ივანე ჯავახიშვილის სახელობის თბილისის
სახელმწიფო უნივერსიტეტი

ზუსტ და საბუნებისმეტყველო მეცნიერებათა ფაკულტეტი

ქიმიის დეპარტამენტი

მარიამ მერაბიშვილი

ენანტიომერების მიგრაციის რიგის მართვა კაპილარულ ელექტროფორეზში და მისი გავლენა მეთოდის ანალიზურ მახასიათებლებზე

ნაშრომი შესრულებულია ქიმიის მაგისტრის აკადემიური ხარისხის მოსაპოვებლად

სამეცნიერო ხელმძღვანელი:

ქიმიის აკადემიური დოქტორი: ანა გოგოლაშვილი

თბილისი

2024

1 ანოტაცია

სამაგისტრო ნაშრომის მთავარ მიზანს წარმოადგენდა კაპილარული ელექტროფორეზის, როგორც ერთ-ერთი მნიშვნელოვანი მეთოდის პოტენციალის მაქსიმალური გამოყენება ენანტიოსელექტიური მოლეკულათშორისი ურთიერთქმედებების შესასწავლად და ამ მიზნით ქირალური სელექტორების, ციკლოდექსტრინების გამოყენება.

ციკლოდექსტრინებს ვიყენებთ ქირალურ სელექტორებად რამდენიმე მნიშვნელოვანი ფაქტორის გამო, მათი სტრუქტურა საკმაოდ კარგადაა შესწავლილი, ულტრაიისფერ უბანში ახასიათებთ გამჭვირვალობა, აქვთ გამოკვეთილი ბმრ სიგნალები, რაც გვეხმარება წარმოქმნილი კომპლექსის სტრუქტურის შესწავლაში. ციკლოდექსტრინები გამოიყენება სხვადასხვა სფეროში, მაგალითად ანალიზური ქიმია, ფიზიკური ქიმია, ორგანული ქიმია, სუპერმოლეკულური ქიმია და ფარმაცევტული ინდუსტრია. ზოგადად ციკლოდექსტრინები წყალში ხსნადობის გასაუმჯობესებლად გამოიყენება, ასევე გემოსა და სუნის შენიღბვისთვს და ჰიდროფობური პრეპარატების ფორმულასთან დაკავშირებული პრობლემების გადასაჭრელად. კვლევაში გამოვიყენეთ კაპილარული ელექტროფორეზი, რათა შეგვესწავლა ენანტიოსელექტიური კომპლექსის ფორმების მექანიზმები ციკლოდექსტრინსა და საკვლევ ნივთიერებას შორის. კიდევ ერთხელ დავრწმუნდით, რომ კაპილარული ელექტროფორეზი ძალიან მგრძნობიარე მეთოდია სუსტი ენანტიოსელექტიური ეფექტების დასანახად. კაპილარული ელექტროფორეზის გამოყენებამ საშუალება მოგვცა დაგვენახა ენანტიოსელექტიური მოლეკულათშორისი ურთიერთქმედების პროცესის ასპექტები.

კაპილარული ელექტროფორეზი ნარევთა დაყოფის ელექტროკინეტიკური მეთოდია, რომელიც გამოიყენება ქირალური ნივთიერებების დასაყოფად. ის არა მარტო მძლავრ ტექნიკას წარმოადგენს ენანტიომერული ნარევების ანალიზური დაყოფის მიზნით, არამედ საშუალებას გვაძლევს შევისწავლოთ (ენანტიოსელექტიური) მოლეკულათშორისი ურთიერთქმედების ისეთი ნატიფი მექანიზმები, რომელთა შესწავლა სხვა მეთოდებით შეუძლებელია. შეგვიძლია მასთან ერთად გამოვიყენოთ სხვა ფიზიკურ-ქიმიური მეთოდებიც: რენტგენოსტრუქტურული ანალიზი, ბირთვულ მაგნიტური რეზონანსის სპექტროსკოპია, მას სპექტრომეტრია და მოლეკულური მოდელირება. დაყოფის სხვა მეთოდებს თუ შევადარებთ, მაგალითად სითხურ და გაზურ ქრომატოგრაფიებს, მას

გააჩნია ბევრი უპირატესობა, მაგრამ ყველაზე მნიშვნელოვანს წარმოადგენს თეორიული თეფშების მაღალი რიცხვი და მონო ფაზის არსებობა, ეს საშუალებას იძლევა მარტივად რეგულირდებოდეს მიგრაციის რიგი, მეთოდი მცირე დროში დამუშავდეს, გაიზარდოს სელექტიურობა, დავინახოთ ისეთი (ენანტიო) სელექტიური ეფექტები, რომელთა დანახვა სხვა მეთოდებით შეუძლებელია და ა.შ.. უპირატესობას ასევე წარმოადგენს ეკონომიურობა და ამ მეთოდის ეკოლოგიურობა, ვინაიდან არ მოითხოვს სახიფათო ორგანულ გამხსნელებს. კაპილარული ელექტროფორეზის კიდევ ერთ მნიშვნელოვან უპირატესობას წარმოადგენს უკიდურესად მაღალი პიკური ეფექტურობა. ეს იძლევა შესაძლებლობას დაყოფას მივაღწიოთ მაშინაც კი, როცა სელექტივობა არის 1.01-ის ტოლი.

Management of the migration order of enantiomers in capillary electrophoresis and its influence on the analytical characteristics of the method

2 Summary

The main aim of this thesis is to use the potential of Capillary Electrophoresis (CE) as one of the important methods for studying enantioselective intermolecular interactions and for this purpose the use of chiral selectors, cyclodextrins.

We use cyclodextrins as chiral selectors due to some significant factors, their structure is quite well studied, they are transparent in UV-range, and they have distinct NMR signals, which help determine the structure of the formed complex. Cyclodextrins are used in various fields, such as analytical, supramolecular chemistry, and the pharmaceutical industry. From a general point of view, cyclodextrins are used to improve water solubility, mask taste and smell, and overcome formulation problems of hydrophobic drugs. In this research, we used CE to check out the mechanisms of enantioselective complex formation between cyclodextrins and the test substance. We have confirmed once again that CE is the most sensitive method for detecting weak enantioselective effects. The utilization of CE allowed us to discover aspects of the enantioselective intermolecular interaction process.

Capillary Electrophoresis is an electrokinetic method of separation of mixtures used to separate chiral substances. It's not only a powerful technique for the analytical separation of enantiomeric mixtures but also allows us to examine such delicate mechanisms of (enantioselective) intermolecular interactions that cannot be learned by other methods. We can also use other physicochemical methods with it: X-ray structural analysis, nuclear magnetic resonance spectroscopy, mass spectrometry, and molecular modeling. If compared with different methods of separations, for instance, liquid and gas chromatography, CE has the major advantage as high plate numbers and operation in a single phase, it allows for easy adjustment of enantiomer migration order (EMO), short method development time, increase the selectivity, we can catch sight of enantioselective effects, which is not able to notice by other methods, etc. This method's supremacy is also economy and environmental friendliness since it doesn't require dangerous organic solvents. Another predominant superiority of CE is extremely high separation efficiency. This facilitates carrying-off separation even when the selectivity is equal to 1.01.

3 შესავალი

ქირალობა თანამედროვე ანალიზური და ფარმაცევტული ქიმიის ერთ-ერთი მნიშვნელოვანი კვლევის მიმართულებაა. ჯერ კიდევ მეოცე საუკუნის დასაწყისიდან გახდა ცნობილი ქირალობის გავლენა ნივთიერების ფიზიოლოგიურ აქტივობაზე. პირველად 1848 წელს ლუი პასტერის მიერ იქნა აღმოჩენილი მოლეკულური ქირალობა, როცა ხელით დაჰყო ღვინის მჟავას ერთ-ერთი მარილის ენანტიომერები. თითქმის ერთი საუკუნის შემდეგ გახდა შესაძლებელი დაედგინათ ქირალობის მნიშვნელობა, როგორც მრეწველობაში და ცოცხალ ორგანიზმებში ასევე, ფარმაცევტულ თუ სასოფლო სამეურნეო საქმიანობაში [1]. ქირალური ნივთიერებების ენანტიომერების დაყოფის პოპულარიზაცია გამოიწვია იმ ფაქტმა, რომ ხშირად ქიმიური ნივთიერებების ენანტიომერებს მკვეთრად განსხვავებული ფიზიოლოგიური მოქმედება აქვთ [2]. დიდი გახმაურება მოჰყვა ამ საკითხს, კერძოდ თალიდომიდის შემთხვევას, როცა გამოირკვა, რომ ამ ფარმაცევტული საშუალების ერთ ენანტიომერს ჰქონდა განსხვავებული მოქმედება, მიუხედავად იმისა, რომ ენანტიომერები ერთმანეთის იდენტურ ნივთიერებებს წარმოადგენენ. ერთ შემთხვევაში მუტაგენური, ტოქსიკური და საშიში იყო. ამიტომ საყურადღებო გახდა ის ფაქტი, რომ სამკურნალწამლო პრეპარატის სინთეზის დროს დიდი ყურადღება მიექცეს მათი ენანტიომერების დაყოფას და შესწავლილ იქნას ყველა კონკრეტული ენანტიომერის ფიზიოლოგიური მახასიათებელი და მოქმედება ორგანიზმზე.

ხელოვნურად მიღებული ქირალური პროდუქტებისგან განსხვავებით, ბუნებაში ქირალური ნივთიერებები გავრცელებულია მხოლო ერთი იზომერი სახით, მაგალითად ამინომჟავები, რომლებიც ბუნებაში L-იზომერის სახითაა გავრცელებული, ხოლო შაქრები D-იზომერით. დღეისათვის, კლინიკურ პრაქტიკაში გამოყენებული სამკურნალო საშუალებების 50%-ზე მეტი შეიცავს ქირალურ ცენტრს მოლეკულაში და მათი უმეტესობა გამოიყენება რაცემატის სახით. [3]

ქირალური ნივთიერებების აქირალურ გარემოში დაყოფა არ ხდება რადგან, მათ გააჩნიათ იდენტური როგორც ფიზიკური, ასევე ქიმიური თვისებები. ძალიან დიდ ხანს პრობლემას წარმოადგენდა, ქირალურ გარემოში მათი დაყოფაც. პირველად გამოიყენეს გაზური ქრომატოგრაფია, როგორც ინსტრუმენტული მეთოდი ენანტიომერული ნარევის დასაყოფად. სითხური ქრომატოგრაფია 1970-იანი წლებიდან ჩაერთო ამ ექსპერიმენტში და

შემდეგ 80-იანი წლების ბოლოს დაიწყეს კაპილარული ელექტროფორეზული მეთოდებით ენანტიომერული ნარევის დაყოფა. [4-5]

ჩვენს ექსპერიმენტში, ქირალური დაყოფისთვის გამოვიყენეთ კაპილარული ელექტროფორეზის მეთოდი, რომელიც წარმოადგენს განსაკუთრებით საინტერესო ტექნიკას ქირალურ ანალიზში, რადგან სითხური ქრომატოგრაფიის მეთოდთან შედარებით გამოირჩევა მაღალი ეფექტურობითა და ეკონომიურობით. მოცემული ექსპერიმენტით საშუალება მოგვეცა მაქსიმალურად გამოგვეყენებინა კაპილარული ელექტროფორეზის მეთოდი ენანტიომერული მოლეკულათშორისი ურთიერთქმედებების შესასწავლად. ენანტიომერების დასაყოფად გამოვიყენეთ ციკლოდექტრინები, როგორც ქირალური სელექტორები, რომლებიც კონკრეტულ ენანტიომერს უკავშირდებიან ერთმანეთისგან განსხვავებული სიმტკიცით. ექსპერიმენტის მიმდინარეობისას ვაკვირდებოდით, ჩვენს მიერ არჩეული ნივთიერებების დაყოფებს და ამასთანავე მათი ენანტიომერების მიგრაციის რიგის ცვლილებას, სხვადასხვა ციკლოდექსტრინების გამოყენებით.

სარჩევი

1 **ანოტაცია** 1

2 **Summary** 3

3 **შესავალი** 4

4 ლიტერატურული მიმოხილვა 7

4.1 ქირალური დაყოფის მნიშვნელობა 7

4.1.1 ქირალობა 7

4.1.2 ენანტიომერების დაყოფის მეთოდების ზოგადი მიმოხილვა 11

4.1.3 გაზური ქრომატოგრაფია 12

4.1.4 ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფია 14

4.1.5 სითხური ქრომატოგრაფია 15

4.1.6 კაპილარული ელექტროფორეზი და მისი უპირატესობები სხვა მეთოდებთან შედარებით 17

4.1.7 ელექტროფორეტული ძვრადობა 22

4.1.8 ელექტროოსმოსური ნაკადი 25

4.1.9 კაპილარული ელექტროფორეზის ხელსაწყოს აგებულება 27

4.1.10 ქირალური სელექტორები-ციკლოდექსტრინები 29

4.1.11 ანტიჰისტამინები 31

5 **ექსპერიმენტული ნაწილი** 34

5.1 ექსპერიმენტის ზოგადი მონახაზი 34

5.2 ექსპერიმენტში გამოყენებული ქირალური ნივთიერებები 35

5.3 ექსპერიმენტში გამოყენებული ციკლოდექსტრინები 36

5.4 რეაქტივები და მასალები 37

5.5 გამოყენებული აპარატურა 38

5.6 კაპილარული ელექტროფორეზის ექსპერიმენტი 39

6 **ექსპერიმენტის შედეგები და მათი განსჯა** 41

6.1 ანტიჰისტამინური მოქმედების ზოგიერთი რაცემული ნივთიერების ენანტიომერების დაყოფა კაპილარული ელექტროფორეზის მეთოდის მეშვეობით 41

6.2 ქლორფენირამინის და ბრომფენირამინის დაყოფა β-CD-ის სხვადასხვა კონცენტრაციების მიხედვით 46

7 **დასკვნები** 51

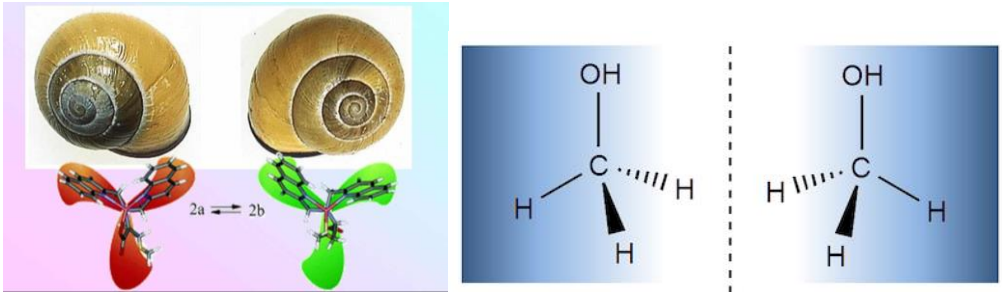
8 **გამოყენებული ლიტერატურა** 52

4 ლიტერატურული მიმოხილვა

4.1 ქირალური დაყოფის მნიშვნელობა

4.1.1 ქირალობა

სტერეოქიმიის დაბადებიდან 150-ზე მეტი წლის წინ, დიდი ინტერესი გაჩნდა ქირალური მოლეკულების მიმართ. ქირალობა მთელს ცოცხალ სამყაროშია გავრცელებული. მართლაც ასეა, სამყარო რომელსაც ჩვენ ვიცნობთ, ვერ იარსებებდა ქირალობის გარეშე. ვინაიდან ქირალურობა არის ინვერსიის სიმეტრიის არსებობა, სტრუქტურა ან ქირალურია, ან არა. ქირალური არის ისეთი მოლეკულა, რომელსაც არ გააჩნია სიმეტრიის შინაგანი სიბრტყე და ამის გამო არ გააჩნია არც მასთან თავსებადი სარკისებური გამოსახულება. ტერმინი „ქირალობა“ ძველი ბერძნული წარმოშობის სიტყვაა და ხელს ნიშნავს, რადგან ჩვენი ხელები ქირალობის კარგი მაგალითია. ის აღნიშნავს, რომ ორი საგანი ერთმანეთის მიმართ ისეთ შესაბამისობაშია, როგორც მარჯვენა და მარცხენა ხელი, ან საგანი და მისი სარკისებური გამოსახულება (სურ.1). [6]

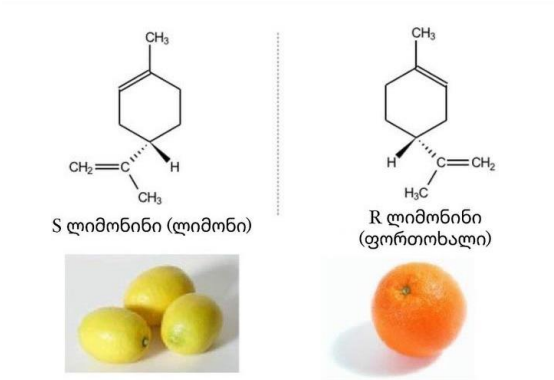


სურ. 1 *ქირალობის მაგალითი ცოცხალ ორგანიზმში და ქირალური მოლეკულები.*

ქირალური არის ნივთიერება თუ მის მოლეკულაში არის ოთხი განსხვავებული ჩამნაცვლებლის მქონე ნახშირბადატომი, მაგრამ არსებობს სხვა ატომებით ან ქირალობის სხვა ელემენტებით (ღერძი, სიბრტყე) განპირობებული ქირალობა. როგორც შესავალში ვახსენე, ენანტიომერებს იდენტური ფიზიკური და ქიმიური თვისებები გაჩნიათ, ამის მიუხედავად ისინი ბრტყლად პოლარიზებას სინათლეს სხვადასხვა მხარეს აბრუნებენ.

