

ივანე ჯავახიშვილის სახელობის თბილისის  
სახელმწიფო უნივერსიტეტი



ნათია ცერცვაძე

ქლორფენირამინის ენანტიომერების დაყოფა კაპილარულ  
ელექტროფორეზში ციკლოდექსტრინების გამოყენებით ქირალურ  
სელექტორად

ქიმიური ექსპერტიზა

ნაშრომი შესრულებულია ქიმიური ექსპერტიზის მაგისტრის  
აკადემიური ხარისხის მოსაპოვებლად

სამეცნიერო ხელმძღვანელი  
პროფ. ბეჟან ჭანკვეტაძე  
საქართველოს მეცნიერებათა ეროვნული აკადემიის აკადემიკოსი

თბილისი

2019 წელი

## შინაარსი

ანოტაცია.....	3
Annotation.....	5
შესავალი.....	7
თავი I. კაპილარული ელექტროფორეზის ისტორია და გამოყენება, დაყოფის პრინციპი კაპილარული ელექტროფორეზში.....	10
1.1 ისტორია და გამოყენება.....	10
1.2 დაყოფის პრინციპი კაპილარული ელექტროფორეზის.....	11
თავი II. კაპილარული ელექტროფორეზის ხელსაწყოთა აგებულება.....	16
თავი III. კაპილარული ელექტროფორეზის უპირატესობები დაყოფის სხვა მეთოდებთან შედარებით.....	18
თავი IV. ქირალობა; ქირალური ნივთიერებების დაყოფა; ქირალური ნივთიერებების დაყოფა ციკლოდექსტრინების გამოყენებით.....	25
4.1 ქირალობა და ქირალური ნივთიერებების დაყოფა.....	25
თავი V. ციკლოდექსტრინები; ქირალური ნივთიერებების დაყოფა ციკლოდექსტრინების გამოყენებით.....	28
5.1 ციკლოდექსტრინები.....	28
5.2 ქირალური ნივთიერებების დაყოფა ციკლოდექსტრინების გამოყენებით.....	31
თავი VI. გამოყენებული ნივთიერება და ექსპერიმენტული ნაწილი.....	33
დასკვნა.....	39
გამოყენებული ლიტერატურა.....	40

## ანოტაცია

უკვე დიდი ხანია ასიმეტრიული მოლეკულების არსებობა ცნობილია. დღესდღეობით სამკურნალწამლო ნივთიერებების ნახევარზე მეტი შეიცავს ქირალურ ცენტრს მოლეკულაში, მათი დიდი ნაწილი გამოიყენება რაცემატის სახით, რომლებიც შედგება ენანტიომერების ეკვიმოლური რაოდენობისგან. მიუხედავად იმისა, რომ ენანტიომერებს გააჩნიათ ერთნაირი ქიმიური ფორმულა და ერთნაირი ფიზიკურ-ქიმიური თვისებები (გარდა პოლარიზებული სინათლის ბრუნვის კუთხის ნიშნისა), ისინი ხშირ შემთხვევაში განსხვავდება ფარმაკოლოგიური, და ტოქსიკოლოგიური მოქმედებით, მეტაბოლიზმით, ფარმაკოკინეტიკითა და ა.შ. ენანტიომერები ერთმანეთისგან განსხვავდება ფერმენტებთან, ცილებთან და რეცეპტორებთან მოქმედებით. სწორედ ეს განაპირობებს მათ განსხვავებულ ბიოლოგიურ მოქმედებას ორგანიზმზე. ამ მიზეზის გამო ზოგიერთი სამკურნალო საშუალება იწარმოება ერთი ენანტიომერის სახით. ქირალური წამლების მოქმედების შესწავლა მის სტრუქტურაზე დაყრდნობით ნელ-ნელა ვითარდება, შედეგად ქირალური ნივთიერებების ენანტიომერულად სუფთა სახით წარმოებისა და რეალიზაციის ტენდენცია იზრდება. აღნიშნულიდან გამომდინარე ახალი გაუმჯობესებული მეთოდების შემუშავება ენანტიომერების დასაყოფად და შესაგროვებლად აუცილებელია.

კაპილარული ელექტროფორეზი წარმოადგენს ნივთიერებათა დაყოფის ელექტროკინეტიკურ მეთოდს, რომელიც ფართოდ გამოიყენება ენანტიომერული ნარევების ანალიზის მიზნით.

კაპილარულ ელექტროფორეზში ენანტიომერების დაყოფა შესაძლებელია მხოლოდ ქირალური სელექტორების გამოყენებით. აღნიშნულ მეთოდში ქირალურ სელექტორებად ხშირად გამოიყენება ციკლოდექსტრინები, რომელთა გამოყენებაც გარკვეულ უპირატესობებთან არის დაკავშირებული. ციკლოდექსტრინები ადვილად იხსნება წყლიან ბუფერებში, არ წარმოადგენს ტოქსიკურ ნივთიერებებს და ხასიათდებიან ქირალური გამოცნობის საკმაოდ უნივერსალური უნარით.

ციკლოდექსტრინების გამოყენება ქირალურ სელექტორებად საინტერესოა, რადგან მათთან ქირალური მოლეკულების ურთიერთქმედება შესაძლებელია სხვადასხვა სტერეოსელექტიური მექანიზმით. ციკლოდექსტრინები ენანტიოსელექტიურად გამოიცილებენ ენანტიომერებს გარდამავალი (დროებითი) არაკოვალენტური დიასტერეომერული კომპლექსების წარმოქმნის გზით. აღნიშული ტიპის კომპლექსები ერთმანეთისაგან სივრცითი ორიენტაციით ან სპეციფიური მოლეკულათაშორისი ურთიერთქმედების ძალებით განსხვავდებიან. სწორედ ამ მიზეზის გამო ხდება ელექტროფორეტულ ძვრადობებს შორის განსხვავება და ენანტიომერების დაყოფა.

## Annotation

The existences of asymmetric molecules have long been known. Almost half of the drugs currently used in therapy have a chiral center in their molecule. Currently, the major part of chiral drugs are marketed/sold as racemates, consisting of an equimolar mixture of two enantiomers. Although the enantiomers have the same chemical connectivity of atoms, they exhibit marked differences in their pharmacology, toxicology, pharmacokinetics, metabolism, etc. The enantiomers differ in their interactions with enzymes, proteins and receptors. These differences in interactions lead to differences in the biological activities. The understanding of the enantioselectivity of drug action sites is continually evolving, consequently the tendency of marketing pure enantiomers of chiral drugs increases. With this tendency the development of new improved methods for the separation and determination of enantiomers became a permanent necessity and also a challenge.

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 (es inglisuri enistvis yalian gryeli zinadadeba aris, magram motmena sheizleba). 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 flexibility 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.

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 stereoselective mechanisms. Using CDs are very convenient due to their solubility in aqueous solutions. In process of enantioseparation, cyclodextrins 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.

## შესავალი

დღესდღეობით ქირალობა ქიმიური კვლევების ერთ-ერთი ძირითადი საგანია. გამოყენებულ ფარმაცევტულ მოქმედ საფუძველთა მნიშვნელოვანი ნაწილი წარმოადგენს ქირალურ ნივთიერებებს. მათი უმეტესობის სინთეზი ხდება რაცემული ნარევის (ორი ენანტიომერის ნარევი 50:50-თანაფარდობით) სახით. ენანტიომერები ერთმანეთისგან განსხვავდება, როგორც აბსორბციის უნარით, ასევე განაწილების და პროტეინებთან შეკავშირების და რეცეპტორებთან უთიერთქმედების უნარით. მოლეკულური ქირალობა აღმოაჩინა ლუის პასტერმა 1848 წელს, რომელმაც პირველად ხელით დაყო ღვინის მჟავას ენანტიომერები. დაახლოებით ერთი საუკუნე დასჭირდა ქირალობის მნიშვნელობის და ფენომენის დადგენას, რომელიც მნიშვნელოვან როლს თამაშობს მცენარეებში, ცოცხალ ორგანიზმებში, ფარმაცევტულ, სასოფლო-სამეურნეო თუ ქიმიურ ინდუსტრიაში. ყველა ცილა, ფერმენტი, ამინომჟავა, ნახშირწყალი, ნუკლეოზიდი, ჰორმონი და ალკალოიდების ფართო ჯგუფი ქირალურია. ხელოვნურად მიღებული ქირალური პროდუქტებისაგან განსხვავებით, ბუნებაში ქირალური ნივთიერებები გავრცელებულია მხოლოდ ერთი ენანტიომერის სახით, მაგალითად ამინომჟავები ბუნებაში გავრცელებულია L-იზომერის სახით, ხოლო შაქრები- D-იზომერის სახით. დღესდღეობით, სამკურნალწამლო საშუალებების ნახევარზე მეტი შეიცავს ქირალურ ცენტრს მოლეკულაში და მათი უმეტესობა ნაწილი რაცემატის სახით გამოიყენება.

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

- 2) ერთი ენანტიომერის მოქმედება ბევრად აღემატება მეორე ენანტიომერისას, ეს შემთხვევა აღმოჩნდა კეტოპროფენის შემთხვევაში, S-ფორმას გააჩნდა ბევრად ძლიერი მოქმედება, ვიდრე R-ფორმა;
- 3) მესამე შემთხვევაში შეიძლება მხოლოდ ერთ ენანტიომერს ჰქონდეს დადებითი ეფექტი, მაგრამ ორგანიზმში ენაიმების მოქმედების შედეგად მეორე ენანტიომერი გარდაიქმნებოდა აქტიურ ენანტიომერად, ამის მაგალითად გამოდგება იბუპროფენის შემთხვევა, რომლის (R-ფორმა)-ს არ აქვს დადებითი ფარმაკოლოგიური მოქმედება, მაგრამ ცოცხალ ორგანიზმში მეტაბოლიზირდება RCoA-თიოეთერად, რომელიც შემდეგ ეპიმერიზდება S-CoA-თიოეთერად და საბოლოოდ გარდაიქმნება S-იბუპროფენად.

