

ივანე ჯავახიშვილის სახელობის თბილისის სახელმწიფო
უნივერსიტეტი

თამარ გეგელაშვილი

დიმეთინდენის ენანტიომერების დაყოფა კაპილარულ
ელექტროფორეზში ქირალურ სელექტორებად ციკლოდექსტრინების
გამოყენებით

ქიმიური ექსპერტიზა

ნაშრომი შესრულებულია ქიმიური ექსპერტიზის
მაგისტრის აკადემიური ხარისხის მოსაპოვებლად

სამეცნიერო ხელმძღვანელი

საქართველოს მეცნიერებათა ეროვნული აკადემიის აკადემიკოსი, ივ.
ჯავახიშვილის თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტის ზუსტ და
საბუნებისმეტყველო მეცნიერებათა ფაკულტეტის ფიზიკური და
ანალიზური ქიმიის კათედრის გამგე, პროფ. ბეჟან ჭანკვეტაძე

თბილისი, საქართველო

2019

შინაარსი

ანოტაცია	3
Summary	4
შესავალი	5
კაპილარული ელექტროფორეზის ისტორია და გამოყენება.....	7
ენანტიომერები	8
ენანტიომერულად სუფთა ქირალურ ნივთიერებათა მიღების ქრომატოგრაფიული მეთოდები.....	10
ენანტიომერული ნარევების დაყოფა კაპილარულ ელექტროფორეზში.....	12
ელექტროფორეტული ძვრადობა.....	14
ელექტროოსმოსი.....	16
ციკლოდექსტრინების გამოყენება ქირალურ დაყოფებში.....	19
ექსპერიმენტული ნაწილი	21
კაპილარული ელექტროფორეზის ხელსაწყო.....	24
დიმეთინდენ მალეატის ენანტიომერების დაყოფა ციკლოდექსტრინების გამოყენებით...	25
β-ციკლოდექსტრინების მეთილირებული ნაწარმები.....	28
დასკვნა.....	30
გამოყენებული ლიტერატურა	31

ანოტაცია

კაპილარულ ელექტროფორეზში, ქირალური სელექტორების გამოყენებით შესაძლებელია ენანტიომერების დაყოფა. კაპილარულ ელექტროფორეზში ქირალურ სელექტორებად ძალიან ხშირად გამოიყენება ციკლოდექსტრინები, სწორედ მათი გამოყენება გარკვეულ უპირატესობებთან არის დაკავშირებული: ციკლოდექსტრინები ადვილად იხსნებიან წყლიან ბუფერებში, არ წარმოადგენენ ტოქსიკურ ნივთიერებებს და ხასიათდებიან ქირალური გამოცნობის უნივერსალური უნარით. ციკლოდექსტრინების ქირალური მოლეკულების ურთიერთქმედება შესაძლებელია სხვადასხვა სტერეოსელექტიური მექანიზმით. ციკლოდექსტრინები ენანტიოსელექტიურად გამოიცნობენ ენანტიომერებს გარდამავალი, არაკოვალენტური დიასტერეომერული კომპლექსების წარმოქმნის გზით. ეს კომპლექსები ერთმანეთისაგან განსხვავდებიან სივრცითი ორიენტაციით ან სპეციფიური მოლეკულათაშორისი ურთიერთქმედების ძალებით. სწორედ ამ მიზეზის გამო ხდება ენანტიომერების დაყოფა და ელექტროფორეტულ ძვრადობებს შორის განსხვავება.

წინამდებარე ნაშრომში დამუშავებული იქნა დიმეთინდენის ენანტიომერების დაყოფა კაპილარულ ელექტროფორეზში ციკლოდექსტრინების გამოყენებით ქირალურ სელექტორებად α - β - γ -, TM- β და DM- β ციკლოდექსტრინების გამოყენებით. დადგენილი იქნა ენანტიომერების მიგრაციის რიგი სხვადასხვა ციკლოდექსტრინის გამოყენებით ენანტიომერების მიგრაციის რიგის შებრუნების სტრუქტურული მექანიზმების შემდგომი კვლევის მიზნით.

Summary

Capillary electrophoresis (CE), which is beginning to play a major role in the separation of chiral compounds, being considered often superior to high-performance liquid chromatography (HPLC), accepted as the most universally applied method in pharmaceutical analyses. The advantages of using CE in chiral separations are related to its high resolving power, relatively short analysis time, rapid method development, low consumption of solvent, sample and chiral selector and especially with the high selectivity of choosing and changing the chiral selector. Another big advantage is that in CE, direct chiral separation is typically carried out by simply dissolving an enantiomerically pure additive in the buffer solution. CE is working by creating complexes within the capillary and moving them with the help of potential difference, different orientation in the space and specific molecular interaction makes complexes to separate. These differences are the reason why enantiomers can be separated.

This research is discussing separation of dimethindene enantiomers in CE by using α - β - γ - TM- and DM- Cyclodextrins as chiral selectors because enantioseparation can be achieved only using chiral selectors. Cyclodextrins (CDs) are the important and frequently used class of chiral selectors in CE, as they are nontoxic and multimodal selectors since multiple chiral interactions are possible by very different stereo selective mechanisms. Using CDs are very comfortable due to their solubility in aqueous solutions. In the process of enantioseparation, CDs discriminate between the enantiomers by an enantioselective complexation of the analyte and the chiral selector, giving rise to differences in the electrophoretic mobilities of the enantiomers. The differences between them are the result of different effective charge densities, which is caused by different spatial orientations or specific intermolecular interactions. In the present thesis the affinity pattern of dimethindene enantiomers towards native α -, β - and γ -CDs, DM- β -CD and TM- β -CD was studied.

შესავალი

ენანტიომერული ნარევების დაყოფა წარმოადგენს თანამედროვე ქიმიის ერთ-ერთ აქტუალურ საკითხს მათი განსხვავებული ბიოლოგიური მოქმედების გამო. ენანტიომერული ნარევების დასაყოფად შესაძლებელია გამოყენებული იქნას სითხური ქრომატოგრაფია, გაზური ქრომატოგრაფია, ზეკრიტიკული წნევების ქრომატოგრაფია, კაპილარული ელექტროქრომატოგრაფია და კაპილარული ელექტროფორეზი.

კაპილარული ელექტროფორეზი ითვლება ენანტიომერული ნარევების დაყოფის ერთ-ერთ ყველაზე საინტერესო მეთოდად ბოლო ათეული წლების მანძილზე. ეს ყოველივე კი გულისხმობს პირველ რიგში მაღალეფექტურ დაყოფას, მოქნილობას ასევე გამხსნელების და ქიმიური პრეპარატების დაბალ დანახარჯებს.

ქირალური კაპილარული ელექტროფორეზი შედარებით ახალი მეთოდია, მიუხედავად იმისა რომ ეს მეთოდი ინტენსიურად გამოიყენება სხვადასხვა ანალიზური ხასიათის პრობლემების გადასაწყვეტად, ჯერ კიდევ კარგად არ არის გამოკვლეული ენანტიომერების დაყოფის და ქირალური გამოცნობის მექანიზმები ამ მეთოდში. კაპილარული ელექტროფორეზის გამოყენებით გამოქვეყნებული გამოკვლევების დიდ ნაწილში ყურადღება არ ექცევა ენანტიომერების შედარებით აფინობას ქირალური სელექტორების მიმართ და აქედან გამომდინარე ენანტიომერების მიგრაციის რიგს კაპილარულ ელექტროფორეზში. ეს არის მნიშვნელოვანი პრობლემა.

კაპილარული ელექტროფორეზი მძლავრ მეთოდს წარმოადგენს ენანტიომერების ანალიზური დაყოფებისთვის, ეს მეთოდი არ იძლევა პირდაპირ ინფორმაციას ენანტიოსელექტიურ გამოცნობაში მონაწილე გარდამავალი დიასტერეომერული კომპლექსების სტრუქტურის და სტექიომეტრიის შესახებ. გამომდინარე აქედან, ქირალური გამოცნობის მოლეკულური მექანიზმების კვლევა მოითხოვს ინსტრუმენტული ფიზიკო-ქიმიური ანალიზის ისეთი მეთოდების გამოყენებას, როგორც არის ბირთვულ მაგნიტური რეზონანსი, მას სპექტრომეტრია და ზოგიერთ შემთხვევაში საჭირო ხდება აგრეთვე მოლეკულური მოდელირების მეთოდების გამოყენება.

სამკურნალწამლო საშუალებათა ენანტიომერები ძირითად შემთხვევაში განსხვავდება მათი ფარმაკოლოგიური მოქმედებით ცოცხალ ორგანიზმებზე. ენანტიომერები ერთმანეთისგან განსხვავდება, როგორც ორგანიზმში განაწილების, ასევე აბსორბციის უნარით და პროტეინებთან შეკავშირების და რეცეპტორებთან უთიერთქმედების უნარით. ხშირ შემთხვევაში მათ განსხვავებული მეტაბოლიზმი ახასიათებთ.

ძირითადად „ცოცხალ“ გარემოში განასხვავებენ ენანტიომერების განსხვავებული მოქმედების სამ სახეს:

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

2) ერთი ენანტიომერის მოქმედება ბევრად აღემატება მეორე ენანტიომერის მოქმედებას. მაგალითად: კეტოპროფენის შემთხვევაში, S-ფორმას აქვს ბევრად ძლიერი მოქმედება, ვიდრე R-ფორმას;

3) მესამე შემთხვევაში კი შეიძლება მხოლოდ ერთ ენანტიომერს ჰქონდეს დადებითი ეფექტი, მაგრამ ორგანიზმში ენაიზომების მოქმედებით მეორე ენანტიომერი გარდაიქმნებოდეს აქტიურ ენანტიომერად. მაგალითად: იბუპროფენის შემთხვევაში, რომლის R-ფორმა არ არის დადებითი ფარმაკოლოგიური მოქმედების, მაგრამ ცოცხალ ორგანიზმში მეტაბოლიზირდება RCoA-თიოეთერად, რომელიც ამის შემდეგ ეპიმერიზდება S-CoA-თიოეთერად და საბოლოოდ გარდაიქმნება S-იბუპროფენად.

