერების დაყოფა ხდება ორი მეთოდით:

1. პირდაპირი მეთოდი - ოპტიკურ იზომერებს ჰყოფენ ქირალური სტაციონალური ფაზების გამოყენებით.
2. არაპირდაპირი მეთოდი- ამ დროს ხდება საანალიზო ენანტიომერების ნარევის დერივატიზაცია ენანტიომერულად სუფთა ქიმიური დანამატით და შემდეგ ხდება მიღებული დიასტერეიომერეის დაყოფა სტანდარტული არაქირალური სტაციონალური ფაზების გამოყენებით.

გაზური ქრომატოგრაფია მაღალ ეფექტურია, ვინაიდან ხდება როგორც ქირალური ასევე აქირალური დაყოფაც, რაც ნიშნავს, რომ ენანტიომერული დაყოფისა ასევე ხდება ქიმიური დაყოფაც.

მეთოდის უპირატესობებია: გამოყენებული სვეტების მაღალი ეფექტურობა, ანალიზის სისწრაფე, სვეტის გაწონასწორების მცირე დრო. (3)

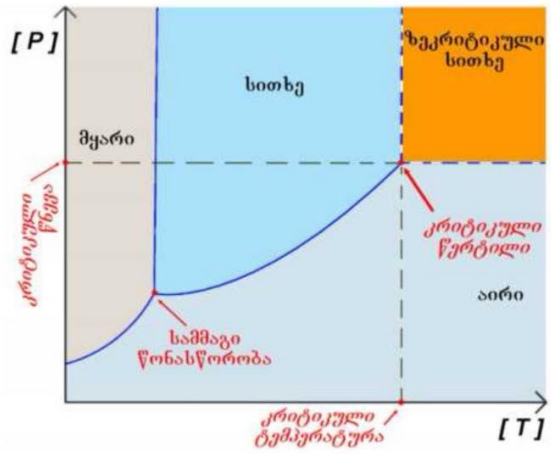
ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფია

ენანტიომერების დასაყოფად წარმატებით გამოიყენება ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფია. მისი განვითარება დაიწყო 1960 იან წლებში და დღესდღეობით წარმოადგენს დამოუკიდებელ მეთოდს, რომელიც აერთანებს გაზურ და სითხურ ქრომატოგრაფიას. მეთოდიკების განვითარება დაიწყო 1980-იან წლებში, რომლებიც იყენებდა კაპილარულ სვეტებს და დეტექტორებს , რაც გაზური ქრომატოგრაფიიდან გადმოიტანეს, ხოლო ინჟექტორებს და მოძრავი ფაზის მიწოდების სისტემებს სითხური ქრომატოგრაფიიდან. 1990-იანი წლებიდან კი განვითარდა ზეკრიტიკული ქრომატოგრაფია შევსებული სვეტების პოლარული ნივთიერებების დასაყოფად, ამ ნივთიერებების გაზ- ქრომატოგრაფიული დაყოფა გართულებული იყო, ვინაიდან საჭიროებდა მაღალ აქროლადობის ტემპერატურას. დღესდღეობით ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფია იძლევა საშუალებას გამოყენებულ იქნეს მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფები ერთი დამატებითი მოდულით და მცირე მოდიფიკაციებით,დაიწყო სპექტრულ დეტექტორებში მაღალი წნევის კიუვეტების გამოყენება, გაუმჯობესდა სვეტოს შემავსებელი მასალები, უკვე ზეკრიტიკულ სითხეში ორგანული მოდიფიკატორების მაღალი სიზუსტით შერევაა შესაძლებელი, რამაც შესაძლებლობა მოგვცა არამხოლოდ სიმკვრივით სელექტიურობის კონტროლი, არამედ მოძრავი ფაზის შემადგენლობის მიხედვით.

ზეკრიტიკული სითხე არის ნივთიერება მის კრიტიკულ ტემპერატურაზე მაღლა, როდესაც ის შეკუმშულია მის კრიტიკულ წნევაზე მაღლა. ეს სითხე კრიტიკული ტემპერატურის გამო უნდა გადავიდეს აირში , რაშიც კრიტიკული წნევა ხელს უშლის და მიიღება მდგომარეობა, რომლის დროსაც შეუძლებელია ფაზათ გაყოფა სითხესა და აირს შორის, ამიტომ მიიჩნევა რომ ეს არ არის ნივთიერების ახალი აგრეგატული მდგომარეობა.

ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფიაში ელუენტად ყველაზე ფართოდ ნაშირორჟანგი, ვინაიდან ადვილია მისი ზეკრიტიკულ მდგომარეობაში გადაყვანა. ასევე ნახშირორჟანგს უპირატესობა ენიჭება მისი ბიუჯეტურობის, ეკოლოგიური სისუფთვისა და უსაფთხოების გამო.

ამ მეთოდის უპირატესობებს წარმოადგენს: სვეტების მაღალი ეფექტურობა (უმეტესად სწრაფი დიფუზიის გამო), დაბალი ტოქსიკურობა და აალებადობა.(4)



სურ. 3 ფაზათა დიაგრამა ზეკრიტიკული სითხეებისათვის.

სითხური ქრომატოგრაფია

ქრომატოგრაფია წარმოადგენს ნარევის დაყოფის ერთ-ერთ ყველაზე ეფექტურ და უნივერსალურ მეთოდს. ისტორიულად ქრომატოგრაფიული მეთოდი მოწოდებული იყო რუსი ბოტანიკოსის მიხეილ ცვეტის მიერ, რომელმაც 1903 წელს წაიკითხა ლექცია მცენარეების მწვანე ფოთლებისგან გამოყოფილი პიგმენტების ცარცით შევსებულ სვეტზე დაყოფის შესახებ. თანამედროვე ფორმულირებით ქრომატოგრაფია განიხილება როგორც ანალიზის დიფერენციალურ- მიგრაციული მეთოდი, რადგანაც ამ მეთოდში გამოიყენება გაზის ან გამხსნელის ნაკადი, რომელიც განაპირობებს დასაყოფი ნარევის კომპონენტებად დიფერენციალურ გადანაცვლებას სორბენტის გასწვრივ. მოძრავი ფაზის (შეიძლება იყოს გაზი ან სითხე) ნაკადით უძრავი ფაზის (შეიძლება იყოს სითხე ან მყარი ნივთიერება) სორბენტის გასწვრივ ნივთიერებათა გადაადგილება ემყარება ადსორბცია-დესორბციის აქტების მრავალჯერად განმერებას. ქრომატოგრაფიული მეთოდის ღირსებებია: უნივერსალურობა, მაღალი ეფექტურობა, ძირითადი აპარატურის და შესასრულებელი ოპერაციების სიმარტივე, ნივთიერებათა დაყოფა მათი ქიმიური ცვლილებების გარეშე (ფაქტორი უმნიშვნელოვანესია ბიოქიმიის და ორგანული ქიმიის სფეროში), მაღალი მგრძნობიარობა. (5)

მაღალი სითხური ქრომატოგრაფია გამოიყენება ორგანული და არაორგანული ნივთიერების დაყოფისა და რაოდენობრივი განსაზღვრისთვის. კერძოდ კი ხდება

შემდეგი ტიპის ანალიზები:

1. ენანტიომერების დაყოფა.

2.ამინომჟვების განსაზღვრა.

3. ფარმაცევტულ საშუალებებში მოქმედი ნივთიერების და მინარევების განსაზღვრა,

4. კვების პროდუქტებში, ჩამდინარე და სასმელ წყლებში პესტიციდების რაოდენობრივი განსაზღვრა.

5. კვების პროდუქტებში სტაბილიზატორების, არომატიზატორების, ვიტამინების და სხვა საკვები დანამატების რაოდენობრივი განსაზღვრა.

6. კვების პროდუქტებში ნარჩენი ანტიბიოტიკების და სხვა ტოქსიკური ნივთიერებების განსაზღვრა.