ენანტიომერებს გააჩნიათ ერთნაირი ქიმიური სტრუქტურა, თუმცა უმეტეს შემთხვევაში სხვადასხვა მოქმედება ფარმაკოლოგიის, ტოქსიკოლოგიის, ფარმაკოკინეტიკისა და მეტაბოლიზმის თვალსაზრისით. ამ მიზეზის გამო ზოგიერთი სამკურნალო საშუალება იწარმოება ერთი ენანტიომერის სახით. რამდენადაც ქირალობას უდიდესი მნიშვნელობა აქვს ცოცხალი ორგანიზმებისთვის, ნებისმიერი სახის ინდუსტრიისა თუ სამეცნიერო მიმართულებისთვის, ახალი გაუმჯობესებული მეთოდების შემუშავება ენანტიომერების დასაყოფად მათი კვლევის თვალსაზრისით ძალიან მნიშვნელოვანია. ინსტრუმენტული მეთოდებით პირველი ენანტიომერული დაყოფები ეკუთვნის გაზურ ქრომატოგრაფიას, ხოლო მოგვიანებით ენანტიომერების დაყოფის ტექნიკად დამკვიდრდა მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფია, გარკვეული დროის შემდეგ- კაპილარული ელექტროფორეზი. მიუხედავად იმისა, რომ კაპილარული ელექტროფორეზი ახალი მეთოდია, ის საკმაოდ ფართოდ გამოიყენება ენანტიომერული ნარევების დასაყოფად. მრავალი შრომაა გამოქვეყნებული ენანტიომერების დაყოფის კუთხით, თუმცა არაკოვალენტური ურთიერთქმედების მექანიზმები ნაკლებად არის შესწავლილი. აღნიშნული მეთოდი საინტერესოა არა მარტო ენანტიომერების დაყოფის, არამედ არაკოვალენტური მოლეკულათაშორისი ურთიერთქმედების კვლევის მხრივაც. ექსპერიმენტი მეტად

საინტერესოა, რადგან თითოეული ენანტიომერი განსხვავებული მექანიზმით მოქმედებს და უკავშირდება ქირალურ სელექტორს გააჩნიათ სხვადასხვა შეკავშირების მუდმივები. კაპილარული ელექტროფორეზის ნაკლად შეიძლება ჩაითვალოს ის ფაქტი, რომ არ იძლევა პირდაპირ ინფორმაციას კომპლექსის ტიპის შესახებ. სელექტორ/სელექტანდის კომპლექსწარმოქმნის მექანიზმის კვლევის მიზნით გამოიყენება ბირთვულ მაგნიტური რეზონანსის სპექტროსკოპია და მოლეკულური მოდელირების მეთოდები კაპილარულ ელექტროფორეზთან ერთად. აღსანიშნავია, რომ ბმრ სპექტროსკოპია წარმოადგენს ინფორმატიულ და ზუსტ ტექნიკას, რომელიც ინფორმაციას გვაძლევს კომპლექსის სტრუქტურისა და სტექიომეტრიის შესახებ, გარდა ამისა ხელსაყრელია კომპლექსწარმოქმნის მექანიზმის კვლევა, რადგან შესაძლებელია ზუსტად იმავე პირობებში ჩატარდეს ექსპერიმენტები, რა პირობებიც გაგვაჩნდა კაპილარული ელექტროფორეზის ექსპერიმენტში ენანტიომერული ნარევიების დაყოფის დროს.

# თავი I. კაპილარული ელექტროფორეზის ისტორია და გამოყენება, დაყოფის პრინციპი კაპილარული ელექტროფორეზში

## 1.1 ისტორია და გამოყენება

კაპილარული ელექტროფორეზი წარმოადგენს ნივთიერებათა დაყოფის ელექტროკინეტიკურ მეთოდს. კაპილარული ელექტროფორეზის სისტემა პირველად შეიქმნა ჰერტენმა ცილების, ნუკლეინის მჟავებისა და არაორგანული იონების დასაყოფად 1965 წელს. ამ მეთოდის პოტენციალი აღმოაჩინეს ჯორგენსონმა და ლუკასმა 1980წელს, როდესაც პირველად გამოაქვეყნეს მაღალეფექტური დაყოფები.

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

კაპილარულმა ელექტროფორეზმა ჩაანაცვლა ტრადიციული გელ-ელექტროფორეზი და ქრომატოგრაფიული მეთოდები ზოგიერთ ანალიზში. აღნიშნული მეთოდი განსაკუთრებით წარმატებით გამოიყენება მცირე ზომის ქირალური მოლეკულებისათვის, აქირალური მინარევების განსაზღვრისათვის წამლებში, მეტალების იონებისა განსაზღვრისათვის და ა.შ.<sup>1</sup>

---

<sup>1</sup> [Bezhan Chankvetadze - Capillary Electrophoresis in Chiral Analysis;]

## 1.2 დაყოფის პრინციპი კაპილარული ელექტროფორეზის

### ელექტროფორეტული ძვრადობა

კაპილარული ელექტროფორეზი წარმოადგენს ნივთიერებათა დაყოფის ელექტროკინეტიკურ მეთოდს, რომელიც დაფუძნებულია დამუხტული ნაწილაკების განაწილებაზე ბუფერულ ხსნარში ნაწილაკების ელექტროფორეტული ძვრადობების მიხედვით. ეს განაწილება კაპილარულ ელექტროფორეზში მიიღწევა ელექტრული ველის მოდებით კაპილარის ბოლოებზე. აღნიშნულიდან გამომდინარე, ელექტროფორეტული ძვრადობა ძირითად როლს თამაშობს ნაწილაკთა დაყოფებში. ელექტროფორეტული ძვრადობა დამუხტული ნივთიერების მახასიათებელია და აღიძვრება ელექტროლიტის გარემოში. ელექტროლიტის ხსნარის თვისებებს როგორცაა, იონური ძალა, pH, იონების ტიპი, აქვს უდიდესი მნიშვნელობა ნივთიერებათა დაყოფის მისაღწევად.

მუდმივი ელექტრული ველის გამოყენებისას  $E$  ( $E=V/L$ ,  $V$ - წარმოადგენს მუდმივ ძაბვას, რომელის მოდებულია კაპილარის ბოლოებზე,  $L$ - მთლიანი კაპილარის სიგრძე), დამუხტული ნაწილაკები განიცდიან ელექტროსტატიკურ ძალას-  $F_e$ , რომელიც პროპორციულია ელექტრული ველის ძალისა და იონის მუხტისა:

$$F_e = qE$$

სწორედ ეს ძალა აჩქარებს იონის გადაადგილებას საწინააღმდეგოდ დამუხტული ელექტროდისაკენ. ამ დროს დიდი მნიშვნელობა აქვს გარემოს სიბლანტეს, რადგან თუ ანალიზი ტრადება ბლანტ გარემოში, მაშინ ხახუნის ძალის გამო ნაწილაკების გადაადგილება ფერხდება და ამის გამო ნაწილაკები ნელა გადაადგილდებიან ელექტროდისაკენ. სტოკის მიხედვით, სფერული ნაწილაკებისთვის ხახუნის ძალა შესაძლოა გამოისახოს როგორც:

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

სადაც  $\eta$  არის სითხის სიმკვრივე;  $r$ - ნაწილაკის ან იონის რადიუსი;  $v$ -მიგრაციის სიჩქარე.

დამუხტული სტატიკური გადაადგილება იწყება იმ წუთიდან როდესაც კაპილარის ბოლოებზე ხდება ელექტრული ველის მოდება. სწორედ იონების მუდმივი სიჩქარე, რომლებიც გადაადგილდებიან კაპილარში, გამოისახება, როგორც ნამრავლი ელექტროფორეტული ძვრადობისა  $\mu$  და ელექტრული ველისა  $E$ :

$$v = \mu_e E$$

რამდენიმე განტოლების გაერთიანებით და ყველა აღნიშნული პარამეტრის გათვალისწინებით გამოვსახავთ ელექტროფორეტული ძვრადობის ფორმულას:

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

ელექტროფორეტული ძვრადობა წარმოადგენს იონის მახასიათებელ სიდიდეს მოცემულ პირობებში.

გამოსახულება გვიჩვენებს, რომ მოცემული იონური ნივთიერებისთვის  $\mu_e$  იზრდება დისოციაციის ხარისხის გაზრდასთან ერთად ან იონური მუხტის გაზრდასთან ერთად. მოცემული მუხტის იონისთვის  $q$ , რაც უფრო იზრდება იონის მასა მით უფრო იკლებს მისი მიგრაციის სიჩქარე.

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

შემდეგი წამყვანი ძალა ელექტროფორეზზე არის ელექტროოსმოსი ან ელექტროოსმოტური ნაკადი, რომელიც, როგორც წესი, პასუხისმგებელია ნეიტრალური ნივთიერებების ძვრადობაზე კაპილარულ ელექტროფორეზში.

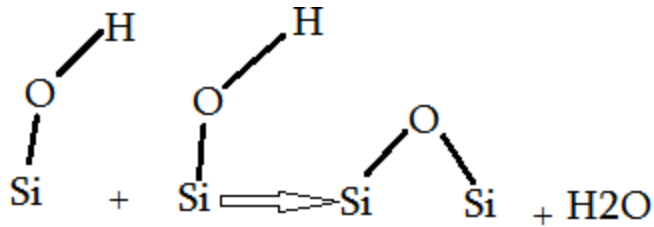
## ელექტროსმოსი

პირველი კვლევები ელექტროსმოსის ფენომენზე ეკუთვნის ჰელმჰოლცს, რომელმაც თავდაპირველად ჰორიზონტალურ მდგომარეობაში მყოფ 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 საპირისპირო მუხტი. სითხისთვის, რომელიც იმყოფებოდა კედელთან, ამ პროცესის შედეგად დაიწყო მიგრაცია საწინააღმდეგოდ დამუხტული ელექტროდის მიმართულებით, სწორედ ამ პროცესს ელექტროსმოსი ეწოდება, ხოლო ხსნარის ელექტროსმოტური ძვრადობა აღიწერება შემდეგი გამოსახულებით:

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

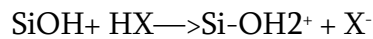
გამოსახულება აღწერს ელექტროსმოტურ ძვრადობას, როგორც ფუნქციას რომელიც, პირდაპირ პროპორციულია ხსნარის დიელექტრული მუდმივისა, მოდებული ელექტრული ველისა და ზეტა პოტენციალისა, ხოლო უკუპროპორციულია ხსნარის სიბლანტისა.