რადგან კაპილარული ელექტროფორეზი არ იძლევა პირდაპირ ინფორმაციას კომპლექსების სტრუქტურის და სტეიომეტრიის შესახებ, ამიტომ კაპილარულ ელექტროფორეზთან ერთად ხშირად იყენებენ ბირთვულ-მაგნიტური რეზონანსის (ბმრ) სპექტროსკოპიას.

კაპილარული ელექტროფორეზის ისტორია და გამოყენება

კაპილარული ელექტროფორეზი ნივთიერებათა დაყოფის ელექტროკინეტიკურ მეთოდს წარმოადგენს. კაპილარული ელექტროფორეზის სისტემა პირველად შექმნა 1965 წელს ჰერტენმა ცილების, ნუკლეინის მჟავებისა და არაორგანული იონების დასაყოფად. ამ მეთოდის პოტენციალი წინა პლანზე წამოიწია 1980 წელს ჯორგენსონის და ლუკასის გამოკვლევის შემდეგ, როდესაც პირველად გამოქვეყნდა მაღალეფექტური დაყოფები.

კაპილარული ელექტროფორეზის მეთოდი ფარმაცევტულ მრეწველობაში გამოიყენება მე-20 საუკუნის ბოლოდან. კაპილარული ელექტროფორეზი გამოიყენებოდა ნუკლეინის მჟავების და ცილების ანალიზისთვის, ამავდროულად ამ მეთოდის გამოყენებით შესაძლოა გაანალიზდეს ნივთიერებათა ფართო კლასი დაწყებული მცირე ზომის ორგანულ და არაორგანული ნივთიერებებით და დამთავრებული შედარებით დიდი ზომის მოლეკულებით.

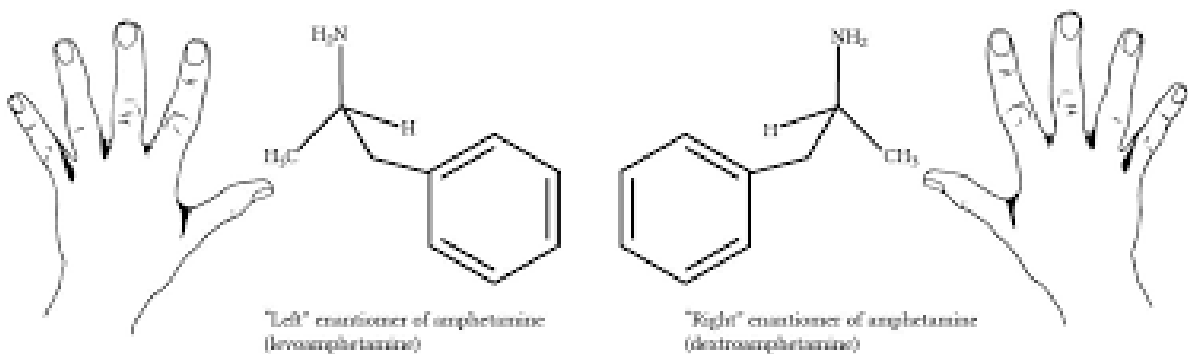
კაპილარულმა ელექტროფორეზმა ზოგიერთ ანალიზში ჩაანაცვლა ტრადიციული გელ-ელექტროფორეზი და ქრომატოგრაფიული მეთოდები. ეს მეთოდი განსაკუთრებით წარმატებით გამოიყენება მცირე ზომის ქირალური მოლეკულებისათვის, მეტალების იონების განსაზღვრისათვის, აქირალური მინარევეების განსაზღვრისათვის წამლებში და ა.შ.

კაპილარული ელექტროფორეზის სახეები საშუალებას იძლევა კაპილარული ელექტროფორეზი გამოვიყენოთ სხვადასხვა ტიპის ნივთიერების საანალიზოდ.

ენანტიომერები

ენანტიომერები ერთმანეთისგან განსხვავდება სივრცეში ატომთა ჯგუფების განლაგებით. ენანტიომერები იდეალურ წაერთებს წარმოადგენს არაკოვალენტური მოლეკულათშორისი ურთიერთქმედების ნატიფი მექანიზმების კვლევის თვალსაზრისით. ენანტიომერების მსგავსი თვისებების გამო მათი აქირალურ გარემოში გამოცნობა შეუძლებელია. გარდა ამისა, უნდა აღინიშნოს რომ არა მხოლოდ აქირალურ გარემოში, არამედ ქირალურ გარემოშიც კი ენანტიომერების განსაზღვრა წლების მანძილზე ურთულეს პრობლემად რჩებოდა. მხოლოდ გასული საუკუნის 60-იანი წლებიდან დაიწყო ენანტიომერების პირველი ინსტრუმენტული დაყოფა გაზური ქრომატოგრაფიის მეთოდის გამოყენებით ხოლო ამ მიზნით სითხური ქრომატოგრაფიის მეთოდების გამოყენება დაიწყო 70-იანი წლებიდან.

ენანტიომერები წარმოადგენენ ერთმანეთის სარკულ ანარეკლებს ისევე როგორც მარჯვენა და მარცხენა ხელი. ქირალობა შესაძლებელია გამოწვეული იყოს ასიმეტრიული ნახშირბადატომით ან რომელიმე სხვა ასიმეტრიული ატომით. ქირალობა ძველბერძნული სიტყვაა და ხელს ნიშნავს. ადამიანის მარცხენა და მარჯვენა ხელი ქირალობის თვალსაჩინო მაგალითია. ქირალური შეიძლება იყოს ნივთიერება, რომლის მოლეკულაში არის ოთხი სხვადასხვა ჩამნაცვლების მქონე ნახშირბადატომი, თუმცა არსებობს სხვა ატომებით (ფოსფორი, აზოტი და გოგირდის) ან ქირალობის სხვა ელემენტებით (ღერძი, სიბრტყე) განპირობებული ქირალობის შემთხვევებიც. ენანტიომერებს აქირალურ გარემოში ერთნაირი ქიმიური და ფიზიკური თვისებები გააჩნია, მაგრამ ისინი ბრტყლად პოლარიზებად სინათლეს სხვადასხვა მხარეს აბრუნებენ.



ნახაზი 1. სარკისებური ანარეკლი

ქირალობა არის მნიშვნელოვანი მახასიათებელი მრავალი ბუნებრივი და სინთეზური ნივთიერების, როგორცაა მაგალითად სამკრნალწამლო საშუალებები, საკვების დანამატები და სხვა ბიოლოგიურად აქტიური ნაერთები. უმრავლეს შემთხვევებში ნაერთის მხოლოდ ერთი ენანტიომერია პასუხისმგებელი გარკვეულ ქმედებაზე. ზოგიერთ შემთხვევებში კი ორივე ენანტიომერის განსაზღვრული თანაფარდობით არსებობა არის საჭირო ოპტიმალური შედეგის მისაღებად. თანამედროვე სამკურნალწამლო საშუალებების და საკვები პროდუქტების კონტროლი მოითხოვს მათი ენანტიომერული შედგენილობის მონიტორინგს, რამაც განაპირობა ენანტიომერული ნარეგების პრეპარატული და ანალიზური დაყოფის მეთოდების დამუშავების აქტუალობა.

ქრომატოგრაფიაში არსებობს ენანტიომერული ნარეგების დაყოფის ორი მეთოდი: არაპირდაპირი ქირალური დაყოფა და პირდაპირი ქირალური დაყოფა. არაპირდაპირი ქირალური დაყოფა არის მეთოდი, რომელშიც ენანტიომერები არის დერივატიზებული ოპტიკურად სუფთა რეაგენტთან დიასტერეომერებში. დიასტერეომერებს აქვთ განსხვავებული თვისებები და მათ შეუძლიათ დაიყონ აქირალურ გარემოში.

პირდაპირი ქირალური დაყოფა ეფუძნება ქირალურ სელექტორთან ენანტიომერის ურთიერთქმედებას უძრავ ან მოძრავ ფაზაში. ენანტიომერების ერთნაირი ელექტროფორეტული ძვრადობის გამო ელექტროლიტში ემატება ენანტიომერები და ქირალური სელექტორები. ქირალურ სელექტორთან განსხვავებული ურთიერთქმედების გამო ენანტიომერები, ხასიათდებიან განსხვავებული ძვრადობებით. დამუხტული ენანტიომერების დაყოფა ხდება დამუხტული ან ნეიტრალური ქირალური სელექტორების საშუალებით, ხოლო დაუმუხტავი ენანტიომერები საჭიროებენ დამუხტული სელექტორის გამოყენებას. ამასთან საანალიზო ნივთიერებისა და სელექტორის ურთიერთსაწინააღმდეგო მიგრაცია ხელს უწყობს ენანტიომერულ დაყოფებს.

ენანტიომერულად სუფთა ქირალურ ნივთიერებათა მიღების ქრომატოგრაფიული მეთოდები.