7. ბიოლოგიურ მატრიცებში სამკურნალო საშუალებების და მათი მეტაბოლიტების, ტოქსიკურ ნივთიერებების და მათი მეტაბოლიტების, ნარკოტიკული საშუალებების და მათი მეტაბოლიტების განსაზღვრა. (6)

ქრომატოგრაფიულ დაყოფას შემდეგი პარამეტრებით საზღვრავენ: შეკავებოს დრო, სელექტიურობა, გარჩევითობა, ეფექტურობა, პიკის სიმეტრია.

შეკავების დრო k გამოითვლება შემდეგი ფორმულით: $k_A = \frac{t_R - t_0}{t_0}$

სადაც t_R არის შეკავების დრო მოცემული ნივთიერებისთის, t_0 კი დრო, როდესაც ნიმუში ელუირდება ელუენტთან ერთად, ე.წ „ მკვდარი მოცულობა“ .

k არ არის დამოკიდებული სვეტის სიგრძეზე და მოძრავი ფაზის სიჩქარეზე და წარმოადგენს ნივთიერების მოლურ ფარდობას სტაციონალურ ფაზასა და მოძრავ ფაზაში:

$$k = \frac{n_{სტაც}}{n_{მამოძ.}}$$

სელექტიურობა (α)- დაყოფის ფაქტორი, რომელიც ტოლია ორი ნიმუშის შეკავების ფაქტორთა ფარდობის და შეიძლება განისაზღვროს უშუალოდ ქრომატოგრაფიიდან.

$$\alpha = \frac{K_2}{K_1}$$

სადაც α დამოკიდებულია შემდეგ ფაქტორებზე : საანალიზო კომპონენტის ბუნებაზე, ელუენტის ტიპზე, მის შემადგენლობაზე, ტემპერატურაზე , ადსორბენტის ბუნებაზე და მისი ზედაპირის ქიმიაზე.

გარჩევითობა (R) - ტევადობის ფაქტორი, წარმოადგენს სელექტიურობისა და სვეტის ეფექტურობის გაერთიანებულ გამოსახულებას.

$$R_S = \frac{t_2 - t_1}{0.5\, W_1 + W_2}$$

t_2 და t_1 შესაბამისად პირველი და მეორე ნიმუშის შეკავების დროებია, W_1 და W_2 კი პირველი და მეორე ნიმუშის პიკის სიგანეები.

ეფექტურობა ხასიათდება თეორიული თეფშების რიცხვით N

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

თეორიული თეფშის სიდიდდან კი ითვლიან მის ეკვივალენტურ სიმაღლეს : $H = \frac{L}{N}$

პიკის სიმეტრიულობა ფასდება პიკის არასიმეტრიულობის ფაქტორით:

$$T = \frac{CB}{AC}$$

სადაც CB და AC წარმოადგენს სიგანეებს პიკის სიმაღლის მეათედზე. (7)

კაპილარული ელექტროფორეზი

ისტორია

კაპილარული ელექტროფორეზი ნივთიერებათა დაყოფის ელექტროკინეტიკური მეთოდია, რომელიც შეიქმნა 1965 წელს ცილების, ნუკლეინის მჟავებისა და არაორგანული იონების დასაყოფად. 1980 წელს იქნა ამ მეთოდის პოტენციალი აღმოჩენილი ჯორგენსონისა და ლუკასის მიერ, როდესაც პირველად გამოაქვეყნეს მაღალეფექტური დაყოფები. მე-20 საუკუნის ბოლოდან ამ მეთოდის გამოყენება დაიწყეს ფარმაცევტულ ინდუსტრიაში. როგორც წესი ეს მეთოდი გამოიყენებოდა ნუკლეინის მჟავების და ცილების ანალიზისთვის, თუმცა შემდეგში შესაძლებელი გახდა მცირე და დიდი ზომის ორგანული და არაორგანული ნივთიერებების გაანალიზება.

კაპილარული ელექტროფორეზი წარმატებით გამოიყენება მცირე ზომი ქირალური მოლეკულებისთვის, მეტალების იონების განსაზღვრისთვის, აქირალური მინარევების

განსაზღვრისთვის და სხვა. ამ მეთოდმა ჩაანაცვლა როგორც გელ-ელექტროფორეზი, ასევე ქრომატოგრაფიული მეთოდები განსაზღვრულ ანალიზში.

კაპილარული ელექტროფორეზის უპირატესობები სხვა მეთოდებთან შედარებით

1. კაპილარების მაღალი ელექტრული მდგრადობა - ანალიზები შეიძლება ჩატარდეს მაღალი ელექტრული ველის ქვეშ მინიმალური სითბოს წარმოქმნით, რაც განაპირობებს ანალიზის მცირე დროს.
2. კაპილარული ელექტროფორეზი ითვლება ნივთიერებათა დაყოფის მინიატურულ მეთოდად, ვინაიდან სითხურ ქრომატოგრაფიასთან შედარებით კაპილარის დიამეტრი ასჯერ მცირეა. მეთოდში გამოყენებული ტიპიური კაპილარის შიდა დიამეტრი 25-75 მკმ-ია. ასეთი მიკრო დიამეტრის პიკების გამოყენება ანალიზში დიფუზიური მოვლენების და ტემპერატურის შემცირების მიზეზია, რაც თავისმხრივ მაღალეფექტური პიკების მიღებას განაპირობებს. მიკროდიამტერის კაპილარების გამოყენებისას იხარჯება მცირე რაოდენობით გამხსნელები, ნიმუშები, ქირალური სელექტორები, ამიტომაც მეთოდი იაფია და ეკონომიური.
3. არ არსებობს მკვდარი მოცულობა, რომელიც ნივთიერების ინიცირებითაა გამოწვეული და დეტექტირებით პირდაპირ კაპილარში.
4. ძირითადად გამოიყენება არაორგანული ბუფერები, რაც გარემოს დაბინძურებისგან იცავს.
5. ქირალური სელექტორების ფართო არჩევანი და ასევე შეიძლება მისი შეცვლაც.
6. მეთოდის დასამუშავებლად მცირე დროა საჭირო.
7. კაპილარული ელექტროფორეზი შესაძლებლობას იძლევა შევისწავლოთ ისეთი სტერეოსელექტიური ეფექტები, რომელთა შესწავლაც შეუძლებელია სხვა მეთოდების გამოყენებით.

დაყოფის პრინციპი კაპილარულ ელექტროფორეზში

ელექტროფორეტული ძვრადობა

კაპილარული ელექტროფორეზი ნივთიერებათა დაყოფის ელექტროკინეტიკური მეთოდია, რომელიც ეფუძვნება დამუხტული ნაწილაკების განაწილებაზე ბუფერულ ხსნარში ელექტროფორეტული ძვრადობების მიხედვით. ეს განაწილება კი მიიღწევა ელექტრული ველის მოდებით კაპილარის ბოლოეზე. ზემოთ ხსენებულიდან, ელექტროფორეტულ ძვრადობას დიდი როლი აკისრია ნაწილაკთა დაყოფაში. ელექტროფორეტული ძვრადობა აღიძვრება ელექტროლიტის გარემოში, იგი დამუხტული ნაწილაკების მახასიათებელია. ნივთიერებათა დაყოფის მისაღწევად დიდად მნიშვნელოვანია ელექტროლიტის ხსნარის ტვისებები, როგორიცაა იონური ძალა, pH, იონების ტიპი.

დამუხტული ნაწილაკები განიცდიან ელექტროსკტატიკურ ძალას, რომელიც აღიძვრება ელექტრული ველის გამოყენებისას E ($E=\frac{V}{L}$, V- მუდმივი ძაბვა, რომელიც მოდებულია კაპილარის ბოლოებზე, ხოლო L-მთლიანი კაპილარის სიგრძე). ელექტროსტატიკური ძალა პირდაპირპროპორციულია ელექტრული ველის ძალისა და იონის მუხტის: F= qE. ეს ძალა ხელს უწყობს იონებს უფრო სწრაფად გადაადგილდნენ საწინააღმდეგოდ დამუხტული ელექტროდისკენ. იონების გადაადგილების სისწრაფე მცირდება, როცა ანალიზი ტარდება ბლანტ გარემოში, ვინაიდან ხახუნის ძალა ნაწილაკის გადაადგილებას ხელხს უშლის და ნაწილაკები ნელა მიიწევენ ელექტროდისაკენ. სტოკის მიხედვით, კი სფერული ნაწილაკების ხახუნის ძალა გამოითვლება შემდეგი ფორმულით:

$$F_f = 6\pi\eta\upsilon r$$

სადაც η არის სითხის სიმკვრივე; r- ნაწილაკის ან იონის რადიუსი; υ-მიგრაციის სიჩქარე.