ბუფერული ხსნარის ძვრადობას კაპილარში აღწერს შტერნის ორმაგი შრის მოდელი. თითქმის ყველა მყარი ზედაპირი იძენს ელექტრულ მუხტს ზედაპირზე. მუხტის წარმომავლობა შესაძლოა იყოს მყარი ზედაპირის იონიზაცია ან ელექტროლიტების იონების ადსორბცია მყარ ზედაპირზე. რადგან ელექტროფორეზისთვის გამოიყენება კვარცისგან კაპირალები დაუმუშავებელი ზედაპირით, ასეთი მოდელი აღწერს კვარცის კაპილარის შიდა ზედაპირის იონიზაციას. კაპილარების გამოდნობა ხდება 1100°C -სა და უფრო მაღალ ტემპერატურაზე, ამ დროს კვარცის სილანოლური ჯგუფები კონდენსირდება:

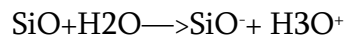


სურ.1

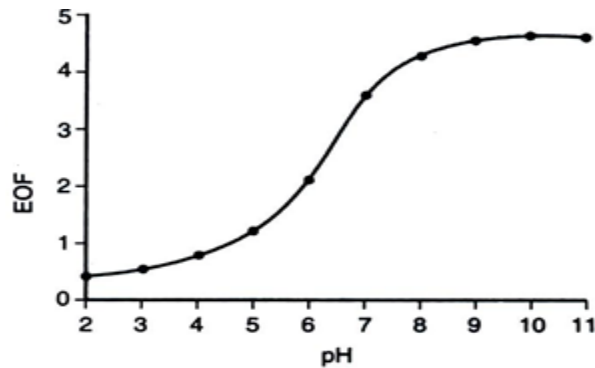
ამ დროს წარმოიქმნება დაჭიმული სილოქსანური ბმები. მას შემდეგ, როდესაც კვარცის კაპილარში გაატარებენ წყლიან ფაზას, ხსნარის კაპილარის კედლებთან კონტაქტისას სილოქსანური ბმები აღდგება კვლავ სილანოლურ ჯგუფებად ჰიდროლიზის საშუალებით, რომლებიც შემდგომ განიცდიან იონიზაციას. ელექტროლიტური გარემოს pH-ზე დამოკიდებულებით სილანოლური ჯგუფები შესაძლოა იყოს დადებითად დამუხტული, როგორც  $\text{SiOH}^+$ :



როდესაც  $\text{pH} < 2$ , მაშინ კვარცის კედლები ნეიტრალურია, რადგან ამ დროს სილანოლური ჯგუფების დისოციაცია ძალიან არის შემცირებული. იმ შემთხვევაში, როდესაც  $\text{pH} > 2$ , ხდება სილანოლური ჯგუფების დეპროტონირება:



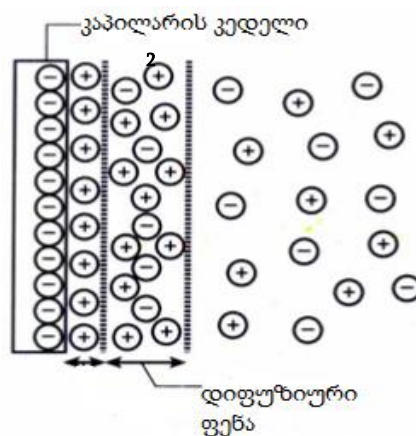
ხსნარის pH-სიდიდის გაზრდით იზრდება სილანოლური ჯგუფების დისოციაციის ხარისხი. ელექტროოსმოსური ნაკადის ძალა მაქსიმალურ სიდიდეს აღწევს, როდესაც ხსნარის  $\text{pH} = 8.0$ , ხოლო pH-ის შემდგომი ზრდით ელექტროოსმოსის ნაკადის ძალა რჩება მუდმივი.



სურ.2

როდესაც კაპილარის კედელი დამუხტულია უარყოფითად, ის იზიდავს დადებითად დამუხტულ ჰიდროქსონიუმის იონებს ელექტროსტატიკური ურთიერთქმედების საშუალებით. ამ პროცესის შედეგად ბალანსირდება ზედაპირის უარყოფითი მუხტი. შტერნის მოდელის მიხედვით ორმაგი შრე, ადსორბირებული იონებით, წონასწორობაშია გარეთა დიფუზიურ ფენასთან. ელექტრული პოტენციალი იკლებს წრფივად კედლიდან მანძილის/დაშორების გაზრდასთან ერთად დიფუზიურ ფენაში. 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 და ელექტრული ველის მოდების შემდეგ დადებითად დამუხტული იონები იწყებენ გადაადგილებას კათოდისკენ.

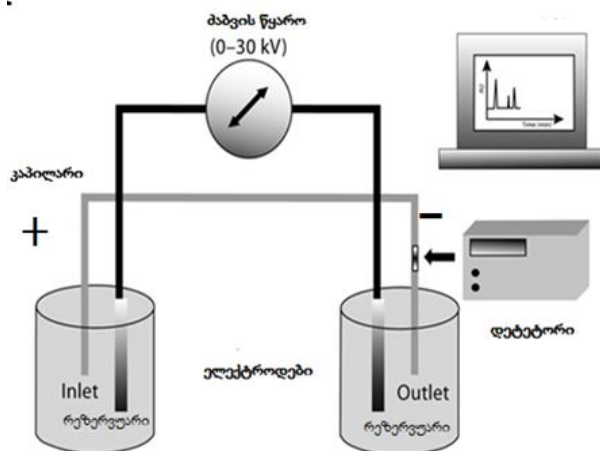
კედელთან არსებული ხსნარის ნაწილის ხახუნის გამო ნაკადის სიჩქარე კედელთან ნულის ტოლია, მანძილის გაზრდით მისი სიჩქარე იზრდება ორმაგი შრის რეგიონში და აღწევს მაქსიმუმს კედლიდან გარკვეულ მანძილზე, თუმცა ძალიან ახლოს. ხსნარის ეს ნაწილი ამის გამო მიგრირდება მაქსიმალური სიჩქარით.



სურ.3

<sup>2</sup> [Bezhan Chankvetadze - Capillary Electrophoresis in Chiral Analysis;]

## თავი II. კაპილარული ელექტროფორეზის ხელსაწყოთა აგებულება



სურ.4 კაპილარული ელექტროფორეზის ხელსაწყოთა აგებულება

დიაგრამაზე მოცემულია კაპილარული ელექტროფორეზის ზოგადი სქემა, რომელიც შედგება :

1. ვიწრო დიამეტრის მქონე კაპილარისგან, სადაც ხდება ნივთიერებათა დაყოფა ერთ ფაზაში.
2. მაღალი ძაბვის წყაროსგან
3. პლატინის ელექტროდებისაგან
4. Inlet და outlet რეზერვუარებისაგან, რომლებშიც ბუფერული ან ქირალური სელექტორიანი ბუფერული ხსნარებია მოთავსებული
5. დეტექტორი

მაღალი ძაბვის წყარო, რომელიც იძლევა საშუალებას 30kV-მდე ძაბვის ქვეშ ჩატარდეს ანალიზები, დაკავშირებულია ორ პლატინის ელექტროდთან, რომლებიც ჩაშვებულია ბუფერულ ხსნარში. კაპილარის ბოლოები (შიდა დიამეტრით 20-100მკმ) ჩაშვებულია აგრეთვე ორ ბუფერულ ხსნარში (inlet და outlet ბოთლებში) პლატინის ელექტროდების

გავლით. კაპილარულ ელექტროფორეზში გამოყენებული კაპილარები გარედან დაფარულია პოლიიმიდის ფენით მოქნილობის გასაზრდელად. დაახლოებით 9სმ სიგრძეზე outlet ბოთლის მხრიდან დეტექტორების არხამდე კაპილარს უკეთდება ფანჯარა დაახლოებით 4-5 მმ სიგრძის პოლიიმიდის მოწვის ხარჯზე. სწორედ დეტექტორების ფანჯარაში ხდება ნივთიერებათა დეტექტირება ყველაზე ხშიდარ გამოყენებული ულტრაიისფერი გამოსხივებით, რომლის ნათურაც დაყენებულია დეტექტორების ფანჯრის პირდაპირ და მისი გამოსხივება უმზერს დეტექტორების ფანჯარაში გამავალ ნივთიერებებს. მიღებული სიგნალები ელექტრონულად ჩაიწერება და გამოსახება პიკების სახით.

### თავი III. კაპილარული ელექტროფორეზის უპირატესობები დაყოფის სხვა მეთოდებთან შედარებით

დღესდღეობით კაპილარული ელექტროფორეზი იძენს უფრო მეტ უპირატესობას დაყოფის სხვა ფართოდ გავრცელებულ მეთოდებთან შედარებით, როგორცაა მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფია, გაზური ქრომატოგრაფია და ა.შ. კაპილარული ელექტროფორეზის უპირატესობები მდგომარეობს შემდეგში:

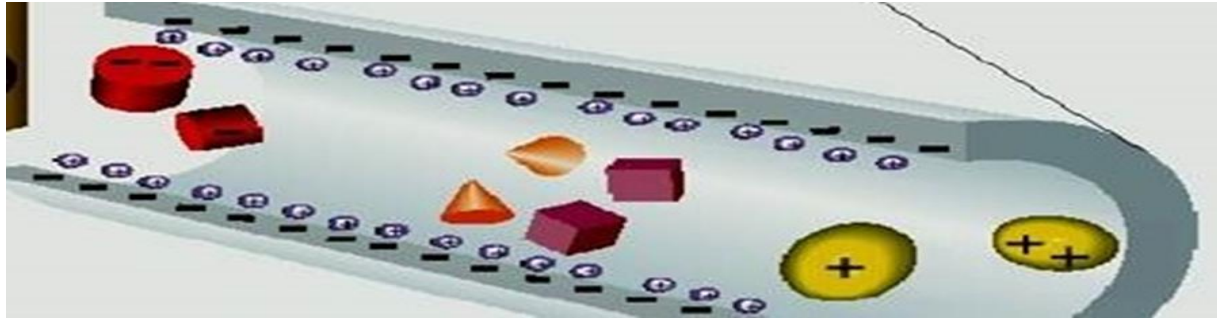
1. კაპილარებს ახასიათებთ მაღალი ელექტრული მდგრადობა, რის გამოც შესაძლებელია ანალიზები ჩატარდეს მაღალი ელექტრული ველის ქვეშ (100-500 V/cm) მინიმალური სითხოს წარმოქმნით. მაღალი ელექტრული ველის გამოყენება განაპირობებს ანალიზების მცირე დროს.
2. კაპილარის დიამეტრი ჩვეულებრივი მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფიის სვეტის დაახლოებით მეასედია. კაპილარულ ელექტროფორეზის ექსპერიმენტებში გამოყენებული ტიპური კაპილარის შიდა დიამეტრი 25-75მკმ-ს წარმოადგენს. ამ მიზეზის გამო კაპილარული ელექტროფორეზი ითვლება ნივთიერებათა დაყოფის მინიატურულ მეთოდად. მიკრო დიამეტრის მქონე კაპილარის გამოყენება დიფუზიური მოვლენებისა და ტემპერატურული სხვაობების შემცირების მიზეზია, რაც განაპირობებს მაღალეფექტური პიკების მიღებას. კაპილარულ ელექტროფორეზში გამოყენებული კაპილარები, ჩვეულებრივი ქრომატოგრაფიული სვეტისგან განსხვავებით არ არის შევსებული, რის გამოც განივი დიფუზია შემცირებულია, რომელიც დისპერსიის მთავარი გამომწვევი მიზეზია. ამ მიზეზების გამო არ ვხვდებით ზონის გაფართოებებს მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფიის მსგავსად და ვიღებთ დაყოფებს მაღალი გარჩევითობითა და მაღალი ეფექტურობით.

მიკროდიამეტრის მქონე კაპილარების გამოყენების გამო იხარჯება მცირე რაოდენობით გამხსნელები, ნიმუშები და ქირალური სელექტორები, რის გამოც მეთოდი იაფი და ეკონომიურია.