სუფთა ენანტიომერის მიღება რაცემატიდან შესაძლებელია შემდეგი მეთოდების გამოყენებით: დიასტერეომერული კრისტალიზაციით, სპონტანური კრისტალიზაციით, კინეტიკური დაყოფით ან მემბრანული ტექნოლოგიით.

დიასტერეომერული კრისტალიზაციის ჩასატარებლად აუცილებელია ენანტიომერული ნარევის გადაყვანა დიასტერეომერულ ნარევაში. დიასტერეომერები წარმოადგენენ კომპლექსურ ნაერთებს, რომლებიც არაკოვალენტურად არის შეკავშირებული. ამიტომ მათი ასეთი დაყოფის შემდეგ კვლავ ენანტიომერში გადაყვანა მარტივი პროცესია. ამ მეთოდის ძირითად ნაკლს წარმოადგენს ის რომ სუფთა ენანტიომერის გამოსავალი 50%-ს არ აღემატება. კინეტიკური დაყოფის დროს მიმდინარეობს ქიმიური რეაქცია რაცემატში შემავალი ენანტიომერების ენანტიოსელექტიური გარდაქმნის მიზნით. თუ კატალიზატორი სპეციფიურია, მაშინ ხდება ერთ-ერთი ენანტიომერის გარდაქმნა. თუ კატალიზატორი სელექტიურია, ამ შემთხვევაში იგი ახდენს ერთი ენანტიომერის უპირატეს გარდაქმნას მეორესთან შედარებით. ბიოლოგიური კატალიზატორები მოქმედებენ ზომიერ პირობებში და არ მოითხოვენ ორგანულ გამხსნელებს, მათთვის დამახასიათებელია მაღალი ეფექტურობა, სელექტიურობა, და ენანტიოსელექტიურობა. ამ მეთოდის ძირითადი ნაკლი არის ის რომ აქაც ენანტიომერების გამოსავალი 50%-ს არ აღემატება, ისევე როგორც ეს წინა მეთოდში იყო.

ხშირ შემთხვევაში ენანტიომერების ნარევი ყოველგვარი დანამატის გარეშე გამოკრისტალდება სუფთა ენანტიომერის სახით. ასეთ კრისტალიზაციას უწოდებენ სპონტანურს.

რაც შეეხება მემბრანულ ტექნოლოგიას, ის არის ახალი მეთოდი სხვა მეთოდებთან შედარებით და დაფუძნებულია მემბრანების გამოყენებაზე. მემბრანული პროცესი შეიძლება ორ ჯგუფად დაგყოს:

1. პირდაპირი დაყოფა ენანტიოსელექტიურ მემბრანაზე (სითხე ან ენანტიოსელექტიური პოლიმერი).
2. მეორე დაყოფა, რომლის დროსაც მემბრანა ხელს უწყობს ენანტიოსელექტიურ პროცესს.

პირველ შემთხვევაში მემბრანას სელექტიური აფინობა გააჩნია ერთ-ერთი ენანტიომერის მიმართ, სწორედ ამის გამო ამ ენანტიომერის მოლეკულებს საკუთარ ზედაპირზე შეაკავებს. ხოლო რაც შეეხება მეორე შემთხვევას მემბრანა ასრულებს სარჩულის როლს და მის ზედაპირზე ხდება ქირალური სელექტორის დაფენა ან ქიმიური დამაგრება.

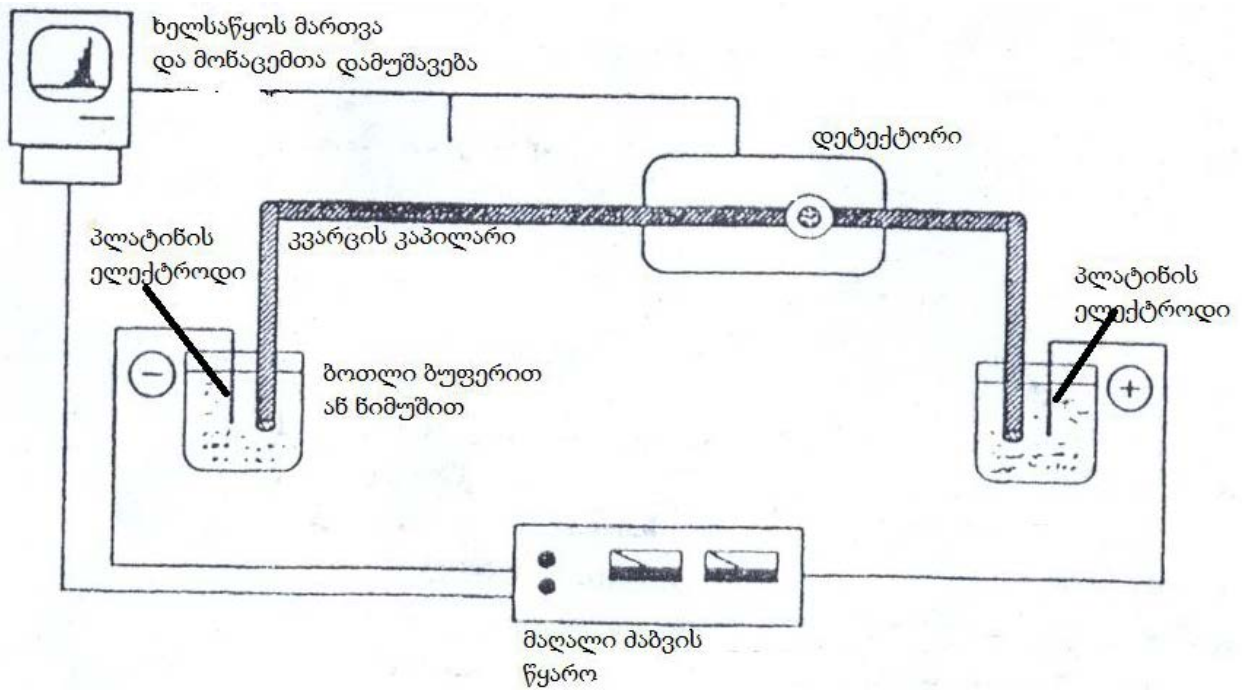
ენანტიომერული ნარევების დაყოფა კაპილარულ ელექტროფორეზში

კაპილარული ელექტროფორეზის სისტემა ნაჩვენებია ნახ.2-ზე. სისტემა შედგება შემდეგი კომპონენტებისგან: მაღალი ძაბვის წყარო, ორი ელექტროდი (ძირითადად გამოიყენება პლატინის ელექტროდი), რომლის ბოლოები ჩაშვებულია ბუფერული ხსნარით შევსებულ რეზერვუარში და რომელთა შორისაც მოდებულია ძაბვა, ნიმუშის შემყვანი სისტემა, დეტექტორი და ჩამწერი.

კაპილარის ბოლოებზე ხდება ძაბვის მოდება რაც იწვევს ნიმუშის გადაადგილებას კაპილარში. კაპილარულ ელექტროფორეზში ნიმუშის დაყოფისთვის გამოიყენება ძაბვა -30დან +30 kv ფარგლებში. ანალიზის პერიოდში კი ის მუდმივი უნდა დარჩეს. ანალიზი უნდა ტარდებოდეს მუდმივი დენის ან მუდმივი ძაბვის პირობებში. სწორედ ეს მაღალი ძაბვის წყარო უნდა იძლეოდეს პოლარობის შებრუნების საშუალებას.

კაპილარულ ელექტროფორეზში ძირითადად იყენებენ კვარცის კაპილარებს შიდა დიამეტრით 25-და 75 მკმ-მდე. ძირითადად გამოიყენება 50 მკმ დიამეტრის მქონე კაპილარი. აღსანიშნავია ასევე ის ფაქტიც, რომ ასევე აქტუალურად იყენებენ კაპილარებს, რომლის შიგა დიამეტრი არის 2-და 200 მკმ-მდე.

თუ კაპილარში მოხდება დენის ძალის ცვლილება ეს პირდაპირ უკავშირდება ჯოულის სითბოს და ანალიზის დროის ცვლილებას. რაც შეეხება ეფექტურობას იგი შეიძლება გავზარდოთ მაღალი ძაბვით. თუმცა ეს მეთოდი ყოველთვის არ ამართლებს.



ნახ.2 კაპილარული ელექტროფორეზის ხელსაწყოს სქმა

ელექტროფორეტული ძვრადობა

კაპილარული ელექტროფორეზი წარმოადგენს ნივთიერებათა დაყოფის ელექტროკინეტიკურ მეთოდს, რომელიც დაფუძნებულია დამუხტული ნაწილაკების განაწილებაზე ბუფერულ ხსნარში ნაწილაკების ელექტროფორეტული ძვრადობების შესაბამისად. რაც შეეხება ასეთ განაწილება კაპილარულ ელექტროფორეზში იგი მიიღწევა ელექტრული ველის მოდებით კაპილარის ბოლოებზე. აღნიშნულიდან გამომდინარე, ელექტროფორეტული ძვრადობა ძირითად როლს თამაშობს ნაწილაკთა დაყოფებში. ელექტროფორეტული ძვრადობა დამახასიათებელია დამუხტული ნივთიერებისთვის და აღიძვრება ელექტროლიტის გარემოში. ელექტროლიტის ხსნარის თვისებებს, როგორცაა: pH, იონური ძალა, იონების ტიპი. მათ აქვთ უდიდესი მნიშვნელობა ნივთიერებათა დაყოფის მისაღწევად.

