



ივანე ჯავახიშვილის სახელობის თბილისის სახელმწიფო
უნივერსიტეტი

**ოქსაზეპამის ენანტიომერების გარდაქმნის
ქრომატოგრაფიული გამოკვლევა**

ზუსტ და საბუნებისმეტყველო მეცნიერებათა ფაკულტეტი ქიმიური
ექსპერტიზის პროგრამა

ჯული ფარქოსაძე

ნაშრომი შესრულებულია ქიმიის მაგისტრის ხარისხის მოსაპოვებლად

ხელმძღვანელები: ქიმიის მეცნიერებათა დოქტორი, საქართველოს მეცნიერებათა
ეროვნული აკადემიის აკადემიკოსი, ფიზიკური და ანალიზური ქიმიის კათედრის
სრული პროფესორი **ბეჟან ჭანკვეტაძე**

ქიმიის მეცნიერებათა დოქტორი, ფიზიკური და ანალიზური ქიმიის კათედრის
ასოცირებული პროფესორი **გიორგი ბეზარაშვილი**

თბილისი

2021 წელი

სარჩევი

ანოტაცია	4
SUMMARY	5
1.შესავალი.....	6
2. ლიტერატურული მიმოხილვა	8
2.1. სტერეოიზომერია და ქირალობა.....	8
2.2. ენანტიომერების დაყოფის ინსტრუმენტული მეთოდები	11
2.2.1. ქრომატოგრაფიის ზოგადი დახასიათება.....	11
2.2.2 მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფია.....	12
2.2.3. ძირითადი მახასიათებლები მაღალეფექტურ სითხურ ქრომატოგრაფიაში.....	15
2.2.4 გაზური ქრომატოგრაფია	20
2.2.5 ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფია	21
2.2.6 კაპილარული ელექტროფორეზი	21
2.3. პოლისაქარიდული ქირალური სტაციონალური ფაზები.....	22
2.3.1. ქირალური სტაციონალური ფაზების ოპტიმიზაცია.....	24
2.4. ენანტიომერიზაცია.....	26
2.4.1. ენანტიომერიზაცია და რაცემიზაცია.....	26
2.5. ენანტიომერიზაციის რეაქციის კინეტიკური დახასიათება	27
2.5.1 აქტიურ დაჯახებათა არენიუსის თეორია.....	27
2.5.2 ენანტიომერიზაციის რეაქციის აქტივაციის თავისუფალი ენერგია	29
2.5.3 ენანტიომერიზაციის კინეტიკის ექსპერიმენტული შესწავლა.....	32
3. ექსპერიმენტული ნაწილი	36
3.1. საკვლევი ნივთიერება	36
3.2. მოძრავი ფაზა	37
3.3. ქირალური სტაციონალური ფაზები	37
3.4. ანალიზის პირობები.....	38
3.5. გამოყენებული აპარატურა	39
4. ექსპერიმენტის შედეგები და მათი განსჯა	40
4.1. ქრომატოგრამები იმობილიზებული ცელულოზა-5 სვეტისთვის	40
4.1.1. კინეტიკური გამოთვლები იმობილიზებული ცელულოზა-5 სვეტისთვის არენიუსის განტოლების გამოყენებით.....	42
4.1.2. კინეტიკური გამოთვლები იმობილიზებული ცელულოზა-5 სვეტისთვის ეირინგის განტოლების გამოყენებით.....	45
4.2. ქრომატოგრამები ცელულოზა-1 სვეტისთვის.....	49
4.2.1. კინეტიკური გამოთვლები ცელულოზა-1 სვეტისთვის არენიუსის განტოლების გამოყენებით.....	51
4.2.2. კინეტიკური გამოთვლები ცელულოზა-1 სვეტისთვის ეირინგის განტოლების გამოყენებით.....	53
4.3. თხევად ფაზაში მიმდინარე რაცემიზაციის რეაქცია.....	56
4.3.1 ჰომოგენური ენანტიომერიზაციის რეაქციის კინეტიკური დახასიათება.....	61
4.3.2. დიეთილამინი როგორც ჰომოგენური კატალიზატორი ენანტიომერიზაციის რეაქციაში.....	70

5. დასკვნები:	81
6. გამოყენებული ლიტერატურა:	82

ანოტაცია

წინამდებარე კვლევის მიზანი იყო ოქსაზეჰამის ენანტიომერების გარდაქმნის შესწავლა ცელულოზა ტრის (3,5-მეთილფენილკარბამატის) სილიკაგელზე დაფენით მომზადებულ და იმობილიზებული ცელულოზა ტრის (3,5-დიქლორფენილკარბამატის) ქრომატოგრაფიულ სვეტებზე სითხურ ქრომატოგრაფიაში მოძრავ ფაზად მეთანოლის გამოყენებით და შესაბამისი პროცესის კინეტიკური დახასიათება. აგრეთვე მოცემულ ნაშრომში წარმოდგენილია ოქსაზეჰამის ენანტიომერების ფრაქციონირება და თითოეული ენანტიომერისთვის რაცემიზაციის რეაქციის სიჩქარის განსაზღვრება და ამ პროცესში დიეთილამინის, როგორც შესაძლო ჰომოგენური კატალიზატორის როლის შესწავლა.

ენანტიომერიზაცია ეს არის პროცესი, რომელიც აღწერს ერთი ენანტიომერის მეორე ენანტიომერში შექცევად გადასვლას მიკროსკოპულ დონეზე.

Summary

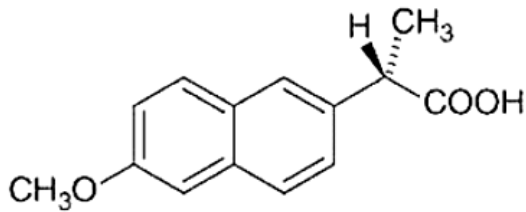
The goal of our research was to study of effect of temperature on the separation process of oxazepam enantiomers on coated cellulose tris (3,5-methylphenylcarbamate)-based and immobilized cellulose tris (3,5-dichlorophenylcarbamate) chiral stationary phase in high-performance liquid chromatography (HPLC) with methanol as a mobile phase. Based on the obtained results the rate constants and activation energy of enantiomerization process were determined.

Enantiomerization is a process describing the reversible conversion of one enantiomer into the other on a microscopic level. Temperature dependence of rate constants of enantiomerization can be conveniently studied chromatographically using peak shape analysis. A peak form analysis describes the elution profiles of interconverting enantiomers during their resolution on a chiral stationary phase in a HPLC column.