3. კაპილარულ ელექტროფორეზში ძირითადად გამოიყენება არაორგანული ბუფერები, რაც იცავს გარემოს დაბინძურებისაგან.
4. მკვდარი მოცულობის არ არსებობა, რომელიც გამოწვეულია ნივთიერების ინიცირებით და დეტექტირებით პირდაპირ კაპილარში.
5. მეთოდის სწრაფი დამუშავების შესაძლებლობა.
6. ქირალური სელექტორების ფართო არჩევანი და მარტივად შეცვლის შესაძლებლობა.
7. კაპილარულ ელექტროფორეზში განსხვავებით მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფიისა და გაზური ქრომატოგრაფიისაგან, შესაძლებლობა გვაქვს შევისწავლოთ ისეთი სტერეოსელექტიური ეფექტები, რომელთა შესწავლაც შეუძლებელია სხვა მეთოდების გამოყენებით.

კაპილარული ელექტროფორეზი წარმოადგენს ნივთიერებათა დაყოფის მეთოდს, რომელიც დაფუძნებულია ნარევის შემადგენელი კომპონენტების განსხვავებულ ძვრადობაზე ელექტრულ ველში, რაც განპირობებულია ელექტროოსმოსური და ელექტროფორეტული ძვრადობით. ელექტროფორეტული ძვრადობა აღიძვრება საკვლევი ნიმუშის თითოეულ კომპონენტში და იწვევს მათ გადაადგილებას ელექტრულ ველში. ელექტროფორეტული ძვრადობა თითოეული კომპონენტის მუხტის სიმკვრივეზეა დამოკიდებული, რის შედეგადაც კომპონენტები რომელთა მუხტი უფრო დიდია, ხოლო რადიუსი ნაკლები უფრო სწრაფად გადაადგილდებიან კაპილარში, მუხტის სიმკვრივე ხშირად კომპონენტების  $pK$  სიდიდეზეა დამოკიდებული, შესაბამისად საჭიროა ისეთი  $pH$ -ის შერჩევა, რომელზეც საკვლევი ნიმუშის ყველა კომპონენტს განსხვავებული მუხტი ექნებათ, თუ ნაწილაკის მუხტი ნულის ტოლია, ასეთი კომპონენტის სიჩქარე ელექტროოსმოსური ნაკადის სიჩქარის

ტოლი იქნება, განსხვავებით სხვა კომპონენტების სიჩქარეებისაგან, რომელთა მუხტიც ნულისაგან განსხვავებულია.



სურ.5 ელექტროფორეტული ძვრადობის სქემატური გამოსახულება.

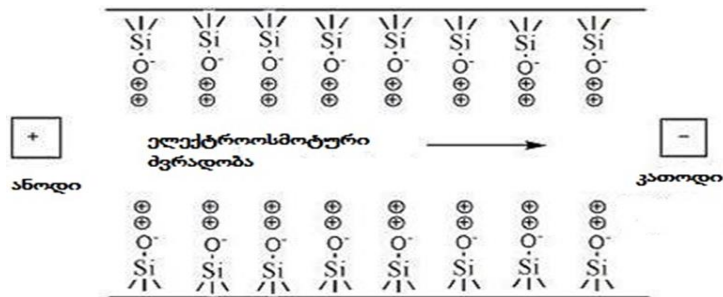
ელექტროსმოსური ნაკადი კაპილარული ელექტროფორეზის ექსპერიმენტის ერთ-ერთი მნიშვნელოვანი შემადგენელი კომპონენტია, რადგან სწორედ ელექტროსმოსური ნაკადის გავლენით გადაადგილდება კაპილარში ნეიტრალური კომპონენტები. ელექტროსმოსური ნაკადი აღიძვრება კაპილარის ზედაპირზე არსებული სხვადასხვა ჯგუფების იონიზაციის შედეგად (სურ. 4). ან ხსნარში არსებული იონების ადსორბციით კაპილარის ზედაპირზე, ჩვენს შემთხვევაში ვიყენებდით კვარცის კაპილარს (ასევე გამოიყენება ტეფლონის და პირექსის კაპილარები), შესაბამისად ამ შემთხვევაში ხდება კაპილარის ზედაპირზე არსებული სილანური ჯგუფების იონიზაცია, რის შედეგადაც კაპილარის ზედაპირზე ხდება უარყოფითი მუხტის კონცენტრირება, ხოლო ბუფერულ ხსნარში არსებული დადებითად დამუხტული ნაწილაკების აკუმულირება სწორედ კაპილარის ზედაპირზე არსებული უარყოფითი მუხტის გასწვრივ ხდება. აღნიშნული მუხტის გადანაწილება თავის მხრივ იწვევს ნაკადის ორმაგ შრეს. ელექტროსმოსური ძვრადობის როლი კაპილარულ ელექტროფორეზში ძალიან დიდია. ელექტროსმოსური ძვრადობა რამდენიმე პარამეტრის ცვლილებით შეგვიძლია ვარეგულიროთ, პირველი და ყველაზე მნიშვნელოვანი პარამეტრი, რომლის

ცვლილებაც ანალიზის შედეგზე ფუნდამენტურ გავლენს არ ახდენს (იშვიათი გამონაკლისების გარდა) ბუფერული ხსნარი pH-ია, რაც უფრო მაღალია იგი მით უფრო მეტი სილანური ჯგუფების იონიზაცია ხდება კაპილარში და შესაბამისად უფრო მაღალია ელექტროოსმოსური ნაკადის მნიშვნელობაც. აუცილებელია აღინიშნოს, რომ იმის მიხედვით თუ რომელ კაპილარს ვიყენებთ ელექტროოსმოსური ნაკადის მნიშვნელობა მნიშვნელოვნად იცვლება (სურ. 5). ელექტროოსმოსური ნაკადის ვარირებადობის 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 იზოელექტრული ფოკუსირება, იზოტახოფორეზი და კაპილარული გელ-ელექტროფორეზი საჭიროა ელექტროოსმოსური ნაკადის მინიმუმამდე დაყვანა ამ მთლიანად მოსპობა.

pH-ის გარდა ელექტროოსმოსური ნაკადზე შეიძლება გავლენა მოახდინოს ძაბვამ, რომელსაც ანალიზის დროს ვიყენებთ, რადგან ელექტროოსმოსური ნაკადი და გამოყენებული ელექტრული დენი ერთმანეთის პროპორციული სიდიდეებია. გასათვალისწინებელია ის ფაქტი, რომ ძაბვა პირდაპირპროპორციულად არის დაკავშირებული ანალიზის ხანგრძლივობასთან, შესაბამისად თუ მას ძალიან შევამცირებთ ანალიზის დრო მნიშვნელოვნად გაიზრდება, ხოლო ძაბვის გაზრდამ შეიძლება ანალიზის დრო ისე შევამციროს, რომ ეს დრო არ იყოს საკმარისი კომპონენტების ერთმანეთისაგან დასაყოფად.

ასევე შესაძლებელია ბუფერული ხსნარის კონცენტრაციისა და ტემპერატურის ცვლილების მიხედვით ელექტროოსმოსურ ნაკადზე გავლენის მოხდენა. გარდა ზემოთ აღნიშნულისა, არსებობს მეთოდები რომლის საშუალებითაც შესაძლებელია კაპილარის ზედაპირზე ნეიტრალური ან დადებითად ან უარყოფითად დამუხტული პოლიმერის დაფენა, რომელიც უზრუნველყოფს ელექტროოსმოსური ნაკადის

არამარტო მთლიანად გაქრობას ან შემცირებას, არამედ მისი მიმართულების შეცვლასაც კი იმ შემთხვევაში თუ მოვახდენთ ზედაპირის დადებითად დამუხტული პოლიმერით დაფარვას.



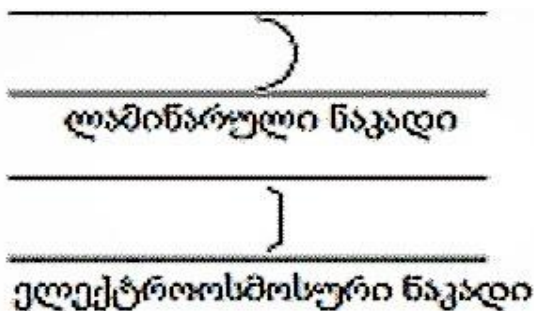
სურ.6 ელექტროსტატიური ძვრადობის სქემა

ბოლო ორი ათწლეულია კაპილარულმა ელექტროფორეზმა ქირალურ დაყოფაში სამკაოდ დიდი პოპულარობა მოიპოვა. ზოგადად კაპილარულ ელექტროფორეზს ქრომატოგრაფიულ მეთოდებთან შედარებით გააჩნია რიგი უპირატესობები, ეს უპირატესობები მოიცავს, როგორც პრაქტიკულ ასევე თეორიულ უპირატესობებს.

კაპილარული ელექტროფორეზის მეთოდის პრაქტიკული უპირატესობები განპირობებულია ხელსაწყოს აგებულებით და იწვევს იმას, რომ კაპილარულ ელექტროფორეზში არ გვაქვს მკვდარი მოცულობა, რადგან არ გვაქვს ინიცირებისა და დეტექტირების ბლოკები, ამ შემთხვევაში ინიცირებაც და დეტექტირებაც ხდება კაპილარში (სურ. 5). კაპილარული ელექტროფორეზის ზემოთ ნახსენები უპირატესობები გამოწვეულია ხელსაწყოს სიმარტივით, რომელიც მოიცავს ბუფერით შევსებულ რეზერვუარებს, რომელშიც კაპილარის ბოლოებია ჩაძირული, რათა მოხდეს ელექტრული წრედის შეკვრა, რაც გამოიწვევს კაპილარში ელექტროსტატიური ნაკადის, ხოლო საანალიზო ნიმუშში ელექტროფორეტიული ძვრადობის გაჩენას. დეტექტირება, როგორც ზემოთ იყო აღნიშნული ინიცირების მსგავსად თავად

კაპილარში ხდება, რომლის გარე ზედაპირის კაპილარისთვის დრეკადობის მინიჭების მიზნით პოლიმერით არის დაფარული, სწორედ ამიტომ კაპილარის გარკვეულ ნაწილზე საჭიროა პოლიმერის მოშორება, რათა გარკვეულ მონაკვეთზე კაპილარი გახდეს ხილულ და ულტრაიისფერ უბანში გამჭირვალე, პოლიმერის მოშორება კაპილარის გახურებით ხდება რის შედეგადაც კაპილარს დეტექტირების ფანჯარა უკეთდება.