როგორც კი კაპილარის ბოლოზე მოხდება ელექტრული ველის მოდება, დამუხტული ნაწილაკების სტატიკური გადაადგილება იწყება. იონების მუდმივი სიჩქრე კი ტოლია ელექტროლიტური ძვრდობის და ელექტრული ველის ნამრავლისა: $\upsilon = \mu_e E$

ამ განტოლებების გაერთიანებით კი ვიღებთ ელექტროფორეტული ძვრადობის ფორმულას:

$$\mu_e(cm^2\ V^{-1}\ s^{-1}) = \frac{q}{\pi\eta z} = \frac{\upsilon}{E}$$

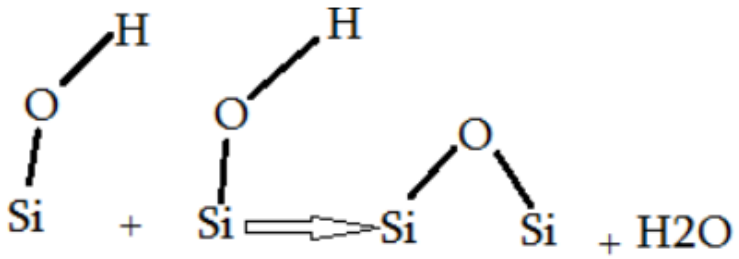
გამოსახულებიდან ვასკვნით, რომ რაც უფრო იზრდება მოცემული მუხტის იონის მასა მით უფრო იკლებს მიგრაციის სიჩქარე, ამასთანავე მოცემული იონური ნივთიერებისთვის μ_e იზრდება დისოციაციის ხარისხის ან იონური მუხტის ზრდასთან ერთად.

ასევე აღსანიშნავია ის ფაქტი, რომ ნეიტრალურ ნივთიერებებს არ გააჩნიათ ელექტროფორეტული ძვრადობა (q=0).

ელექტროოსმოსი

პირველი კვლევები ელექტროოსმოსზე მოგვაწოდა ჰელმჰოცმა, რომელმაც ჰორიზონტალურ მდგომარეობაში მყოფ წყლით სავსე კვარცის კაპილარს, რომელიც დამუხტულ ნაწილაკებს შეიცავდა, ბოლოებზე მოსდო ძაბვა. ამის შედეგად კაპილარის შიდა კედელი დაიმუხტა უარყოფითად, ხოლო კედელთან მყოფმა გამხსნელის ფენამ და მასში არსებულმა ნაწილაკებმა უარყოფითი მუხტი შეიძინა. სითხემ, რომელიც იმყოფებოდა კედელთან, დაიწყო მიგრაცია საწინააღმდეგოდ დამუხტული ელექტროდის მიმართულებით, სწორედ ამ პროცესს ეწოდა ელექტროოსმოსი. ელექტროოსმოსურ ძვრადობა აღიწერება შემდეგი ფორმულით: $\mu_{EOF}=\frac{E\zeta\varepsilon}{4\eta\pi}$, რომლიც აღწერს ფუნქციას, რომელიც პირდაპირპროპორციულია ხსნარის დიელექტრიკული მუდმივის, მოდებული ელექრული ველის და ზეტა პოტენციალის და უკუპროპორციულია ხსნარის სიბლანტის.

ბუფერული ხნარის ძვრადობას კაპილარში აღწერს შტერნის ორმაგი შრის მოდელი. თითქმის ყველა ზედაპირი იძენს ელექტრულ მუხტს ზედაპირზე. რაც შეიძლება გამოწვეული იყოს შემდეგი მიზეზებით: ზედაპირის იონიზაცია, ელექტროლიტების ადსორბცია მყარ ზედაპირზე და სხვა. შტერნის მოდელს შეუძლია აღწეროს კვარცის კაპილარის შიდა ზედაპირის იონიზაცია, ვინაიდან ელექტროფორეზისთვის ხშირად გამოიყენება კვარცის კაპილარების დაუმუშავებელი ზედაპირი. ამ კაპილარების გამოდნობა ხდება 1100°c ზე ან უფრო მაღალ ტემპერატურაზე. ამ დროს ხდება სილანოლური ჯგუფების კონდენსირება და წარმოიქმნება სილოქსანური ბმები, კვარცის კაპილარში კი წყლიანი ფაზის გატარებისას ხდება ხსნარის კონტაქტი კედელთან და ჰიდროლიზი,შემდეგ კი სილოქსანური ბმები ისევ სილანოლურ ჯგუფებს წარმოქმნის, რომელიც განიცდის იოანიზაციას.

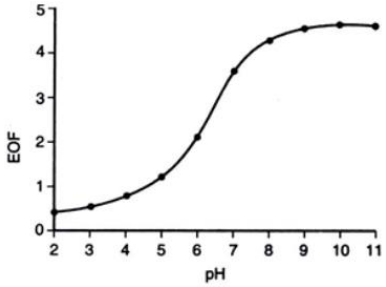


ელექტროლიტის pH-ზე დამოკიდებულებით :

მჟავა გარემოში სილანოლური ჯგუფები შესაძლოა დადებითად დამუხტული იყოს, როგორც $SiOH^{+:}$ SiOH+ HX → Si-OH_2^++X

როდესაც pH< 2, მაშინ კვარცის კედლები ნეიტრალურია, ვინაიდან სილანოლური ჯგუფების დისცოციაცია ძლიერ შემცირებულია.

pH >2, კი ხდება სილანოლური ჯგუფების დეპროტონირება: SiO+H2O—>SiO^--+ H_3O^+



ხსნარის pH-ის გაზრდით იზრდება სილანოლური ჯგუფების დისოციაციის ხარისხი. როდესაც pH=8,0, ელექტროსმოსური ნაკადის ძალა მაქსიმალურია, ხოლო pH - ის გაზრდით ნაკადის ძალა მუდმივი რჩება.

შტერნის მოდელის მიხედვით ადსორბირებული იონებით ორმაგი შრე წონასწორობაშია გარეთა დიფუზიურ ფენასთან.

კაპილარული ელექტროფორეზის სახესხვაობები

კაპილარულ ზონური ელექტროფორეზი

ელექტროფორეზის ექსპერიმენტი ყველაზე მარტივი და პოპულარული მეთოდია. ამ მეთოდში დაყოფა დაფუძნებულია ნაწილაკებს შორის განსხვავებულ

ელექტროფორეტულ ძვრადობაზე. ეს განსხვავება შესაძლოა გამოწვეული იყოს ნივთიერებების განსხვავებული მუხტით, მასით ან სტრუქტურით. ცალსახად რო ვთქვათ, ძვრადობაზე ნივთიერების სტრუქტურას არ აქვს ცხადი გავლენა, მაგრამ ნაწილაკის ეფექტური მუხტი, ბუფერთან სოლვატაცია და დენის ნაკადისადმი მდგრადობა დამოკიდებულია სწორედ ნივთიერების სტრუქტურაზე. ამ მეთოდით არ ხდება ქირალური ნივთიერებების ენანტიომერების დაყოფა. ვინაიდან ენანტიომერები არ განსხვავდებიან ფიზიკურ-ქიმიური თვისებებთ აქირალურ გარემოში ანუ ქირალური ნივთიერების ენანტიომერებს ერთნაირი ძვრადობა გააჩნიათ. კაპილარულ ზონური ელექტროფორეზით შესაძლოა დაიყოს დადებითად დამუხტული, ნეიტრალური და ანიონური ნაწილაკები ერთნაირ გარემოში. ასევე აღსანიშნავია ის ფაქტი, რომ ნეიტრალური ნივთიერებების ელექტროფორეტული ძვრადობები ნულის ტოლია და კაპილარში მხოლოდ ელექტროოსმოსის საშუალებით გადაადგილდებიან , ელექტროოსმოსი ძალა კი ერთი და იგივეა ყველა ნეიტრალური ნივთიერებების ერთნაირ პირობებში და ამიტომ ამ ნივთიერებებოს დეტექტირება ერთდროულად მოხდება, აქედან გამომდინარე ამ მეთოდში არ ხდება ნეიტრალური ნივთიერებების დაყოფა.