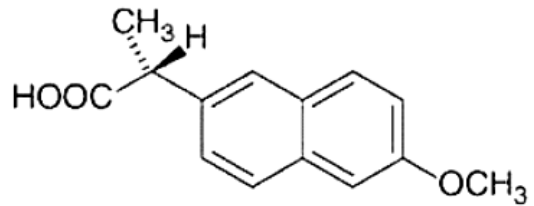
1.შესავალი

ქირალური ნაერთები ბუნებაში ფართოდ გავრცელებული ნივთიერებებია. ისინი არსებობს ორი ოპტიკური იზომერის ენანტიომერების სახით. ენანტიომერები არის სივრცული იზომერები, რომლებიც ერთმანეთისგან განსხვავდება ატომთა ჯგუფების განლაგებით სივრცეში. აქირალურ გარემოში მათი ფიზიკური და ქიმიური თვისებები მსგავსია, თუმცა ისინი ხასიათდება სინათლის პოლარიზაციის სიბრტყის ბრუნვის საპირისპირო ნიშნით. ენანტიომერები იყოფა მარცხნივ მბრუნავ და მარჯვნივ მბრუნავ იზომერებად. მარცხნივ მბრუნავი ხშირად აღინიშნება „S“ ნიშნით, ხოლო მარჯვნივ მბრუნავი „R“ ნიშნით, ხოლო „S“ და „R“ იზომერების ექვიმოლური (50/50) ნარევის რაცემატი ეწოდება და აღინიშნება „R,S“ ნიშნით ან. რაცემატს არ ახასიათებს ოპტიკური აქტიურობა [1,2].

ქირალური ნივთიერებების ენანტიომერების დაყოფა თანამედროვე ქიმიაში აქტუალურ საკითხს წარმოადგენს, ეს განპირობებულია იმით, რომ ქირალური ნივთიერებები გვხვდება ყოველდღიურ ცხოვრებაში, რომელთა რიცხვს მიეკუთვნება სამკურნალწამლო საშუალებები, საკვები დანამატები, სასოფლო-სამეურნეო შხამ-ქიმიკატები და სხვა ბიოლოგიურად აქტიური ნაერთი, გარდა ამისა, ენდოგენური ქირალური ნივთიერებების ენანტიომერული შედგენილობის შესწავლის საფუძველზე შეიძლება გაკეთდეს დიაგნოსტიკური თვალსაზრისით მნიშვნელოვანი დასკვნები. ამასთან ზოგიერთი ქირალური ნივთიერების ენანტიომერები ხასიათდებიან მკვეთრად განსხვავებული ფიზიოლოგიური მოქმედებით. მაგალითად ზოგიერთი ნივთიერების მხოლოდ ერთი ენანტიომერი არის პასუხისმგებელი გარკვეულ ქმედებაზე, ხოლო მეორე ენანტიომერი არ იჩნეს შესაბამის აქტივობას, ამიტომაც აუცილებელია თითოეული ენანტიომერის ცალ-ცალკე სუფთა სახით მიღება ან მათი დაყოფა. მაგალითად, S-ნაპროქსენი ანთების საწინააღმდეგო წამალია, მაშინ როდესაც R-ნაპროქსენი ღვიძლის ტოქსინია.



ანთების საწინააღმდეგო პრეპარატი



ღვიძლის ტოქსინი

ნახ.1. ნაპროქსენის ენანტიომერები

აღსანიშნავია, რომ სამკურნალოწამლო საშუალებების ნახევარზე მეტი ერთ ქირალურ ცენტრს მაინც შეიცავს. მიხედვად იმისა, რომ ენანტიომერებს აქირალურ გარემოში მსგავსი ქიმიური და ფიზიკური თვისებები აქვთ, ისინი ავლენენ განსხვავებულ ფარმაკოლოგიურ, ტოქსიკოლოგიურ, მეტაბოლიტურ აქტივობებს. ძალიან მნიშვნელოვანია ის გარემოება, რომ ხშირ შემთხვევაში ქირალური ნივთიერების ერთ ენანტიომერს აქვს დადებითი ხოლო მეორეს უაროვითი ბიოლოგიური მოქმედება ცოცხალი ორგანიზმზე. ამის მაგალითს წარმოადგენს XX საუკუნის 60-იან წლებში პრეპარატ თალიდომიდის შემთხვევა, ეს პრეპარატი რაცემული სახით ენიშნებოდათ ორსულ ქალებს, როგორც გულისრევის საწინააღმდეგო საშუალება. გაირკვა, რომ თალიდომიდის ერთ-ერთი ენანტიომერი ნაყოფში კიდურების განუვითარებლობას იწვევდა. თუმცა შემდეგ დაადგინეს, რომ ენანტიომერულად სუფთა თალიდომიდის მიღების შემთხვევაშიც, იგი ორგანიზმში განიცდის რაცემიზაციას და ნაწილობრივ მის ტოქსიურ ენანტიომერში გარდაიქმნება. დღესდღეობით მისი გამოყენება აკრძალულია ფეხმძიმეთათვის.

ენანტიომერების დაყოფა აქირალურ გარემოში შეუძლებელია, ეს განპირობებულია მათი ფიზიკური და ქიმიური თვისებების იდენტურობით. მხოლოდ XX საუკუნის 60-იან წლებში მოხერხდა ენანტიომერული ნარევის დაყოფა გაზური ქრომატოგრაფიის გამოყენებით. ხოლო 1970-იანი წლებიდან განვითარდა, ენანტიომერული ნარევის დაყოფის სითხურ-ქრომატოგრაფიულ მეთოდები, რაც შეეხება კაპილარული ელექტროფორეზულ მეთოდს მისი განვითარება 80-იანი წლების ბოლოს დაიწყო.

ენანტიომერების დასაყოფად ყველაზე გავრცელებულ მეთოდს მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფია წარმოადგენს. მეთოდი უნივერსალურია, მარტივია და სტაციონალური ფაზების ვარიაციის საშუალებას იძლევა. ქრომატოგრაფიულად

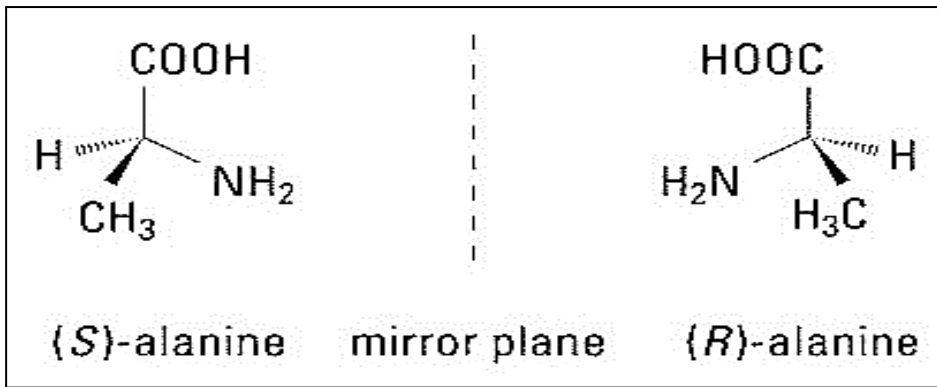
შესაძლებელია არა მარტო ენანტიომერული ნარეგების დაყოფა, არამედ ცალკეულ შემთხვევებში ენანტიომერების გარდაქმნის პროცესების კინეტიკური და თერმოდინამიკური მახასიათებლების დადგენა.