მნიშვნელოვანია ის ფაქტიც, რომ ცოცხალი ორგანიზმები ჰომოქირალურები არიან, რაც იმას ნიშნავს, რომ ცოცხალ ორგანიზმში შემავალი მოლეკულები (დნმ, რნმ, ცილები, ამინომჟავები, შაქრები), რომლებიც ცოცხალი ორგანიზმის შემადგენელ ნაწილს წარმოადგენენ, ყველა არიან ქირალურები და არსებობენ მხოლოდ ერთი ენანტიომერის

სახით. მაგ: მარჯვნივმბრუნავი B-დნმ, მარცხნივბრუნავი Z-დნმ, ამინომჟავები და d-შაქრები. ცოცხალ ორგანიზმში ჰომოქირალობა იწვევს მათ განსხვავებულ დამოკიდებულებას ერთსა და იმავე საკვებ დანამატის, არომატიზატორის და სამკურნალწამლო საშუალების ორ განსხვავებულ ენანტიომერს შორის. [3] მაგალითისთვის განვიხილოთ ენანტიომერების განსხვავებული გემო, როცა R - ლიმონინს აქვს ტკბილი გემო და ამიტომ მას ფორთოხალში ვხვდებით, ხოლო S - ლიმონინს ლიმონში (სურ.2) [7].ასევე ასპარაგინის შემთხვევა, სადაც S-ასპარაგინს აქვს მწარე გემო, ხოლო R-ასპარაგინს ტკბილი. ცოცხალი ორგანიზმის მიერ ესეთი განსხვავებული შეგრძნება ენანტიომერების მიმართ გამოწვეულია იმით, თუ რომელი ენანტიომერია უფრო მისაღები მისთვის. [8-10]



სურ.2 *S და R ლიმონინის სტრუქტურები*

კანის, ინგოლდის და პრელოგის მიერ შეიქმნა ენანტიომერების თანამედროვე კლასიფიკაცია, რომელიც დღეს ცნობილია კან-ინგოლდ-პრელოგის ნომენკლატურით, რომლის მიხედვითაც, ენანტიომერების კლასიფიკაცია ხდება ქირალური ცენტრის გარშემო არსებული ჯგუფების განლაგების მიხედვით სამ განზომილებიან სივრცეში. მოცემული კლასიფიკაცია დაფუძნებულია პრიორიტეტების წესზე, რომელიც გამოიყენება ორგანულ ქიმიაში ჩამნაცვლებელი ჯგუფების პრიორიტეტების განსასაზღვრავად. ენანტიომერის კონფიგურაცია შეიძლება იყოს R (ლათინურიდან მარჯვნივ) და S (ლათინურიდან მარცხნივ), იმის მიხედვით თუ როგორ მიმდინარეობს ათვლა საათის ისრის მიმართულებით თუ საწინააღმდეგოდ. კონკრეტული მოლეკულის თვისებებიდან გამომდინარე შეიძლება გვქონდეს R (+) ან R (-) და S(+) ან S(-).

შეიძლება მოლეკულაში ერთი ან რამდენიმე ქირალური ცენტრი იყოს, ამ შემთხვევაში ადგილი აქვს სტერეოიზომერიის მოვლენას. სტერეოიზომერები

ერთმანეთისგან განსხვავდება ჩამნაცვლებლების სივრცული ორიენტაციით. ორი ქირალური ცენტრი თუ არსებობს, გვაქვს დიასტერეომერები. სტერეოიზომერები, რომლებიც ისე არ შეესაბამება ერთმანეთს, როგორც ერთმანეთის სარკისებური გამოსახულებები, წარმოადგენენ დიასტერეომერებს, ხოლო სტერეოიზომერები, რომლებიც ისე შეესაბამება ერთმანეთს, როგორც ერთმანეთის სარკისებური გამოსახულებები, ენანტიომერები არიან. ენანტიომერები და დიასტერეომერები წარმოადგენენ სტერეოიზომერების ოჯახს. ენანტიომერებს აქვთ ერთნაირი ფიზიკურ-ქიმიური თვისებები, მაგრამ შეიძლება ჰქონდეთ განსხვავებული ბიოლოგიური მოქმედება, რაც არ ახასიათებთ დიასტერეომერებს. დიასტერეომერები შეიძლება დავყოთ ერთმანეთისგან აქირალური სტაციონარული ფაზების გამოყენებით, მაშინ როდესაც ენანტიომერების დასაყოფად აუცილებელია ქირალური სტაციონარული ფაზების გამოყენება. ენანტიომერს, რომლსაც სასურველი ფარმაკოლოგიური აქტივობა გააჩნია ეწოდება ეუტომერი, ხოლო რომელსაც არ გააჩნია დისტომერი. [9-11]

გამოყენებული სინთეზურ ფარმაცევტულ მოქმედ საფუძველთა უმეტესობა, წარმოადგენს ქირალურ ნივთიერებას ან ხშირად გამოიყენება როგორც, რაცემული (ორი ენანტიომერის ნარევი, ენანტიომერების თანაბარი რაოდენობით) ნარევი. მიუხედავად ენანტიომერების მსგავსებისა, როგორც ქიმიურ ისე ფიზიკურ თვისებებში (დნობის წერტილი, ხსნადობა და რეაქტიულობა), მათი სივრცითი კონფიგურაციის განსხვავება იწვევს ენანტიომერების განსხვავებულ ურთიერთმოქმედებას ფერმენტებთან, რეცეპტორებთან ან სხვა ქირალურ მოლეკულებთან, რომელთაც ხშირად განსხვავებული მეტაბოლიზმი ახასიათებთ და ცოცხალ გარემოში განსხვავებულად მოქმედებენ [12]. შეიძლება ერთ ენანტიომერს აქვს დადებითი ფარმაკოლოგიური მოქმედება და მეორე ენანტიომერს უარყოფითი გვერდითი მოვლენა. მაგალითად ომეპრაზოლის შემთხვევა, როცა მხოლოდ ერთ ენანტიომერს (S ფორმა) აქვს დადებითი, სამკურნალო მოქმედება [13]. ასევე შესაძლებელია, ერთ ენანტიომერს ჰქონდეს პოზიტიური ფარმაკოლოგიური ეფექტი, მაგრამ ორგანიზმში მოხვედრის შედეგად მეორე ფარმაკოლოგიურად არააქტიური ენანტიომერი გარდაიქმნას აქტიურ ენანტიომერად, ანუ მოხდეს რეცემიზაცია. მაგალითად იბუპროფენი, რომლის (R ფორმა)-ს არ აქვს დადებითი ფარმაკოლოგიური მოქმედება, მაგრამ ცოცხალ ორგანიზმში მეტაბოლიზმით გარდაიქმნება R-CoA-თიოეთერად, შემდეგ S-CoA-თიოეთერად და ბოლოს S-იბუპროფენად, რომელიც ასევე ფარმაკოლოგიურად აქტიურია და ორგანიზმზე დადებითად მოქმედებს [14].

როგორც უკვე თავში ვახსენე, ქირალური ნივთიერებების არსებობამ და სიმრავლემ სხვადასხვა დარგებსა თუ სფეროებში, ქირალური დაყოფა საკმაოდ პოპულარული და აქტუალური გახადა. განსაკუთრებით მძლავ მეთოდებს ქირალურ ანალიზში წარმოადგენს კაპილარული ელექტროფორეზი და ქრომატოგრაფიული მეთოდები. ყურადსაღებია ის ფაქტი, რომ ამ მეთოდების საშუალებით შესაძლებელი გახდა, როგორც ქირალური დაყოფა, ასევე ენანტიომერული სისუფთავის კონტროლი სინთეზის სხვადასხვა ეტაპზე და პარალელურად ხარისხის კონტროლიც. ქირალურ დაყოფებში შედარებით ახალ მაგრამ საკმაოდ ძლიერ მეთოდს წარმოადგენს კაპილარული ელექტროქრომატოგრაფია. ის წარმოადგენს სითხური ქრომატოგრაფიისა და კაპილარული ელექტროფორეზის მეთოდების ე.წ. ჰიბრიდს. კერძოდ საანალიზო ნიმუშის კომპონენტების დაყოფის პრინციპი ამ მეთოდში არის ქრომატოგრაფიული, ხოლო მათი გადაადგილების პრინციპი ელექტროკინეტიკური. ამ მეთოდში გაერთიანებულია კაპილარული ელექტროფორეზისა და ქრომატოგრაფიის უპირატესობები. [3]

ქირალური დაყოფისთვის აუცილებელ პირობას წარმოადგენს ქირალური სელექტორების გამოყენება, რომლებიც თავადაც ქირალური ნივთიერებები არიან და თითოეული ენანტიომერის მიმართ აქვთ განსხვავებული ურთიერთმოქმედება. ეს განსხვავებული ურთიერთმოქმედება შეიძლება გამოიხატოს განსხვავებული სტრუქტურის კომპლექსის წარმოქმნაში. დღეს ქირალური სელექტორების ფართო არჩევანი გვაქვს და შეგვიძლია გამოვიყენოთ კონკრეტული მათგანი იმის მიხედვით თუ რა მეთოდი და მიზანი გვაქვს.

4.1.2 ენანტიომერების დაყოფის მეთოდების ზოგადი მიმოხილვა

ენანტიომერების დაყოფა არის მნიშვნელოვანი ანალიტიკური ოპერაცია, როგორც სამრეწველო ასევე ფარმაცევტული კვლევების მრავალ სფეროში. ნებისმიერი ენანტიოდაყოფის მიღწევაა შესაძლებელი დაახლოებით 200 კომერციულად ხელმისაწვდომი ქირალური სელექტორიდან მინიმუმ ერთით, სხვადასხვა გამოყოფის ტექნიკებთან ერთად კომბინაციაში [15]. ქირალური დაყოფის მეთოდებიდან ყველაზე მნიშვნელოვანია კაპილარული ელექტროფორეზი და ქრომატოგრაფიული მეთოდები. მათი უპირატესობაა, როგორც ქირალური დაყოფის შესაძლებლობა, ასევე ენანტიომერული სისუფთავის კონტროლი სინთეზის სხვადასხვა ეტაპზე. ერთ-ერთი მძლავრი მეთოდია კაპილარული ელექტროქრომატოგრაფია, რომელიც თავის მხრივ ქრომატოგრაფიისა და კაპილარული ელექტროფორეზის ჰიბრიდს წარმოადგენს.

ქირალური დაყოფისთვის აუცილებელია ქირალური გარემოს არსებობა, ამისათვის გამოიყენება ქირალური დამხმარე ნივთიერებები, როგორიცაა კატალიზატორები ან სელექტორები (რომლებიც თავად წარმოადგენენ ქირალურ ნივთიერებას).

ქირალურ დაყოფაში გამოყენებული ინსტრუმენტული მეთოდებიდან ყველაზე მნიშვნელოვანი მეთოდებია სითხური და გაზური ქრომატოგრაფია, ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფია და ჩვენს კვლევაში გამოყენებული კაპილარული ელექტროფორეზი. ამ ჩამოთვლილი მეთოდების გამოყენების შემთხვევაში აუცილებელია ქირალური სელექტორების გამოყენება, რომლის საშუალებითაც დაიყოფა ენანტიომერები.

4.1.3 გაზური ქრომატოგრაფია

ქრომატოგრაფიული მეთოდი პირველად რუსი ბოტანიკოსის მიხეილ ცვეტის მიერ 1903 წელს იქნა მოწოდებული. ქრომატოგრაფია ბერძნულად „ფერთა ჩაწერა“-ს ნიშნავს. ქრომატოგრაფია ნარევების კომპონენტებად დაყოფის ერთ-ერთი მძლავრი, ეფექტური და უნივერსალური მეთოდია. მისი გამოყენების სპექტრი ფართეა, ეს მეთოდი გვხვდება მეცნიერებისა და ტექნიკის სხვადასხვა დარგებში, სამედიცინო სფეროში, ფარმაცევტულ ანალიზში და ა.შ. ქრომატოგრაფიულად შეიძლება განისაზღვროს ნებისმიერი აირადი, თხევადი და მყარი (გახსნილ მდგომარეობაში) ნივთიერება. ქრომატოგრაფიაში ნივთიერებათა ნარევის დაყოფა შემადგენელ კომპონენტებად დაფუძნებულია მათ არათანაბარ განაწილებაზე ორ ფაზას შორის, სადაც ერთი მოძრავია მეორე კი უძრავი (სტაციონარული). ქრომატოგრაფიულ სვეტში საანალიზო ნივთიერებები გადაადგილდებიან გარკვეული სიჩქარით, რაც განპირობებულია სტაციონარული ფაზების მიმართ მათი სწრაფვით და მას ახასიათებს შეკავების პარამეტრები [18].

გაზური ქრომატოგრაფიის მეთოდით შეგვიძლია ისეთი ნარევების დაყოფა, რომელთა კომპონენტებიც აირადია ან დაუშლელად გადადიან ორთქლის მდგომარეობაში. მოძრავი ფაზა, აირი ასრულებს ე.წ. გადამტანის როლს და შედარებით ნაკლებად მონაწილეობს თვით დაყოფის პროცესში. მოძრავ ფაზად შეიძლება გამოვიყენოთ წყალბადი, აზოტი, ჰელიუმი, არგონი.

გასული საუკუნის 60-იან წლებში პირველად გაზური ქრომატოგრაფიის მეთოდით დაიყო ენანტიომერები, სადაც გამოყენებულია ქირალური სტაციონარული ფაზა [6]. გაზური ქრომატოგრაფიით ენანტიომერების დასაყოფად ორი მიდგომაა გამოყენებული: პირდაპირი მეთოდისას ოპტიკური იზომერების დაყოფა ხდება ქირალური სტაციონარული ფაზების გამოყენებით, ხოლო არაპირდაპირი მეთოდისას, ხდება საანალიზო ენანტიომერების ნარევის დერივატიზაცია ენანტიომერულად სუფთა ქირალური დანამატით და ხდება მიღებული დიასტერემერების ანალიზი სტანდარტული არაქირალური სტაციონარული ფაზების გამოყენებით.

გაზური ქრომატოგრაფიის მაღალი ეფექტურობა გვეხმარება ანალიზში მოხდეს როგორც ქირალური, ასევე აქირალური დაყოფაც, ანუ ენანტიომერულ დაყოფასთან ერთად მოხდეს ქიმიური დაყოფაც. გაზური ქრომატოგრაფიის ნაკლია სვეტის მაღალი

ტემპერატურა, რომელმაც შეიძლება ქირალური სელექტორის ან საანალიზო ნივთიერების რაცემიზაცია გამოიწვიოს.

გაზური ქრომატოგრაფია წარმატებით გამოიყენება დაბალმოლეკულური აქროლადი ნივთიერებების საანალიზოდ, ხოლო მაღალმოლკულური არააქროლადი ნივთიერებებისთვის მიდი გამოყენება შეზღუდულია, მაგრამ ზოგჯერ შეიძლება საკვლევი ნივთიერების დერივატიზაცია და აქროლად ფორმაში გადაყვანა.

4.1.4 ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფია

ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფია გაზური და სითხური ქრომატოგრაფიის უპირატესობების ჰიბრიდია, მაგრამ დღეს ის დამოუკიდებელ მეთოდს წარმოადგენს. ამ მეთოდის დადებით მხარეს წარმოადგენს თეორიული თეფშების რიცხვი, ვიდრე სითხურ ქრომატოგრაფიაში (მაგრამ დაბალი ვიდრე გაზურ ქრომატოგრაფიაში). შეიძლება გამოვიყენოთ თერმოლაბილური და არააქროლადი ნივთიერებებისთვის. მეთოდი გამოსადეგია არამარტო ანალიზური, არამედ ნახევრად პრეპარატული, პრეპარატულ და საწარმოო მასშტაბის დაყოფებისთვის, თუმცა მის ნაკლოვანებას წარმოადგენს ის, რომ შეზღუდულია სელექტივობის მართვა მოძრავი ფაზის მიხედვით. ზეკრიტიკული სითხე, ეს არის ელემენტი, ან ნივთიერება მის კრიტიკულ ტემპერატურაზე მაღლა, როდესაც ის შეკუმშულია მის კრიტიკულ წნევაზე მაღლა. საჭიროა, რომ სითხე აირში გადავიდეს, კრიტიკული ტემპერატურის გამო მაგრამ, კრიტიკული წნევის გამო ეს არ ხდება, მიიღება მდგომარეობა, როდესაც შეუძლებელია ფაზათა გაყოფა სითხესა და აირს შორის, ამის გამო ეს არ არის ნივთიერების ახალი აგრეგატული მდგომარეობა [16].

ეს მეთოდიც წარმატებით გამოიყენება ქირალურ დაყოფებში, სადაც ელუენტის როლს ძირითადად აირი ასრულებს, ან სითხე, რომლის წნევა ან ტემპერატურა თერმოდინამიკური კრიტიკული წერტილის მაღლაა.

ქირალური დაყოფებისთვის ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფიაში ძირითადად გამოიყენება ის სვეტები, რომლებიც სითხური ქრომატოგრაფიის შემთხვევაში გვაქვს.