კაპილარული ელექტროქრომატოგრაფია

ეს მეთოდი დაფუძნებულია ნივთიერებათა განაწილებაზე ორ, ოძრავ და მოძრავ ფაზებს შორის. კაპილარული ელექტროქრომატოგრაფია წარმოადგენს ჰიბრიდს სითხური ქრომატოგრაფიისა და კაპილარული ელექტროფორეზის.

აღსანიშნავია, რომ ამ მეთოდში სტაციონალური ფაზით სავსე კაპილარების გარდა, გამოიყენება დაფენილი კაპილარებიც. ამ მეტოდში ანალიზი ტარდება, როგორც წნევით ასეცე ძაბვით, მაგრამ დაყოფის ეფექტურებას თუ გავითვალისწინებთ უპირატესია ელექტროკინეტიკური ანალიზები ელექტროოსმოტური ნაკადის წაკვეთილი კონუსისფორმის გამო, შედეგად კი მიიღება მაღალეფექტრი პიკები.

ეს მეთოდი მაღლეფექტურია სითხურ ქრომატოგრაფიასთნ შედარებით, ვინაიდან კაპილარები შეიძლება შივსოს მცირე დიამეტრის მქონე ნაწილაკებით, რადგანაც ელექტროკინეტიკური მამოძრავებელი ძალა არ არის დამოკიდებული ნაწილაკების ფორმასა და ზომაზე. ასევე მასის გადატანა მოძრავ და სტაციონალურ ფაზას შორის სწრაფად ხდება, რითაც უპირატესია მაღალეფექტურ სითხურ ქრომატოგრაფიასთან შედარებით.

მაგრამ ზონურ ელექტროფორეზსა და კაპილარულ ელექტროკინეტიკურ

ქრომატოგრაფიასთან შედარებით პიკების დაბალი ეფექტურობა გააჩნია.

კაპილარულ გელ ელექტროფორეზი

კაპილარულ გელ ელექტროფორეზი გამოიყენება დიდი ზომის მოლეკულებისთვის, მაგალითად როგორიცაა პროტეინი და ნუკლეინის მჟავები. ეს მეთოდი დაფუძნებულია გელის ფორებში მოლეკულების მუხტის და მასის მიხედვით განაწილებაზე. გელის არე იქცევა როგორც მოლეკულური საცრები. გაცრის პროცესს დიდი მნიშვნელობა აქვს მოლეკულების დასაყოფად. აქ დაყოფა დაფუძნებულია მოლეკულის ზომაზე. ძირითადად, ამ მეთოდში მოლეკულურ საცრებად გამოიყენება შეკერილი პოლიაკრილამიდი. დიდი ზომის ფორები გამოიყენება დნმ-ს ანალიზისთვის, ხოლო მცირე ზომის ცილების დასაყოფად.

კაპილარული ელექტროკინეტიკური ქრომატოგრაფია.

კაპილარულ ელექტროკინეტიკური ქრომატოგრაფია პრაქტიკაში 1984 წელს შეიმოიტანა ტერაბეს ჯგუფმა. ეს მეთოდი დაფუძნებულია ნივთიერების გადაადგილების ელექტროფორეტულ ძვრადობასა და ქრომატოგრაფიულ პრინციპზე (ანუ დაყოფა ხდება საკვლევი ნიმუშის განსხვავებულ განაწილებაზე ორ ფსევდოფაზას შორის). ამ მეთოდში ფსევდოფაზად ძირითადად გამოიყენება სინთეზური და ბუნებრივი მიცელები, პეპტიდები, მიკროემლსიები, პროტეინები, ხაზოვანი და ციკლური ოლიგოსაქარიდები, ნეიტრალური და დამუხტული მაკრომოლეკულები. ფსევდოფაზაში ნივთიერების განაწილება ხდება ძირითდად ჰიდროფობურიძალით, ასევე მომქმედებს შემდეგი ძალები: წყალბადური ბმა, დიპოლ-დიპოლური ურთიერთქმედება და სხვა.

ამ მეთოდის უპირატესობას წარმოადგენს ზონურ ელექტროფორეზთან შედარებით, რომ აქ შესაძლებელია ნეიტრალური მოლეკულების დაყოფა. რადგან ნეიტრალურ ნივთიერებებს ელექტროფორეტული ძვრადობა არ გააჩნიათ და მოძრაობენ ელექტროოსმოტური ძალით, რომელიც ყველა ნეიტრალური მოლეკულისთის ერთნაირია სისტემაში. როცა ნეიტრალური მოლეკულები განსხვავებულად ნაწილდება ფსევდოფაზაში, ნაწილაკები იძენენ განსხვავებულ ეფექტურ ძვრადობა, რადგანაც

ფსევდოფაზას გასხვავებული ძვრადობა გააჩნია. შესაბამისად ნეიტრალური ნივთიერებების დაყოფა შესაძლებელი ხდება.

ეფექტები, რომლებიც გავლენას ახდენს პიკის გარჩევითობაზე

კაპილარულ ელექტროფორეზში დაყოფის ეფექტურობაზე გავლენას რამდენიმე პარამეტრი ახდენს. ესენია: ჯოული სითბო, ელექტროდისპერსია, ნივთიერებისა და კაპილარის კედლის ურთიერთქმედება, ბუფერის კონცენტრაცია და pH, ტემპერატურა და ა.შ

ჯოული სითბო

კაპილარულ ელექტროფორეზში ელექტროკინეტიკური ტრანსპორტი დაკავშირებულია თერმულ ეფექტთან. ელექტრული დენი ახდენს სითბოს გენერირებას ელექტროლიტის ხსნარში მოძრავ იონსა და ბუფერის მოლეკულას შორის ხახუნის გამო. კაპილარულ ელექტროფორეზში მაღალი ელექრული ველი გამოიყენება, შესაბამისად ჯოული სითბოს მნიშვნელობა საკმაოდ მაღლია. ჯოული სითბო უარყოფით გავლენას ახდენს ანალიზის მსვლელობისას, ვინაიდან ხსნარი იწყებს დუღილს და ჩნდება ბუშტუკები. რაც იწვევს ელექტროლიტის ხსნარის გამტარობის შემცირებას და დენის ნაკადის შეწყვეტას კაპილარში. ქირალურ ანალიზში, სითბოს უკონტროლო ზრდისას ირღვევა დაყოფის ფაქტორი. მიუხედავად იმისა, რომ მაღალი ძაბვა და მაღალი იონური ძალის ბუფერი უკეთესია მაღალი გარჩევიტობის პიკის მისაღებად, ის ხელს უწყობს ჯოული სითბოს წარმოქმნას.

სითბოს ზრდა ელექტროლიტის ხსნარის სიბლანტის შემცირებას და ძვრადობის ზრდას იწვევს. რის შედეგადაც, ელექტროოსმოტური ნაკადი ლამინარულ დინებად გადაიქცევა, რაც იწვევს პიკეის ეფექტურობის შემცირებას. ასევე აღსანიშნავია, რომ ტემპერატურა გავლენას ახდენს ელექტროლიტის ხსნარის მჟავიანობაზე.