მუდმივი ელექტრული ველის გამოყენებისას E ($E=V/L$, L - მთლიანი კაპილარის სიგრძე, V - წარმოადგენს მუდმივ ძაბვას რომელიც მოდებულია კაპილარის ბოლოებზე,)

$$F_e = qE$$

ელექტროსტატიკურ ველს განიცდიან დამუხტული ნაწილაკები- F_e , რომელიც პროპორციულია იონის მუხტისა და ელექტრული ველის ძალისა: ეს ძალა აჩქარებს იონის გადაადგილებას საწინააღმდეგოდ დამუხტული ელექტროდისაკენ. ამ დროს დიდი მნიშვნელობა აქვს გარემოს სიბლანტეს, გამომდინარე იქიდან, რომ თუ ანალიზი ტრადება ბლანტ გარემოში, მაშინ ხახუნის ძალის გამო ნაწილაკების გადაადგილება ფერხდება და სწორედ ამის გამო ნაწილაკები ნელა გადაადგილდებიან ელექტროდისაკენ. სტოუის მიხედვით, სფერული ნაწილაკებისთვის ხახუნის ძალა შესაძლოა გამოისახოს როგორც:

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

სადაც η არის სითხის სიბლანტე; v -ნაწილაკის მიგრაციის სიჩქარე; r - ნაწილაკის ან იონის რადიუსი.

კაპილარის ბოლოებზე ელექტრული ველის მოდებისას იწყება დამუხტული ნაწილაკების გადაადგილება. იონების მუდმივი სიჩქარე გამოისახება, როგორც ელექტროფორეტული ძვრადობისა μ და ელექტრული ველისა E სიდიდეების ნამრავლი:

$$v = \mu_e E$$

რამდენიმე განტოლების გაერთიანებით და ყველა აღნიშნული პარამეტრის გათვალისწინებით ელექტროფორეტული ძვრადობა შეგვიღია შემდეგნაირად გამოვსახოთ:

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

ელექტროფორეტული ძვრადობა წარმოადგენს იონის მახასიათებელ სისიდეს.

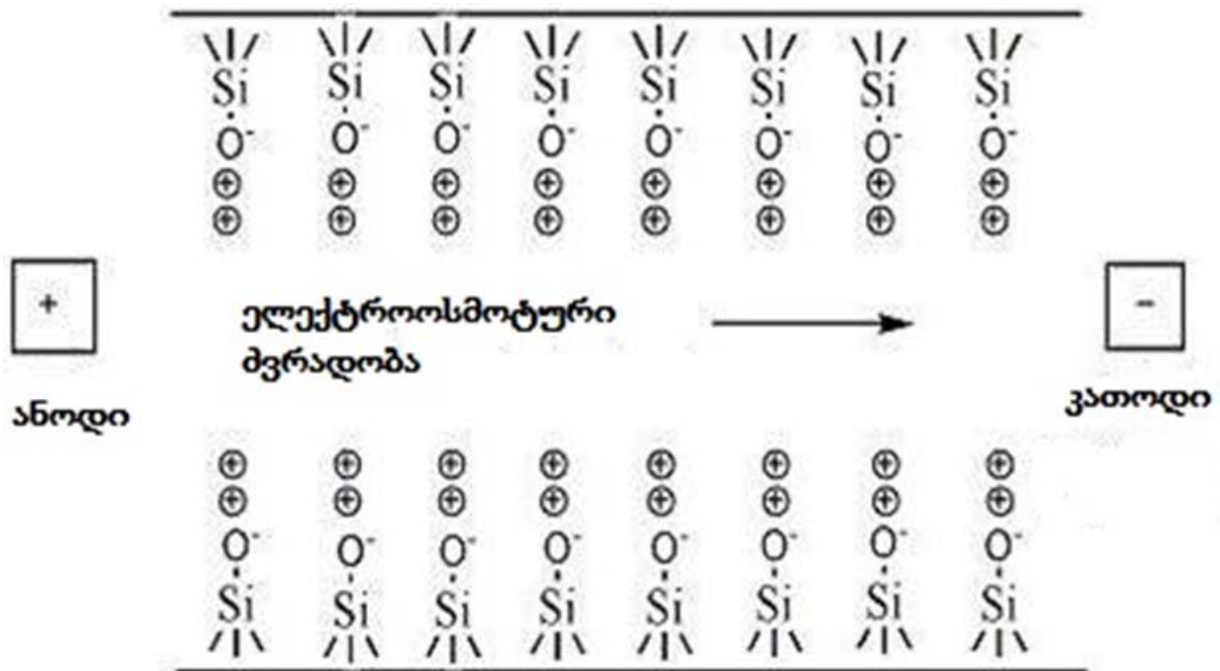
გამოსახულებიდან ჩანს, რომ მოცემული იონური ნივთიერებისთვის μ_e იზრდება იონური მუხტის გაზრდასთან ერთად ან დისოციაციის ხარისხის გაზრდასთან ერთად. მოცემული მუხტის იონისთვის, რაც უფრო იზრდება იონის მასა მით უფრო იკლებს მისი მიგრაციის სიჩქარე.

შემდეგი მნიშვნელოვანი ასპექტი არის ის, რომ ელექტროფორეტული ძვრადობა ($q=0$) ნეიტრალურ ნივთიერებებს არ გააჩნიათ.

რაც შეეხება შემდეგ წამყვან ძალას ელექტროფორეზში ეს არის ელექტროოსმოსი ან ელექტროოსმოტური ნაკადი, რომელიც, როგორც წესი, პასუხისმგებელია ნეიტრალური ნივთიერებების ძვრადობაზე კაპილარულ ელექტროფორეზში.

ელექტროოსმოსი

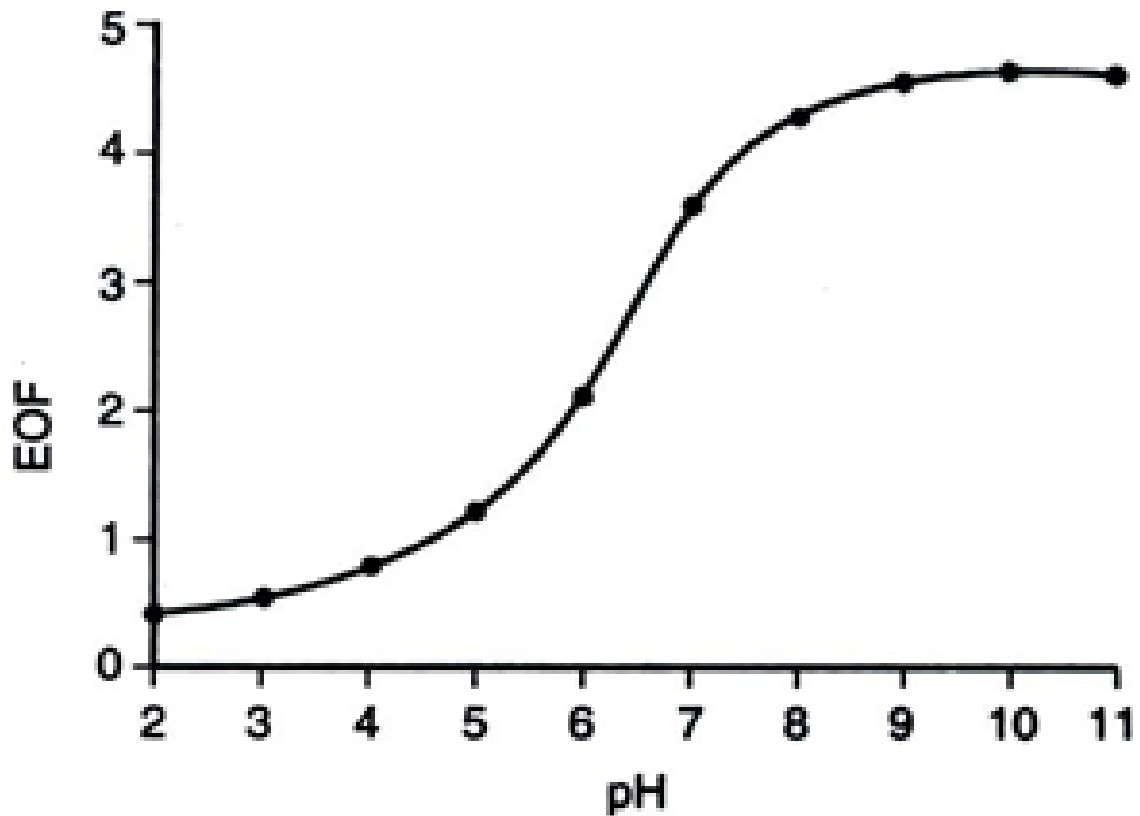
პირველი კვლევები ელექტროოსმოსის შესახებ ეკუთვნის ჰელმჰოლცს, რომელმაც თავდაპირველად ჰორიზონტალურ მდგომარეობაში მყოფი წყლიანი ფაზით შევსებულ კვარცის კაპილარს, რომელიც შეიცავდა დამუხტულ ნაწილაკებს, ბოლოებზე მოსდო ძაბვა. კაპილარის შიდა კედელი ძაბვის მოდების შემდეგ დაიმუხტა უარყოფითად, ხოლო გამხსნელის ფენამ, რომელიც იმყოფებოდა კედელთან და მასში არსებულმა ნაწილაკებმა შეიძინა დადებითი მუხტი. სითხისთვის, რომელიც იმყოფებოდა კედელთან ამ პროცესის შედეგად, დაიწყო მიგრაცია საწინააღმდეგოდ დამუხტული ელექტროდის მიმართულებით, სწორედ ამ პროცესს ეწოდა ელექტროოსმოსი. ხოლო ხსნარის გადაადგილებას ელექტრო ოსმოტური ძვრადობა.