ასევე მნიშვნელოვანია წაკვეთილი კონუსის ფორმის ნაკადი კაპილარულ ელექტროფორეზში, რაც გამოწვეულია ელექტროოსმოსური ნაკადის გავლენით წარმოქმნილი ორმაგი ელექტრული შრის შედეგად, იმის გამო რომ ხსნარში არსებული დადებითი მუხტის ლოკალიზება კაპილარის კედლებთან ხდება, ერთი შეხედვით ხსნარის ამ ნაწილის ელექტროფორეტული ძვრადობა კათოდის მიმართ უფრო მაღალი უნდა იყოს, ვიდრე ნაკადის დანარჩენი ნაწილის, შესაბამისად ნაკადს უნდა გააჩნდეს ჩაზნექილი პარაბოლის ფორმა, თუმცა ამ შემთხვევაში გასათვალისწინებელია ხახუნი, რომელიც ხდება კაპილარის კედლებსა და ნაკადის ზემოთ აღნიშნულ ნაწილთან, რაც მკვეთრად ამცირებს მის სიჩქარეს, შედეგად კი ვიღებთ წაკვეთილი კონუსისებრ ნაკადს, რომელიც ძლიერ განსხვავდება სითხურ ქრომატოგრაფიაში არსებული ლამინარული ნაკადისგან, რაც საშუალებას გვაძლევს კაპილარულ ელექტროფორეზში მივიღოთ ბევრად უფრო ვიწრო პიკები ვიდრე სითხურ ქრომატოგრაფიაში



სურ.7 ელექტროოსმოსური ნაკადისა და ლამინარული ნაკადის შედარება

კაპილარულ ელექტროფორეზის მეთოდის ერთ-ერთ ძირითად უპირატესობას ასევე წარმოადგენს ის, რომ მიიღწევა თეორიული თეფშების ძალიან მაღალი რიცხვი (უმეტესად მეტია 100000-ზე), რაც გამოწვეულია იმით, რომ ვან დეემტერის განტოლებაში არ გვაქვს A (განივი დიფუზია) და C (მასის გადატანის წინააღმდეგობა) კოეფიციენტი, რადგან დაყოფა ხდება ცარიელ კაპილარსა და ერთ ფაზაში.

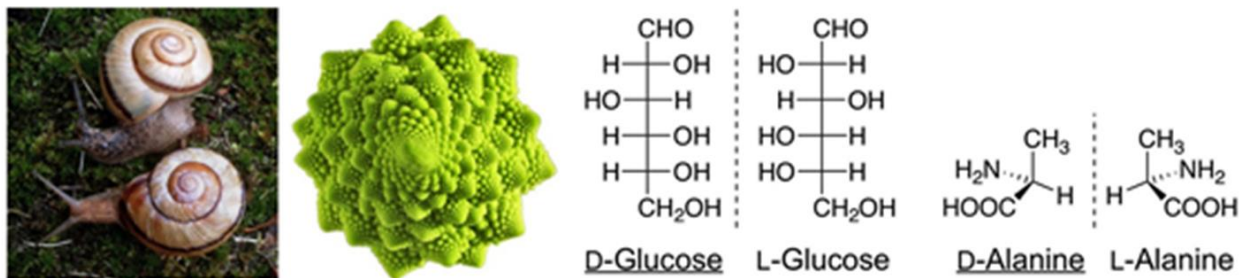
ქირალური დაყოფებისთვის კაპილარულ ზონურ ელექტროფორეზს ვერ გამოვიყენებთ, რადგან ენანტიომერებს გააჩნიათ ერთნაირი ფიზიკური და ქიმიური თვისებები, აქედან გამომდინარე მათი მუხტის სიმკვრივე ელექტრულ ველში იქნება ერთმანეთის ტოლი, ქირალური დაყოფისათვის კაპილარულ ელექტროფორეზში აუცილებელია გამოვიყენოთ ქირალური სელექტორი, რომელიც განასხვავებს ენანტიომერებს ერთმანეთისაგან და რაც ყველაზე მნიშვნელოვანია შესძენს მათ განსხვავებულ სიჩქარეებს, ამისათვის კი აუცილებელია გამოვიყენოთ კაპილარული ელექტროკინეტიკური ქრომატოგრაფია, რომელიც გულისხმობს ბუფერში ფსევდო ფაზის დამატებას და შემდეგ ქირალური დაყოფის მიღწევას სწორედ ფსევდო ფაზასა და საკვლევ ნიმუშის ურთიერთქმედების ხარჯზე, ფსევდო ფაზებად საკმაოდ აქტუალურია ციკლოდექსტრინების გამოყენება.

# თავი IV. ქირალობა; ქირალური ნივთიერებების დაყოფა; ქირალური ნივთიერებების დაყოფა ციკლოდექსტინების გამოყენებით

## 4.1 ქირალობა და ქირალური ნივთიერებების დაყოფა

“ქირალობა” ძველბერძნული სიტყვაა და ხელს ნიშნავს. “ქირალობა” აღნიშნავს, რომ ნებისმიერი ორი საგანი (მოლეკულა) ერთმანეთის მიმართ ისეთ შესაბამისობაშია, როგორც მარჯვენა და მარცხენა ხელი, ან საგანი და მისი სარკული გამოსახულება. ქირალური შეიძლება იყოს ნივთიერება, რომლის მოლეკულაში არის ოთხი განსხვავებული ჩამნაცვლების მქონე ნახშირბადატომი, თუმცა არსებობს სხვა ატომებით (აზოტი, გოგირდის და ფოსფორი) ან ქირალობის სხვა ელემენტებით (დერმი, სიბრტყე) განპირობებული ქირალობის შემთხვევებიც. ენანტიომერებს ერთნაირი ფიზიკური და ქიმიური თვისებები გააჩნიათ, თუმცა ისინი ბრტყლად პოლარიზებად სინათლეს სხვადასხვა მხარეს აბრუნებენ

აუცილებელია აღინიშნოს, რომ ცოცხალი ორგანიზმები არის ჰომოქირალური, რაც იმას ნიშნავს, რომ მოლეკულები, რომლებსგანაც შედგება ცოცხალი ორგანიზმები, ე.წ. RNA, DNA, ამინომჟავები, პროტეინები და შაქრები ყველა არის ქირალური. ცოცხალ ორგანიზმებში ისინი მხოლოდ ერთი ენანტიომერის სახით არსებობს, მაგ.: მარჯვნივმბრუნავი B-DNA, მარცხნივმბრუნავი Z-DNA, L-ამინომჟავები და d-შაქრები. ამ უმნიშვნელოვანეს ბიოლოგიურ სელექტიურობას ეწოდება ჰომოქირალობა.



სურ.8 ჰომოქირალობის მაგალითები ცოცხალ ორგანიზმებში

ცოცხალი ორგანიზმების ჰომოქირალობა განაპირობებს მათ განსხვავებულ დამოკიდებულებას ერთი და იმავე საკვებდანამატის, არომატიზატორის და სამკურნალწამლო საშუალების ორი განსხვავებული ენანტიომერის მიმართ. საუკეთესო მაგალითად გამოდგება ასპარგინის შემთხვევა: S-ასპარგინი არის მწარე გემოსი, ხოლო R-ასპარგინი ტკბილია. ცოცხალი ორგანიზმის ასეთი განსხვავებული აღქმა ერთი და იმავე ნაერთის ცალკეულ ენანტიომერის მიმართ განაპირობებს, რომელი ენანტიომერი არის უფრო მისაღები ცოცხალი ორგანიზმისთვის და რომელს „ჩამოართმევს ხელს“.

ქირალური ნივთიერებების სიმრავლემ და ფართო გამოყენებამ სამკურნალწამლო საშუალებებში, სოფლის მეურნეობასა თუ სხვა სფეროებში ქირალური დაყოფა განსაკუთრებით აქტუალური გახადა. ქირალური დაყოფის განსაკუთრებით მძლავრ და პოპულარულ მეთოდებს კაპილარული ელექტროფორეზი და ქრომატოგრაფიული მეთოდები წარმოადგენს. ამ მეთოდების უპირატესობას წარმოადგენს ის, რომ მათი საშუალებით შესაძლებელია როგორც ქირალური დაყოფის განხორციელება, ასევე ენანტიომერული სისუფთავის კონტროლი სინთეზის სხვადასხვა ეტაპზე, რაცემატიზაციის პროცესი და პარალელურად მოვახდინოთ ხარისხის კონტროლი. შედარებით ახალ, მაგრამ საკმაოდ მძლავრ მეთოდს ქირალურ დაყოფებში წარმოადგენს კაპილარული ელექტროქრომატოგრაფია, რომელიც თავის თავში აერთიანებს, როგორც კაპილარული ელექტროფორეზის, ასევე ქრომატოგრაფიის უპირატესობებს.

იმისათვის, რომ ქირალური დაყოფა მოხდეს, ყველა ზემოთ ნახსენებ მეთოდში აუცილებელია ქირალური სელექტორების გამოყენება, რომლებიც თავად წარმოადგენენ ქირალურ ნივთიერებებს და შესაბამისად განსხვავებულად ურთიერთქმედებენ თითოეულ ენანტიომერთან. ეს განსხვავებული ურთიერთქმედება შეიძლება გამოიხატოს, როგორც განსხვავებულ აბსორბცია-დესორბციაში, ასევე განსხვავებული სტრუქტურის კომპლექსის წარმოქმნაში. დღეითვის ქირალური სელექტორების საკმაოდ ფართო სპექტრი არსებობს,

რომელთაგან ოპტიმალურის ამორჩევა ხდება გამოყენებული მეთოდისა და ექსპერიმენტის მიზნებიდან გამომდინარე.

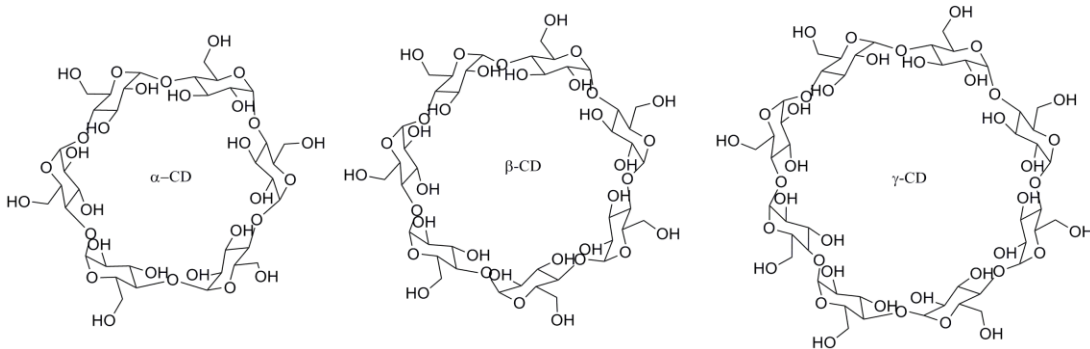
ქირალური გამოცნობის მექანიზმის აღსაწერად ხშირად გამოიყენება სამ წერტილიოვანი ურთიერთქმედების მოდელი, რომელიც დალგლიემის მიერ იქნა ჩამოყალიბებული. ზემოთხსენებული მეთოდი გულისხმობს, რომ მოცემული სამ სახის ურთიერთქმედებიდან ერთ-ერთი მაინც უნდა იყოს სტერეოსელექტიური, იმისათვის რომ ადგილი ჰქონდეს ქირალურ გამოცნობას.