ჯოული სითბოს შესამცირებლად და არასასურველი ეფექტის თავიდან ასარიდებლად საჭიროა:

1. ტემპერატურის კონტროლი.
2. კაპილარის შიდა დიამეტრის შემცირება, ვინაიდან კაპილარის დიამეტრის ჯერადი ზრდა იწვევს სითბოს ხარისხის გაზრდას.
3. ბუფერის იონური ძალის შემცირება.
4. ძაბვის შემცირება.

ელექტროდისპერსია

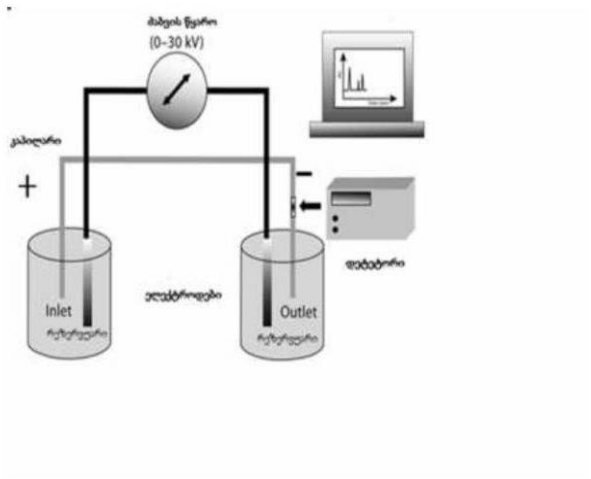
ერთ-ერთი ფაქტორია, რომელიც გავლენას ახდენს ელექტროფორეტულ ძვრადობაზე. სისტემაში, როდესაც ნივთიერების იონს უფრო მაღალი ძვრადობა აქვს ვიდრე გარემოს, ნივთიერების მოცულობის წინა მხარე კაპილარში დიფუზიას განიცდის და მიიღება კუდიანი პიკი, ხოლო პირიქით, როდესაც გარემოს უფრო მაღალი ძვრადობა აქვს ვიდრე ნივთიერების იონს, დიფუზიას განიცდის მოცულოის ბოლო ნაწილი და საწყისი ნაპირი იქნება მახვილი. ხოლო, როდესაც გამტარობა ერთნაირია, არ ხდება პიკების ფორმების შეცვლა. როდესაც ნივთიერების მოცულობის ზონას უფრო მაღალი გამტარობა აქვს ბუფერის ზონასთან შედარებით,მისი ძვრადობა უფრო მაღლი იქნება ვიდრე გარემოსი. შემდეგ ნივთიერების წინა მხარე, რომელიც დიფუზიას განიცდის მიგრაციის მიმართულებით, მოხვდება უფრო დაბალი გამტარობის ხსნარში, როდესაც დაიწყებს შესვლას ბუფერის ზონაში. ეს კი ნივთიერების დიფუზიას იწვევს, რის გამოც ხდება ზონის დისპერსია. ხოლო როდესაც ნივთიერების მოცულობის უკანა ნაპირი დიფუზიას განიცდის ბუფერის ზონაში ის დაეჯახება გაზრდილ ძაბვას და ზონა აჩქარდება და მიიღება პიკი მსხვილი ბოლო ნაწილით.

ნივთიერების და კაპილარის კედლის ურთიერთქმედება

კაპილარის შიდა კედლები ხსნარის pH -ზე (pH >2) დამოკიდებულებით უარყოფითად იმუხტება. კედლის უარყოფითი მუხტი კი დადებითდ დამუხტულ ნივთიერებებს იზიდავს და დაყოფის ეფექტურობა მცირდება. კვლევები ადასტურებს, რომ სულ მცირე ურთიერთქმედებისასაც კი კაპილარის კედლებთან მკვეთრად მცირდება გარჩევითობა პიკების გაგანიერების ხარჯზე. დიდი ზომის მოლეკულებისთვის ეს გავლენა მკაფიოა. ამ ეფექტის შემცირების მიზნით გამოიყენება კაპილარის დაფენის ტექნიკა. შესაძლოა

გამოყენებულ იქნეს როგორც დროებითი, ასევე მუდმივი დაფენა სხვადასხვა პოლიმერების საშუალებით.

კაპილარული ელექტროფორეზის ხელსაწყო



სურ. 10 კაპილარული ელექტროფორეზის ხელსაწყოს სქემა.

მოცემულ სურათზე ნაჩვენებია კაპილარული ელექტროფორეზის ზოგადი სქემა, რომელიც შედგება შემდეგი ნაწილებისგან:

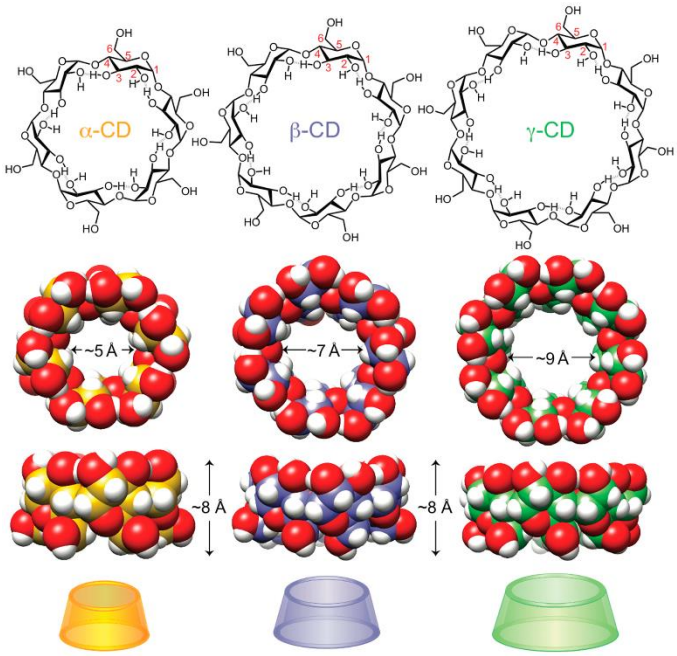
1. ვიწრო დიამეტრის მქონე კალირარი, სადაც ხდება ნივთიერებათა დაყოფა ერთ ფაზაში.
2. მაღალი ძაბვის წყარო.
3.პლატინის ელექტროდი.
4. Inlet და outlet რეზერვუარი, რომლებშიც ბუფერული ან ქირალური სელექტორიანი ბუფერული ხსნარებია მოთავსებული.
5. დეტექტორი.

მაღალი ძაბვის წყარო (30 KV-მდე) დაკავშირებულია ორ პლატინის ელექტროდთან, რომლებიც ჩაშვებულია ბუფერულ ხსნარებში. ასევე ორ ბუფერულ ხსნარში (Inlet და outlet ბოთლები) ჩაშვებულია კაპილარის ბოლოები (შიდა დიამეტრი 20-100მკმ) პლატინის ელექტროდების გავლით. ამ მეთოდში გამოყენებული კაპილარები დაფარულია პოლიიმიდის ფენით , რათა გაზარდოს მოქნილობა. კაპილარს უკეთდება ფანჯარა 4-5მმ სიგრძის პოლიიმიდის მოწვის ხარჯზე დაახლოებით 9სმ სიგრძეზე outlet ბოთლის მხრიდან დეტექტირების არხამდე. ამ ფანჯარაში კი ხდება ნივთიერებათა დეტექტირება უმეტესად გამოყენებული ულტრაიისფერი გამოსხივებით, რომლის

ნათურა დეტექტირების ფანჯრის პირდაპირაა დაყენებული და მისი გამოსხივება პირდაპირ უყურებს დეტექტირების ფანჯარაში გამავალ ნივთიერებებს. მიღებული სიგნალები ჩაიწერება ელექტრონულად და ისახება პიკების სახით. (8)

ციკლოდექსტრინები

ციკლოდექსრინები პირველად აღმოჩენილი იყო ფრანგი მეცნიერის ვილიერის მიერ 1887 წელს სახამებლის მიკრობიოლოგიური დაშლის პროდუქტებში მიკრობით Bacillus amilobacter. თანამედროვე წარმოდგენებით, ციკლოდექსრინი წარმოადგენს α- D-გლუკოპირანოზის ნაშთების 1,4- ბმების შეკავშირებით წარმოქმნილ ციკლურ ოლიგოსაქარიდებს, რომელშიც D- გლუკოპირანოზის თითეული ნაშტი 4C კონფორმაციაში იმყოფება.