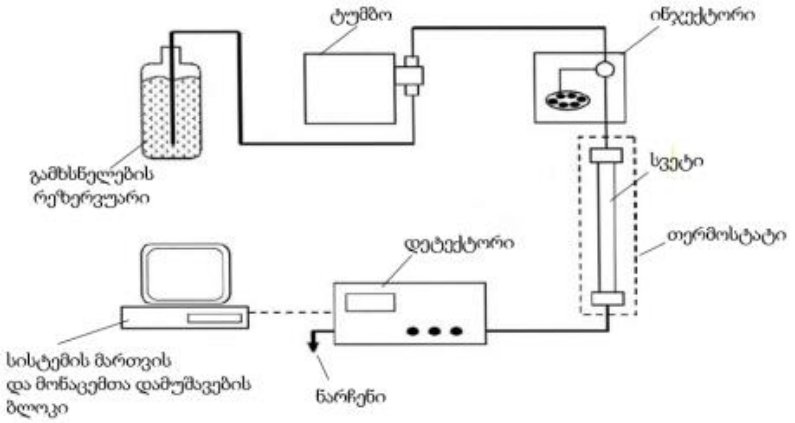
ეს მეთოდი 1985 წელს გამოიყენეს პირველად ქირალურ დაყოფაში და მას შემდეგ ეს მეთოდი საკმაოდ განვითარდა [17]. ამ მეთოდით შესაძლოა დაიყოს მაღალმოლეკულური ნაერთები, რომელთა დაყოფა გაზური და სითხური ქრომატოგრაფიის მეთოდებით შეზღუდულია.

4.1.5 სითხური ქრომატოგრაფია

მაღალ ეფექტური სითხური ქრომატოგრაფია (HPLC) ყველაზე პრაქტიკული და ფართოდ გამოყენებადი ენანტიომერული დაყოფის ტექნიკაა, რომელსაც სხვა მეთოდებთან შედარებით გარკვეული უპირატესობები გააჩნია. მეთოდის მგრძნობიარობა, სიჩქარე და განმეორებადობა განაპირობებს ამ მეთოდის აქტუალობას. ქირალური დაყოფის დაახლოებით 90% ამ ტექნიკითაა მიღწეული. შესაძლებელია სხვადასხვა სახის ქირალური სელექტორებისა და მოძრავი ფაზების გამოყენება [19].

სურ. 3-ზე წარმოდგენილია მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფის ხელსაწყოს სქემა. ხელსაწყო შედგება შემდეგი ძირითადი ბლოკებისგან:

- გამხსნელების შემრჩევი სისტემა;
- დეგაზატორი;
- ტუმბო;
- ნიმუშის ინჯექტორი (ავტომატური ან მანუალური);
- სვეტების თერმოსტატი;
- დეტექტორი;
- მონაცემთა დამუშავები მოწყობილობა (კომპიუტერი);



სურ.3 *მაღალ ეფექტური სითხური ქრომატოგრაფის ხელსაწყოს სქემა;*

ქრომატოგრაფიული დაყოფის მახასიათებელი პარამეტრები არის:

1. **შეკავების ფაქტორი k**, რომელიც გამოითვლება ფორმულით:

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

სადაც, t_R და t_M იზომება ქრომატოგრამიდან. t_R არის შეკავების დრო მოცემული ნივთიერებისთვის, ხოლო t_M „მკვდარი მოცულობის“ შეკავების დრო.

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

$$\alpha = \frac{K\prime_2}{K\prime_1} \qquad (2)$$

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

3. **სვეტის ეფექტურობა**, ხასიათდება თეორიული თეფშების რიცხვით, N:

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

t_R მოცემული ნიმუშის შეკავების დროა, ხოლო **W** - პიკის სიგანე;

4. **გარჩევითობა (R)** წარმოადგენს ტევადობის ფაქტორს, სელექტიურობის და სვეტის ეფექტურობის გაერთიანებულ გამოსახულებას

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

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

5. **პიკის სიმეტრია**

As = W 0.05 / 2 f (5)

4.1.6 კაპილარული ელექტროფორეზი და მისი უპირატესობები სხვა მეთოდებთან შედარებით

ეჭვგარეშეა, რომ ისეთი მძლავრი მიკროდაყოფის მეთოდი, როგორიცაა თანამედროვე კაპილარული ელექტროფორეზი, თავის მხრივ, სხვა ანალიტიკურ მეთოდებსაც მოიცავს, როგორიცაა გელ-ელექტროფორეზი (ის წარმოადგენს კაპილარული ელექტროფორეზის წინამორბედ მეთოდს), გაზური ქრომატოგრაფია (კაპილარის ტექნოლოგია) და მაღალ ეფექტური სითხური ქრომატოგრაფია (ინსტრუმენტი). ყველაზე მნიშვნელოვანი გარღვევა კაპილარული ელექტროფორეზის განვითარების პერიოდში გამოქვეყნდა, 1981 წელს ჯორგენსონის და ლუკასის მიერ, როცა მათ გამოაქვეყნეს მაღალეფექტური დაყოფები. შემდეგი მნიშვნელოვანი მიღწევა იყო 1984 წელს წარმოდგენილი კაპილარული ელექტროკინეტიკური ქრომატოგრაფია. ეს მეთოდი დამყარებულია საანალიზო ნიმუშის კომპონენტების გადაადგილების ელექტროფორეტულ და დაყოფის ქრომატოგრაფი პრინციპზე. პირველი კაპილარული ელექტროფორეზის ხელსაწყო 1987 წელს შეიქმნა, დღეისათვის კი 20-ზე მეტი კომპანია გვამარაგებს მისი სხვადასხვა ნაწილებითა და აქსესუარებით [3].

კაპილარული ელექტროფორეზი არის გამოყოფის ტექნიკა, რომელიც განსაკუთრებით შეეფერება ფარმაცევტული ნაერთების ანალიზს. ფარმაცევტულ ანალიზში მე-20 საუკუნის ბოლოდან დაიწყო კაპილარული ელექტროფორეზის გამოყენება. ამ მეთოდით შეიძლება გაანალიზდეს ნივთიერებების ფართო კლასი, როგორიცაა მცირე ზომის ორგანული და არაორგანული ნივთიერებები და დიდი ზომის მოლეკულები [20].

კაპილარული ელექტროფორეზი ნივთიერების დაყოფის მეთოდია და დამყარებულია დამუხტული ნაწილაკების განაწილებაზე გელში ან ბუფერში მათი ელექტროფორეტული ძვრადობების მიხედვით. მთავარ როლს ყველა ელექტროფორეტულ დაყოფაში, ელექტროფორეტული ძვრადობა ასრულებს. ელექტროფორეტული ძვრადობა აღიძვრება საკვლევი ნიმუშის თითოეულ დამუხტულ კომპონენტში და იწვევს მათ გადაადგილებას ელექტრულ ველში.

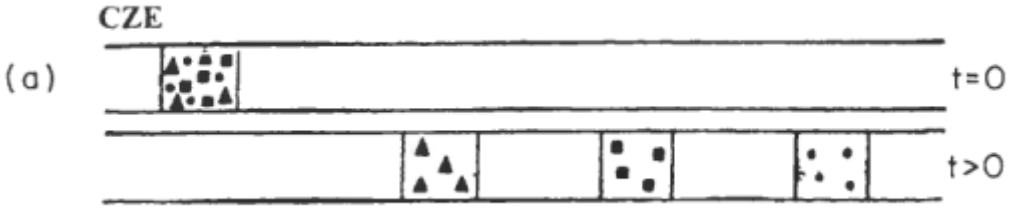
როგორც უკვე ვახსენე, სხვა მეთოდებთან შედარებით კაპილარულ ელექტროფორეზს რიგი უპირატესობები გააჩნია:

- კაპილარების მაღალი ელექტრული მდგრადობა. ანალიზის ჩატარება შეიძლება მაღალი ელექტრული ველის ქვეშ.
- კაპილარის დიამეტრის სიმცირე. კაპილარულ ელექტროფორეზში გამოყენებული კაპილარის შიდა დიამეტრი 25-75მკმ-ია. ამის გამო ითვლება ის მინიატურულ მეთოდად. მიკრო დიამეტრის კაპილარები საშუალებას იძლევა შემცირდეს დიფუზიური მოვლენები და ტემპერატურული სხვაობები, რაც იძლევა მაღალეფექტურ პიკებს. მიკროდიამეტრის კაპილარის გამო იხარჯება ძალიან მცირე რაოდენობის რეაქტივები, ამის გამო იაფი და ეკონომიური მეთოდია.
- გამოიყენება არაორგანული ბუფერები, რაც არ აბინძურებს გარემოს.
- არ არსებობს მკვდარი მოცულობა (ნივთიერების ინიცირება და დეტექტირება კაპილარში ხდება).
- მეთოდი სწრაფია და იძლევა ქირალური სელექტორების დართო არჩევანს.
- დაყოფა მიიღწევა მაშინაც კი, როცა სელექტივობა არის 1.01-ის ტოლი.

კაპილარულ ელექტროფორეზში დაყოფის პრინციპის მიხედვით განარჩევენ 5 ძირითად მეთოდს:

I. **კაპილარული ზონური ელექტროფორეზი** - Capillary Zone Electrophoresis (CZE)

კაპილარული ზონური ელექტროფორეზი (სურ. 4) არის ყველაზე მარტივი და პოპულარული მეთოდი ელექტროფორეზის ექსპერიმენტში. ამ მეთოდში დაყოფა დამყარებულია განსხვავებულ ელექტროფორეტულ ძვრადობებზე, რომელიც აღიძვრება ელექტროლიტის ხსნარში ელექტრული ველის გავლენით. ეს განსხვავება გამოწვეულია სხვადასხვა მუხტით, მასით ან ნაერთების სტრუქტურით. საკმაოდ მცირე განსხვავებაც კი საკმარისია CZE-ში დაყოფის განსახორციელებლად [3].

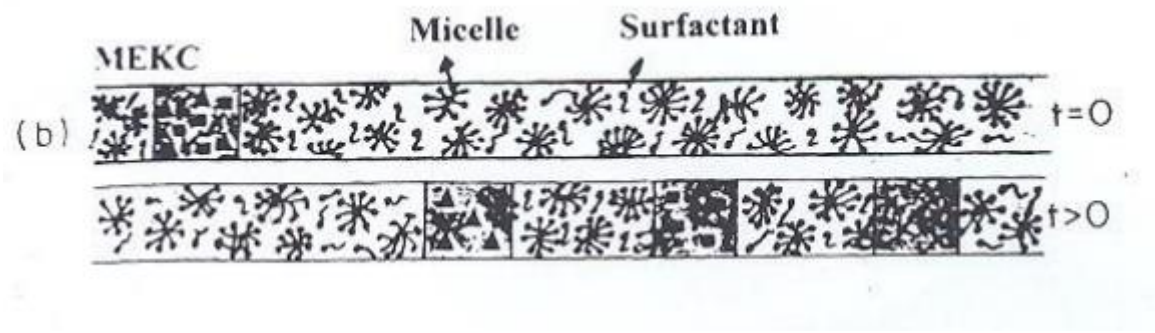


სურ. 4 *კაპილარულ ზონური ელექტროფორეზის დაყოფის პრინციპი.* [3]

II. **კაპილარული ელექტროკინეტიკური ქრომატოგრაფია** - Capillary Electrokinetic Chromatography (CEKC)

კაპილარული ელექტროკინეტიკური ქრომატოგრაფია (სურ.5) (ასევე წოდებული, როგორც „კაპილარული ელექტროქრომატოგრაფია) არის შედარებით ახალი გამოყოფის მეთოდი, რომელიც დაფუძნებულია თხევადი ქრომატოგრაფიული და ელექტროფორეზული გამოყოფის მეთოდების კომბინაციაზე [21].ეს მეთოდი 1984 წელს იქნა წარმოდგენილი ტერაბეს ჯგუფის მიერ, როგორც მიცელარული ელექტროკინეტიკური ქრომატოგრაფია. დაყოფა დაფუძნებულია ნიმუშის შემადგენელი კომპონენტების განსხვავებულ განაწილებაზე ორ ფსევდოფაზას შორის განსხვავებული ძვრადობებით. ყველაზე ხშირად გამოყენებული ფსევდოფაზა კაპილარულ ელექტროკინეტიკურ ქრომატოგრაფიაში არის სინთეზური და ზედაპირულად აქტიური ნივთიერებები და მიკროემულსიები, პეპტიდები, პროტეინები, დამუხტული მაკრომოლეკულები, დამუხტული ხაზოვანი და ციკლური ოლიგოსაქარიდები და ა.შ.

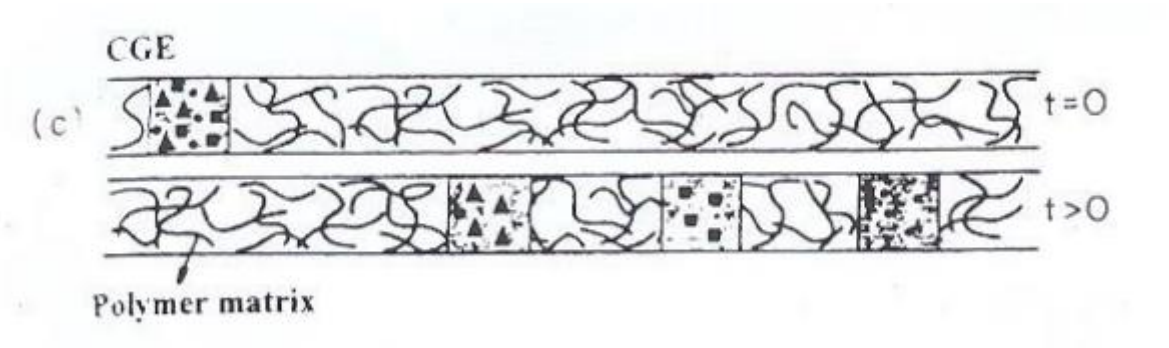
ამ მეთოდის უპირატესობას წარმოადგენს ის, რომ შესაძლებელია დაიყოს ნეიტრალური ნაერთები, რომელთა დაყოფაც პრინციპულად შეუძლებელია კაპილარული ზონური ელექტროფორეზის მეთოდით თავისუფალ ხსნარში, იმიტომ რომ ნეიტრალურ ნივთიერებებს არ გააჩნიათ საკუთარი ელექტროფორეტული ძვრადობა და ბუფერულ ხსნარებში ყველა მათგანის გადატანა ელქტროოსმოსით ხდება ერთნაირი სიჩქარით. ნეიტრალური ნიმუშები გამოირჩევიან განსხვავებული სწრაფვით ფსევდოფაზის მიმართ და სწორედ ეს განაპირობებს დაყოფას [3].



სურ.5 *კაპილარული ელექტროკინეტიკური ქრომატოგრაფიის დაყოფის პრინციპი* [3]

III. **კაპილარული გელ-ელექტროფორეზი** -Capillary Gel Electrophoresis (CGE)

ეს მეთოდი დაფუძნებულია, ნიმუშის შემადგენელი კომპონენტების განაწილებაზე გელში, რომლითაც კაპილარი არის შევსებული. ეს მეთოდი ყველაზე ხშირად გამოიყენება დიდი ზომის მოლეკულებისთვის, როგორიცაა ცილები, ნუკლეოტიდები და ა.შ. ამ მეთოდით ნივთიერების დაყოფა ხდება მათი ზომების მიხედვით (სურ.6)



სურ.6 *კაპილარული გელ- ელექტროფორეზის დაყოფის პრინციპი.* [3]

ერთ-ერთ ყველაზე ფართოდ გამოყენებად გელს ამ მეთოდში წარმოადგენს პოლიაკრილამიდი. [3]

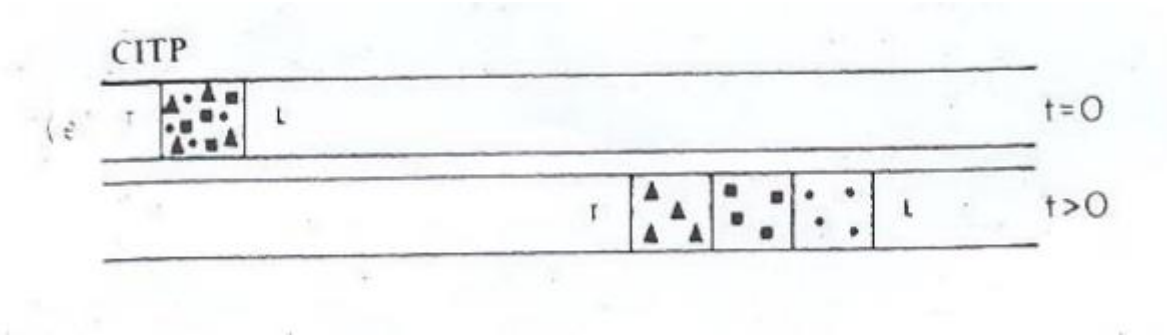
IV. **კაპილარული იზოტახოფორეზი** - Capillary Isotachophoresis (CITP)

ამ მეთოდში საჭიროა შეიქმნას მდგომარეობა, რომელშიც დაყოფილი ზონები მოძრაობს ერთი და იმავე სიჩქარით, ამ მიზნით კი გამოიყენება ორ ბუფერის კომბინაცია (სურ.7). იზო ნიშნავს-ერთნაირს, ხოლო ტახო-სიჩქარეს.

იზოტახოფორეზის დროს ნიმუში შეჰყავთ ორ ელექტროლიტს შორი, რომლებიც იონების ძვრადობებითაა განსხვავებული. ელექტროლიტები უნდა შეირჩეს ისე, რომ მათ შეზღუდონ ნიმუშის კომპონენტების მოძრაობა. ამ მეთოდის გამოყენებით კათიონებს და ანიონებს ერთდროულად ვერ გავაანალიზებთ.

ეს მეთოდი უპირატესად გამოიყენება არაორგანული იონებს და ორგანული კარბონმჟავების დაყოფისთვის. ეს იყო პირველი მეთოდი, სადაც გამოიყენეს ქირალურ სელექტორად ციკლოდექსტრინები.