ნახაზი 3. ელექტროოსმოსის სქემა

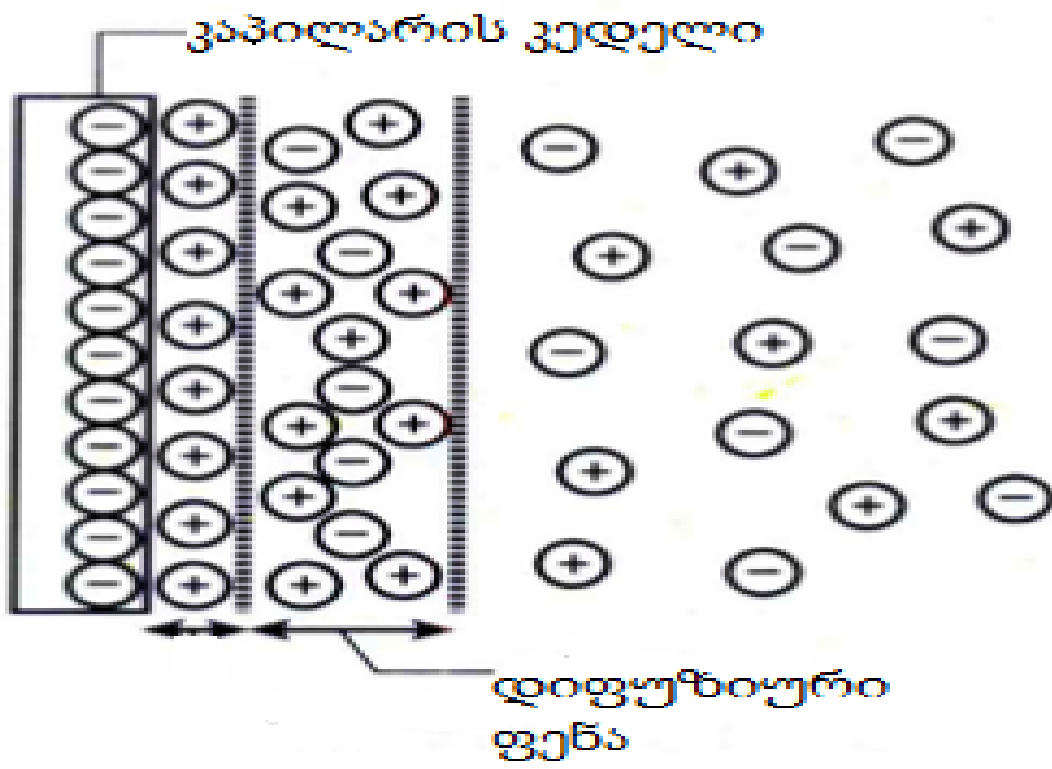
ელექტროოსმოსური ნაკადი დამოკიდებულია ბუფერული ხსნარის pH-ზე. ამის გამო მნიშვნელოვანია ბუფერული ხსნარის pH-ის ანალიზის მიზნებიდან გამომდინარე ცვლილება, რადგან ისეთი pH-ის შერჩევას, როდესაც ელექტროოსმოსური ნაკადი ძალიან მცირე სიდიდეა, შესაძლებელია მოხდეს უარყოფითად დამუხტული ნაწილაკების ადსორბირება კაპილარის ზედაპირზე, რაც დიდ პრობლემას წარმოადგენს ცილების ანალიზში. ანალიზის ისეთი მეთოდებისთვის, როგორსაც წარმოადგენს კაპილარული

გელ-ელექტროფორეზი, იზოელექტრული ფოკუსირება და იზოტახოფორეზი, საჭიროა ელექტროოსმოსური ნაკადის მინიმუმამდე დაყვანა ან მთლიანად მოსპობა.



ნახაზი 4.

იმ შემთხვევაში, როდესაც კაპილარის კედელი დამუხტულია უარყოფითად, ის იზიდავს დადებითად დამუხტულ ჰიდროქსონიუმის იონებს ელექტროსტატიკური ურთიერთქმედების საშუალებით. ამ პროცესის შედეგად ხდება ზედაპირის უარყოფითი მუხტის ბალანსირება. შტერნის მოდელის მიხედვით ორმაგი შრე, ადსორბირებული იონებით, წონასწორობაშია გარე დიფუზიურ ფენასთან. დიფუზიური ორმაგი შრის პოტენციალს ეწოდება ზეტა პოტენციალი. წარმოსახვითი საზღვარი მკაცრად განსაზღვრულ ფენასა და დიფუზიურ ფენას შორის ცნობილია, როგორც გამყოფი ზედაპირი. დიფუზიურ ფენაში ყოველთვის სჭარბობს დადებითი მუხტი. ელექტრული ველის მოდების, შემდეგ დადებითად დამუხტული იონები იწყებენ გადაადგილებას კათოდისკენ. კედელთან არსებული ხსნარის ხახუნის გამო ნაკადის სიჩქარე კედელთან ნულის ტოლია. კაპილარის კედლიდან მანძილის გაზრდით მისი სიჩქარე იზრდება ორმაგი შრის რეგიონში და აღწევს მაქსიმუმს კედლიდან გარკვეულ მანძილზე.

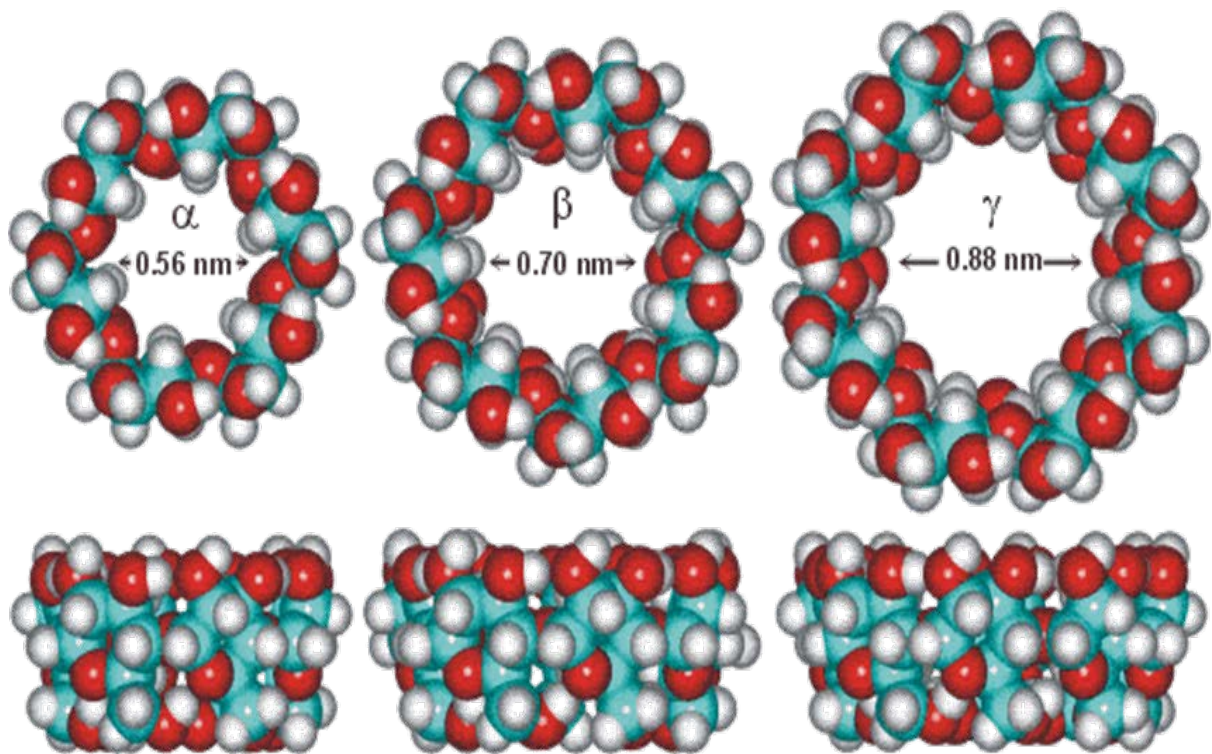


ნახაზი 5.

ციკლოდექსტრინების გამოყენება ქირალურ დაყოფებში

ციკლოდექსტრინები აღმოაჩინა ფრანგმა მეცნიერმა ვილიერმა, რომელმაც ციკლოდექსტრინები მიიღო კარტოფილის სახამებლიდან. მოგვიანებით კი მეცნიერებმა შეძლეს და სუფთა სახით გამოეყვს α და β ციკლოდექსტრინები. ასევე გამოეყვს კრისტალური დექსტრინები, რომელსაც γ -დექსტრინი უწოდეს. მოგვიანებით გამოთქმული იქნა ვარაუდი იმის შესახებ რომ α , β და γ დექსტრინები უნდა ყოფილიყვნენ ციკლური სტრუქტურის. ეს მოსაზრება მოგვიანებით იქნა ექსპერიმენტულად შესწავლილი.