დღეისათვის ციკლოდექსტირნები ფართოდ გამოიყენება ფარმაცევტულ, კვების, ქიმიურ მრეწველობაში. ციკლოდექსტრინები კალათს ფორმა აქვთ, რომლის გარეთა ზედაპირი ჰიდროფილურია, ხოლო შიგა ღრუ ჰიდროფობური. ჰიდროფობურობა კი საკვლევ ნიმუშსა და ციკლოდექსტრინს შორის ჩრთული კომპლექსის წარმოქმნას უწყობს ხელს. ციკლოდექსტრინების გარეთ შრეზე არიან განლაგებული პირველადი და მეორეული ჰიდროქსიდის ჯგუფები, პირველადი 6C მდგომარეობში მდებარეობს ციკლოდექსტრინის ღრუს ვიწრო მხარეს, ხოლო მეორეული 2C და 3C მდგომარეობაში ღრუს განიერ მხარეს. ცელტრალური ღრუ ნახშირბადული ჯაჭვის სახითა წარმოდგენილი და ეთერული ჟანგბადის სახით გლუკოპირანოზის ნაშთებში, რაც ჰიდროფობურობის მიზეზია ციკლოდექსტრინების ღრუს. ჰიდროქსილის ჯგუფები

ციკლოდექსტრინების მოდიფიკაციის საშუალებას იძლევა. ციკლოდექსტრინის ჯგუფის ჩანაცვლება შესაძლებელია რამდენიმე ფუნქციონალური ჯგუფით ან ციკოდექსტრინების მოლეკულის მიბმა სილიკაგელზე ქრომატოგრაფიული ანალიზისთვის.

კაპილარულ ელექტროფორეზში გამოიყენება α, β და γ ციკლოდექსტრინები, რომლებიც შედგებიან 6, 7 და 8 გლუკოპირანოზის ჯგუფისაგან. ბუნებრივი ციკლოდექსტრინების ხსნადობა წყალხსნარებში უფრო მცირეა, ვიდრე აციკლური საქარიდების. რაც გამომდინარეობს ძლიერი წყალბადური ბმების არსებობით კრისტალურ ფორმაში.

ქირალური კველვისთის ოპტიმალური ვარიანტია კაპილარული ელექტროფორეზის გამოყენება, რომლის საშუალებითც იქნა ჩვენი მოცემული ექსპერიმენტი ჩატარებული

ქირალური გამოცნობის მექანიზმი ციკლოდექსტრინების შემთხვევაში ღრუში არსებულ ჰიდროფობურ ჯგუფებთან საკვლევი ნივთიერების ჰიდროფობური ნაწილის ურთიერთქმედებაზეა დაფუძნებული, ასევე შესაძლებელია წყალბადური ბმების წარმოქმნა და დიპოლ-დიპოლური ურთიერთქმედება ციკლოდექსტრინის ჰიდროქსიდის ჯგუფებსა და საკვლევი ნიმუშს ქირალურ ცენტრთან არსებულ პოლარულ ნაწილს შორის. (9)

ქირალური ნივთიერებების დაყოფა ციკლოდექსტრინების გამოყენებით

კაპილარულ ელექტროფორეზში დაყოფა დაფუძნებულია საკვლევი კომპონენტების განსხვავებულ ელექტროფორეტულ ძვრადობაზე. ასევე გასათვალისწინებელია ის ფაქტი, რომ ენანტიომერების ელექტროფორეტული ძვრადობები არ განსხვავდება აქირალურ გარემოში ანუ შეუძლებელია მათი დაყოფა ასეთ პირობებში. ამისთვის სისტემაში ქირალური სელექტორების შეყვანა არის საჭირო. მათ შესწევთ უნარი ენანტიოსელექტიურად გამოიცნონ ენანტიომერები ერთმანეთისგან. დაყოფისთვის საჭიროა წარმოიქმნას დროებითი არაკოვალენტური დიასტერეომერული კომპლექსები. ეს წონასწორული პროცესია და საჭიროა მისი სისწრაფე. თავისუფალ მდგომარეობაშ მყოფ ნივთიერებას და ბმულ ქირალურ სელექტორს კაპილარში გადაადგილებისას უნდა გააჩნდეს განსხვავებული ძვრადობები.

დრო, რომელსაც ნივთიერება კაპილარში ატარებს გარდამავალი კომპლექსის სახით

დამოკიდებულია შეკავების მუდმივებზე და გარე პარამეტრებზე, როგორცაა ტემპერატურა, ხსნარის pH, ქირალური სელექტორის კონცენტრაცია.

ენანტიომერების ელექტროფორეტულ ძვრადობებს შორის სხვაობა აღიძვრება გადამავალი დიასტერეომერების წარმოქმნის ხარჯზე. ვინაიდან დიასტრეომერებს ერთიდაიგივე მუხტის სიმკვრივეები გააჩნიათ არ უნდა ხდებოდეს მათი დაყოფა, მაგრამ მათი გასხვავებული ძვრადობის მიზეზი გასხვავებული მუხტის სიმკვრივეებია, რომელიც გამოწვეულია მათი განსხვავებული ორიენტაციით სივრცეში და სპეციფიური ურთიერთქმედება დიასტერეომერის კომპლექსში. დიასტერეომერების განსხვავებული ორიენტაცია სივრცეში, თავის მხრივ იწვევს დენის ნაკადის მიმართ გასხვავებულ წინაღობას და განსხვავებულ ძვრადობებს. ეს მცირე გასხვავებები კი გვაძლევს დიასტრეომერების ფუძისეული დაყოფის საშუალებას. (8)

ცხრილი 1. ციკლოდექსტრინების ფიზიკურ-ქიმიური მახასიათებელები.

ციკლოდექსტრინების ტიპი	α	β	γ
გლუკოპირანოზის ნაშთების რაოდენობა	6	7	8
ჰიდროქსილის ჯგუფების რაოდენობა	18	21	24
პირველადი ჰიდროქსილის ჯგუფების რაოდენობა	6	7	8
მეორეული ჰიდროქსილის ჯგუფების რაოდენობა	12	14	16
მოლეკულური მასა	972	1135	1297
ციკლოდექსტრინის ღრუს დიამეტრი (nm)	0.57	0.78	0.95
ციკლოდექსტრინის ციკლის დიამეტრი (nm)	1.46	1.54	1.75
ღრუს მოცულობა (nm3)	0.176	0.346	0.510
წყალში ხსნადობა 25°C (g/100 mL)	14.50	1.82	23.20
ჰიდროქსილის ჯგუფების pKa	12.1-12.6	12.1-12.6	12.1-12.6
სტერეოგენური ცენტრების რაოდენობა	30	35	40

გამოყენებული ნივთიერება და ექსპერიმენტული ნაწილი

ბრომფერინაიმი

Brompheniramine $C_{16}H_{19}BrN_2$- არის პირველი თაობის ანტიჰისტამინური საშუალება, რომელიც გამოიყენება გაციების და ალერგიულ საშუალებად, რინიტის სიმპტომების სამკურნალოდ, როგორიცაა ცხვირიდან გამონადენი, თვალების ქავილი, წყლიანი თვალები და ცემინება. მისი კლასის სხვა პირველი თაობის პრეპარატების მსგავსად , იგი ითვლება დამამშვიდებელ ანტიჰისტამინად. ის დაპატენტებული იყო 1948 წელს, ხოლო სამდიცინო მიზნებით გამოიყენება 1995 წლიდან.

ბრომფერინამინი მოქმედებს, როგორც ჰისტამინის H რეცეპტორების ანტაგონისტი. მეტაბოლიზდება ღვიძლში ციტოქრომ P450 იზოფერმენტებით.