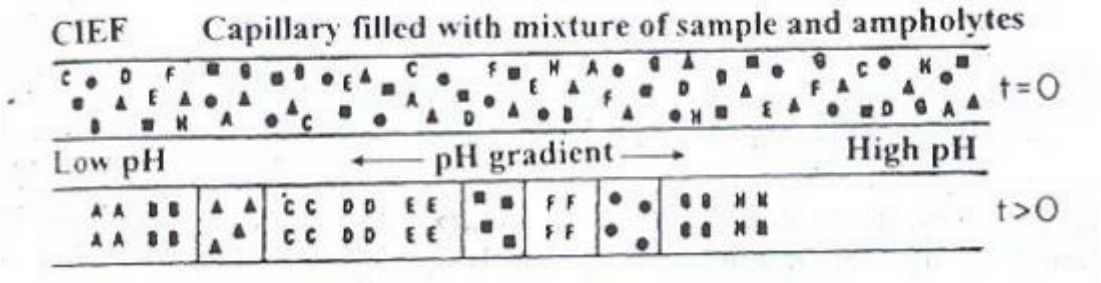
შედარებით მოძველებული მეთოდის და აღარ გამოიყენება, მას ზონური ელექტროფორეზი ანაცვლებს. [3]



სურ.7 *კაპილარული იზოტახოფორეზის დაყოფის პრინციპი* [3].

V. **კაპილარული იზოელექტრული ფოკუსირება** - Capillary Isoelectric Focusing (CIEF)

ეს დაყოფის ერთ-ერთი მაღალ ეფექტური მეთოდია. ძირითადად ამფოტერული ნაერთებისთვის გამოიყენება, როგორიცაა ცილები და პეპტიდები, რომლებიც ერთმანეთისგან განირჩევა იზოელექტრული წერტილებით და არა საკუთარი ძვრადობით. იზოელექტრული წერტილი არის სპეციფიური სიდიდე ამფოტერული ნაერთებისთვის და აჩვენებს pH-ის რა მნიშვნელობისას წყვეტს ნივთიერება მოძრაობას ელექტრულ ველში და გარეგნულად ჩანს როგორც ელქტრონეიტრალური.



სურ.8 *კაპილარული იზოელექტრული ფოკუსირების დაყოფის პრინციპი* [3].

დაყოფა დამყარებულია, მოლეკულების გადანაწილებაზე განსხვავებულ pH ზონებში. კაპილარში უნდა გავატაროთ ხსნარი, რომ შეიქმნას pH გრადიენტი, ეს ხსნარი კი ისეთია, რომელიც შეიცავს მჟავური და ფუძე თვისებების მატარებელ ნაერთ და მისი pK მაჩვენებელი 3-9 შუალედში უნდა იყოს. ამ მეთოდის გამოყენებისას ელექტროოსმოსური ძვრადობა უნდა ჩაიხშოს, pH გრადიენტის წარმოსაქმნელად [3-11].

4.1.7 ელექტროფორეტული ძვრადობა

ელექტროფორეტული ძვრადობა მნიშვნელოვან როლს ასრულებს დაყოფაში. ელექტროფორეტული ძვრადობა აღიძვრება ელექტროლიტის გარემოში და დამუხტულ ნივთიერებებს გააჩნიათ. ელექტროლიტის ხსნარების თვისებები (pH, იონური ძალა, იონების ტიპი) დაყოფაზე დიდ გავლენას ახდენს.

მუდმივი ელექტრული ველი გამოყენებისას ველის ძალა (E),

$$E = \frac{V}{L} \qquad (6)$$

სადაც, V- კაპილარის ბოლოებზე მოდებული მუდმივი ველის ძაბვაა;

L-კაპილარის სიგრძე;

ამ დროს ელექტროსტატიკური - F_e ძალა მოქმედებს დამუხტულ ნაწილაკებზე. ის პროპორციულია ელექტრული ველის ძალისა და იონის მუხტისა:

$$F_e = qE \qquad (7)$$

ეს ძალა ააჩქარებს იონებს, რომ გადაადგილდნენ საწინააღმდეგო მუხტის მქონე ელექტროდისკენ. ანალიზი ტარდება ბლანტ გარემოში, ამიტომ ყურადღება უნდა მიექცეს სიბლანტეს, რადგან სიბლანტის გაზრდა იწვევს ხახუნის ძალის გაზრდასაც, რომელიც გარემოსა და საკვლევი ნიმუშის ნაწილაკებს შორისაა, ეს ფაქტორი ანელებს იონის გადაადგილებას საწინააღმდეგო მუხტის მქონე ელექტროდისკენ და მცირდება ნაწილაკის სიჩქარე. სტოკსის კანონის მიხედვით, სფეროსებრი ნაწილაკებისთვის ხახუნის ძალის გამოსახულებას შემდეგი სახე აქვს:

$$F_f = 6\pi\eta r\upsilon \qquad (8)$$

სადაც η - არის სითხის სიბლანტე;

r-იონის ან ნაწილაკის რადიუსი;

υ- გადაადგილების სიჩქარე;

დამუხტული ნაწილაკები იწყებენ გადაადგილებას იმ მომენტიდან, როცა ელექტრული ველის ძაბვის მოდება მოხდება. ხოლო იმ იონის მუდმივი სიჩქარე, რომელიც

კაპილარში გადაადგილდება გამოისახება, ელექტროფორეტული ძვრადობისა (μ_e) და ელექტრული ველის ნამრავლით (E):

$$\upsilon = \mu_e E \qquad (9)$$

ზემოთ განხილული რამდენიმე განტოლების გაერთიანებითა და ყველა აღნიშნული პარამეტრის გათვალისწინებით ვწერთ შემდეგ ფორმულას, რომლითაც შეგვიძლია ელექტროფორეტული (μ_e) ძვრადობის გამოთვლა:

$$\mu_e(c\ 2V - 1s - 1) = \frac{q}{\pi} = \frac{\upsilon}{E} \qquad (10)$$

ელექტროფორეტული ძვრადობა არის იონის მახასიათებელი სიდიდე მოცემულ პირობებში.

(10) გამოსახულებიდან ჩანს, რომ μ_e დამოკიდებულია, როგორც მუხტზე ასევე დისოციაციის ხარისხზე და მათ გაზრდასთან ერთად ხდება ამ სიდიდის გაზრდაც. მოცემული q მუხტის იონებისთვის, რაც მეტად გაიზრდება იონის მასა მით მეტად დაიკლებს მისი გადაადგილების სიჩქარე მუდმივ ელექტრულ ველში.

ხახუნის ძალა თუ იზრდება სიჩქარის გაზრდის მიხედვით, ის სიჩქარის რაღაც მნიშვნელობაზე ნაწილაკზე მოდებული ელექტრული ველის ძალას გაუტოლდება. ეს ორი ძალა ერთმანეთის ურთიერთსაწინააღმდეგოდაა მიმართული (ხახუნის ძალა ანელებს, ელექტრული ველის ძალა აჩქარებს), ამ ძალების ერთმანეთთან გატოლების მომენტში, ნაწილაკზე მოქმედი ძალა იქნება ნულის ტოლი. ნიუტონის მეორე კანონის თანახმად ნაწილაკზე მოდებული ძალების ტოლქმედი უნდა უტოლდებოდეს ნულს, ანუ ხახუნის ძალა და ძალა, რომელიც ააჩქარებს იონებს, ერთმანეთს უნდა გაუტოლდეს. აჩქარება გახდება ნულის ტოლი, აქედან გამომდინარე ის იმოძრავებს მუდმივი სიჩქარით. სწორედ ეს მუდმივი სიჩქარეა ნაწილაკის ელექტროფორეტული ძვრადობა - μ_e, ამ მსჯელობის გათვალისწინებით ელექტროფორეტული ძვრადობის ექსპერიმენტულად გამოსაანგარიშებლად გამოიყენება ფორმულა, რომელსაც შემდეგი სახე აქვს :

$$\mu_e = \frac{l\,L}{V\,t} \qquad (11)$$

V გამოისახება შემდეგი გამოსახულებით:

$$V = \frac{l}{t} \qquad (12)$$

სადაც, l - არის კაპილარის ეფექტური სიგრძე, ხოლო t ნივთიერების მიგრაციის დრო.

ნეიტრალური ნივთიერებების მუხტი ნულის ტოლია (q=0), ამიტომ მათ არ გააჩნიათ ელექტროფორეტული ძვრადობა და მათი გადაადგილება კაპილარულ ელექტროფორეზში დამოკიდებულია ელექტროსმოტურ ნაკადზე, რომელიც კაპილარის და ანალიზის პირობების შესაბამისად შეიძლება შეიცვალოს. [10-11]

4.1.8 ელექტროსმოსური ნაკადი

ელექტროსმოსზე პირველი დაკვირვება 1877 წელს, გერმანელი მეცნიერის ჰელმჰოლცის მიერ მოხდა. ის ატარებდა ცდას სადაც, ჰორიზონტალურ მდგომარეობაში მყოფ მინის კვარცის კაპილარს, რომელიც სავსე იყო ელექტროლიტით, ბოლოებზე მოსდებდა ელექტრულ ველს. ელექტრული ველის მოდებით მინის კაპილარში შიდა კედელი დაიმუხტა უარყოფითად და მასში არსებულმა ნაწილაკებმა საწინააღმდეგო მუხტი შეიძინეს. კედელთან მყოფმა სითხემ დაიწყო მიგრაცია საწინააღმდეგოდ დამუხტული ელექტროდის მიმართულებით, სწორედ სითხის ამ გადაადგილებას ეწოდა ელექტროსმოსი და ხსნარის ელექტროსმოტური ძვრადობა შემდეგნაირად გამოისახება. [3]

$$\mu_{EOF} = \frac{E\zeta\varepsilon}{4\eta\pi} \qquad (13)$$

სადაც ელექტროსმოტური ნაკადი პირდაპირპროპორციულია ხსნარის დიელექტრული მუდმივისა (ε), მოდებული ელექტრული ველის ძალისა (E) და ზეტა პოტენციალისა (ζ), თუმცა უკუპროპორციულია ხსნარის სიბლანტისა (η). მოცემული პარამეტრები დამოკიდებულია თხევადი და მყარი ფაზების ქიმიურ და ფიზიკურ თვისებებზე და არ არის დამოკიდებული საანალიზო ნივთიერების თვისებებზე.

ბუფერულ ხსნარის ძვრადობას კაპილარში შტერნის ორმაგი შრის მოდელი აღწერს. თითქმის ყველა მყარი ზედაპირი იძენს გარკვეულ ელექტრულ მუხტს საკუთარ ზედაპირზე. [10]

ელექტროფორეზისთვის ხშირად კვარცის კაპილარები გამოიყენება დაუმუშავებელი ზედაპირით, რომელთა გამოდნობა ხდება 1100^{0}C-ზე და უფრო მაღალ ტემპერატურაზე, ამ დროს კვარცის სილანოლური ჯგუფები კონდენსირდება და წარმოიქმნება სილოქსანური ბმები:

$$SiOH + SiOH \longrightarrow Si\text{-}O\text{-}Si + H_2O \qquad (14)$$

კვარცის კაპილარში წყლიანი ფაზის გატარებისას ხდება ხსნარის კონტაქტი კაპილარის კედლებთან და ჰიდროლიზის შედეგად, სილოქსანური ბმებიდან ისევ სილანოლური ჯგუფები წარმოიქმნებიან, რომლებიც შემდეგ იონიზაციას განიცდიან. ელექტროლიტურ გარემოში pH-ზე დამოკიდებულებით სილანოლური ჯგუფები შეიძლება დადებითად იყოს დამუხტული, როგორც $SiOH^+$

$$SiOH + HX \longrightarrow Si\text{-}OH_2^+ + X^- \qquad (15)$$

როცა, pH <2-ზე, კვარცის კედლები ნეიტრალურია, მაშინ სილანოლური ჯგუფების დისოციაცია ძალიან მცირდება. როდესაც pH>2-ზე ცდება სილანოლური ჯგუფების დეპროტონირება და კაპილარის ზედაპირი უარყოფითად იმუხტება:

$$SiO + H_2O \longrightarrow SiO^- + H_3O^+ \qquad (16)$$

ელექტროსმოტური ძვრადობა შეგვიძლია სხვადასხვა პარამეტრის ცვლილებით ვარეგულიროთ:

- ბუფერული ხსნარის pH-ით. ის რაც მაღალია, მით მეტი სილანური ჯგუფების იონიზაცია ხდება კაპილარში და შესაბამისად მაღალია ელექტროსმოსური ნაკადის მნიშვნელობაც. ამ ცვლილების გამო მნიშვნელოვანია ბუფერული ხსნარის pH-ის ანალიზის მიზნებიდან გამომდინარე ცვლილება.
- ძაბვა, რომელსაც ანალიზისას ვიყენებთ, რადგან ელექტროსმოსური ნაკადი და გამოყენებული დენი ერთმანეთის პროპორციული სიდიდეებია. ძაბვა ანალიზის ხანგრძლივობასთან პირდაპირპროპორციულადაა დამოკიდებული, ამიტომ თუ მას ძალიან შევამცირებთ ანალიზის დრო გაიზრდება, ხოლო პირიქით თუ მას გავზრდით, მაშინ ანალიზის დრო ისე შემცირება, რომ არ იქნება საკმარისი კომპონენტების დასაყოფად.
- ბუფერული ხსნარის კონცენტრაციისა და ტემპერატურის ცვლილება.

ელექტროსმოსური ძვრადობა, არასასურველ მოვლენად ითვლებოდა ელექტროფორეტული დაყოფისათვის. მაგრამ ელექტროფორეტული მეთოდების განვითარებამ აჩვენა, მიუხედავად იმისა, რომ ელექტროსმოსური ძვრადობა პირდაპირ არაა დამოკიდებული საანალიზო ნივთიერების თვისებებზე, მას მაინც შეაქვს წვლილი ნივთიერებების დაყოფაში, ანუ ის მაინც შეიძლება გამოვიყენოთ მაღალსელექტიური ელექტროფორეტული დაყოფისათვის.

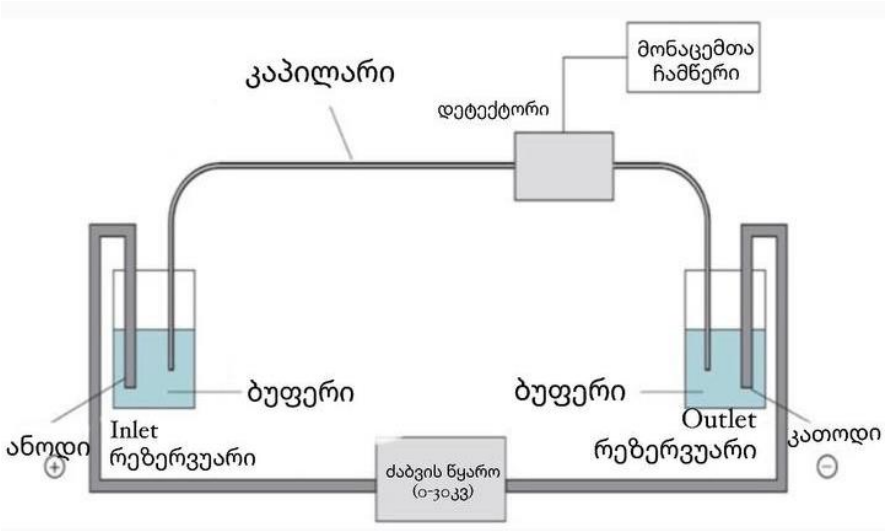
ელექტროსმოსის დადებითი როლი პირველად ჯორგენსონმა და ლუკასმა აღნიშნეს. ელექტროსმოსის არსებობის პირობებში შეიძლება როგორც ნეიტრალური, ასევე კათიონების და ანიონების დაყოფა. ნეიტრალური ნივთიერებებისთვის ელექტროსმოტური ძვრადობა ძირითადი გადამტანი ძალაა თითქმის ყველა ელექტროფორეტულ მეთოდში [3].

4.1.9 კაპილარული ელექტროფორეზის ხელსაწყოს აგებულება

კაპილარული ელექტროფორეზის კომერციული ხელსაწყო ხელმისაწვდომია 1988 წლიდან [22]. ამ მძლავრი მიკროანალიზური დაყოფის მეთოდის ერთ-ერთ უპირატესობას წარმოადგენს მისი ხელსაწყოს სიმარტივე. ძირითადი ხელსაწყო შეიძლება ლაბორატორიაშიც მოეწყოს [3].