წინამდებარე სამუშაოს მიზანს წარმოადგენდა ოქსაზეპამის ენანტიომერების ენანტიომერიზაციის და რაცემიზაციის პროცესების კინეტიკური გამოკვლევა.

2. ლიტერატურული მიმოხილვა

2.1. სტერეოიზომერია და ქირალობა

სტერეოიზომერები წარმოადგენს ნაერთებს, რომლებსაც აქვთ ერთნაირი ქიმიური შემადგენლობა და ქიმიური ბმების ერთობლიობა, მაგრამ განსხვავდებიან ჩამნაცვლებლების სივრცითი ორიენტაციით. ნაერთები, რომელთაც აქვთ უნარი შემოაბრუნონ პოლარიზებული სინათლის სხივი არიან ოპტიკურად აქტიურები. ოპტიკური იზომერები ერთნაირი კუთხით, მაგრამ ურთიერთსაწინააღმდეგო მიმართულებით აბრუნებს სინათლის პოლარიზაციის სიბრტყეს. ასეთი სახის იზომერია ჩნდება მაშინ, როდესაც მოლეკულას შეუძლია სივრცეში მიიღოს ორი განლაგება საიდანაც ერთი წარმოადგენდეს მეორის სარკისებურ გამოსახულებას. ეს ნივთიერებები ერთმანეთის ანტიპოდები არიან და მათ ენანტიომერები ეწოდებათ. ოპტიკური აქტიურობა ანუ ქირალობა (ბერძნულად ხელი) თავს იჩენს მოლეკულაში ქირალობის ცენტრის ან ქირალობის სხვა ელემენტის არსებობისას, ხშირად ეს არის ნახშირბადის ატომი ოთხი სხვადასხვა ჩამნაცვლებელი ჯგუფით, თუმცა ასევე არსებობს ასიმეტრიულად ჩანაცვლებული აზოტი, გოგირდი, სილიციუმი, ფოსფორი. როდესაც მოლეკულაში ერთი ქირალური ცენტრია, ასეთი ნივთიერება ორი ენანტიომერის სახით არსებობს, ქირალური ცენტრების რაოდენობის გაზრდასთან ერთად სტერეოიზომერების რიცხვი იზრდება 2^n -ის მიხედვით, სადაც n ქირალური ცენტრების რაოდენობაა [1,2].



ნახ.2. ალანინის ენანტიომერები

ოპტიკური აქტიურობის მოვლენა 1808 წელს აღმოაჩინა ფრანგმა მეცნიერმა მალუსმა ისლანდიური შპატის კრისტალში სინათლის სხივის გავლისას, სადაც სხივის ორმაგ გარდატეხას ჰქონდა ადგილი, წარმოიქმნება ორი ბრტყლად პოლარიზებული სინათლის სხივი, ურთიერთმართობულ სიბრტყეში. ეს კრისტალი გამოიყენება სინათლის პოლარიზაციისათვის და მას ნიკოლის პრიზმა უწოდეს. პოლარიმეტრი ნიკოლის ორ პრიზმას შეიცავს. პირველში გავლისას სინათლის სხივი პოლარიზდება და ორი პოლარიზებული სხივიდან ერთი გაივლის პრიზმაში, მეორე კი აირეკლება. ამ ნაწილს პოლარიზატორი ეწოდება. თუ მას მეორე პოლარიზაციულ ფილტრს, ანალიზატორს, დავუხვედრებთ, მაშინ სხივის ინტენსივობა უკვე დამოკიდებული იქნება ანალიზატორის მდებარეობაზე პოლარიზატორის მიმართ. თუ პრიზმები ერთმანეთის პარალელურია, სხივი უპრობლემოდ გაივლის ორივე პრიზმას სრული ინტენსივობით, ხოლო თუ მათ შემოვარუნებთ ერთმანეთის მიმართ 90° -იანი კუთხით, მაშინ სხივი ვეღარ გაივლის და მოხდება მისი ჩაქრობა. ამ ორ შემთხვევას შორის შუალედურ მდგომარეობაში სინათლე ანალიზატორიდან გავა მეტ-ნაკლები ინტენსივობით [1].

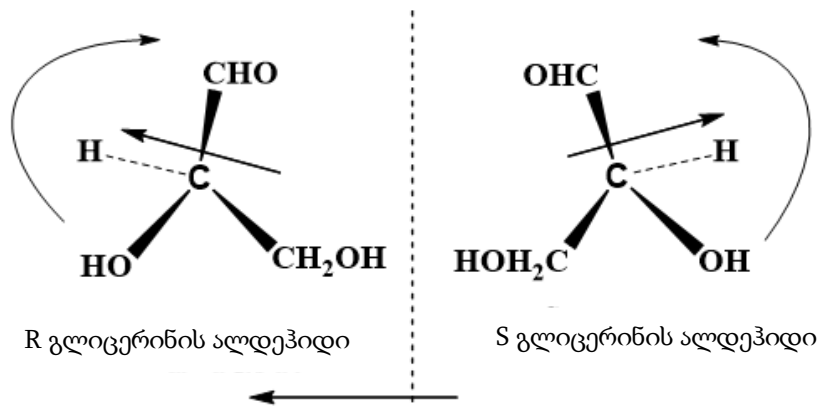
1813 წელს ფრანგმა ფიზიკოსმა ბიომ აღმოაჩინა, რომ ნივთიერებათა მთელი რიგი ნიკოლის ორ პრიზმას შორის მოთავსების შემთხვევაში სინათლის გავრცელების კუთხეს ცვლის. კუთხის ცვლილება ხდებოდა როგორც კრისტალურ, ასევე თხევად და გახსნილ მდგომარეობაში, ამიტომ ოპტიკური აქტიურობა ვერ იქნებოდა მხოლოდ კრისტალის ასიმეტრიის შედეგი და ის მოლეკულის თვისება უნდა ყოფილიყო [1].