ციკლოდექსტრინები წარმოადგენენ ციკლურ ოლიგოსაქარიდებს, რომლებიც შეიცავენ α -D-გლუკოპირანოზას მონომერს, რომლებიც ერთმანეთთან დაკავშირებული არიან α -(1,4)-გლიკოზიდური ბმით



ნახაზი 6. ბუნებრივი ციკლოდექსტრინები

ციკლოდექსტრინები წარმოადგენენ ქირალურ, ნეიტრალურ მაკროციკლურ ოლიგოსაქარიდებს, რომელთაც წაკვეთილი კონუსის ფორმა აქვთ. ისინი ხასიათდებიან ჰიდროფობური შიგა ღრუთი და საანალიზო ნივთიერებასთან კომპლექსის წარმოქმნის

უნარი. ხოლო რაც შეეხება ციკლოდექსტრინების გარე ზედაპირს, იგი ხასიათდება ჰიდროფილურობით, რაც განაპირობებს მათ ხსნადობას წყალში. ციკლოდექსტრინების სტრუქტურის სტაბილურობას განაპირობებს ციკლოდექსტრინის მეზობელი გლუკოპირანოზის მეორე და მესამე ნახშირბადთან მდგომ ჰიდროქსილის ჯგუფებს შორის დამყარებული შიდამოლეკულური წყალბადური ბმები.

ციკლოდექსტრინსა და ენანტიომერს შორის წარმოქმნილ კომპლექსზე ზეგავლენას ახდენს არამარტო ჰიდროფობური ურთიერთქმედებები CD-ის ღრუში, არამედ გარე ზედაპირზე არსებულ ჰიდროქსილის ჯგუფებსა და საანალიზო ნივთიერების ასიმეტრიული ცენტრის ჩამნაცვლებლებს შორის არსებული ურთიერთქმედებაც. ციკლოდექსტრინებს აქვთ უნარი წარმოქმნან კომპლექსები ჰიდროფობურ მოლეკულებთან.

ბუნებრივ ციკლოდექსტრინებს წარმოადგენს α , β და γ ციკლოდექსტრინები, რომელთაგანაც ალფა ექვსი ციკლური ოლიგოსაქარიდისგან, ბეტა შვიდიციკლური ოლიგოსაქარიდისგან, ხოლო გამა რვა ციკლური ოლიგოსაქარიდისგან შედგება. ბუნებრივი ციკლოდექსტრინების დერივატიზაციას 2,3 და 6 მდგომარეობაში არსებული ჰიდროქსილის ჯგუფებში ახდენენ, ამასთანავე რაც შეეხება მათი ხსნადობის გაზრდას, იგი შიგა შრის მოდიფიცირებით არის შესაძლებელი. მოცემული საანალიზო ნივთიერების ენანტიომერების ქირალური დაყოფა ძირითადად დამოკიდებულია ენანტიომერების ურთიერთქმედებზე ციკლოდექსტრინთან. მნიშვნელოვან როლს ასრულებს ასევე ციკლოდექსტრინების ბუნება და კონცენტრაცია. ასევე მნიშვნელოვანია ბუფერის pH, რომელიც განსაზღვრავს როგორც საანალიზო ნივთიერების და იონიზირებული ციკლოდექსტრინის მუხტს, ასევე განსაზღვრავს ელექტროსმოსურ ძვრადობას. ამავდროულად მნიშვნელოვანი ფაქტორია ბუფერის ტიპი, ბუფერის იონური ძალა, ორგანული მოდიფიკატორის კონცენტრაცია, გამოყენებული კაპილარი და გამოყენებული ძაბვა.

ექსპერიმენტულინაწილი

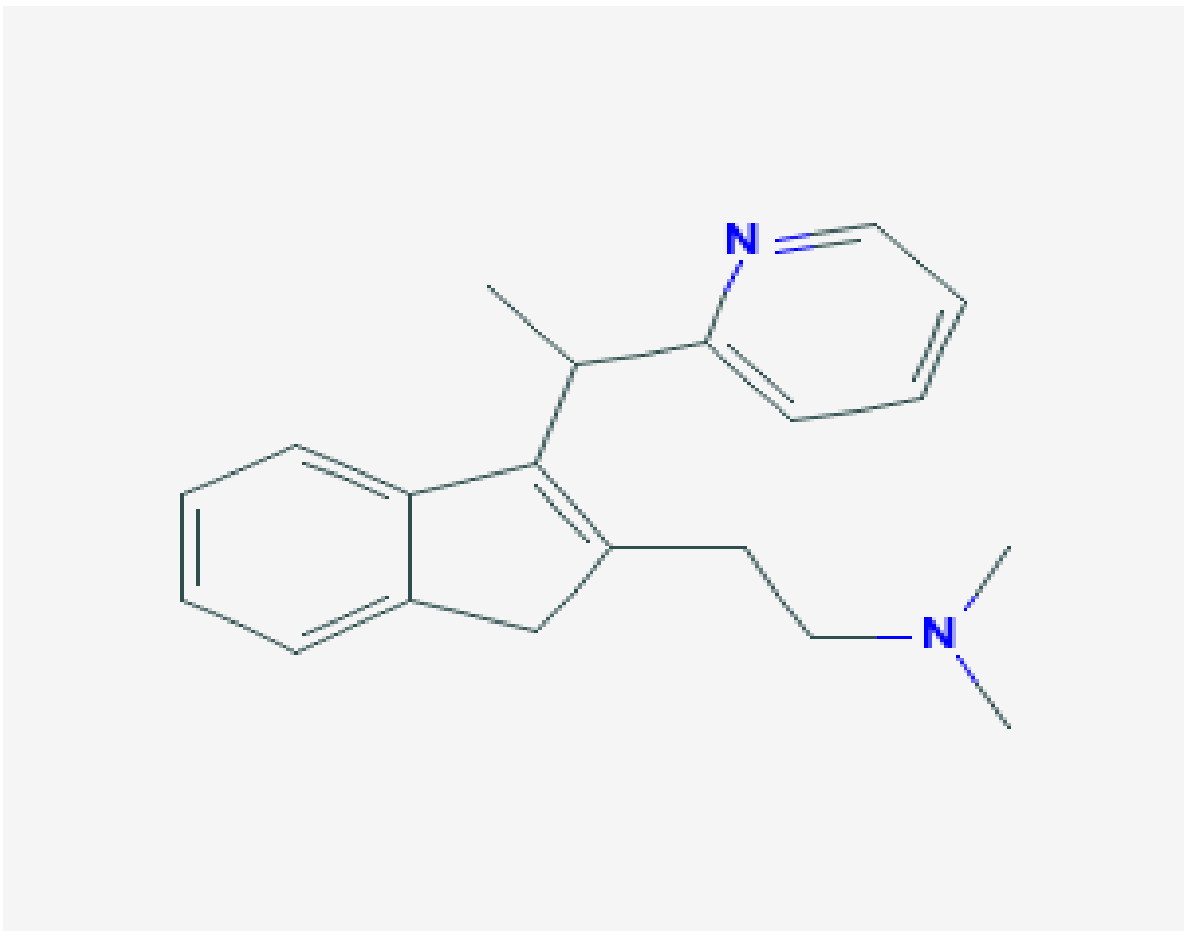
დიმეთინდენი არის ანტიჰისტამინური საშუალება. ის პირველი თაობის H1 ანტაგონისტია. დიმეთინდენი ასევე M2 რეცეპტორების ანტაგონისტია

მოლური მასა: 292,418 გ/მოლ

ემპირიული ფორმულა: $C_{20}H_{24}N_2$

კომერციული სახელი: Fenistil

სტრუქტურული ფორმულა:



ნახაზი 7. დიმეთინდენის სტრუქტურული ფორმულა

გამოიყენება ალერგიული სიმპტომების სამკურნალოდ. ზედა სასუნთქი გზების ალერგიისას, საკვები და ნარკოტიკული ალერგიისას. დიმეთინდენი ასევე შეიძლება გამოყენებული იქნეს როგორც ეგზემის ასევე სხვა ალერგიული დერმატიტის დროსაც.

S-(+) დიმეთინდენი არის ძლიერ M2 კუნთოვანი რეცეპტორების ანტაგონისტი.

R-(-)ენანტიომერი კი პასუხისმგებელია H1 რეცეპტორებზე.

მოქმედების მექანიზმი: დიმეთინდენი არის შერჩევითი ჰისტამინის H1 ანტაგონისტი და აერთიანებს ჰისტამინის H1 რეცეპტორებს. ეს ბლოკავს ენდოგენური ჰისტამინის მოქმედებას რომელიც შემდგომში ხელს უწყობს ჰისტამინის მიერ გამოწვეული უარყოფითი სიმპტომების დროებით გათავისუფლებას. მისი ეფექტი იწყება 20-60 წუთის შემდეგ და გრძელდება რამდენიმე საათი. დიმეთინდენის წვეთები, განსაკუთრებით გამოიყენება პედიატრიულ პრაქტიკაში.