ბრომფერინამინის მოქმედება ქოლინერგულ სისტემაზე შეიძლება მოიცავდეს გვერდით ეფექტებს, როგორიცაა ძილიანობა, სედაცია, პირის სიმშრალე, ყელის სიმშრალე, გულისცემის გახშირება. (10)

ექსპერიმენტული ნაწილი

ჩვენი ექსპერიმენტი მოიცავდა მედიცინაში აქტიურად გამოყენებული საშუალების, ბრომფერინამინის, მიგრაციის რიგის შესწავლას. ეს საკითხი ძალიან მნიშნელოვანია, ვინაიდან არაკოვალენტური ბმის შემცველი ნივთიერებიბს გამოყენება მედიცინაში აუცილებელია, ხოლო კოვალენტური ბმის შემცველი ნივთიერებები შეიძლება დალექვადი იყოს ადამიანის ორგანიზმისთვის, რაც დიდ საფრთხეს წარმოადგენს. მიგრაციის რიგის შეცვლა კაპილარულ ელექტროფორეზში მანიშნებელია იმისა, რომ ქირალურ სელექტროსა და საკვლევ ნივთიერებას შორის ურთიერთობა მთლიანად იცვლება ანუ ქირალური სელექტორის სტრუქტურაში იცვლება ის, რაც განსაზღვრავს არაკოვალენტურ ურთიერთქმედებას.

კაპილარული ელექტროფორეზის ანალიზის პირობები:

1. ბუფერი- კალიუმის დიჰიდროფოსფატი 100მლ/მოლური
2. ბუფერის pH 3.0
3. არამოდიფიცირებული კვარცის კაპილარი, შიგა დიამეტრი 50მკმ და გარე დიამეტრი კი 375მკმ
4. კაპილარის ეფექტური სიგრძე ფანჯარამდე - 20სმ და მთლიანი სიგრძე 32სმ.
5. ძაბვა 20-30 kv
6. დენი- 150 მკა
7. დეტექტირება: 200 და 220 ნმ ტალღის სიგრძეზე.
8. ტემპერატურა- 20^0c

გამოყენებული ციკლოდექსტრინები:

1	ჰეპტაკის (2,3- დიაცეტილ) ბეტა ციკლოდექსტრინი
2	ჰეპტაკის (2,3 - დი - O აცეტილ - 6- O- სულფო) ბეტა ციკლოდექტრინი
3	2,3 დიმეთილ -6-სულფო ბეტა ციკლოდექსტრინი
4	2,3 დიჰიდროქსი-6- სულფო ბეტა ციკლოდექსტრინი
5	ჰეპტაკის (6-სულფო)ბეტა ციკლოდექსტრინი
6	(2-ჰიდროქსი პროპილ)ბეტა ციკლოდექსტრინი
7	საცინილ ბეტა ციკლოდექტ (succinyiated)

ექსპერიმენტში გვქონდა ენანტიომერების ნარევი, ერთი ენანტიომერი მეორე ენანტიომერზე მეტი კონცენტრაციის, ვინაიდან უფრო ნათლად დაგვენახა მიგრაციის რიგი.

< თავდაპირველად მოვამზადეთ 100მლ/მოლური ბუფერის ხსნარი: 3,402გ კალიუმის დიჰიდროფოსფატი მოვათავსეთ 250მლ მოცულობის კოლბაში და შევავსეთ ჭდემდე. მკიღებული ხსნარი მივიყვანეთ pH= 3ზე

< ციკლოდექსტრინები 5 მგ/მლ კონცენტრაციის : 0,05გ ციკლოდექსტრინები გავხსენით 5მლ წინასწარ მომზადებულ და გაფილტრულ ბუფერში. მომზადებული ხსნარი ვილაებში ჩავფილტრეთ და დავაყოვნეთ დეგაზაციაზე 2-3 წუთი, ვინაიდან ციკლოდექსტინები ბოლომდე გახსნილიყო და მიგვეღო გამჭვირვალე ხსნარი. დანომრილი ვიალები ჩავგით ხელსაწყოში, რათა თავიდან აგვერიდებინა მთვრით დაბინძურება.

<კაპილარული ელექტროფორეზის ხელსაწყო ყველა პროცედურის წინ ირეცხებოდა მეთანოლით, ასევე ყველა ინიცირების დასაწყისსა და ბოლოში ხდებოდა კაპილარის რეცხვა გამოხდილი წყლით, 1 M NaOH-ის ხსნარით, ბუფერით და ქირალური სელექტორის შემცველი ბუფერით. * მუშაობის დასრულებისას კაპილარი ირეცხებოდა 30 წთ 1 M NaOH-ით, 30 წთ ბუფერით და 15 წთ გამოხდილი წყლით.

< ძაბვით ინიცირების დროს კაპილარში დენი გვქონდა შემოსაზღვრული 150 მიკროამპერით, რათა თავიდან აგვეცილებინა კაპილარის დაზიანება.

< გავაკეთეთ რამდენიმე ციკლოდექსტრინის სკრინინგი, შესაბამისი დაყოფების მიღებით, ჩვენთვის მნიშვნელოვანი იყოს ის შემთხვევა, სადაც მიგრაციის რიგის ცვლილება იქნებოდა

< გამოვიკვლიეთ სხვადასხვა კონცენტრაციის ქირალური სელექტრორები, რათა გვეპოვა ყველაზე მაღალი თეორიული თეფშების მნიშვნელობა და თუ რომელი იქნებოდა ოპტიმალური ქირალური დაყოფის მნიშვნელობისთვის.

შედეგები

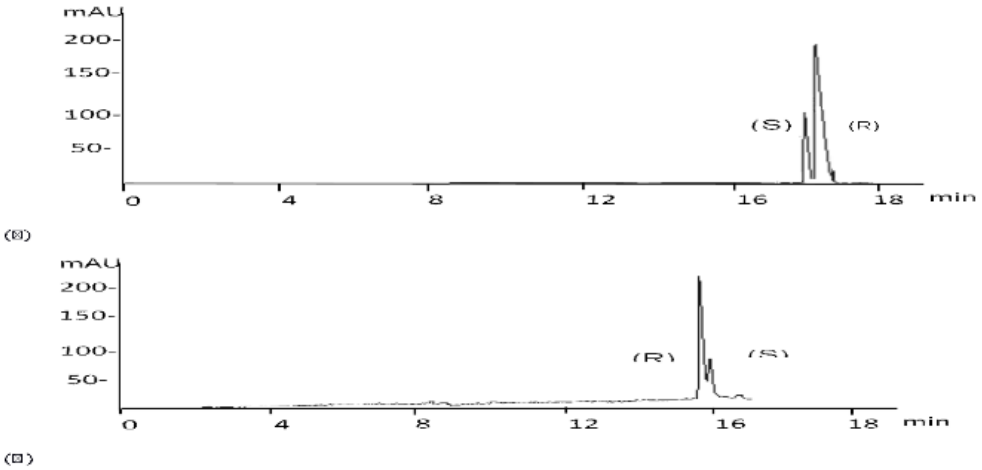
მიღებული შედეგებიდან ჩენთვის განსაკუთრებით საინტერესო იყო ის, სადაც მიგრაციის რიგის შებრუნება გვქონდა ბეტა ციკლოდექსტრინთან შედარებით. მიგრაციის რიგის

შებრუნება კი თავის მხრივ გულისხმობს, რომ ქირალური გამოცნობის მექანიზმი ამ ციკლოდექსრინებს შორის შეიცვალა.