სტერეოქიმიაში მნიშვნელოვანი გამოკვლევები ეკუთვნის ფრანგ მეცნიერ ლუი პასტერს. მან XIX საუკუნის 50-იან წლებში ექსპერიმენტის მსვლელობისას მიიღო ყურძნის

მჟავას ნატრიუმ-ამონიუმის მარილის პრიზმული კრისტალები, რომლებიც ასიმეტრიული იყვნენ. კრისტალების ერთ ნაწილს დამახასიათებელი წახნაგი ჰქონდა მარჯვნივ, ხოლო მეორეს კი მარცხნივ. ზოგადად მან რაცემული ნარევის ანტიპოდებად დაყოფის სამი კლასიკური მეთოდი შემოგვთავაზა: 1. მექანიკური გადარჩევის მეთოდი. გარკვეულ პირობებში მჟავათა რაცემული მარილები კრისტალებიან სხვადასხვა ენანტიომორფულ ფორმებში, ისე როგორც საგანი და მისი სარკისებული გამოსახულება. ამ კრისტალების ერთმანეთისაგან დაცილება მექანიკურად არის შესაძლებელი ძლიერ გამადიდებელი მინის და პინცეტის საშუალებით. 2. ბიოლოგიური მეთოდი. სხვადასხვა მიკროორგანიზმებს გააჩნიათ უნარი საკვებად გამოიყენონ ერთერთი ანტიპოდი, ჩვეულებრივ ის ფორმა, რომელიც უფრო გავრცელებულია ბუნებაში. 3. ქიმიური მეთოდი - დიასტერეომერული კრისტალიზაცია. მჟავას ოპტიკური იზომერების ნარევის ემატება ოპტიკურად აქტიური ფუძე, რის შედეგად მიიღება დიასტერეომერული ორი მარილი, რომლებსაც გააჩნიათ სხვადასხვა ხსნადობა. დაცილების შემდეგ მათი ხსნარებიდან ოპტიკურ ანტიპოდებს გამოყოფენ ძლიერი მჟავას დამატებით[2].

ორგანულ ქიმიაში ფართოდ გამოიყენება კანის, ინგოლდის და პრელოგის მიერ მოწოდებული ოპტიკური იზომერების ნომენკლატურა. ამ ნომენკლატურის მიხედვით ქირალურ ცენტრთან მდგომ ატომებს მიაკუთვნებენ უმცროს-უფროსობას, რაც განისაზღვრება შესაბამისი ატომების რიგობრივი ნომრის მიხედვით. ამ სისტემით ქირალური ცენტრის კონფიგურაციის აღნიშვნისათვის გამოიყენება სიმბოლოები R (ლათინური rectus - მარჯვენა) და S (ლათინური sinister - მარცხენა).

აბსოლუტური კონფიგურაციის განსაზღვრისათვის ქირალური ცენტრის ტეტრაედრს აკვირდებიან უმცირესი ჩამნაცვლებლის პირდაპირ მდებარე წახნაგის მხრიდან და არკვევენ ამ წახნაგის წვეროებში განლაგებული ჯგუფების უფროსობის შემცირების მიმართულებას. R კონფიგურაციის შემთხვევაში ამ ჯგუფების უფროსობა მცირდება საათის ისრის მოძრაობის მიმართულებით, S კონფიგურაციის შემთხვევაში კი პირიქით - საათის ისრის მოძრაობის საწინააღმდეგო მიმართულებით. მაგალითად, გლიცერინის ალდეჰიდის შემთხვევაში უმცირესი ჩამნაცვლებელია წყალბადატომი. ტეტრაედრს უნდა დავაკვირდეთ C-H-ბმის ღერძის გასწვრივ ნახშირბადატომიდან წყალბადატომისაკენ. ამ დროს დანარჩენი სამი ჩამნაცვლებელი განლაგდება დამკვირვებელთან ახლოს მდებარე წახნაგის წვეროებში[2].



ნახ.3. R და S გლიცერინის ალდეჰიდი

2.2. ენანტიომერების დაყოფის ინსტრუმენტული მეთოდები

2.2.1. ქრომატოგრაფიის ზოგადი დახასიათება

ქრომატოგრაფია ნარევების შემადგენელ კომპონენტებად დაყოფის მეთოდია, რომელიც ემყარება საანალიზო ნივთიერებების არათანაბარ განაწილებას ორ, მოძრავ და უძრავ ფაზებს შორის. ქრომატოგრაფიულ ექსპერიმენტში საკვლევი ნარევის შეყვანა ხდება უძრავ ფაზაზე, როგორც წესი სტაციონალური ფაზა მოთავსებულია მეტალის მილში ან კვარცის კაპილარში და მას ქრომატოგრაფიული სვეტი ეწოდება. იმისთვის, რომ ნიმუშის კომპონენტები გადაადგილდეს ქრომატოგრაფიულ სვეტში აუცილებელია, ისინი იმყოფებოდეს მოძრავ ფაზაში, რომელიც შესაძლოა იყოს სითხე, აირი, ან ზეკრიტიკული წნევების მქონე სითხე. ამასთან კომპონენტები, რომლებიც სტაციონალურ ფაზაში უფრო მეტად განაწილდებიან, უფრო ნელა მოძრაობენ, ვიდრე კომპონენტები რომლებიც უფრო მეტად მოძრავ ფაზაში განაწილდებიან. ამრიგად, კომპონენტების წრფივ სიჩქარეებს შორის განსხვავება არის მათი დაყოფის მიზეზი [3].

ქრომატოგრაფიას საფუძველი XX საუკუნეში ჩაეყარა მიხეილ ცვეტის მიერ 1900 წელს ჩატარებული ექსპერიმენტის საფუძველზე. მეცნიერის მიზანს წარმოადგენდა ფოთლის ექსტრაქტიდან პიგმენტების - ქლოროფილის, კაროტენების და ქსანტოფილების დაყოფა. ცვეტმა გამოყენებულ მეთოდს ქრომატოგრაფია უწოდა [4].