კაპილარული ელექტროფორეზის ხელსაწყოს სქემა მოცემულია სურ.9-ზე, რომელიც შედგება შემდეგი ნაწილებისგან:

1. მაღალი ძაბვის წყარო;
2. კაპილარი (ვიწრო დიამეტრის), სადაც იყოფა ნივთიერებები ერთ ფაზაში;
3. პლატინის ელექტროდები;
4. ორი რეზერვუარი (inlet და outlet), სადაც ბუფერული ან ქირალური სელქტორიანი ბუფერული ხსნარებია მოთავსებული;
5. დეტექტორი;



სურ.9 *კაპილარული ელექტროფორეზის ხელსაწყოს აგებულება*

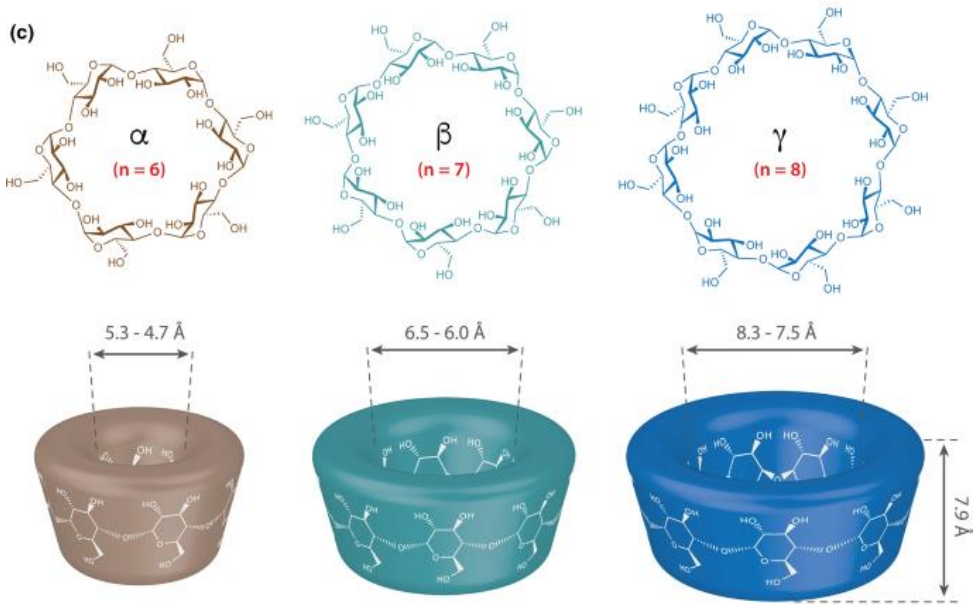
მაღალი ძაბვის წყაროს მეშვეობით, შესაძლებელია 30kv-მდე ძაბვის ქვეშ ჩატარდეს ანალიზები, ის დაკავშირებულია ორ პლატინის ელექტროდთან, რომლებიც ბუფერულ ხსნარებშია ჩაშვებული. კაპილარის ბოლოები (შიდა დიამეტრით 20-100 მკმ) ჩაშვებულია ორ ბუფერულ ხსნარში (inlet და outlet) პლატინის ელექტროდების გავლით. მოქნილობის გასაზრდელად კაპილარს გარედან ფარავენ პოლიიმიდის ფენით. დაახლოებით 9სმ სიგრძეზე outlet ბოთლის მხრიდან დეტექტირების არხამდე კაპილარს ფანჯარა უკეთდება დაახლოებით 4-5 მმ სიგრძის პოლიიმიდის მოწვის ხარჯზე, რადგან გამოიყენება

ულტრაიისფერი გამოსხივება დეტექტირებისთვის. ზუსტად ამ დეტექტირების ფანჯარაში ხდება ნივთიერებების დეტექტირება. ანალიზის შედეგად მიღებული სიგნალები ელექტრონულად ჩაიწერება და გამოისახება სპექტრზე პიკების სახით. [10]

4.1.10ქირალური სელექტორები-ციკლოდექსტრინები

პირველი ცნობები ნივთიერების შესახებ, რომელიც შემდეგ ციკლოდექსტრინად გვევლინება, გამოქვეყნდა 1891 წელს, ვილიერსის მიერ. სახამებლის ბაქტერიული გარდაქმნით, მან მოახდინა დაახლოებით 3 გრამი კრისტალური ნივთიერების იზოლაცია, 100 გრამი სახამებლიდან და გამოარკვია, რომ მისი შედგენილობა იქნებოდა $(C_6H_{10}O_5)_2 \cdot 3H_2O$. ვილიერმა ამ პროდუქტს დაარქვა „ცელულოზინი", იმიტომ რომ ის ჰგავდა ცელულოზას თავისი წინააღმდეგობით მჟავე ჰიდროლიზის მიმართ. ამ დროისთვის მან გამოიკვლია, რომ ორი განსხვავებული „ცელულოზინი" ფორმირდებოდა, რომელიც შეიძლება იყოს α- და β- ცილოდექსტრინები (CD). პირველი ფუნდამენტური მიმოხილვა ციკლოდექსტრინების შესახებ გამოქვეყნდა 1957 წელს. 1960-იანი წლების დასასრულს, მეთოდები ციკლოდექსტრინების მოსამზადებლად ლაბორატორიული მასშტაბით, მათი სტრუქტურა, ფიზიკური და ქიმიური თვისებები უკვე იყო აღმოჩენილი. [23]

ციკლოდექსტრინები ციკლურ ოლიგოსაქარიდებს წარმოადგენენ, როლებიც როგორც ფარმაცევტულ წარმოებაში, ასევე საკვები დანამატების სახით გამოიყენება. ისინი შეიცავენ D-(+)-გლუკოპირანოზას მონომერებს, რომლებიც ერთმანეთთან α(1,4)-გლიკოზიდური ბმებითაა დაკავშირებული (სურ.10). არსებობს მრავალი ბუნებრივი ციკლოდექსტრინი, მათ შორის, კაპილარულ ელექტროფორეზში ყველაზე ხშირად გამოიყენება α, β, და γ ციკლოდექსტრინები, რომლებიც შედგებიან 6, 7 და 8 გლუკოპირანოზას ჯგუფებისგან.



სურ.10 *ბუნებრივი ციკლოდექსტრინები*

ციკლოდექსტრინებს კალათის მაგვარი ფორმა აქვთ, რომლის შიგა ღრუ ჰიდროფობურია, ხოლო გარე ზედაპირი ჰიდროფილურია. ზუსტად შიგა ღრუს ჰიდროფობურობა უწყობს ხელს საკვლევ ნიმუშსა და ციკლოდექსტრინს შორის ჩართული კომპლექსის წარმოქმნას. ციკლოდექსტრინები შეიცავს როგორც პირველად, ისე მეორეულ ჰიდროქსილის ჯგუფებს, რომლებიც გარე შრეზე არიან განლაგებულნი და ციკლოდექსტრინების მოდიფიცირების საშუალებას იძლევიან. პირველადი ჰიდროქსილის ჯგუფები მდებარეობენ 6C-მდგომარეობაში ციკლოდექსტრინის ღრუს ვიწრო მხარეს, ხოლო მეორეული ჰიდროქსილის ჯგუფები 2C და 3C მდგომარეობაში ღრუს განიერ მხარეს. შიძლება რომელიმე ჰიდროქსილის ჯგუფის ჩანაცვლება რომელიმე ფუნქციონალური ჯგუფით ან ციკლოდექსტრინების მოლეკულების მიბმა სილიკაგელზე ქრომატოგრაფიული ანალიზებისთვის. [10]

დიდი ხნის განმავლობაში, მხოლოდ სამი ძირითადი ციკლოდექსტრინი (α, β, და γ) არსებობდა. 1950-იანი წლების დასაწყისში, გამოირკვა სხვა უფრო დიდი ზომის ციკლოდექსტრინების არსებობა. მაგრამ იმ დროისთვის ჯერ არ იყო დაზუსტებული ისინი ნამდვილად 9, 10 და ა.შ. გლუკოპირანოზას ნაშთს შეიცავდნენ თუ არა. გასული ათწლეულის განმავლობაში გამოირკვა მაგალითად δ-ციკლოდექსტრინის არსებობა, რომელსაც აქვს უკეთესი წყალში ხსნადობა, ვიდრე β-ციკლოდექსტრინს, მაგრამ ნაკლები ვიდრე α- და γ-ციკლოდექსტრინებს. [23]

კაპილარულ ელექტროფორეზში ქირალური დაყოფისთვის შეიძლება როგორც ბუნებრივი, ასევე მათი მოდიფიცირებით მიღებული ციკლოდექსტრინების გამოყენება. ციკლოდექსტრინების ერთ-ერთ მთავარ უპირატესობას წარმოადგენს წყლიან ბუფერში მათი კარგი ხსნადობა და ხილულ და ულტრაიისფერ უბნებში მათი გამჭვირვალობა. [10]

ენანტიომერული ნარევების დაყოფა განპირობებულია მათი სხვადასხვაგვარი განაწილებით ბუფერსა და მასში გახსნილ ქირალურ სელექტორს შორის. ქირალურ სელექტორად შეიძლება გამოვიყენოთ მხოლოდ ქირალური ნივთიერება, რადგან აქირალურ სელექტორთან მოცემული ქირალური ნივთიერების ორივე ენანტიომერი ერთი და იგივე სიმტკიცის გარდამავალ კომპლექსს წარმოქმნის. [11] თეორიულად ენანტიომერების დაყოფა მაშინაც შესაძლებელია, როცა შეკავშირების მუდმივები ორივე ენანტიომერსა და ქირალურ სელექტორს შორის ერთი და იგივეა. [3]

4.1.11 ანტიჰისტამინები

ნაერთების სპეციალიზებულ ჯგუფს, რომელიც ცნობილია როგორც „ანტიჰისტამინური ნაერთები“ შვედი ფარმაკოლოგი დანიელ ბოვეტი იკვლევდა, მისი პირველი ნაშრომი გამოქვეყნდა 1944 წელს. ბოვეტს წვლილი მიუძღვის ტესტების შემუშავებაში, რომლითაც ანტიჰისტამინური ნაერთების ამოცნობა შეიძლებოდა და იმის პროგნოზირება, რომ უფრო მაღალ აქტიურ ნივთიერებებს ექნება კლინიკური გამოყენება ალერგიული შემთხვევის დროს, როგორიცაა ცხელება და ჭინჭრის ციება. [24]

ალერგიული დაავადება დღესდღეობით ფართოდაა გავრცელებული და ყოველდღიურად ძალიან ბევრი ადამიანი წუხდება ამით. თუმცა, მნიშვნელოვანია, რომე ეს მხოლოდ თავად დაავადება არ არის რომელიც აქვეითებს განწყობას, ენერგიას და კოგნიტურ ფუნქციონირებას, ის ასვე არის ამ მდგომარეობის მკურნალობა. მაგალითად აშშ-ში სედაციური ანტიჰისტამინები კვლავ რჩება ალერგიული დაავადების მკურნალობის ძირითად საყრდენად, როგორც ეს იყო 5 ათწლეულის განმავლობაში. ანტიჰისტამინები თავის მხრივ ჩამოყალიბებულია კატეგორიებად როგორიცაა, პირველი, მეორე თაობის აგენტები, რომელთა შორის არსებითი განსხვავებებია. [25]

პირველი თაობის ანტიჰისტამინები ლიპოფილურია და იყოფა რამდენიმე განსხვავებულ ჯგუფად მათი ქიმიური სტრუქტურისა და მეტაბოლიზმის მიხედვით. ყველა მათგანი მეტაბოლიზდება ღვიძლის ციტოქრომ P450 (CYP) ჟანგვითი ფერმენტებით. ისინი არ არიან p-გლიკოპროტეინების სუბსტრატები, და ეს განსხვავება შეიძლება განპირობებული იყოს მათი მიდრეკილებით სედაციის გამოწვევისკენ. [26]

მეორე თაობის ანტიჰისტამინები, რომლებიც დაინერგა 1980-იანი წლების შუა ხანებიდან, შეიქმნა სპეციალურად აგენტების გამომუშავების მიზნით, რომლებიც ისეთივე ეფექტური იქნებოდა, როგორც პირველი თაობის H_1-რეცეპროტების ანტაგონისტები, მაგრამ მათი სედატიური ეფექტის გარეშე. ამ მიზნის მისაღწევად დაინერგა ორიგინალური აგენტების რამდენიმე ვარიაცია. მეორე თაობის ანტიჰისტამინები უფრო ლიპოფობურია, ვიდრე მათი წინამორბედები და მათ აქვთ განსხვავებული იონური მუხტი. გარდა ამისა, ისინი შედგება უფრო დიდი მოლეკულებისაგან, ვიდრე პირველი თაობის აგენტები. [25]

4.1.11.1 ქლორფენირამინი

ქლორფენირამინი არის პირველი თაობის ანტიჰისტამინი, რომელიც ალერგიული ეფექტების სამკურნალოდ გამოიყენება, როგორიცაა რინიტი და ურტიკარია. სხვა პირველი თაობის ანტიჰისტამინებისგან განსხვავებით მისი სედატიური ეფექტი შედარებით სუსტია.

ეს წამალი მოქმედებს გარკვეული ბუნებრივი ნივთიერების (ჰისტამინის) დაბლოკვით, რომელსაც ჩვენი ორგანიზმი წარმოქმნის ალერგიული რეაქციის დროს. ჩვენი სხეულის მიერ წარმოქმნილი სხვა ბუნებრივი ნივთიერების (აცეტილქოლინის) ბლოკირებით, ის ხელს უწყობს სხეულის ზოგიერთი სითხის გამოშრობას ისეთი სიმპტომების შესამსუბუქებლად, როგორიცაა წყლიანი თვალები და სურდო.

პრეპარატი მეტად ეფექტურია მყისიერი ალერგიული რეაქციების დროს. ქლორფენირამინი ამცირებს ალერგიისგან გამოწვეულ ქავილს, ხსნის გლუვი კუნთების სპაზმს და ა.შ. პრეპარატს გააჩნია ხანმოკლე მოქმედება, ამიტომ საჭიროა ის მხოლოდ ალერგენის მოქმედების სრულ ეტაპზე. ქლორფენირამინი გამოიყენება, კარგად ცნობილ გაციების საწინააღმდეგო წამლებში, მაგალითად ტაიქოლდში.

4.1.11.2 ბრომფენირამინი

ბრომფენირამინი არის ფართოდ გამოყენებული ანტიჰისტამინი, რომელიც მიეკუთვნება ალკილამინის კლასს. ის წარმოდგენილია ორმოცამდე ფორმულირებაში, ცალკე ან სხვა მედიკამენტებთან ერთად. მიუხედავად მისი ფართო გამოყენებისა ალერგიული რინიტის სიმპტომების პრევენციისა და შემსუბუქების მიზნით, ცოტაა გამოქვეყნებული ინფორმაცია მისი შეწოვის, განაწილების, მეტაბოლიზმის ან ექსკრეციის შესახებ ადამიანებში, ან ქსოვილებში ანტიჰისტამინური მოქმედების ხანგრძლივობის შესახებ. ბრომფენირამინი აშკარად კარგად შეიწოვება, მაგრამ აბსოლუტური ბიოშეღწევადობა ვერ განისაზღვრა, ვინაიდან ბრომფენირამინის ფორმულირება არ არის ხელმისაწვდომი ინტრავენური შეყვანისთვის.

ბრომფენირამინი, ისევე როგორც ამჟამად გამოყენებული ანტიჰისტამინების უმეტესობა, შემუშავდა და დაინერგა კლინიკურ მედიცინაში მისი ეფექტურობისა და ფარმაკოკინეტიკის ვრცელი დოკუმენტაციის გარეშე. გამოქვეყნებულია ბრომფენირამინის გაზომვის ტექნიკები, მაგრამ ფარმაცევტული ფორმულირებების გასაზომად და არა შრატში. ბრომფენირამინის ეფექტურობის კლინიკური კვლევები არ მოიცავდა შრატში

მისი კონცენტრაციის მონიტორინგს, ერთი გამოკვლევის გამოკლებით ნორმალურ სუბიექტებში, რომლებშიც წამლის დონე დაკავშირებული იყო ფსიქომოტორულ მუშაობასთან. [27]

4.1.11.3 დიმეთინდინი

დიმეთინდინი არის პირველი თაობის ანტიჰისტამინი. ის ავლენს ძალიან ძლიერი ქავილის საწინააღმდეგო მოქმედებას. მისი მიღება ორალური გზით ხდება: ერთი ტაბლეტი ყოველ 12 საათში ან წვეთებით და ადგილობრივად კანზე, გელის სახით. [28]

დიმეთინდინს აქვს საკმაოდ ძლიერი ანქსიოლიზური თვისებები მისი უნარის გამო, შეამციროს ზედმეტი შფოთვა. ამ ანტიჰისტამინის გამოყენებას აქვს გვერდითი ეფექტები როგორიცაა, სედატაცია და რელაქსაცია. ცხადია ეს არ ითვლება გვერდით მოვლენად, როდესაც გამოიყენება როგორც დამამშვიდებელი საშუალება. თუმცა, პრეპარატის დამამშვიდებელმა თვისებებმა შეიძლება შეაფერხოს კოგნიტური ფუნქცია და ფსიქომოტორული მოქმედება. ამ მედიკამენტის მიღების შემთხვევაში, პაციენტები უნდა იყვნენ ფრთხილად იმ აქტივობებში ჩართვისას, რომლებიც საჭიროებენ გონებრივ სიფხიზლეს, როგორიცაა ავტომობილის მართვა ან მექანიზმებთან მუშაობა. [29]

5 ექსპერიმენტული ნაწილი

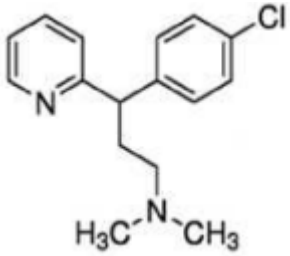
5.1 ექსპერიმენტის ზოგადი მონახაზი

ექსპერიმენტის მიზანი იყო კაპილარულ ელექტროფორეზის პოტენციალის გამოვლენა ენანტიოსელექტიური მოლეკულათშორისი ურთიერთქმედების მექანიზმების შესწავლის მიზნით და მიგრაციის რიგის ცვლილება ქირალური ნივთიერების ურთიერთქმედების დროს სხვადასხვა ციკლოდექსტრინების გამოყენებით.

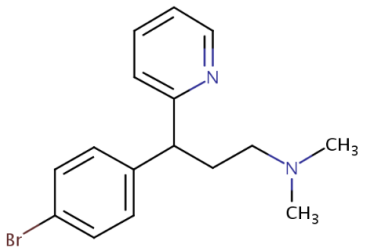
- კაპილარული ელექტროფორეზის მეთოდით განხორციელდა სხვადასხვა მოლეკულური სტრუქტურის მქონე ქირალური ნივთიერებების ენანტიომერების დაყოფა, ციკლოდექტრინების გამოყენებით, როგორც ბუნებრივი ისე β- ციკლოდექტრინის მოდფიცირებული ნაწარმებით.
- ექსპერიმენტის შემდეგ ეტაპზე კაპილარული ელექტროფორეზის გამოყენებით შესწავლილ იქნა ენანტიომერული ნარევების ენანტიომერების მიგრაციის რიგის შებრუნება, სხვადასხვა ციკლოდექსტრინების გამოყენებით.
- შესწავლილ იქნა ციკლოდექსტრინების სხვადასხვა კონცენტრაციებისთვის ენანტიომერების დაყოფა.