## თავი V. ციკლოდექსტრინები; ქირალური ნივთიერებების დაყოფა ციკლოდექსტრინების გამოყენებით

### 5.1 ციკლოდექსტრინები

ციკლოდექსტრინები წარმოადგენენ ციკლურ ოლიგოსაქარიდებს, რომლებიც გამოიყენება როგორც ფარმაცევტულ წარმოებაში, ასევე საკვები დანამატების სახითაც. ციკლოდექსტრინები მიიღება ბუნებრივად სახამებლის ბაქტერიული გარდაქმნით ან შესაბამისი ფერმენტის მოქმედების საშუალებით. იმის გამო, რომ ციკლოდექსტრინები მიღებულია სახამებლის ბაქტერიული გარდაქმნით, ისინი არსებობს ერთი ენანტიომერული ფორმის სახით და არ არსებობს მათი ოპტიკური ანტიპოდი. ისინი შედგებიან 1,4-ბმით დაკავშირებული  $\alpha$ -D-გლუკოპირანოზის ჯგუფების სხვადასხვა რაოდენობისგან. ციკლოდექსტრინების ღრუ არის წარმოადგენს ჰიდროფობური, ხოლო გარე შრე ჰიდროფილური. იმის გამო, რომ გლუკოპირანოზის ციკლებს აქვთ სავარძლისებური კონფორმაცია, ციკლოდექსტრინებს აქვთ წაკვეთილი კონუსური ფორმა სრულყოფილი ცილინდრული ფორმის მაგივრად. ციკლოდექსტრინები შეიცავს როგორც პირველად, ასევე მეორეულ ჰიდროქსილის ჯგუფებს და ისინი განლაგებული არიან გარე შრეზე. პირველადი ჰიდროქსილის ჯგუფები მდებარეობენ 6C-მდგომარეობაში ციკლოდექსტრინის ღრუს ვიწრო მხარეს, ხოლო მეორეული ჰიდროქსილის ჯგუფები 2C და 3C მდგომარეობაში ღრუს განიერ მხარეს. ცენტრალური ღრუ წარმოგვიდგება ნახშირბადული ჯაჭვის სახითა და ეთერული ჟანგბადის სახით გლუკოპირანოზის ნაშთებში, რაც წარმოადგენს ციკლოდექსტრინის ღრუს ჰიდროფობურობის მიზეზს. გლიკოზიდური ჟანგბადის ბმის არწარმომქმნელი ელექტრონები, რომლებიც ორიენტირებული არიან ციკლოდექსტრინის ღრუს ცენტრისკენ, ღრუს ანიჭებენ ლუისის ფუძის თვისებას.

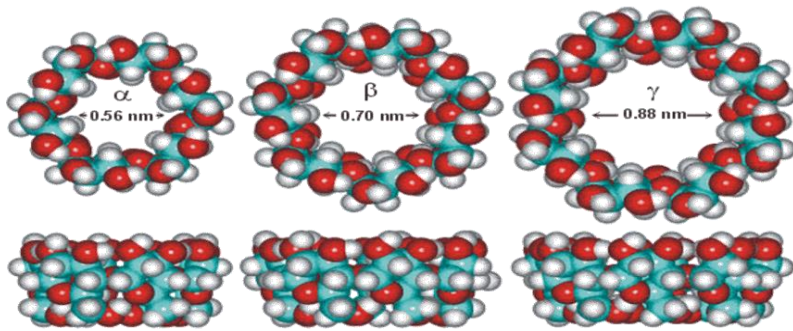
ჰიდროქსილის ჯგუფები ციკლოდექსტრინების მოდიფიცირების საშუალებას იძლევა. შესაძლოა რომელიმე ჰიდროქსილის ჯგუფის ჩანაცვლება რომელიმე



სურ.9

ფუნქციონალური ჯგუფით ან ციკლოდექსტრინების მოლეკულების მიზმა სილიკაგელზე ქრომატოგრაფიული ანალიზებისათვის.

არსებობს მრავალი ბუნებრივი ციკლოდექსტრინი, მათ შორის ყველაზე ხშირად კაპილარულ ელექტროფორეზში გამოიყენება α, β და γ ციკლოდექსტრინები, რომლებიც შედგებიან 6, 7 და 8 გლუკოპირანოზის ჯგუფებისაგან. ბუნებრივი ციკლოდექსტრინებს, განსაკუთრებით კი β-ციკლოდექსტრინს ახასიათებს მცირე ხსნადობა წყალხსნარებში. ბუნებრივი ციკლოდექსტრინების ხსნადობა წყალხსნარებში ბევრად დაბალია, ვიდრე აციკლური საქარიდების. ეს გამომდინარეობს შედარებით ძლიერი წყალბადური ბმების არსებობით კრისტალურ ფორმაში.



სურ.10 ბუნებრივი ციკლოდექსტრინები

ქირალური გამოცნობის მექანიზმი ციკლოდექსტრინების შემთხვევაში დაფუძნებულია ღრუში არსებულ ჰიდროფობურ ჯგუფებთან საკვლევი ნივთიერების ჰიდროფობური ნაწილის ურთიერთქმედებით (ხშირ შემთხვევაში არომატული ბირთვის), ასევე შესაძლებელია მოხდეს წყალბადური ბმის წარმოქმნა და დიპო-დიპოლური ურთიერთქმედება ციკლოდექსტრინის ჰიდროქსილის ჯგუფებსა და საკვლევი ნიმუშის ქირალურ ცენტრთან არსებულ პოლარულ ნაწილს შორის.

ქირალური კვლევებისათვის დაყოფისა და სპექტრალური მეთოდების ტანდემის გამოყენება იდეალური არჩევანია, მაგალითად შეგვიძლია მოვიყვანოთ კაპილარული ელექტროფორეზი, რომლის გამოყენებითაც იქნა შესრულებული ჩვენი ექსპერიმენტული სამუშაო, რომელშიც ქირალური დაყოფის ექსპერიმენტი ტარდებოდა ჰომოგენურ გამხსნელსა და მონო ფაზაში, რაც საშუალებას გვაძლევდა ამ პირობების სიმულაცია მოგვეხდინა ბირთვულ-მაგნიტური რეზონანსის ექსპერიმენტში. ამ ორი მეთოდის ერთობლიობა საშუალებას გვაძლევს მივიღოთ ინფორმაცია არამარტო მოლეკულათშორისი ურთიერთქმედების შესახებ, არამედ შევისწავლოთ ქირალური გამოცნობის მექანიზმი მოლეკულურ დონეზე. ბოლო 25 წლის განმავლობაში ბირთვულ-მაგნიტური ექსპერიმენტი ფართოდ გამოიყენება ქირალურ ანალიზში სტექიომეტრიის, შეუღლების მუდმივას და სელექტორ-სელექტანდის მიერ წარმოქმნილი კომპლექსის სტრუქტურის დასადგენად, რათა სიღრმისეულად მოხდეს კაპილარულ ელექტროფორეზში მიღებული ენანტიომერების დაყოფის ფაქტორების და ქირალური გამოცნობის მექანიზმების კვლევა, თუმცა ამ მხრივ ჯერ კიდევ მნიშვნელოვანი სამუშაოა ჩასატარებელი, რათა საშუალება გვქონდეს განვსაზღვროთ ქირალურ გამოცნობაზე მოქმედი ფაქტორები და ვიწინასწარმეტყველოთ ქირალური ანალიზის შედეგები ქირალური სელექტორის, სელექტანდის ბუნებისა და სტრუქტურის გათვალისწინებით და ანალიზის პირობებზე დაყრდნობით.

## 5.2 ქირალური ნივთიერებების დაყოფა ციკლოდექსტრინების გამოყენებით

დაყოფა კაპილარულ ელექტროფორეზში დაფუძნებულია საკვლევი კომპონენტების განსხვავებულ ელექტროფორეტულ ძვრადობაზე კაპილარში მოდებული ელექტრული ველის ქვეშ. ენანტიომერები არ განსხვავდებიან თავიანთი ელექტროფორეტული ძვრადობებით ერთმანეთისაგან აქირალურ გარემოში. აქედან გამომდინარე მათი დაყოფა ამ პირობებში შეუძლებელია. იმისათვის რომ მივაღწიოთ ენანტიომერების დაყოფას კაპილარულ ელექტროფორეზში საჭიროა ქირალური სელექტორების შეყვანა სისტემაში. ქირალურ სელექტორებს აქვთ უნარი ენანტიოსელექტიურად გამოიცილონ ენანტიომერები ერთმანეთისაგან. იმისათვის რომ მოხდეს დაყოფა, უნდა წარმოიქმნას დროებითი არაკოვალენტური დიასტერეომერული კომპლექსები. კომპლექსწარმოქმნა წონასწორული პროცესია. კაპილარში გადაადგიებისას თავისუფალ მდგომარეობაში მყოფ ნივთიერებასა და ბმულს ქირალურ სელექტორთან უნდა გააჩნდეთ განსხვავებული ძვრადობები. გარდა ამისა, კომპლექსწარმოქმნის პროცესი სწრაფი უნდა იყოს

თეორიულად ენანტიომერების დაყოფა შესაძლებელია მაშინაც, როდესაც შეკავშირების მუდმივები ენანტიომერებისა და ქირალურ სელექტორთან არის ერთი და იგივე. დაყოფების მისაღწევას მცირე განსხვავება ეფექტური მუხტის სიმკვრივეებს შორის დიასტერეომერულ კომპლექსებში არ არის ყოველთვის საკმარისი ენანტიომერების დაყოფისთვის.