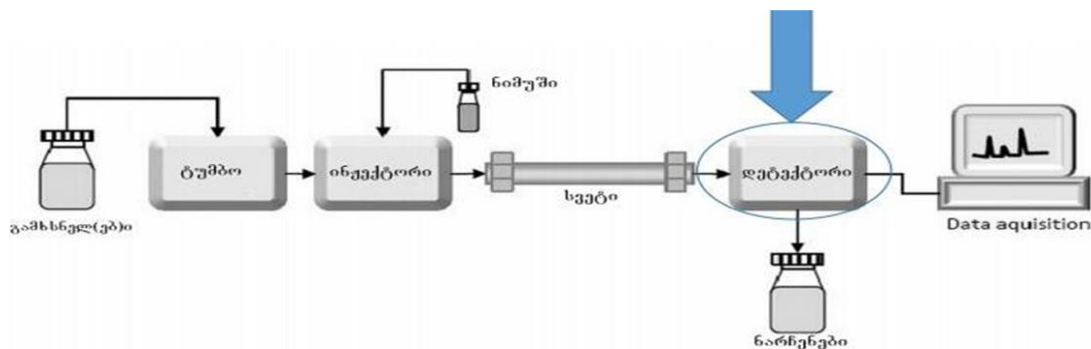
მოძრავი და უძრავი ფაზების აგრეგატული მდგომარეობის მიხედვით განასხვავებენ აირად და თხევად ქრომატოგრაფიას, არსებობს ასევე ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფია. თავის მხრივ, თხევადი ქრომატოგრაფიული პროცესების კლასიფიკაცია შეიძლება შემდეგნაირად მოვახდინოთ: ქრომატოგრაფია სვეტში, როდესაც იყენებენ სვეტებს და სიბრტყეზე, როდესაც იყენებენ ბრტყელ ფირფიტებს- (თხელფენოვანი ქრომატოგრაფია) ან ქაღალდს.

ქრომატოგრაფიულ სვეტში დაყოფილი კომპონენტები შემდეგ ხვდებიან დეტექტორში, რომლის მეშვეობითაც ხდება კომპონენტების თვისებით და რაოდენობით იდენტიფიკაცია. სიგნალი ჩაიწერება ორგანოზომილებიანი ჩანაწერი სახით, რომელსაც ქრომატოგრამა ეწოდება. ქრომატოგრამა დეტექტორის სიგნალის დროზე დამოკიდებულების გრაფიკაა. ქრომატოგრაფიული დაყოფის მეთოდის შერჩევასას აუცილებელ პირობაა, რომ მოხერხდეს ნარევის შემადგენელი კომპონენტების რაც შეიძლება კარგი დაყოფა დროისა და რეაგენტების მინიმალური დანახარჯით.

2.2.2 მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფია

მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფია ორგანულ ნივთიერებათა დაყოფისა და მათი განსაზღვრის ყველაზე ფართოდ გამოყენებულ მეთოდს წარმოადგენს. ვინაიდან მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფია საშუალებას იძლევა ანალიზი ჩატარდეს ოთახის ტემპერატურაზე, მას დიდი მნიშვნელობა აქვს თერმოლაბილური და არააქროლადი ორგანული ნივთიერებების ანალიზისთვის, რომელთა რიცხვს მიეკუთვნება: ორგანიზმში არსებული სხვადასხვა ენდოგენური ნაერთები, გარემოს დამაბინძურებელი ორგანული ნივთიერებები, ფარმაცევტული პრეპარატები და სხვა. მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფი შედგება ხუთი ძირითადი ნაწილისაგან, თითოეულ მათგანს აქვს თავისი დანიშნულება, თუმცა შესაძლებელია დამატებით სხვა ბლოკების გამოყენებაც.

სითხური ქრომატოგრაფის სქემა



ნახ.4. სითხური ქრომატოგრაფის სქემა

ძირითადი ნაწილებია:

1. ტუმბო
2. ინჟექტორი
3. სვეტი
4. დეტექტორი
5. მონაცემების ჩამწერი მოწყობილობა

ტუმბოს მეშვეობით ქრომატოგრაფიულ სვეტს მიეწოდება მოძრავი ფაზა. მაღალეფექტურ სითხურ ქრომატოგრაფიაში გამოიყენება ორი ტიპის ტუმბო: გრადიენტული და იზოკრატული, ეს უკანასკნელი გამოიყენება იმ შემთხვევაში, როცა არაა საჭირო მოძრავი ფაზის შემადგენლობის გრადიენტული ცვლილება, ხოლო როდესაც მოძრავი ფაზის შემადგენლობას ანალიზის პროცესში ვცვლით, გამოიყენება გრადიენტული ტუმბო. რაც შეეხება ინჟექტორს იგი ნიმუშის ქრომატოგრაფიულ სვეტში შემყვანი მოწყობილობაა, რომელიც ასევე ორი სახისაა: ხელის და ავტომატური,

ავტომატური ინჟექტორები უზრუნველყოფენ ნიმუშების ზუსტი რაოდენობით შეყვანას მინიმალური დაბინძურებით, ხოლო ხელის ინჟექტორის ძირითადი უპირატესობა მისი სიაფა [5,6]. შემდეგი ბლოკი ქრომატოგრაფიული სვეტია, რომელშიც ხდება ნივთიერებების ნარეგების ცალკეულ კომპონენტებად დაყოფა. გამოიყენება სხვადასხვა ზომის სვეტები. მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფიის განვითარებასთან ერთად შეიქმნა ახალი ტიპის ქრომატოგრაფიული სვეტები, რომლებიც მცირე ზომებით ხასიათდება. დეტექტორის მეშვეობით ხდება დაყოფილი კომპონენტების რეგისტრაცია, ყველაზე ფართო გამოყენება აქვს ულტრაისფერ-ხილულ დეტექტორებს, რომლებიც კიუვეტაში გამავალი ხსნარის მიერ სინათლის აბსორბციას აფიქსირებს. ბოლო ბლოკი არის მონაცემების ჩამწერი მოწყობილობა, რომელიც დეტექტორიდან მიწოდებულ ინფორმაციას ჩაწერს ქრომატოგრამის სახით.

მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფიული ანალიზები ძირითადად ორ რეჟიმში ტარდება: პირდაპირ-ფაზიანი და შებრუნებულ-ფაზიანი. ნორმალურ ფაზიანში სტაციონალური ფაზა პოლარულია (მაგ: სილიკაგელი, ალუმინის ოქსიდი), ხოლო მოძრავი ფაზა არაპოლარული ან მცირედ პოლარულია (ჰექსანი ან ჰეპტანი იზოლპროპანოლის ტეტრაჰიდროფურანის და სხვათა მცირე დანამატებით), შებრუნებულფაზიან ვარიანტში პირიქით სტაციონალური ფაზა არის არაპოლარული (სილიკაგელი მოფიცირებული სხვადასხვა სიგრძის ალკილური ჯგუფებით), ხოლო მოძრავი ფაზა პოლარულია და წარმოადგენს წყლისა და ორგანული გამხსნელის ნარეგს. წყალი ძლიერი ძაბულირებელი გარემოა ადსორბციულ ქრომატოგრაფიაში. იგი ძლიერად ურთიერთქმედებს სილიკაგელთან ან ალუმინის ოქსიდის აქტიურ ცენტრებთან, რაც ხელს უშლის ნიმუშის მოლეკულების ადსორბციას და ისინი სწრაფად ელუირდება. სრულიად საწინააღმდეგოდ მოქმედებს წყალი შებრუნებულფაზიან ქრომატოგრაფიაში. წყალს არ შეუძლია დაასველოს არაპოლარული ალკილური ჯგუფები და არ ურთიერთქმედებს მათთან. აქედან გამომდინარე, იგი ყველაზე უფრო სუსტი მოძრავი ფაზაა და ნიმუშის ელუირების სიჩქარე ძალიან დაბალია. რაც უფრო მეტია წყლის შემცველობა ელუენტში, მით უფრო ხანგრძლივია ნიმუშის შეკავების დრო[3].