კაპილარული ელექტროფორეზის ანალიზის პირობები:

1. 50mM კალიუმის დიჰიდროფოსფატი
2. ბუფერის pH 3.0
3. ტემპერატურა 20°C
4. კვარცის კაპილარი, დაუმუშავებელი შიდა ზედაპირით
5. კაპილარის შიდა დიამეტრი 50 მკმ
6. მოკლე კაპილარის მთლიანი სიგრძე 34 სმ
7. მოკლე კაპილარის ეფექტური სიგრძე 25 სმ
8. გრძელი კაპილარის მთლიანი სიგრძე 59 სმ
9. გრძელი კაპილარის ეფექტური სიგრძე 50 სმ

გამოყენებული ქირალური სელექტორები:

1. α -ციკლოდექსტრინი
2. β -ციკლოდექსტრინი
3. γ -ციკლოდექსტრინი
4. ჰეპტაკის(2-6-დი-*O*-მეთილ)- β -ციკლოდექსტრინი
5. ჰეპტაკის(2-3-6-ტრი-*O*-მეთილ)- β -ციკლოდექსტრინი

კაპილარული ელექტროფორეზის ხელსაწყო

ექსპერიმენტისთვის გამოვიყენეთ „Agilent Technologies“ ფირმის კაპილარული ელექტროფორეზის ხელსაწყო. აღნიშნული ხელსაწყო აღჭურვილი იყო ინიცირების ავტომატური სისტემით, ულტრაიისფერი დეტექტორით და ტემპერატურის კონტოლირებადი სისტემით. დეტექტირება ხდებოდა ულტრაიისფერი დეტექტორით 200- 220 ნმ ტალის სიგრძეზე. ასევე გამოიყენებოდა 30Kv ძაბვა. დამყოფ კაპილარად კვარცის კაპილარი, რომლის შიდა დიამეტრი 50 მკმ, ხოლო ეფექტური სიგრძით 50 სმ, რომელიც მოწოდებული იყო „Poiymicro Technologis“ მიერ. ნიმუშის ინიცირება კაპილარში ხდებოდა 5 მილიბარი წნევის საშუალებით 3 წამის განმავლობაში. ანალიზები ტარდებოდა მუდმივი დენის 150 მიკროამპერის და 20 °C პირობებში



ნახაზი 8. კაპილარული ელექტროფორეზის ხელსაწყო

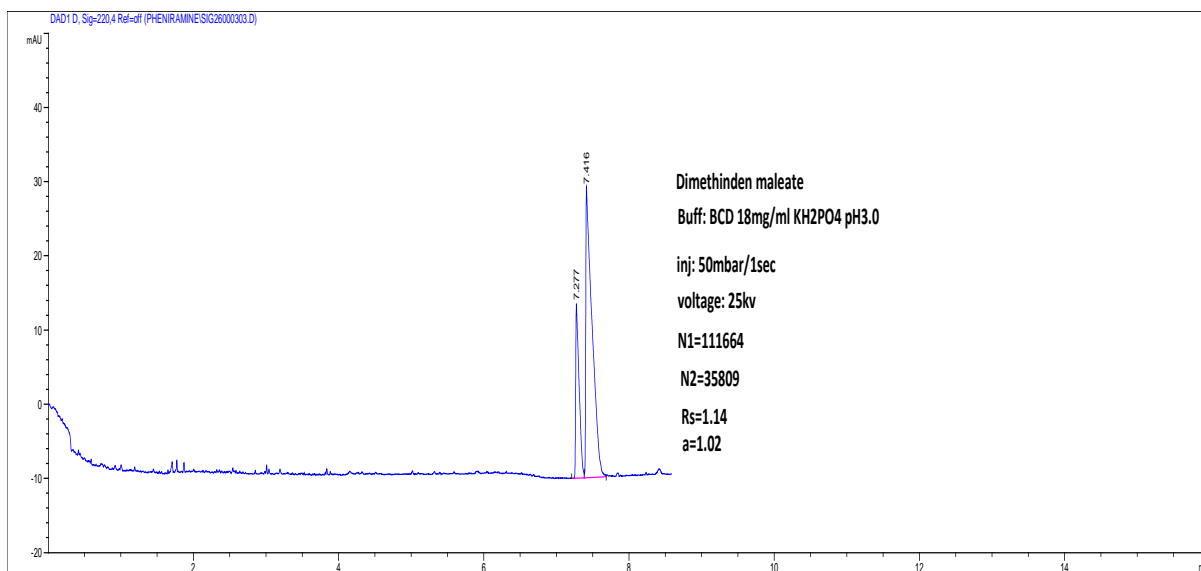
დიმეთინდენ მალეატის ენანტიომერების დაყოფა ციკლოდექსტრინების გამოყენებით

ჩვენი სამუშაოს ძირითად მიზანს წარმოადგენდა ციკლოდექსტრინების მიერ დიმეთინდენის ენანტიომერების ქირალური გამოცნობის მექანიზმების კვლევა. ამ მიზნით დამუშავებული იქნა ცალკეული ციკლოდექსტრინით დიმეთინდენის ენანტიომერების დაყოფის მეთოდი კაპილარულ ელექტროფორეზში და შემდეგ შესწავლილი იქნა ციკლოდექსტრინების სტრუქტურის, ზომისა და შედგენილობის სხვადასხვა მახასიათებელი პარამეტრების გავლენა დიმეთინდენის ენანტიომერების აფინობაზე ამ ციკლოდექსტრინების მიმართ.

დიმეთინდენ მალეატის ნიმუშის ანალიზი მოხდა ბუნებრივ ციკლოდექსტრინებთან: α - β - γ - ენანტიომერების დაყოფა დაფიქსირდა ყველა ციკლოდექსტრინზე, გარდა DM-ციკლოდექსტრინისა.

ქირალური სელექტორი	კონცენტრაცია, მგ/მლ	t ₁ , წთ	t ₂ , წთ	a	მიგრაციის რიგი
α -CD	100	9.2	9.5	1.01	(-) (+)
β -CD	18	7.3	7.8	1.02	(-) (+)
γ -CD	100	6.5	6.8	1.02	(-) (+)
TM- β -CD	60	8.2	8.5	1.01	(+) (-)

ნახაზი 9 დიმეთინდენ მალეატის ენანტიომერების დაყოფა კაპილარულ
ელექტროფორეზში სხვადასხვა ციკლოდექსტრინების გამოყენებით

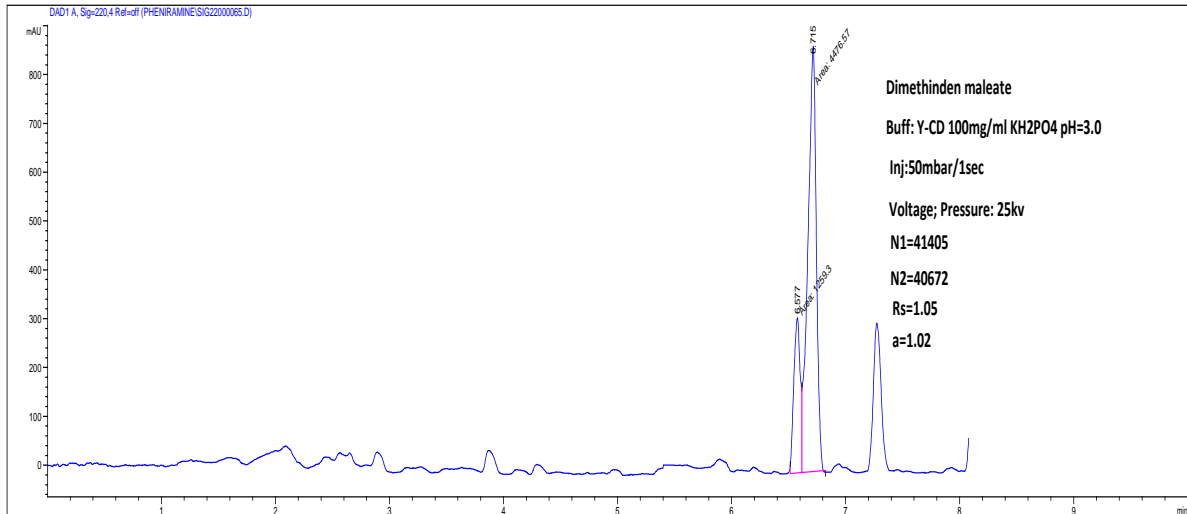


ნახაზი 10. დიმეთინდენ მალეატის ენანტიომერების დაყოფა β -ციკლოდექსტრინით

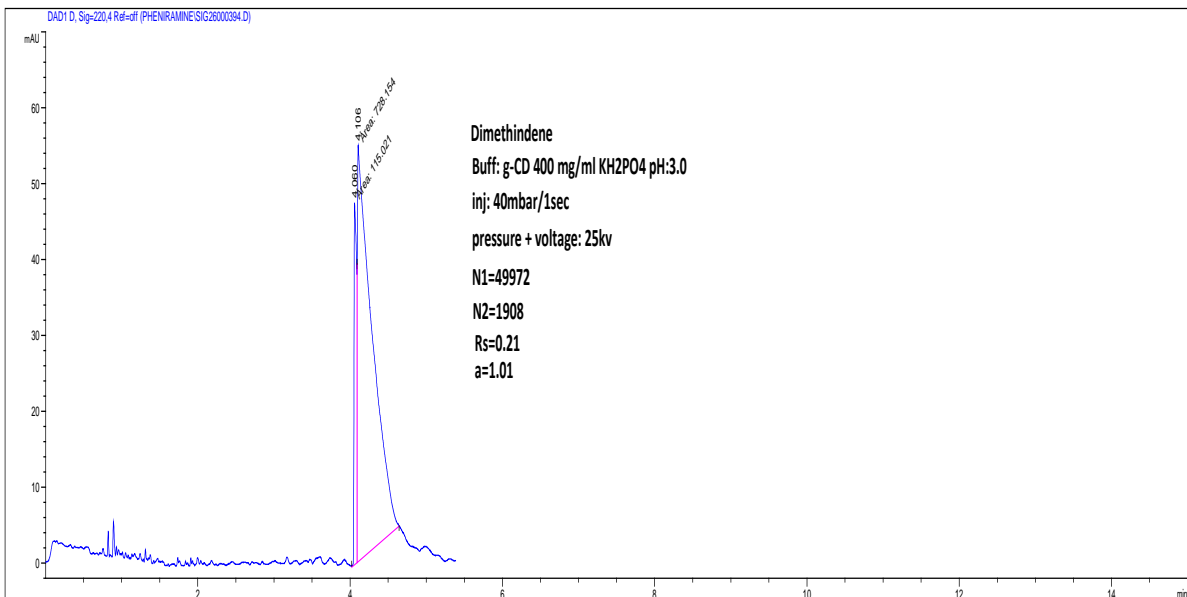
ნახაზი 11. დიმეთინდენ მალეატის ენანტიომერების დაყოფა α -ციკლოდექსტრინით

ნახაზზე მოტანილი შედეგებიდან ირკვევა, რომ α -ციკლოდექსტრინიდან β -ციკლოდექსტრინზე გადასვლისას არ ხდება ენანტიომერის მიგრაციის რიგის შებრუნება.