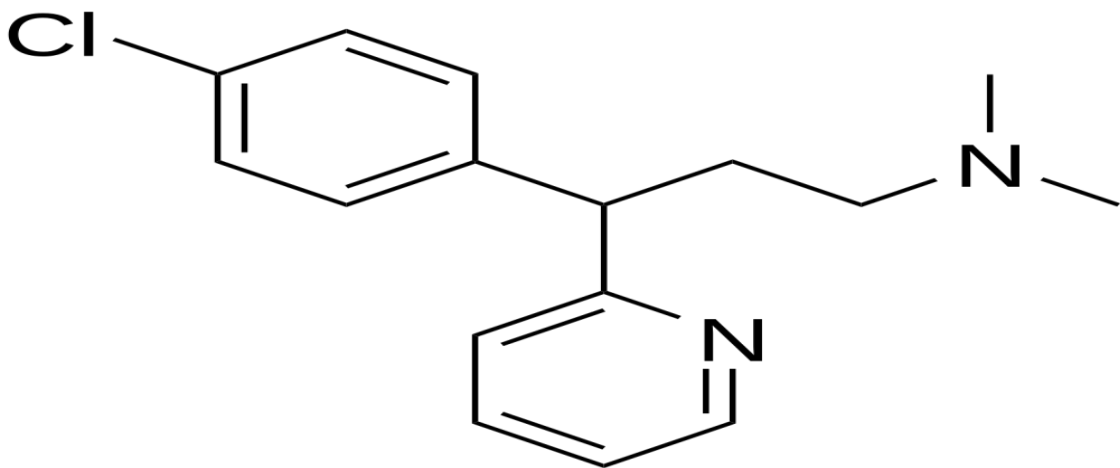
ენანტიომერების ელექტროფორეტულ ძვრადობებს შორის სხვაობა აღიმკვრება გარდამავალი დიასტერეომერული კომპლექსების წარმოქმნის ხარჯზე. დიასტერეომერებს გააჩნიათ ერთი და იგივე მუხტის სიმკვრივეები, აქედან გამომდინარე არ უნდა ხდებოდეს მათი დაყოფა, თუმცა, დიასტერეომერების განსხვავებული ძვდრობა გამოწვეულია განსხვავებული მუხტის სიმკვრივეებით, რომლის მიზეზიც არის მათი განსხვავებული ორიენტაცია სივრცეში და სპეციფიური

ურთიერთქმედება დიასტერეომერულ კომპლექსებში. დიასტერეომერების სივრცეში სხვადასხვა ორიენტაციას შეუძლია გამოიწვიოს დენის ნაკადის მიმართ განსხვავებული წინაღობა და განსხვავებული ეფექტური ძვრადობები. ეს მცირე განსხვავებები ზოგჯერ საკმარისია იმისათვის რომ მივიღოთ დიასტერეომერების ფუძისეული დაყოფები.

დროს, რომელსაც ნივთიერება კაპილარში ატარებს გარდამავალი კომპლექსის სახით დამოკიდებულია შეკავშირების მუდმივებზე. ასევე გარე პარამეტრებზე როგორცაა, ქირალური სელექტორის კონცენტრაცია, ტემპერატურა, ხსნარის პეაში. კომპლექსწარმოქმნის წონასწორობა ამ პროცესში შეიძლება ძლიერ იქნას გადახრილი კომპლექსწარმოქმნის მიმართულებით, მაგრამ ეს მოითხოვს ქირალური სელექტორის მაღალ კონცენტრაციას ან განსხვავებულ კომპლექსაციის უნარს.

## თავი VI. გამოყენებული ნივთიერება და ექსპერიმენტული ნაწილი

### ქლორფენირამინი- $C_{16}H_{19}ClN_2$



სურ.11

Chlorphenamine (ასევე ცნობილია, როგორც ქლორფენირამინი, CP ან CPM) არის პირველი თაობის ანტიჰისტამინური საშუალება, რომელიც გამოიყენება ალერგიული სიმპტომების პრევენციისთვის, როგორცაა რინიტი და ურტიკარია. მისი სედატიური ეფექტი შედარებით სუსტია სხვა პირველი თაობის ანტიჰისტამინურ პრეპარატებთან შედარებით. ქლორფენირამინი დაპატენტებულია 1948 წელს, ხოლო სამედიცინო მიზნებით გამოიყენება 1949 წლიდან.

ქლორფენირამინის – H<sub>1</sub>-ჰისტამინური რეცეპტორების ბლოკატორების ჯგუფიდან. პრეპარატი უფრო ეფექტურია დაუყოვნებელი ტიპის ალერგიული რეაქციების მკურნალობისა და პროფილაქტიკისათვის, რომლის დროსაც აღინიშნება პოხიერი უჯრედებიდან სისხლში დიდი რაოდენობით ჰისტამინის გამოთავისუფლება.

პრეპარატი ახდენს ანტიჰისტამინურ, ანტიქოლინურგულ, სედატიურ და ატროპინის მაგვარ ეფექტს. ქლორფენირამინი უზრუნველყოფს სისხლძარღვების გამტარობის ნორმალიზებას, ქავილის შემცირებას, გლუვი კუნთების სპაზმის მოხსნას და სხვა ეფექტებს. პრეპარატი ახდენს ხანმოკლე მოქმედებას, ამიტომ მისი მიღება სჭირთა ალერგენის მოქმედების მთელი პერიოდის განმავლობაში.

ქლორფენირამინი ასევე გამოიყენება ჩვენთვის ცნობილ სხვადასხვა გაციების პრეპარატებში, მაგ.: ტაიქოლდში.



სურ.12

3

<sup>3</sup> <https://en.wikipedia.org/wiki/Chlorphenamine>

## ექსპერიმენტული ნაწილი

კაპილარული ელექტროფორეზის ანალიზის პირობები:

1. 50mM ფოსფატური ბუფერი
2. ბუფერის pH 3.0
3. ტემპერატურა 20°C
4. კვარცის კაპილარი, დაუმუშავებელი შიდა ზედაპირით
5. კაპილარის მთლიანი სიგრძეს წარმოადგენდა 59 სმ, ხოლო ეფექტურ სიგრძეს 50სმ.
6. მოკლე კაპილარის შემთხვევაში, კაპილარის მთლიანი სიგრძე წარმოადგენდა 34სმ, ხოლო ეფექტური სიგრძე 25სმ.
7. კაპილარის შიდა დიამეტრი 50  $\mu\text{m}$

გამოყენებული ქირალური სელექტორები:

1.  $\alpha$ -ციკლოდექსტრინი
2.  $\beta$ -ციკლოდექსტრინი
3.  $\gamma$ -ციკლოდექსტრინი
4. ჰეპტაკის(2-6-დიმეთილ)- $\beta$ -ციკლოდექსტრინი
5. ჰეპტაკის(2-3-6-ტრიმეთილ)- $\beta$ -ციკლოდექსტრინი

ენანტიომერების დაყოფა კაპილარულ ელექტროფორეზში შესრულებული იქნა 50 mM კალიუმის დიჰიდროფოსფატის გამოყენებით, რომლის pH 3.0.

ნიმუშის ინიცირება კაპილარში ხდებოდა 30 მილიბარი წნევის საშუალებით 1 წამის განმავლობაში ან 50 მილიბარი წნევის საშუალებით 1 წამის განმავლობაში. ანალიზები ტარდებოდა მუდმივი ძაბვის 25 კილოვოლტის და 20 °C პირობებში. დეტექტირება ხდებოდა ულტრაიისფერ უბანში 200 და 220ნმ-ზე. ინიცირებამდე ხდებოდა

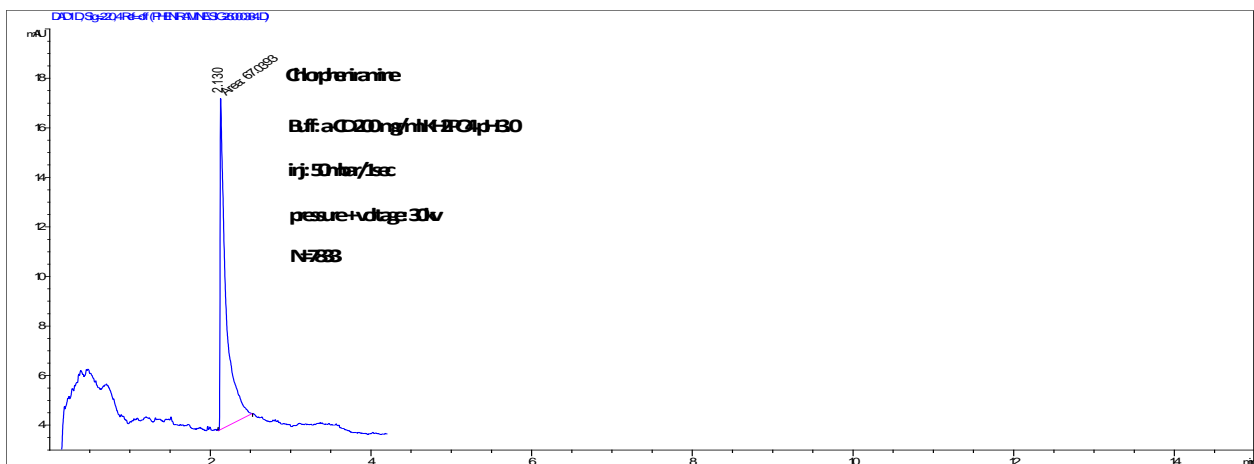
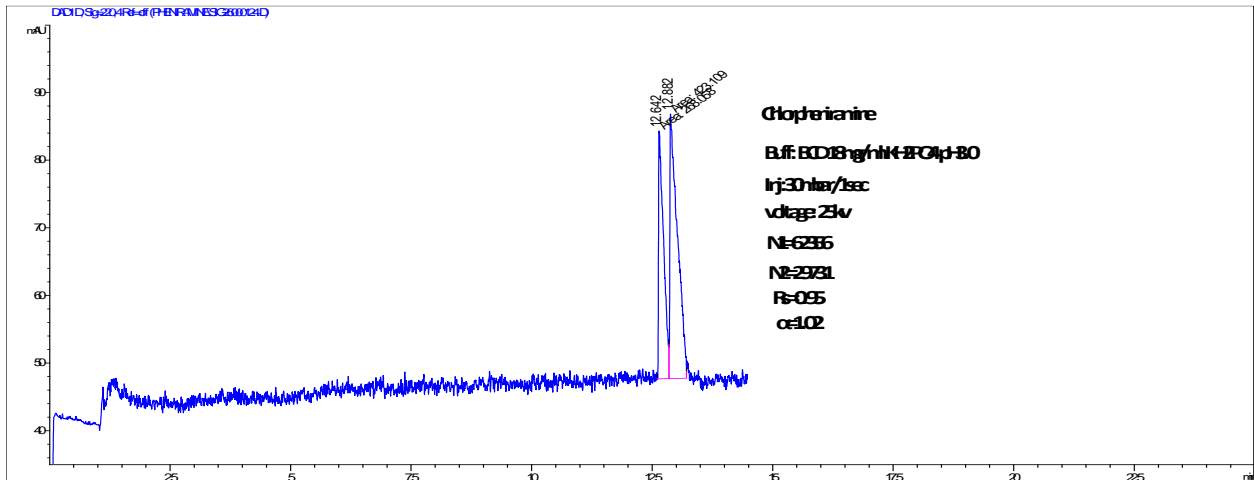
კაპილარის გარეცხვა 0,1N NaOH-ით 60 წამის განმავლობაში, შემდეგ მეთანოლით 60 წამის განმავლობაში, ამის შემდეგ ბუფერთა და ციკლოდექსტრინიანი ბუფერთა 2 წუთის განმავლობაში. სამუშაოს დამთავრების შემდეგ კაპილარი გარეცხვა ჯამში ხდებოდა 30 წუთის განმავლობაში, მეთანოლით, 1M NaOH-ით და შემდეგ 10 წუთით წყლით.