შეკავების დრო უფრო მეტია, რაც მეტია ნახშირბადის ატომების რიცხვი მოლეკულაში, რაც დამოკიდებულია ქრომატოგრაფიის ტიპზე. ზოგადი წესის თანახმად, შეკავების დრო იზრდება ნიმუშის მოლეკულებსა და სტაციონარულ ფაზას შორის ფართობის გაზრდით, რომელიც გამოთავისუფლდება ნივთიერების ადსორბციის დროს. განტოტვილი ჯაჭვის ნივთიერებები უფრო სწრაფად ელუირდება, ვიდრე შესაბამისი ხაზოვანი იზომერები.

გამხსნელების პოლარობა მცირდება და მაელუირებელი ძალა იმატებს შემდეგი თანმიმდევრობით: მეთანოლი, აცეტონიტრილი, ეთანოლი, იზოპროპანოლი, დიმეთილფორმამიდი, პროპან-1-ოლი, დიოქსანი, ტეტრაჰიდროფურანი.

შებრუნებულფაზიანი ქრომატოგრაფია თავსებადია წყლიან ნიმუშებთან, ისეთებთან როგორცაა მაგალითად: გარემოს ნიმუშები, ფარმაცევტული პრეპარატები, სასმელები. რადგანაც წყალი არის ყველაზე სუსტი ელუენტი, წყალხსნარები ქრომატოგრაფიულ სვეტზე შეიძლება შევიყვანოთ წინასწარი დამუშავების გარეშე (თუმცა ფილტრაცია და ცენტრიფუგირება აუცილებელია)[3].

მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფია მრავალ დარგში გამოიყენება. პირველ რიგში, სამკურნალწამლო საშუალებათა ანალიზში, რომლებიც ფართომასშტაბიან გამოყენებამდე აუცილებლად უნდა იქნეს შემოწმებული და საფუძვლიანად შესწავლილი. საჭიროების შემთხვევაში უნდა მოხდეს ქირალური ბუნების სამკურნალწამლო საშუალების ენანტიომერების დაყოფა და მავნე ზემოქმედების მქონე ენანტიომერის მოცილება.

2.2.3. ძირითადი მახასიათებლები მაღალეფექტურ სითხურ ქრომატოგრაფიაში

ქრომატოგრამა წარმოადგენს ორგანოზომილებიან ჩანაწერს, რომლის ერთ ღერძზე გადაზომილია საანალიზო ნივთიერებათა შეკავშირების დრო (t_R), ხოლო მეორეზე სიგნალის ინტენსივობა. ნივთიერების შეკავების დრო ანალიზის მოცემულ პირობებში დამოკიდებულია მის თერმოდინამიკურ მახასიათებელზე - განაწილების კოეფიციენტზე (K_d) მოძრავ და უძრავ ფაზებს შორის ანუ შეკავების დრო წარმოადგენს ნივთიერების თვისებრივ მახასიათებელს და შესაძლებელია გამოვიყენოთ მის გამოსაცნობად ხოლო სიგნალის ინტენსივობა დამოკიდებულია ნიმუშში არსებული მოცემული კომპონენტის რაოდენობაზე და შეიძლება გამოვიყენოთ მისი რაოდენობითი ანალიზისთვის [3].

ნიმუში - საანალიზო ნივთიერება, უფრო ხშირად ნივთიერებათა ნარევია.

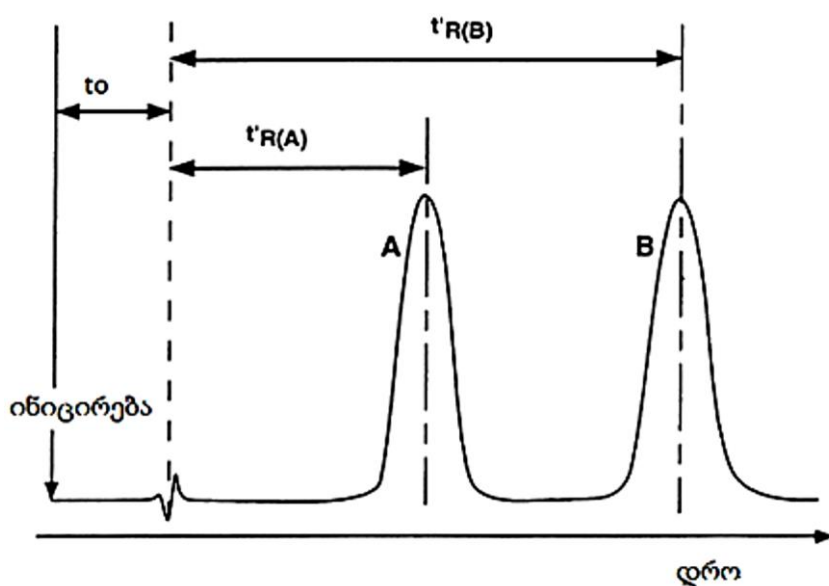
უძრავი (სტაციონალური) ფაზა - არის განსაზღვრული შედგენილობის და სტრუქტურის ადსორბციული უნარის მქონე მასალა. მასზე ხდება საანალიზო ნივთიერების კომპონენტების შეკავება განსხვავებული დროით.

მოძრავი ფაზა (ელუენტი) - არის ორგანული, არაორგანული გამხსნელი ან მათი ნარევი. მოძრავი ფაზის მიწოდება ხდება უწყვეტად ქრომატოგრაფიული ანალიზის პროცესის განმავლობაში. ის აიძულებს კომპონენტებს გადაადგილდნენ სისტემაში ინიცირების მომენტიდან. მოძრავი ფაზა პოლარული ან არაპოლარული ბუნებისაა და ეს დამოკიდებულია ექსპერიმენტის მიზანზე [3].