5.2 ექსპერიმენტში გამოყენებული ქირალური ნივთიერებები

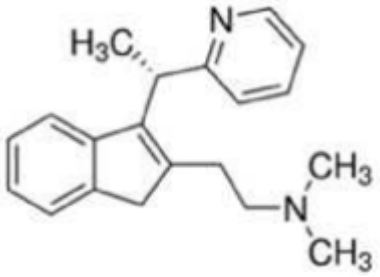
i. ქლორფენირამინი



ii. ბრომფენირამინი



iii. დიმეთინდინი



5.3 ექსპერიმენტში გამოყენებული ციკლოდექსტრინები

ექსპერიმენტში გამოყენებული ციკლოდექსტრინები იხ. ცხრილ 1-ში.

ციკლოდექსტრინები
β-CD
ჰეპტაკის-(2,3-დიაცეტილ)-β-CD
ჰეპტაკის-(2,3-დი-O-აცეტილ-6-O-სულფო)-β-CD
2,3-დიმეთილ-6-სულფატო-β-CD
2,3-დიჰიდროქსი-6-სულფატო-β-CD
ჰეპტაკის-(6-სულფო)-β-CD
(2-ჰიდროქსიპროპილ)-β-CD
TM- β-CD

ცხრილი 1 ექსპერიმენტში გამოყენებული ციკლოდექსტრინები

5.4 რეაქტივები და მასალები

ექსპერიმენტში გამოყენებული ნივთიერებები, β-CD, TM- β-CD , ჰეპტაკის-(2,3-დიაცეტილ)-β-CD (DA-β-CD), ჰეპტაკის-(2,3-დი-O-აცეტილ-6-O-სულფო)-β-CD (HDAS- β-CD), 2,3-დიმეთილ-6-სულფატო-β-CD, 2,3-დიჰიდროქსი-6-სულფატო-β-CD, ჰეპტაკის-(6-სულფო)-β-CD - ნატრიუმის მარილი, (2-ჰიდროქსიპროპილ)-β-CD. აქირალურ ბუფერად გამოვიყენეთ კალიუმის დიჰიდროფოსფატის 50 და 100 მილიმოლური ხსნარი, ნატრიუმის ტუტე, ქრომატოგრაფიული სისუფთავის გამხსნელი: მეთანოლი და გამოხდილი წყალი.

ანალიზის დაწყების წინ კაპილარული ელექტროფორეზის ხელსაწყო ირეცხებოდა გამოხდილი წყლით, ნატრიუმის ტუტით და მეთანოლის გამოყენებით. ჰაერი კაპილარულ ელექტროფორეზში ერთ-ერთ მთავარ პრობლემას წარმოადგენს, ამის გადასაჭრელად კი ხშირად ვრეცხავდით კაპილარს მეთანოლით.

გამოყენებული ხსნარები იფილტრებოდა მემბრანული ფილტრებით: დიამეტრით 13მმ, ფორის ზომა 0.45 მკმ.

5.5 გამოყენებული აპარატურა

ექსპერიმენტში გამოყენებულ იქნა შემდეგი ხელსაწყო:

1) Agilent Technologies 7100 მოდელის კაპილარული ელექტროფორეზის ხელსაწყო

სურ.11 კაპილარული ელექტროფორეზის ხელსაწყო.

2) ნიმუშის წონაკის აწონვა ხდებოდა ნახევრად მიკრო სასწორზე

3) არამოდიფიცირებული კვარცის კაპილარი

4) ექსპერიმენტის პერიოდში გამოვიყენეთ pH-მეტრი და ულტრაბგერითი აბაზანა.

5.6 კაპილარული ელექტროფორეზის ექსპერიმენტი

კაპილარულ ელექტროფორეზში ანალიზებს ვატარებთ შემდეგი თანმიმდევრობით: ყველა ინიცირების წინ კაპილარი ირეცხებოდა გამოხდილი წყლით 2წთ, 1 M NaOH-ის ხსნარით 2 წთ, ბუფერით 2 წთ და ბოლოს ქირალური სელექტორის შემცველი ბუფერით 2წთ. მუშაობის დასრულების შემდეგ კი კაპილარი ირეცხებოდა 30 წთ 1 M NaOH, 30 წთ ბუფერით და 15 წთ წყლით. კაპილარს რეცხვის ციკლი დაახლოებით 1000 ბარი წნევის ქვეშ ტარდებოდა.

ვატარებდით ანალიზებს შემდეგნაირად:

1. წნევა 100 მილიბარი
2. წნევა 100 მილიბარი და ძაბვა +30 კილოვოლტი
3. მხოლოდ ძაბვა +30 კილოვოლტი ან -30 კილოვოლტი, თუმცა კაპილარის დაზიანების თავიდან ასაცილებლად, კაპილარში წარმოქმნილი დენი შემოსაზღვრული გვქონდა 150 მიკრო ამპერით

მხოლოდ წნევით ჩატარებულ ანალიზში არ ხდება ენანტიომერული დაყოფა, აქ მხოლოდ პიკის ფორმას და ფართობს ვაკვირდებით. ჩვენთვის კი მნიშვნელოვანია მაღალეფექტური დაყოფის მიღწევა. შევარჩიეთ ანალიზის ჩასატარებელი ძაბვის ოპტიმალური მნიშვნელობა ყველა ციკლოდექსტრინის კონცენტრაციის გათვალისწინებით, საკვლევი ნივთიერების ენანტიომერების დასაყოფად.

ექსპერიმენტი: დიმეთინდინის, ბრომფენირამინისა და ქლორფენირამინის ენანტიომერების დაყოფა.

ჩვენ გვქონდა ენანტიომერების ნარევი, მონიშნული ნიმუშით, ანუ ერთი ენანტიომერი კონცენტრაციით მეტი იყო მეორეზე, რადგან დაგვენახა მიგრაციის რიგები.

გამოყენებული ბუფერი: 100 მილიმოლური კალიუმის დიჰიდროფოსფატის ბუფერი, pH 3.0, pH მიყვანილ იქნა ფოსფორმჟავას დამატებით.

გამოყნებული კაპილარები: 50 მკმ შიგა დიამეტრის და 375 მკმ გარე დიამეტრის მქონე არამოდიფიცირებული კვარცის კაპილარი, ეფექტური სიგრძე 30სმ და მთლიანი სიგრძე 38სმ.

ნიმუშის ინიცირება: 100 მილიბარი წნევით 1 წამის განმავლობაში.

ექსპერიმენტი ტარდებოდა მუდმივი ძაბვით 20კვ - 30კვ-მდე.

ექსპერიმენტი მიმდინარეობდა 20^0C მუდმივი ტემპერატურის პირობებში.

დეტექტირება ხდებოდა 200 და 220 ნმ ტალღის სიგრძეზე.

6 ექსპერიმენტის შედეგები და მათი განსჯა

6.1 ანტიჰისტამინური მოქმედების ზოგიერთი რაცემული ნივთიერების ენანტიომერების დაყოფა კაპილარული ელექტროფორეზის მეთოდის მეშვეობით

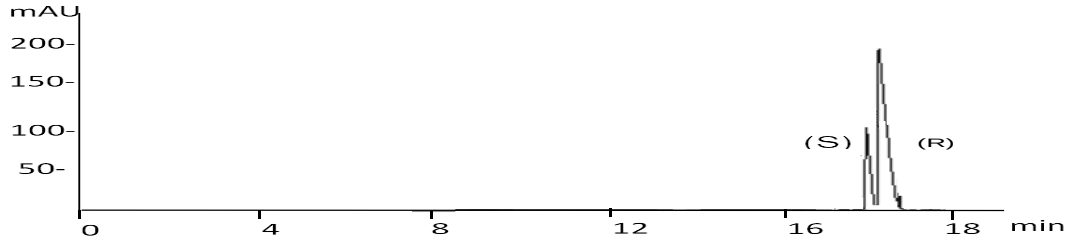
როგორც ექსპერიმენტულ ნაწილში აღვნიშნე, ჩვენს მიერ შესწავლილ იქნა სამი ანტიჰისტამინური მოქმედების რაცემული ნივთიერების, ბრომფენირამინის, ქლორფენირამისის და დიმეთინდინის ენანტიომერების დაყოფა ქირალურ სელექტორებად β-CD, HMDS-β-CD, HS-β-CD, TM-β-CD გამოყენებით, მიღებული შედეგები წარმოდგენილია ცხრ. 2 და ცხრ.3-ში.

ცხრ.2 ქლორფენირამინის და ბრომფენირამინის ენანტიომერების დაყოფა ნეიტრალური და მოდიფიცირებული ციკლოდექსტრინების გამოყენებით, ექსპერიმენტის პირობები: 100 მილიმოლური კალიუმის დიჰიდროფოსფატის ბუფერი, pH 3.0, 50მკმ შიგა დიამეტრის კვარცის კაპილარი, ეფექტური სიგრძე 30სმ, ძაბვა 20კვ.

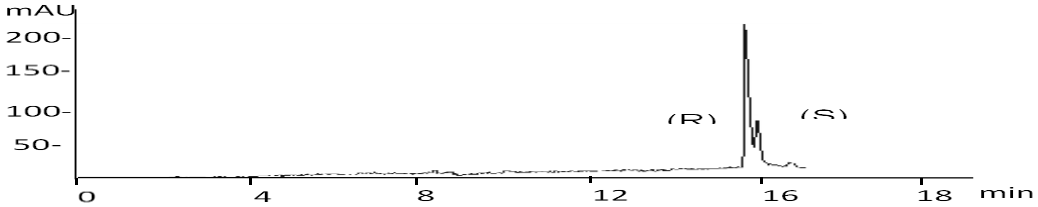
ქირალური სელექტორი	კონცენტრაცია მგ/მლ	ქლორფენირამინი			ბრომფენირამინი		
		t_1, წთ	t_2, წთ	მიგრაციის რიგი	t_1, წთ	t_2, წთ	მიგრაციის რიგი
β-CD	18	12.50	12.86	(-)(+)	15.00	15.86	(-)(+)
DACS-β-CD	6	15.11	15.59	(-)(+)	12.23	13.00	(+)(-)
HMDS- β-CD	21	21.77	22.36	(-)(+)	34.93	35.64	(-)(+)
HS-β-CD	20	5.07	5.21	(+)(-)	15.84	20.39	(+)(-)
TM-β-CD	80	12.62	13.02	(+)(-)	14.10	14.67	(+)(-)

როგორც მოცემული შედეგებიდან ჩანს, ჩვენს მიერ შესწავლილი ნავიტური და მოდიფიცირებული ცოკლოდექსტრინებიდან ქლორფენირამინის და ბრომფენირამინის

ენანტიომერები დაიყო ყველა ქირალური სელექტორის გამოყენებით. ასევე აღსანიშნავია ის ფაქტიც, რომ მოხდა ენანტიომერების მიგრაციის რიგის შებრუნება ორივე ენანტიომერის შემთხვევაში, კონკრეტულად β-CD-ზე ჯერ მიგრირდა (-) ენანტიომერი და TM-β-CD-ის შემთხვევაში (+) ენანტიომერი, მოცემულია ნახაზ 1-ზე (ა) და (ბ) და ნახაზ 2-ზე (ა) და (ბ).

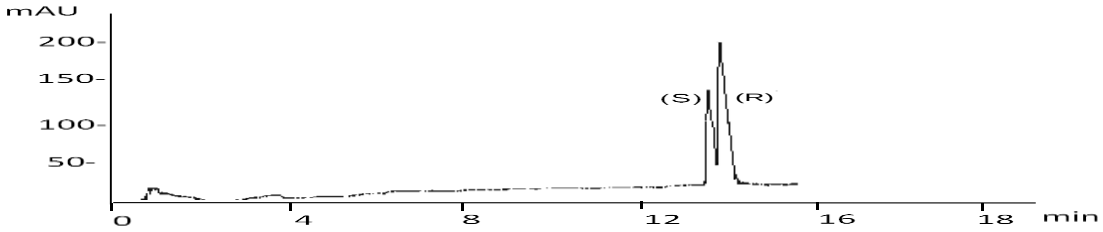


(ა)

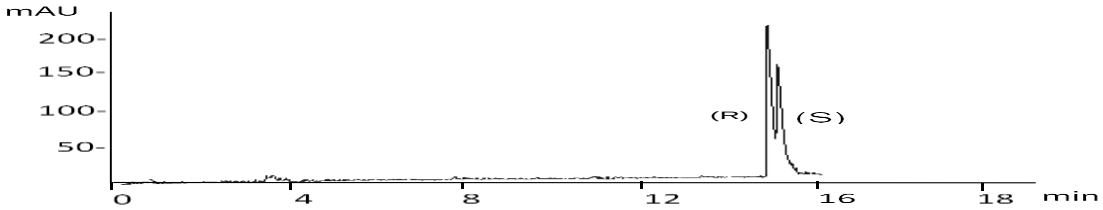


(ბ)

❖ *ნახ. 1* ბრომფენირამინის ენანტიომერების დაყოფა ქირალურ სელექტორებად β-CD-ის (ა) და TM-β-CD-ის (ბ) გამოყენებით.

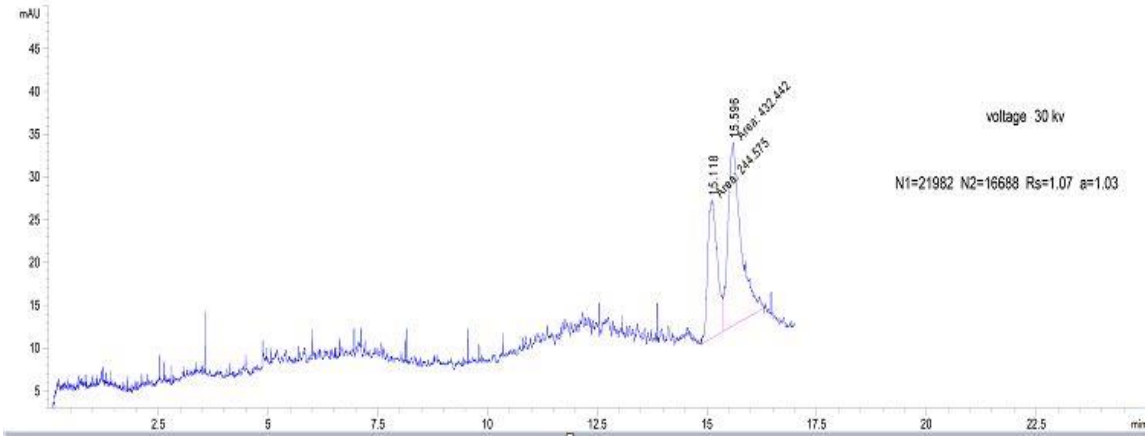


ა)

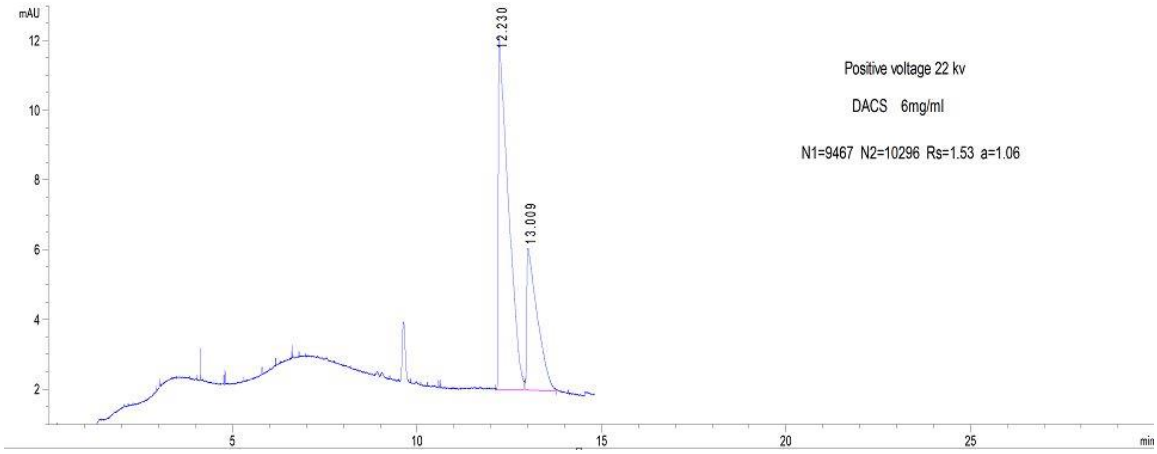


ბ)

❖ *ნახ. 2* ქლორფენირამინის ენანტიომერების დაყოფა ქირალურ სელექტორებად β-CD-ის (ა) და TM-β-CD-ის (ბ) გამოყენებით.