მიგრაციის რიგის შებრუნება გვქონდა ტრიმეთილ ბეტა ციკლოდექსტრინთან (სურ.1), დი აცეტილ სულფო ბეტაციკლოდექსტრინთან (სურ.2) და ჰიდროქსი სულფო ბეტაციკლოდექსტრინთან

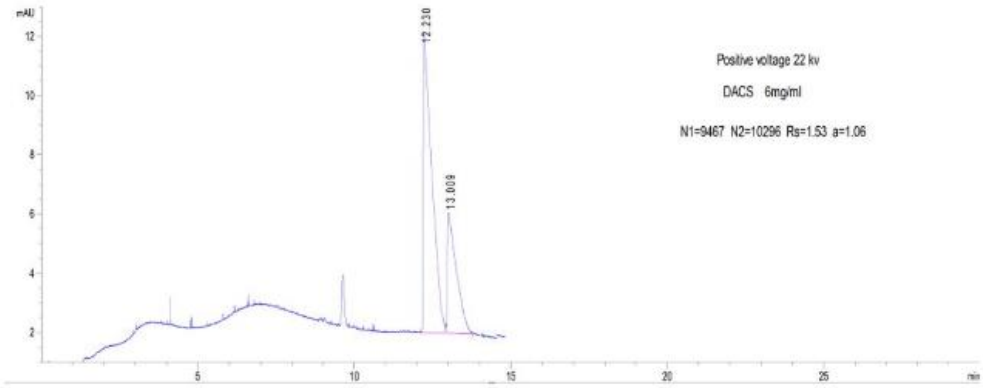
(სურ 1), რომ განვიხილოთ ა- შემთხვევა ბეტაციკლოდექსტრინის შემთხვევაში ჯერ S ენანტიომერი მიგრირდებოდა და შემდეგ R, ხოლო ტრიმეთილ ბეტაციკლოდექსტრინის შემთხვევაში მიგრირდა R შემდეგ კი S.

ბრომფენირამინის ენანტიომერების დაყოფა ქირალურ სელექტორებად β-CD-ის (ა) და TM-β-CD (ბ) გამოყენებით



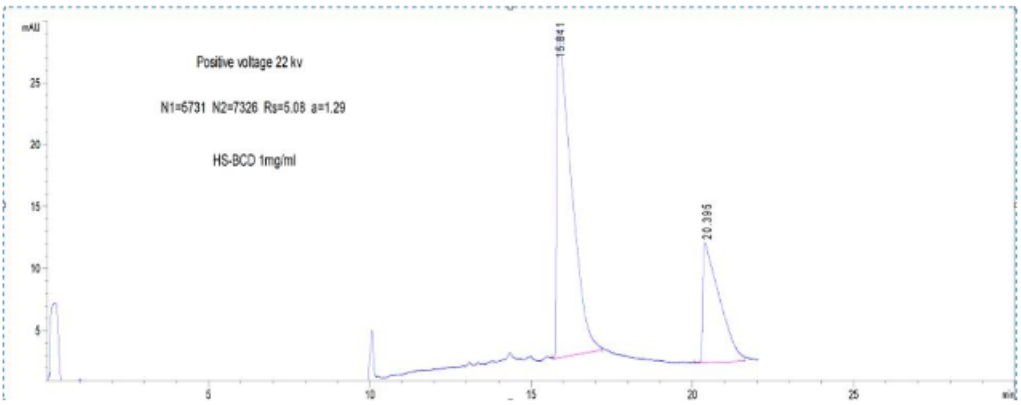
(სურ. 1)

დი აცეტილ სულფო ბეტა ციკლოდექსტრინი



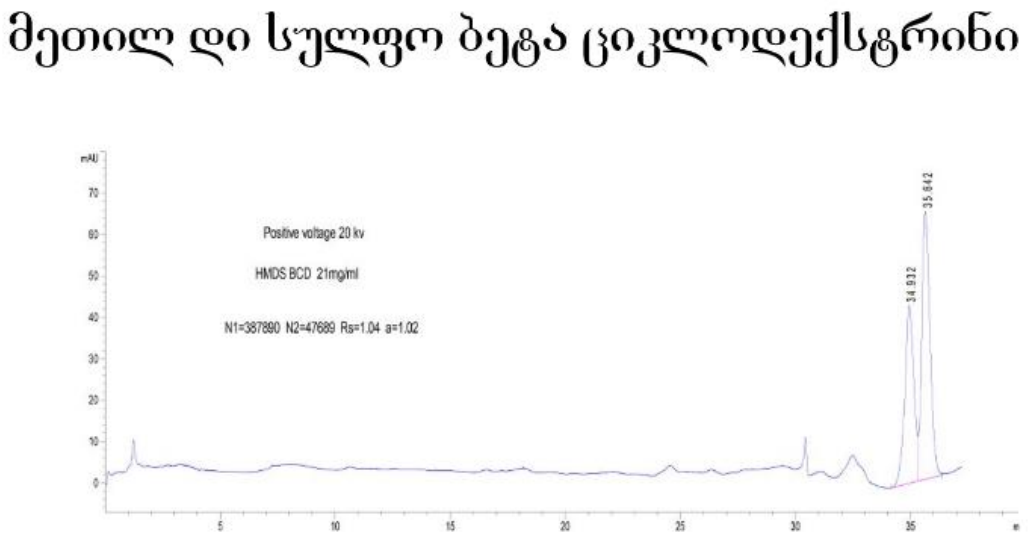
(სურ.2)

ჰიდროქსი სულფო ბეტა ციკლოდექსტრინი



(სურ.3)

(სურ.4) -ის შემთხვევაში მიგრაციის რიგის შებრუნება არ გვაქვს მეთილ დი სულფო ბეტაციკლოდექსტრინთან.



(სურ.4)

დასკვნა:

1. ჩვენთვის საინტერესო წყვილები ვიპოვეთ კვლევის საფუძველზე. შესაბამისად გვაქვს რამდენიმე წყვილი, სადაც მიგრაციის რიგის ცვლილება ხდება ბეტა ციკლოდექსტრინთან შედარებით, რომლებზეც დამატებით ვაპირებთ ბირთვულ-მაგნიტურ რეზონანში კვლევის გაგრძელებას.
2. შევისწავლეთ განსხვავებული ციკლოდექსტრინებით საკვლევი ნივთიერების დაყოფა და შევადარეთ ქირალური გამოცნობის მექანიზმი და მიგრაციის რიგი ერთმანეთს სხვადასხვა შემთხვევაში.
3. მოვახდინეთ მეთოდის ოპტიმიზაცია მაღალი თეორიული თეფშების მისაღებად, გამოვიყენეთ სხვადასხვა კონცენტრაციის მარილი და pH . თავიდან დავიწყეთ მაღალი კონცენტრაციის ციკლოდექსტრინების გამოყენებით და მიღებული შედეგების საფუძველზე , ნელ-ნელა ხდებოდა მათი განზავება და შერჩევა ოპტიმალური კონცენტრაციების.

ლიტერატურა

1. J. Gal, The discovery of stereoselectivity at biological receptors: and the taste of the asparagine enantiomers--history and analysis on the 125th anniversary, 2012 Dec;24(12):959-76;
2. https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Organic_Chemistry/Map%3A_Organic_Chemistry_(Wade)_Complete_and_Semesters_I_and_II/Map%3A_Organic_Chemistry_(Wade)/06%3A_Stereochemistry_at_Tetrahedral_Centers/6.01%3A_Chirality.
3. S. Ahuja, Chiral separation methods for pharmaceutical and biotechnological products. New Jersey USA. Wiley & Sons Inc. 2011. 458.
4. Klesper E., Corwin A. H., Turner D. A., High pressure gas chromatography above critical temperatures, J. Org. Chem. 27, 1962, 700-701;
5. მარინა რუხაძე- სალექციო მასალა
6. Fundamentals of preparative and nonlinear chromatography. 2nd edition. Guiochon G. Felinger A. Shirazi D.G. Katti A.M. Amsterdam. Academic Press. 2006. 975
7. es W. Jorgenson, Krynn DeArman. Lukacs, Zone electrophoresis in opentubular glass capillaries, Anal. Chem. 1981, 53, 8, 1298–1302;
8. Capillary Electrophoresis in Chiral Analysis, B. Chankvetadze, John Wiley & Sons, Chchester, UK, 1997, 555 pp.;
9. Servais, A.- C., Rousseau, A., Fillet, M., Lomsadze, K., Salgado, A., Crommen, J., Chankvetadze, B., Electrophoresis 2010, 31, 1467–1474
10. https://en.wikipedia.org/wiki/Brompheniramine.