შეკავების დრო t_R - ეს არის დრო ადსორბატის ნიმუშის სვეტში შეყვანის მომენტიდან ქრომატოგრამაზე პიკის მაქსიმუმის მიღწევამდე. შეკავების დრო მოძრავი ფაზის წრფივი სიჩქარის ფუნქციაა. იგი სვეტის სიგრძეზეა დამოკიდებული [3]. გამოითვლება

$$\text{ფორმულით: } t_R = t_0 + t_R' \quad (1)$$

სადაც t_0 არის არაადსორბირებადი კომპონენტის ელუირების დრო t_R' არის სტაციონალურ ფაზაზე ყოფნის დრო მოცემული კომპონენტისთვის.



ნახ.5. ქრომატოგრამა

შეკავების მოცულობა V_R - ეს არის მოძრავი ფაზის მილილიტრების რაოდენობა, რომელიც უნდა გავატაროთ სვეტში, რათა ნიმუში ელუირდეს. იგი გამოითვლება ფორმულით:

$$V_R = F t_R \quad (2)$$

სადაც F - მოძრავი ფაზის მოცულობითი სიჩქარეა (მლ/წთ).

სვეტის მკვდარი მოცულობა V_0 - წარმოადგენს იმ სიცარიელების ჯამს, რომელიც უნდა გაიაროს საკვლევა ნივთიერებამ რათა ინჟექტორიდან დეტექტორის ფანჯრამდე მიაღწიოს. ქრომატოგრაფიულ სისტემებში ინჟექტორი დაკავშირებულია სვეტთან ვიწრო დიამეტრის მქონე კაპილარით, სვეტის ბოლოც დაკავშირებულია ასეთივე კაპილარით დეტექტორთან. ამასთან გარკვეული მოცულობა გააჩნია დეტექტორის იმ ნაწილს სადაც ნიმუშის კონცენტრაციის გაზომვა ხდება. ასევე ქრომატოგრაფიული სვეტის სფეროსებრი ბურთულებით შევსებისას მასში გარკვეული სიცარიელები რჩება. სწორედ ამ მოცულობების ჯამი წარმოადგენს სისტემის მკვდარ მოცულობას. V_0 ქრომატოგრაფიული დაყოფისთვის არასასურველი სიდიდე არის და სისტემა ისე უნდა აიგოს რომ გვექნდეს სისტემის მკვდარი მოცულობის მინიმალური მნიშვნელობა.

$$V_0 = t_0 F \quad (3)$$

V_0 - არაადსორბირებადი კომპონენტის ელუენტური მოცულობა.

k შეკავების ფაქტორი k - არის შეკავების ძირითადი პარამეტრი, ის არ არის დამოკიდებული მოძრავი ფაზის სიჩქარეზე და სვეტის სიგრძეზე. თუ მოძრავი ფაზა ნელა გადაადგილდება ან სვეტი გრძელია მაშინ ერთნაირად იზრდება t_0 და შესაბამისად t_R -იც

$$k = \frac{t_R - t_0}{t_0} \quad (4)$$

k წარმოადგენს ნივთიერების მოლური კონცენტრაციების ფარდობას სტაციონალურ და მოძრავ ფაზებში [7].

$$k = \frac{n_{სტატ.}}{n_{მოძრ.}} \quad (5)$$

სასურველია k იყოს 1÷5 შუალედში, თუ $k < 1$ ნიშნავს, რომ ნიმუშმა სვეტი ძალიან მალე გაიარა ანუ არ შეკავდა სტაციონალურ ფაზაზე, ხოლო თუ $k > 5$ ნიშნავს, რომ ანალიზს სჭირდება დიდი დრო. თუ ადსორბენტი წვრილფოროვანია მაშინ k -ს აქვს უფრო დიდი მნიშვნელობა ნაკლებად ფოროვან ადსორბენტებთან შედარებით [7].

დაყოფის ფაქტორი ანუ სელექტივობა α - შეკავების ფაქტორების ფარდობას წარმოადგენს, შესაბამისად თუ კომპონენტებს აქვთ k -ს ერთნაირი მნიშვნელობა ისინი ვერ დაიყოფა [7].

$$\alpha = \frac{k_2}{k_1} = \frac{t_{R2} - t_0}{t_{R1} - t_0} \quad (6)$$

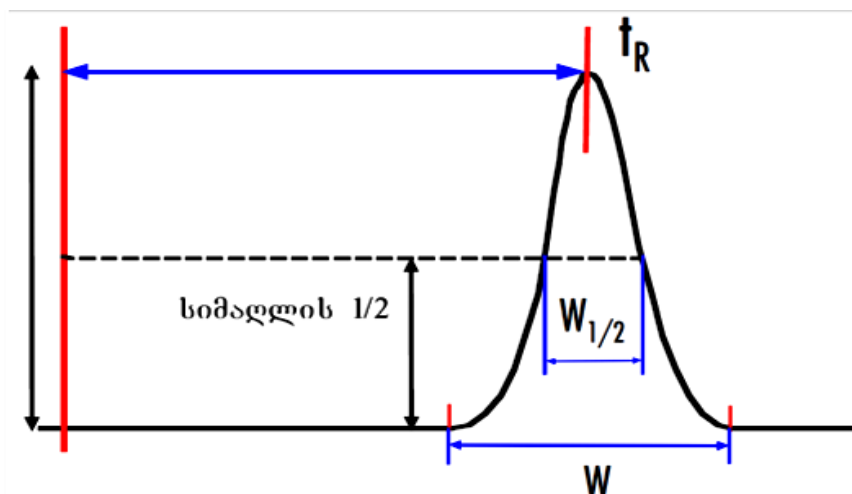
თუ $\alpha=1$ მაშინ $k_2 = k_1$ ეს ნიშნავს რომ ნარევი არ დაიყო. α -ზე გავლენას ახდენს სტაციონალური და მოძრავი ფაზები, მათი ცვლილებით α იცვლება [7].

თეორიული თეფშების რიცხვი N - ამ პარამეტრით ხასიათდება ქრომატოგრაფიული პიკების ეფექტურობა. ქრომატოგრაფიული სვეტის მათემატიკურ ეკვივალენტს წარმოადგენს სვეტი თეფშებით, რომელთაგან თითოეულზე ხდება კომპონენტის წონასწორული განაწილება თეფშსა და მოძრავ ფაზას შორის [7]. მისი გამოთვლა შესაძლებელია ორი გზით:

$$N = 16 \left(\frac{t_R}{W} \right)^2 \quad (7)$$

$$N = 5.54 \left(\frac{t_R}{W_{1/2}} \right)^2 \quad (8)$$

თეორიული თეფშების რიცხვი დაკავშირებულია ქრომატოგრაფიულ სვეტში ზონის გაფართოებასთან. მიგრაციის დროის გაზრდით ზონა ფართოვდება, ანუ თეორიული თეფშების რიცხვი სვეტის სიგრძის პროპორციულია. რაც უფრო გრძელია სვეტი, უკეთესია გარჩევითობა, მაგრამ გახანგრძლივებულია ანალიზი.