ანალოგიურად არ მოხდა მიგრაციის რიგის ცვლილება β -ციკლოდექსტრინიდან γ -ციკლოდექსტრინზე გადასვლისას.



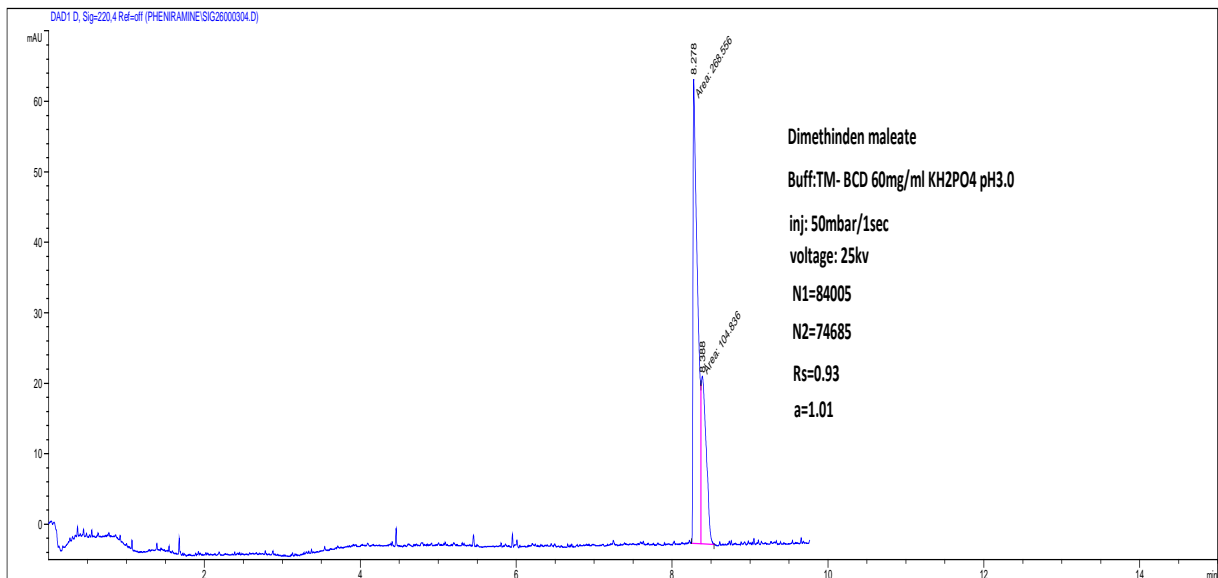
ნახაზი 12. დიმეთინდენ მალეატის ენანტიომერების დაყოფა γ -ციკლოდექსტრინით



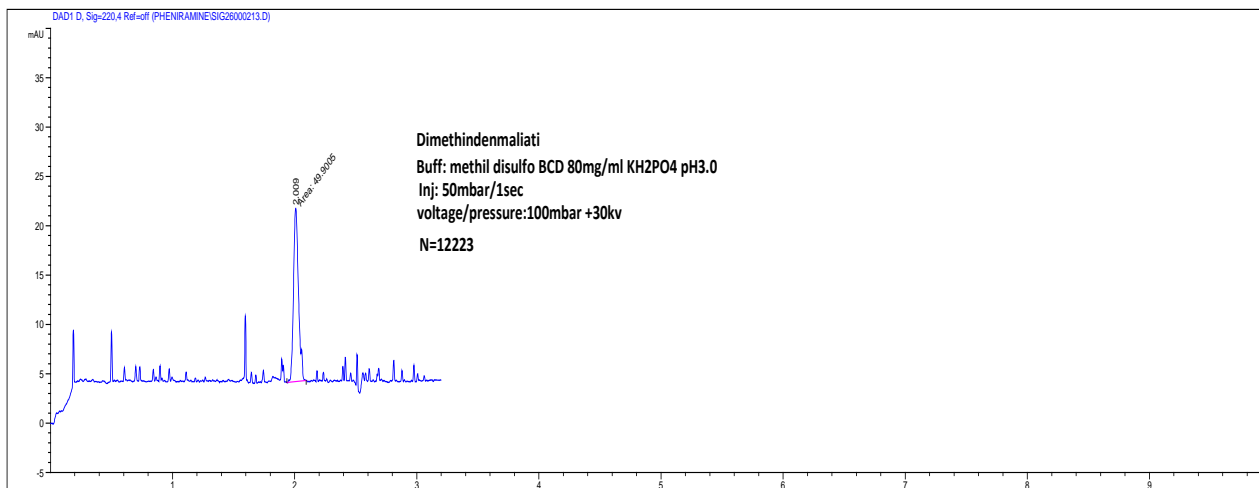
ნახაზი 13. დიმეთინდენ მალეატის ენანტიომერების დაყოფა γ -ციკლოდექსტრინით 400მგ/მლ

β-ციკლოდექსტრინების მეთილირებული ნაწარმები

ციკლოდექსტრინების გარე ზედაპირზე გლუკოპირანოზულ 2, 3 და 6 მდგომარეობაში მყოფი ჰიდროქსილის ჯგუფების მეთილირებით შესაძლებელია მიღებული იყოს ციკლოდექსტრინის სხვადასხვა მეთილირებული ნაწარმები. ციკლოდექსტრინების მეთილირებამ შეიძლება გამოიწვიოს ქირალური ნაერთების ენანტიომერების აფინობის შებრუნება. მეთილის ჯგუფების შეყვანა იწვევს ციკლოდექსტრინის ჰიდროფობური ღრუს სიმაღლის გაზრდას და ამავდროულად იზრდება დაყოფის სელექტიურობა. იმ მიზნით, რომ შეგვესწავლა აღნიშნული ეფექტი დიმეთინდენის ენანტიომერების შემთხვევაში, შემუშავებული იქნა ამ ნივთიერების ენანტიომერების დაყოფის მეთოდები ჰეპტაკის(2-3-6-ტრი-0-მეთილ)-β-ციკლოდექსტრინით და ჰეპტაკის(2-6-დი-0-მეთილ)-β-ციკლოდექსტრინით.



ნახაზი 14. დიმეთინდენ მალეატის ენანტიომერების დაყოფა TM- β-ციკლოდექსტრინით



ნახაზი 15. დიმეთინდენ მალეატის ენანტიომერების დაყოფა DM- β-ციკლოდექსტრინით

შედეგებიდან ჩანს რომ ეფედრინის ენანტიომერების აფინობა β-ციკლოდექსტრინის სელექტიური მეთილირებით 2, 3 და 6 მდგომარეობაში შეზღუდულია. ამრიგად დიმეთინდენის ენანტიომერების აფინობაზე ციკლოდექსტრინების მიმართ გავლენას ახდენს არა მარტო შიგა ღრუს გეომეტრიული ზომები არამედ ქიმიური შედგენილობაც.

გარე შრის მოდიფიცირების შედეგად მიღებული ციკლოდექსტრინები და ჩამნაცვლებელი ჯგუფები გავლენას ახდენენ, როგორ ენანტიომერულ დაყოფაზე, ასევე მიგრაციის რიგზე.

დასკვნა

დამუშავებული იქნა ქირალური სამკურნალწამლო საშუალების დიმეთინდენ მალეატის ენანტიომერების დაყოფის მეთოდები კაპილარულ ელექტროფორეზში სხვადასხვა ტიპის ციკლოდექსტრინების გამოყენებით.

შესწავლილი იქნა დიმეთინდენ მალეატის ენანტიომერების მიგრაციის რიგი სხვადასხვა ციკლოდექსტრინით და დადგენილი იქნა, რომ β -ციკლოდექსტრინის ჰიდროქსილის ჯგუფების მეთილირებით ხდება დიმეთინდენ მალეატის მიგრაციის რიგის შებრუნება.

გამოყენებული ლიტერატურა

1. Bezhan Chankvetadze, Georg Schulte, Dieter Bergenthal, Gottfried Blaschke. Mechanistic study of opposite migration order of dimethindene enantiomers in capillary electrophoresis in the presence of native β -cyclodextrin and heptakis(2,3,6-tri-*O*-methyl)- β -cyclodextrin. *Journal of Chromatography A*, 875 (2000) 455–469
2. Klaus Bergander, Bezhan Chankvetadze, Giorgio Pintore, Naira Burjanadze, Dieter Bergenthal, Jorg Breitzkreuz, Christoph Mühlenbrock, Gottfried Blaschke. Comparative capillary electrophoresis and NMR studies of enantioseparation of dimethindene with cyclodextrins. *Journal of Chromatography A*, 798 (1998) 315–323
3. B. Chankvetadze, *Capillary Electrophoresis in Chiral Analysis*
4. <https://www.drugbank.ca/drugs/DB08801>
5. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Dimethindene-maleate>
6. B. Chankvetadze. Enantioseparations by using capillary electrophoretic techniques: The story of 20 and a few more years. Bezhan Chankvetadze; *Journal of Chromatography A*, 1168 (2007) 45–70
7. <https://en.wikipedia.org/wiki/Dimethindene>
8. <https://drugs.ncats.io/substance/J43ZL3WTLN>