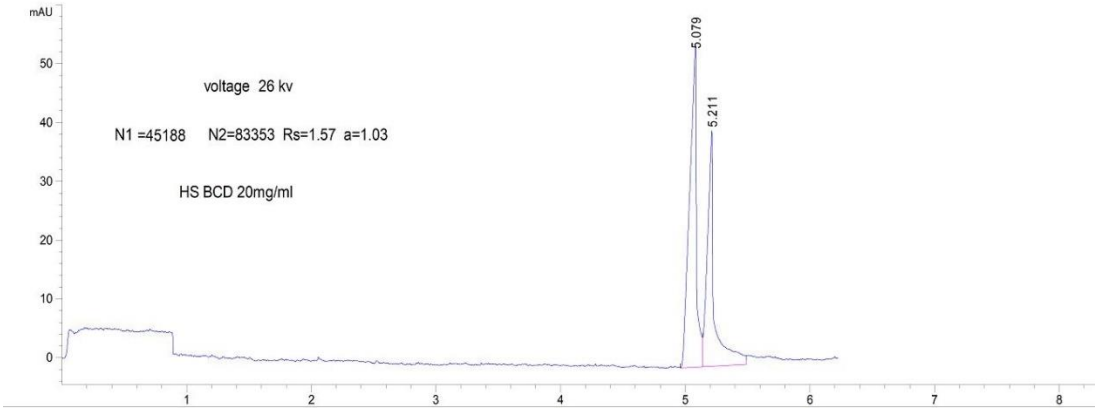
ა)



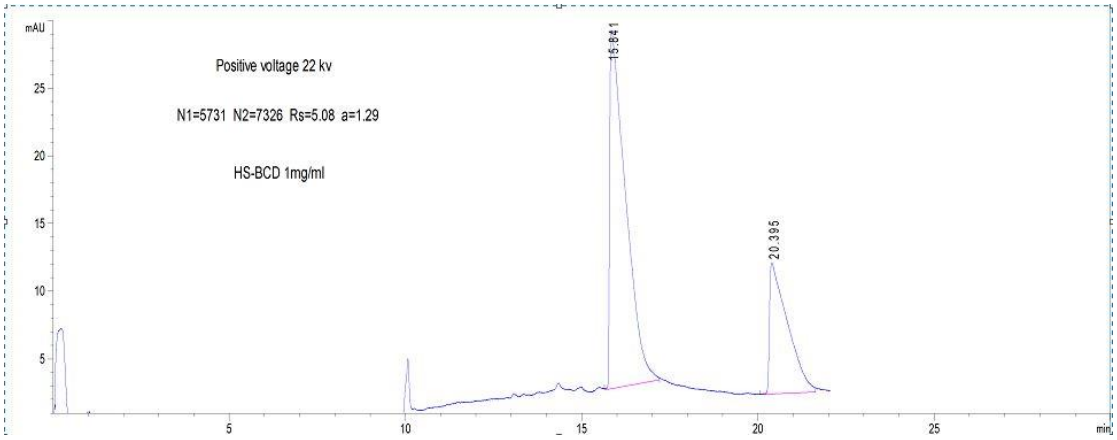
ბ)

❖ *ნახ.3* ქლორფენირამინის (ა) ბრომფენირამინის (ბ) ენანტიომერების დაყოფა დი-O აცეტილ-6-O-სულფო-β-CD-ის გამოყენებით.

მნიშვნელოვანია ის ფაქტი, რომ მიუხედავად ქლორფენირამინის და ბრომფენირამინის ერთნაირი თვისებებისა, ამ კონკრეტულ (ნახ.3) შემთხვევაში განსხვავებული თვისებები გამოავლინეს. კერძოდ ქლორფენირამინის მიგრაციის რიგია (-)(+), ხოლო ბრომფენირამინის (+)(-).



ა)



ბ)

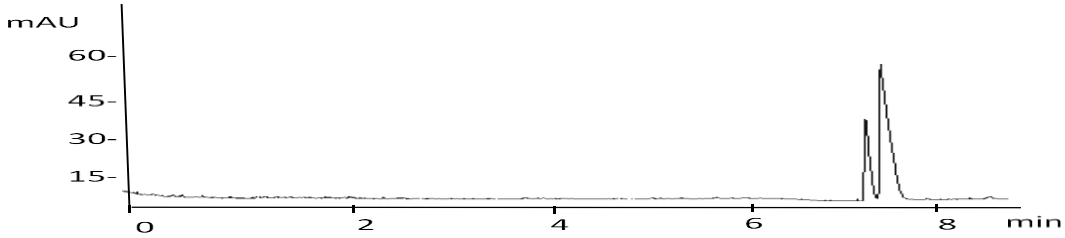
❖ *ნახ.4* ქლორფენირამინის (ა) ბრომფენირამინის (ბ) ენანტიომერების დაყოფა ჰიდროქსი-სულფო-β-CD-ის გამოყენებით.

ამ კონკრეტულ ნახ.4-ზე ნათლად ჩანს, რომ ორივე ნივთიერებას ერთნაირი მიგრაციის რიგი აქვს მაგრამ β-CD-თან თუ შევადარებთ, აქაც ხდება მიგრაციის რიგის შებრუნება, როგორც ქლორფენირამინის ასევე ბრომფენირამინის ენანტიომერების დაყოფის შემთხვევაში.

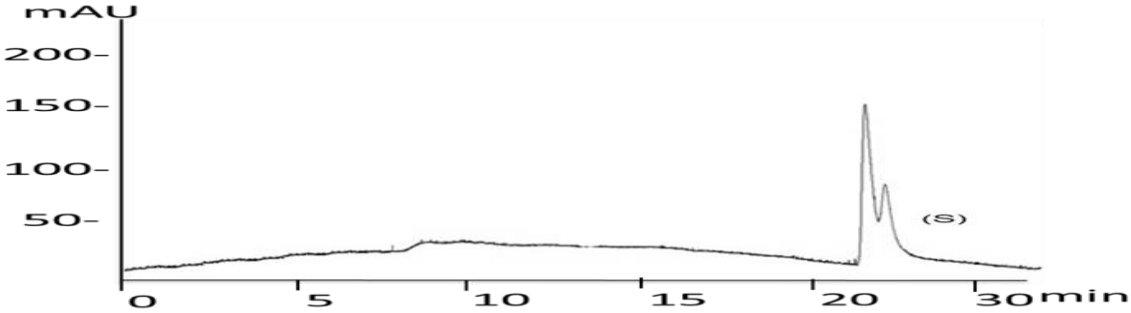
ცხრ.3 დიმეთინდენის ენანტიომერების დაყოფა ნეიტრალური ციკლოდექსტრინებით. ექსპერიმენტის პირობები: 100 მილიმოლური კალიუმის დიჰიდროფოსფატის ბუფერი, pH 3.0, 50მკმ შიგა დიამეტრის კვარცის კაპილარი, ეფექტური სიგრძე 30სმ, ძაბვა 20კვ.

ქირალური სელექტორი	კონცენტრაცია მგ/მლ	t_1, წთ	t_2, წთ	α	მიგრაციის რიგი
β-CD	18	7.3	7.8	1.02	(-)(+)
TM-β-CD	60	8.2	8.5	1.01	(+)(-)

ცხრილ 3-ში ვხედავთ ორივე ციკლოდექტრინზე დიმეთინდინის დაყოფას და ასევე მიგრაციის რიგის შებრუნებას.



ა)



ბ)

- *ნახ.5* დიმეთინდინის ენანტიომერების დაყოფა ქირალურ სელექტორებად β-CD-ის (ა) და TM-β-CD-ის (ბ) გამოყენებით.

6.2 ქლორფენირამინის და ბრომფენირამინის დაყოფა β-CD-ის სხვადასხვა კონცენტრაციების მიხედვით

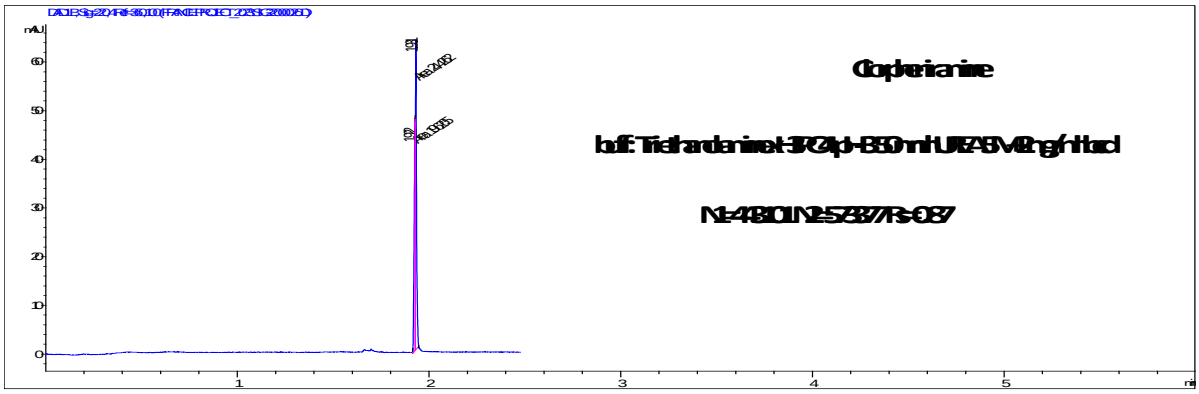
ქლორფენირამინი

ექსპერიმენტის პირობები:

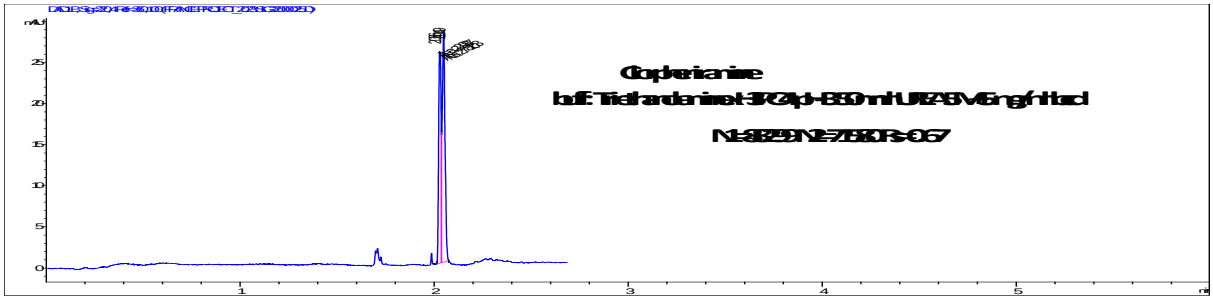
- *ბუფერი*: ტრიეთანოლამინიH_3PO_4, 50 მილიმოლური, pH=3.0
- *β-CD-ის კონცენტრაცია:* 2მგ/მლ
- *დეტექტირება*: 220 ნმ ტალღის სიგრძეზე

ნახ.6-ზე მოცემულია ქლორფენირამინის ენანტიომერული ნარევის დაყოფა β-CD-ის სხვადასხვა კონცენტრაციის შემთხვევები:

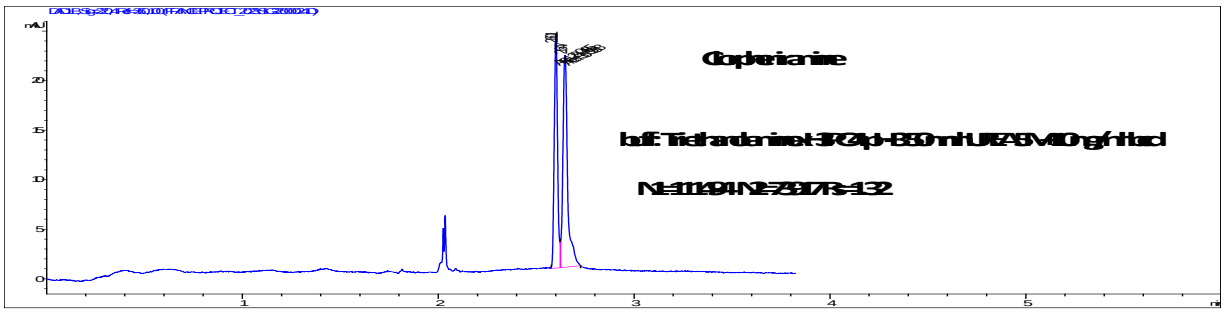
ა) ქლორფენირამინის ენანტიომერული ნარევის დაყოფა 2მგ/მლ β-CD-ის კონცენტრაციაზე.



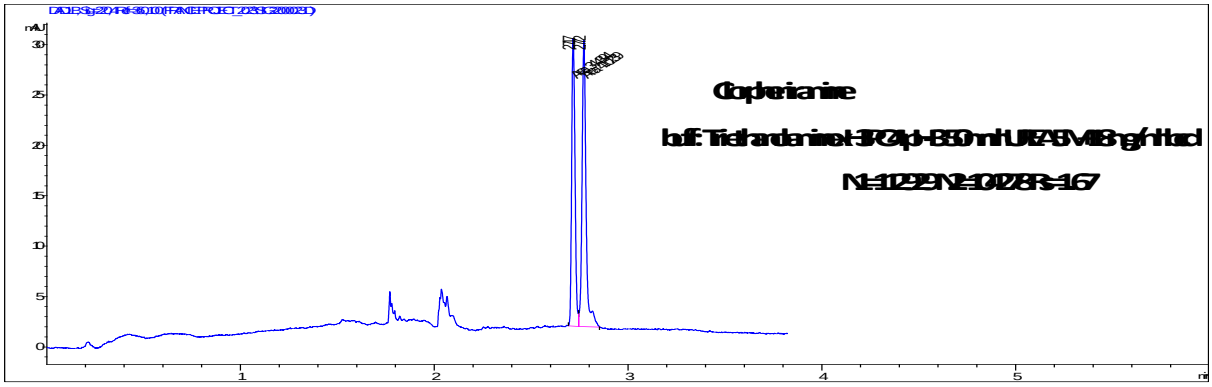
ბ) ქლორფენირამინის ენანტიომერული ნარევის დაყოფა 5მგ/მლ β-CD-ის კონცენტრაციაზე.



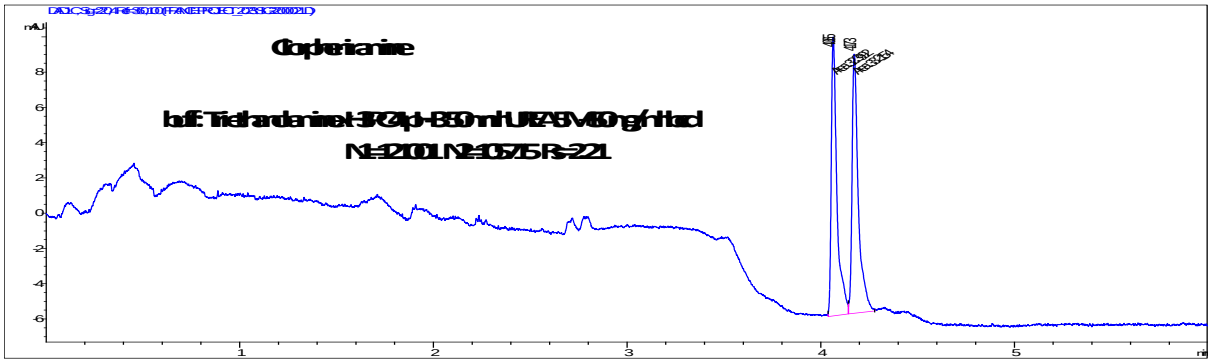
გ) ქლორფენირამინის ენანტიომერული ნარევის დაყოფა 10მგ/მლ β-CD-ის კონცენტრაციაზე.



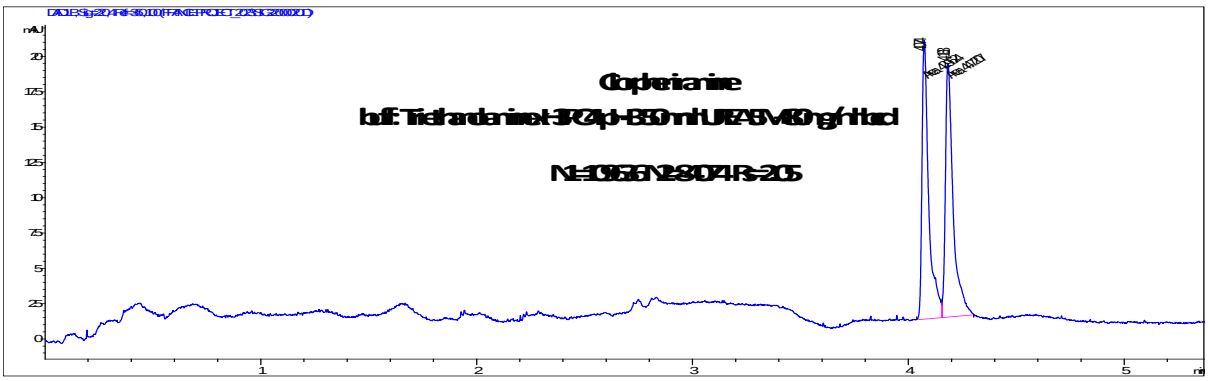
დ) ქლორფენირამინის ენანტიომერული ნარევის დაყოფა 18მგ/მლ β-CD-ის კონცენტრაციაზე.



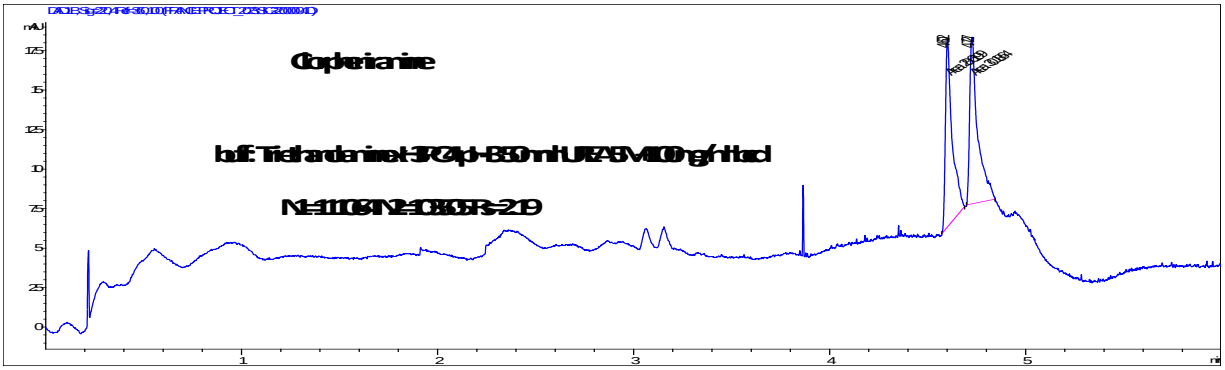
ე) ქლორფენირამინის ენანტიომერული ნარევის დაყოფა 50მგ/მლ β-CD-ის კონცენტრაციაზე.