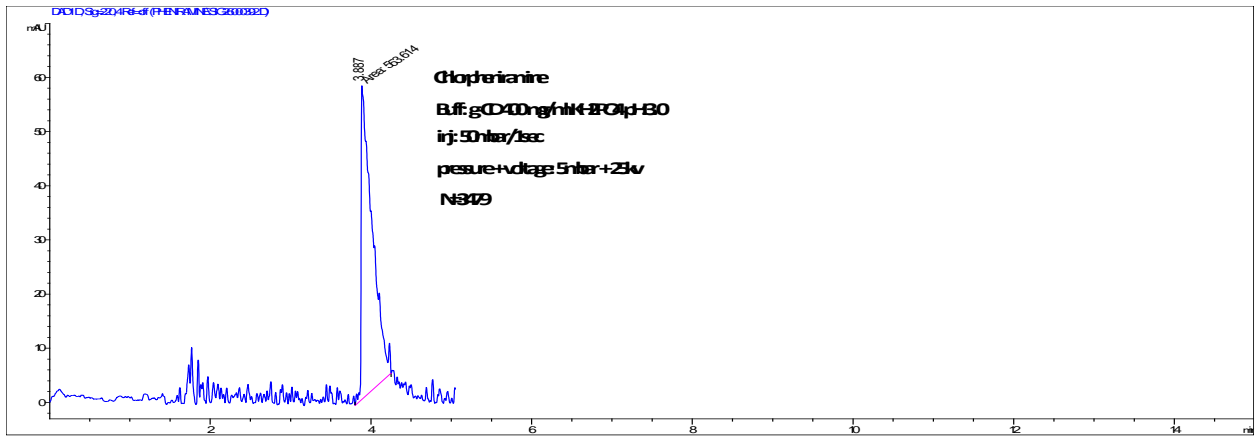
### მიღებული შედეგები

ქირალური სელექტორი	კონცენტრაცია, მგ/მლ	t <sub>1</sub> , წთ	t <sub>2</sub> , წთ	a	მიგრაციის რიგი
a-CD	200 მგ/მლ	3.067	-	-	-
b-CD	18 მგ/მლ	12.642	12.662	1.02	(-) - (+)
g-CD	400 მგ/მლ	3.887	-	-	-
DM-b-CD	50 მგ/მლ	20.136	-	-	-
TM-b-CD	80 მგ/მლ	12.905	13.100	1.02	(+) - (-)

## ქლორფენირამინის ენანტიომერების დაყოფა ბუნებრივი ციკლოდექსტრინების $\alpha$ , $\beta$ , $\gamma$ -ის გამოყენებით

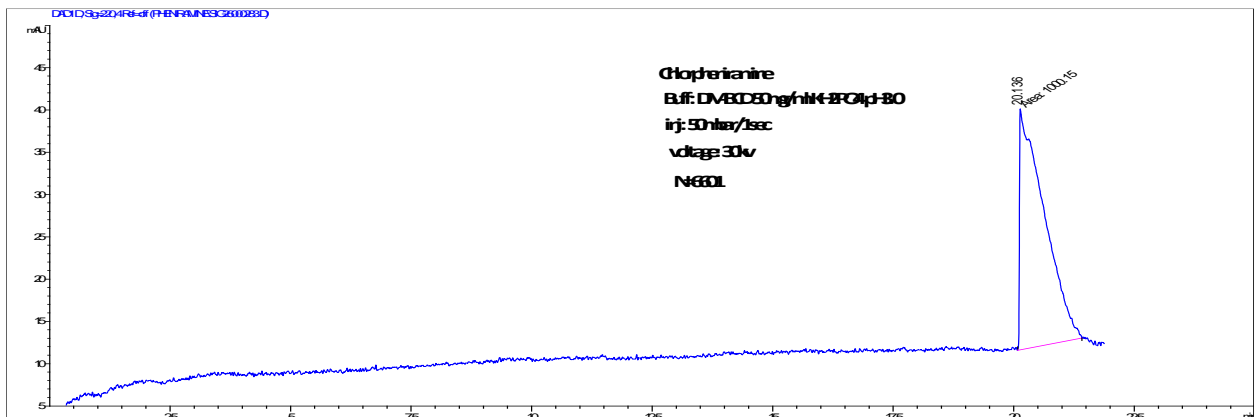
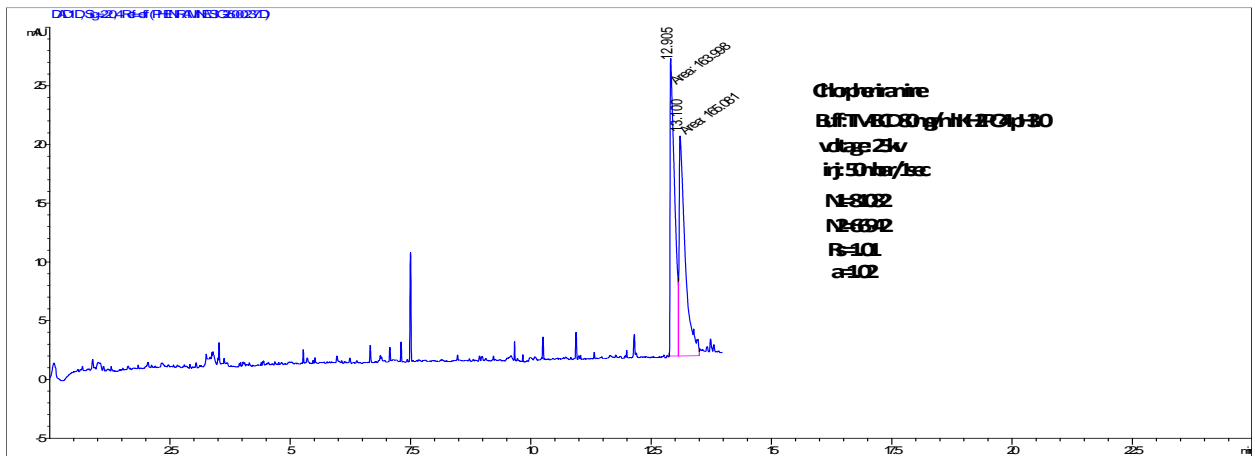
ქლორფენირამინის ნიმუშის ანალიზით ბუნებრივ ციკლოდექსტრინებთან:  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  ენანტიომერების დაყოფა არ დაფიქსირდა ალფა და გამა ნეიტრალურ ციკლოდექსტრინებზე, ხოლო  $\beta$ -ციკლოდექსტრინზე დაფიქსირდა. რადგანაც აღნიშნული ციკლოდექსტრინები მხოლოდ გლიკოპირანოზის ნაშთების რაოდენობით განსხვავდებიან ციკლში (6,7,8). აქედან გამომდინარე,  $\alpha$ -და  $\gamma$ -ციკლოდექსტრინების ციკლის ზომები არ აღმოჩნდა ოპტიმალური ენანტიომერების დასაყოფად.





ქლორფენირამინის ენანტიომერების დაყოფა β-ციკლოდექსტრინის ნეიტრალური-მეთილირებული ნაწარმები

როგორც ცნობილია, მეთილის ჯგუფების შეყვანა იწვევს ციკლოდექსტრინის ჰიდროფობური ღრუს სიმაღლის გაზრდას, რაც შემდგომში დაყოფის სელექტიურობას ზრდის. ციკლოდექსტრინებში ელექტრონების დონორი ჯგუფების შეყვანამ გამოიწვია მიგრაციის რიგის ცვლილება და აქედან გამომდინარე კომპლექსწარმოქმნის მექანიზმის ცვლილება.



## დასკვნა

შევისწავლეთ ქლორფენირამინის დაყოფა და მიგრაციის რიგის ცვლილება კაპილარულ ელექტროფორეზში ქირალურ სელექტორებად სხვადასხვა ციკლოდექსტრინების გამოყენებით.

ბუნებრივი ციკლოდექსტრინების გამოყენებისას დაყოფა ვერ მივიღეთ ორ შემთხვევაში,  $\alpha$ -და  $\gamma$ -ციკლოდექსტრინების ციკლის ზომები არ აღმოჩნდა ოპტიმალური ენანტიომერების დასაყოფად, ხოლო ბეტა ციკლოდექსტრინის ციკლის ზომები კი აღმოჩნდა და მოხდა დაყოფა.

მეთილის ჯგუფის შეყვანამ ციკლოდექსტრინის გარე შრე გახადა მეტად ჰიდროფობური, რამაც გაზარდა დაყოფის სელექტიურობა და გამოიწვია გამოცნობის მექანიზმის ცვლილება. აგრეთვე ციკლოდექსტრინებში ელექტრონების დონორი ჯგუფების შეყვანამ გამოიწვია მიგრაციის რიგის ცვლილება და აქედან გამომდინარე კომპლექსწარმოქმნის მექანიზმის ცვლილება - ტრი-მეთილ ბეტაციკლოდექსტრინის გამოყენების შემთხვევაში.

დი-მეთილ ბეტაციკლოდექსტრინის გამოყენების დროს არ მოხდა მიგრაციის რიგის ცვლილება და აქედან გამომდინარე კომპლექსწარმოქმნის მექანიზმის ცვლილება, ამ შემთხვევაში, როგორც აღმოჩნდა, გამოცნობის მექანიზმის შეცვლაში მნიშვნელოვან როლს არა მხოლოდ ჩამნაცვლებელი ჯგუფების ტიპი, არამედ მათი რაოდენობა და შესაბამისად სტერიული ფაქტორები თამაშობს.

## გამოყენებული ლიტერატურა

1. [B. Chankvetadze - Capillary Electrophoresis in Chiral Analysis, Wiley & Sons, Chichester, UK, 1997, 555 pp.]
2. [B. Chankvetadze; G. Pintore; N. Burjanadze; D. Bergenthal, D. Stickmann; R. Cerri; G. Blaschke –Capillary electrophoresis, nuclear magnetic resonance and mass spectrometry studies of opposite chiral recognition of chlorpheniramine enantiomers with various cyclodextrins (Electrophoresis 1998/19 – 2101-2108 pages);]
3. [A. Gogolashvili, E. Tatumashvili, L. Chankvetadze, T. Sohajda, J. Szeman, A. Salgado, B. Chankvetadze, Separation of enilconazole enantiomers in capillary electrophoresis with cyclodextrin-type chiral selectors and investigation of structure of selector-selectand complexes by using nuclear magnetic resonance spectroscopy; ]
4. [<https://en.wikipedia.org/wiki/Chlorphenamine>]
5. [<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/?term=chlorpheniramine>]
6. [<https://www.khanacademy.org/test-prep/mcat/chemical-processes/stereochemistry/a/chiral-drugs>]