ვ) ქლორფენირამინის ენანტიომერული ნარევის დაყოფა 80მგ/მლ β-CD-ის კონცენტრაციაზე.



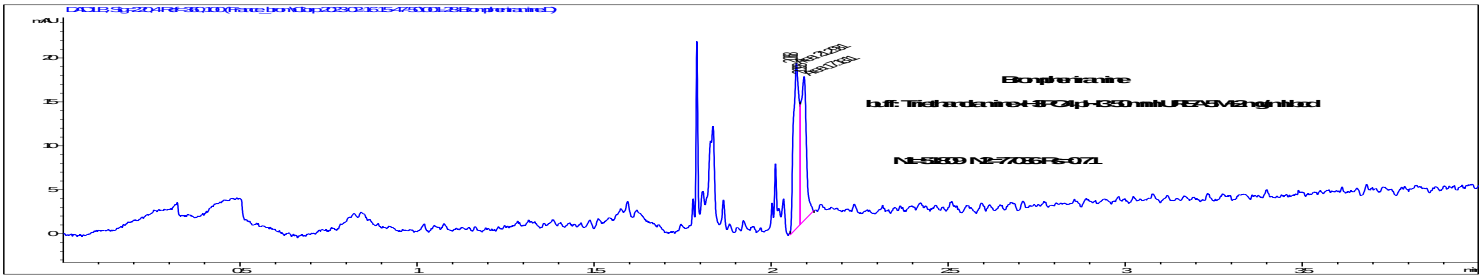
ზ) ქლორფენირამინის ენანტიომერული ნარევის დაყოფა 100მგ/მლ β-CD-ის კონცენტრაციაზე.



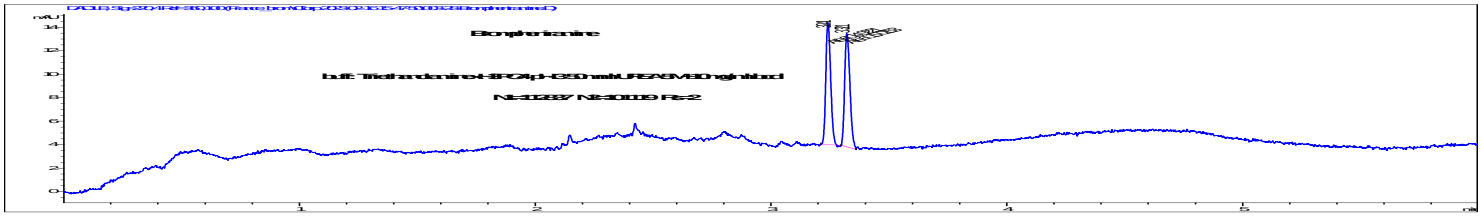
ბრომფენირამინი

ნახ.7-ზე მოცემულია ბრომფენირამინის ენანტიომერული ნარევის დაყოფა β-CD-ის სხვადასხვა კონცენტრაციის შემთხვევები:

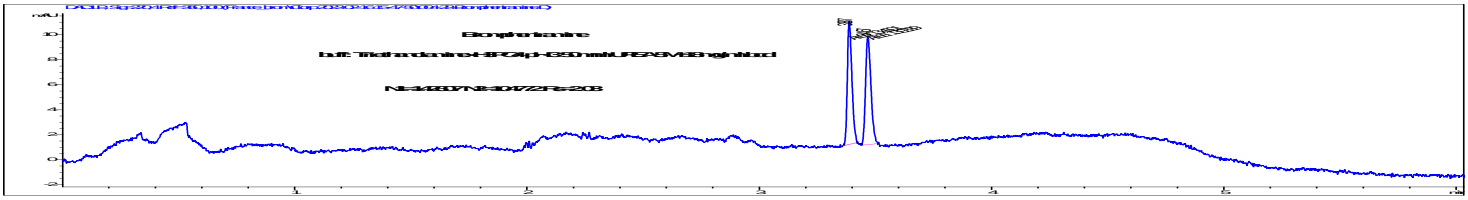
ა) ბრომფენირამინის ენანტიომერული ნარევის დაყოფა 2მგ/მლ β-CD-ის კონცენტრაციაზე.



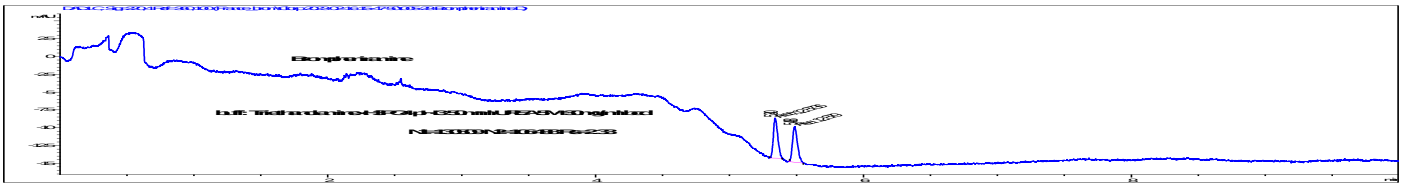
ბ) ბრომფენირამინის ენანტიომერული ნარევის დაყოფა 10მგ/მლ β-CD-ის კონცენტრაციაზე.



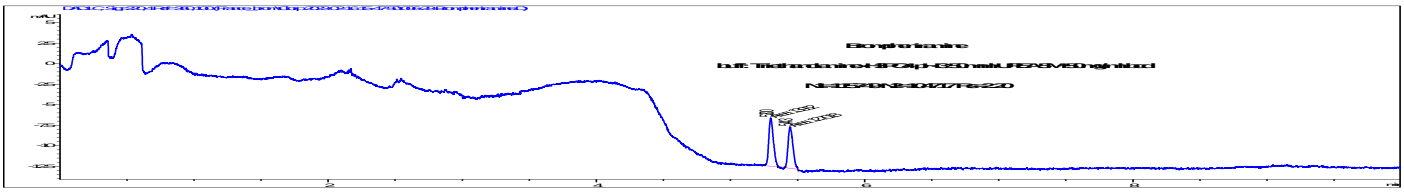
გ)ბრომფენირამინის ენანტიომერული ნარევის დაყოფა 18მგ/მლ β-CD-ის კონცენტრაციაზე.



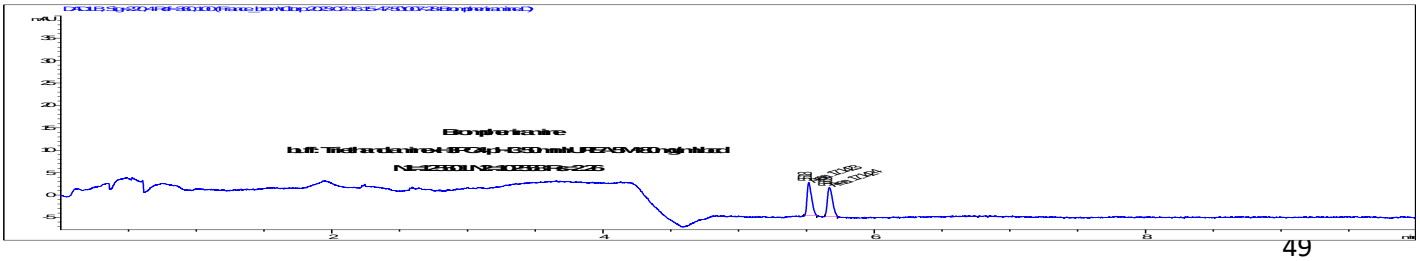
დ)ბრომფენირამინის ენანტიომერული ნარევის დაყოფა 30მგ/მლ β-CD-ის კონცენტრაციაზე.



ე)ბრომფენირამინის ენანტიომერული ნარევის დაყოფა 50მგ/მლ β-CD-ის კონცენტრაციაზე.



ვ) ბრომფენირამინის ენანტიომერული ნარევის დაყოფა 80მგ/მლ β-CD-ის კონცენტრაციაზე.



ყურადღება გავამახვილეთ, იმ ფაქტზე, რომ ჩვენს მიერ გამოყენებულ ყველა ციკლოდექსტრინზე დაიყო საანალიზო ქირალური ნივთიერებები, მაგრამ კვლევის საგანს მაინც წარმოადგენდა იმ ქირალურ სელექტორებზე დაკვირვება, რომელთა გამოყენებისასაც დავინახეთ მიგრაციის რიგის შებრუნება.

β-CD-ის კონცენრაციები, მგ/მლ	ქლორფენირამინი		Rs	ბრომფენირამინი		Rs
	თეორიული თეფშების რიცხვი			თეორიული თეფშების რიცხვი		
	N_1	N_2		N_1	N_2	
2	443101	573377	0.87	51809	77036	0.71
5	88299	71580	0.67	-	-	-
10	111494	73917	1.32	112837	101119	2
18	112929	104278	1.67	142607	104772	2.03
30	-	-	-	130509	106488	2.33
50	121001	105715	2.21	115749	104717	2.20
80	109636	84074	2.05	125501	102558	2.26
100	111064	103505	2.9	-	-	-

ცხრ.4 ქლორფენირამინის და ბრომფენირამინის და თეორიული თეფშების რიცხვები β-CD-ის სხვადასხვა კონცენტრაციებზე.

კალიუმის დიჰიდროფოსფატის გამოყენებისას საკმაოდ დაბალი იყო თეორიული თეფშების რიცხვი, იმასთან შედარებით რაც ზოგადად ელექტროფორეზს ახასიათებს, ვინაიდან ვიცით ეს მეთოდი სხვა დაყოფის მეთოდებისგან ყველაზე მაღალითეორიული ტეფშების რიცხვით გამოირჩევა. ამის გამო გამოვიყენეთ ახალი ბუფერი, ფოსფორმჟავას ვუმატებდით ტრიეთანოლამინს pH=3.0-ის მისაღწევად, სადაც β-CD-ის სხვადასხვა კონცენტრაციები გამოვიყენეთ და ყველა შემთხვევაში ძალიან მაღალი თეორიული თეფშების რიცხვი მივიღეთ. რაც ნაჩვენებია ნახ.6 და ნახ.7-ზე მოცემულ ელექტროგრამებზე. ამის მიუხედავად უმჯობესია კალიუმის დიჰიდროფოსფატის ბუფერის გამოყენება, რადგან მომზადება შედარებით მარტივია და თეორიული თეფშების რიცხვს, შედარებით დაბალი მნიშვნელობის პირობებშიც მაინც მივიღეთ დაყოფები და გვქონდა მიგრაციის რიგის შებრუნებებიც.

7 დასკვნები

1) შესწავლილ იქნა ანტიჰისტამინური მოქმედების ნივთიერებების ბრომფენირამინის, ქლორფენირამინისა და დიმეთინდინის ენანტიომერების დაყოფა და ენანტიომერების მიგრაციის რიგი კაპილარული ელექტროფორეზის მეშვეობით.
2) კაპილარული ელექტროფორეზის ექსპერიმენტში შევადარეთ სხვადასხვა ბუფერები ერთმანეთს, კალიუმის დიჰიდროფოსფატი და ტრიეთანოლამინი რათა დაგვედგინა რომლის გამოყენების შემთხვევაში გვქონდა უფრო მაღალი თეორიული თეფშების რიცხვი.
3) დავადგინეთ, რომ მაღალი თეორიული თეფშების რიცხვს ვიღებდით ტრიეთანოლამინის გამოყენების შემთხვევაში.
4) შევისწავლეთ ქირალური სელექტორის განსხვავებული კონცენტრაციის გავლენა თეორიული თეფშების რიცხვზე და დაყოფის ეფექტურობაზე.

8 გამოყენებული ლიტერატურა

[1] Challenger CA. Overview of chirality. In: Choral drugs. 1st ed. Aldershot (England): Ashgate Publisher. 2001; 3-14.

[2] Chirality and Biological Activity of Drugs, Crossey R.J. Boca Raton USA, CRC Press. 1995. 199.

[3] Capillary Electrophoresis in Chiral Analysis, B. Chankvetadze, John Wiley & Sons,

Chchester, UK, 1997, 555 pp.

[4] Gil-Av E. Freibusch B. Charles-Sigler R. Separation of enantiomers by gas-liquid chromatography with an optical active stationary phase. Tetraheron Letters 7. 1966. 1009-1015.

[5] Gasmann E. Cuo J.E. Zare R.N. Separation of enantiomeric amino acids in ligand exchange capillary electrophoresis. Science. 1985. Issue 230. 13-24.

[6] Molecular chirality and chiral parameters, A.B Harris, Rendall D. Kamien, and T. C. Lubensky. Department of Physics and Astronomy, University of Pennsylvania, Philadelphia, Pennsylvania 19104, October 1999.

[7] Enantiomeric Distribution of α-Pinene, β-Pinene, and Limonene in Essential Oils and Extracts. Part 1. Rutaceae and Gramineae. A. Mosandl, U. Hener, P. Kreis and H. G. Schmarr. FLAVOUR AND FRAGRANE JOURNAL, VOL 5, 193-199 (1990).

[8] 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.

[9] W C Guida, KG Daniel, W H Brooks 1, The Significance of Chirality in Drug Design and Development, 2011; 11(7):760-70

[10] ანა გოგოლაშვილი - ენანტიომერული ნარევების დაყოფის ფიზიკურ-ქიმიური მექანიზმების კვლევა კაპილარული ელექტროფორეზის და ბირთვულ-მაგნიტური-რეზონანსის მეთოდის გამოყენებით, სადოქტორო ნაშრომი, თბილისი, 2021.

[11] ბეჟან ჭანკვეტაძე, ნივთიერებათა დაყოფის მინიატურული მეთოდები,

სალექციო კურსი.

[12] Ana R. Ribeiro, Paula M. L. Castro, Maria E. Tiritan, Chiral pharmaceuticals in the environment, 15 December 2011.

[13] Imran Ali, Vinod K Gupta, Hassan Y Aboul-Enein, Prashant Singh, Bhavtosh Sharma, Role of racemization in optically active drugs development, Chirality 2007 Jun;19(6);453-63.

[14] H. D. Flack Acta, Louis Pasteur's discovery of molecular chirality and spontaneous resolution in 1848, together with a complete review of his crystallographic and chemical work, Cryst. (2009). A65, 371-389.

[15] Separation of enantiomers: needs, challenges, perspectives, Nobert M. Maier, Pilar Franco, Wolfgang Lindner, Journal of Chromatography A, 906 (2001) 3-33.

[16] Klesper E., Corwin A. H., Turner D. A., High-pressure gas chromatography above critical temperatures, J. Org. Chem. 27, 1962, 700-701.

[17] Chiral Separations, methods, and protocols. Methods in Molecular of Life. Guijarro A. Yus M. Cambridge CB4 OWF. 2009, UK.

[18] Analytical Chemistry. Kealey .D. Haines P.J., BIOS Scientific Publishers Ltd. UK, 2002.

[19] Chiral Separation by Liquid Chromatography and Related Technologies. Hasan Y. Aboul-Enein, Imran Ali. Mercel Dekker, Inc. 2003.

[20] Capillary Electrophoresis in Pharmaceutical Analysis, April 1997.

[21] Capillary Electrokinetic Chromatography (CEC): An Introduction to a High-Efficiency Microanalytical Technique, Vincent T. Remcho, Department of Chemistry, West Virginia University, Morgantown, June 1997

[22] Capillary Electrophoresis Guidebook: Principles, Operation and Applications, Kevin D. Altria, 1996.

[23] General Overview of Cyclodextrin Chemistry, Jozsef Szejtli, January 28, 1998.

[24] Pharmacological Action of Antihistamine Compounds, J. H. Burn, M.D., F.R.S., *Professor of Pharmacology*, University of Oxford, British Medical Journal, London, September 23, 1950.

[25] The effects of antihistamines on cognition and performance, Gary G. Kay, PhD, *Washington, DC.*

[26] Med-Psych Drug-Drug Interactions Update, Antihistamines, Scott C. Armstrong, M.D. Kelly L. Cozza, M.D., Psychosomatics 44:5, September-October 2003.

[27] The pharmacokinetics and antihistaminic effects of brompheniramine, F. Estelle R. Simons, M.D., E.M. Frith, R.T., and K.J. Simons, ph.D., *Winnipeg, Manitoba, Canada,* 1982.

[28] IDENTIFICATION AND DETERMINATION OF KETOTIFEN HYDROGEN FUMARATE, AZELASTINE HYDROCHLORIDE, DIMETINDENE MALEATE AND PROMETHAZINE HYDROCHLORIDE BY DENSITOMETRIC METHOD, Elzbieta wyszomirska, Krystyna

Czerwinska, Elzbieta Kublin and Aleksander P. Mazurek, Acta Poloniae Pharmaceutica – Drug Research, Vol. 70 No. 6 pp. 951-959, 2013.

[29] The alternative: Dimetindene maleate as a tranquilizer and anxiolytic, Dr. Carolina Diamandis, Helmut Kaucher, Sven Stoltenberg, Marius Lazar, and David Moradi, May 24, 2023.