ნახ.6. ქრომატოგრამა.

თეორიული თეფშების ექვივალენტური სიმაღლე H – არის მანძილი, რომელზედაც მიიღწევა ქრომატოგრაფიული წონასწორობა. იგი გამოითვლება ფორმულით [7]:

$$H = \frac{L}{N} \quad (9)$$

თეორიული თეფშების ექვივალენტური სიმაღლე H უკავშირდება ვან-დეემტერის განტოლებას [7]:

$$H = A + \frac{B}{U} + CU \quad (10)$$

U - მოძრავი ფაზის სიჩქარე,

A - გრიგალისებური დიფუზია;

B - დიფუზია ქრომატოგრაფიული სვეტის გასწვრივ (ლონგიტუდინალური დიფუზია);

C - მასის გადატანა.

მოძრავი ფაზის ნაკადის ოპტიმალური მნიშვნელობის პოვნა შესაძლებელია ვან-დეემტერის განტოლების დიფერენციალური ფორმიდან:

$$\frac{dH}{dU} = -\frac{B}{U^2} + C \quad (11)$$

ოპტიუმის პირობიდან გამომდინარე, ოპტიუმის წერტილში:

$$\frac{dH}{dU} = 0 \quad (12)$$

$$U^2 = \frac{B}{C} \quad (13)$$

გარჩევითობა R_S - ნივთიერებათა ქრომატოგრაფიული დაყოფის ხარისხის დასახასიათებლად საუკეთესო პარამეტრს წარმოადგენს, რადგან მოიცავს როგორც პიკებს შორის დაშორების დამახასიათებელ პარამეტრს ($t_{R2} - t_{R1}$), ასევე პიკების სიგანეებს. R_S გამოითვლება მეზობელი პიკების მაქსიმუმებს შორის მანძილის ფარდობით პიკების სიგანეების ჯამთან [7]:

$$R_S = 2 \frac{(t_{R2} - t_{R1})}{(W_1 + W_2)} \quad (14)$$

$$R_S = 1.18 \frac{(t_{R2} - t_{R1})}{(W_{(1/2)1} + W_{(1/2)2})} \quad (15)$$

W არის პიკის სიგანე ფუძესთან;

$W_{1/2}$ არის პიკის სიგანე პიკის ნახევარ სიმღლეზე.

თუ $R_s=1.25$ მაშინ დაყოფა სრულია, თუ $R_s>1.5$ ნიშნავს, რომ ანალიზის სჭირდება დიდი დრო.

2.2.4 გაზური ქრომატოგრაფია

ენანტიომერების ინსტრუმენტული მეთოდებით დაყოფა პირველად გასული საუკუნის 60-იან წლებში მოხდა გაზური ქრომატოგრაფიის მეთოდით ქირალური სტაციონალური ფაზის გამოყენებით [5,6]. გაზურ ქრომატოგრაფიაში მოძრავი ფაზა გაზია, მოძრავი ფაზის აგრეგატული მდგომარეობის მიხედვით განასხვავებენ გაზურ-ადსორბციულ და გაზურ-თხევად ქრომატოგრაფიას. დღესდღეობით გაზური ქრომატოგრაფიით ენანტიომერების დასაყოფად ორი მიდგომა არის გამოყენებული: პირდაპირი მიდგომისას ოპტიკური იზომერების დაყოფა ქირალური სტაციონალური ფაზების გამოყენებით ხდება, ხოლო არაპირდაპირი მიდგომის დროს ხდება საანალიზო ენანტიომერული ნარევის დერივატიზაცია ენანტიომერულად სუფთა ქიმიური დანამატებით და ხდება მიღებული დიასტერეომერების ანალიზი აქირალური სტაციონალური ფაზების გამოყენებით [6].

გაზური ქრომატოგრაფია წარმატებით გამოიყენება დაბალი მოლეკულური მასის მქონე აქროლადი ნივთიერებებისთვის. მაღალი მოლეკულური მასის მქონე არააქროლადი ნივთიერებებისთვის მისი გამოყენება შეზღუდულია, თუმცა ზოგჯერ შესაძლებელია საკვლევი ნივთიერების დერივატიზაცია და აქროლად ფორმაში გადაყვანა.

2.2.5 ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფია

ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფიის მეთოდის განვითარება 1960-იანი წლებიდან დაიწყო. იგი მოიაზრებოდა როგორც გაზური ან მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფიის ჩამნაცვლებელი, თუმცა ის დამოუკიდებელ მეთოდს წარმოადგენს, რომელიც ორივე ქრომატოგრაფიული მეთოდის უპირატესობებს აერთიანებს. ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფიაში ელუენტის როლს ძირითადად ასრულებს აირი, ან სითხე, რომლის წნევა და ტემპერატურა თერმოდინამიკური კრიტიკული წერტილის მაღლაა. ყველაზე ფართოდ გამოყენებად ელუენტს ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფიაში CO₂ წარმოადგენს. რადგან ადვილია მისი ზეკრიტიკულ მდგომარეობაში გადაყვანა, იაფია, ეკოლოგიურად სუფთა, გამოსაყენებლად უსაფრთხო ინერტული აირია[9].

2.2.6 კაპილარული ელექტროფორეზი

კაპილარული ელექტროფორეზი არის ნივთიერებათა დაყოფის მეთოდი, რომელიც ემყარება დამუხტული ნაწილაკების განაწილებას გელში ან ბუფერში მათი ელექტროფორეტული ძვრადობის შესაბამისად. ეს განაწილება კაპილარულ ელექტროფორეზში მიიღება ელექტრული ველის, როგორც საანალიზო ნივთიერების გადამტანი ძალის გამოყენებით. როგორც ამ განსაზღვრებიდან ჩანს, ელექტროფორეტული ძვრადობა ასრულებს მთავარ როლს ყველა წმინდა ელექტროფორეტულ დაყოფაში. ელექტროლიტის თვისებებს, როგორიცაა იონური ძალა, PH, იონების ტიპი დიდი მნიშვნელობა აქვს ნივთიერებათა ძვრადობის და მათი ელექტროფორეტული დაყოფისთვის. საანალიზო ნიმუშის შემადგენელი დამუხტული კომპონენტები ბუფერული ხსნარით შევსებულ კაპილარში ზოგადად გადაადგილდება როგორც საკუთარი ელექტროფორეტული ძვრადობით ისე ელექტროოსმოსის გავლენითაც. ამგვარად დამუხტული ნაწილაკის ეფექტური ძვრადობა წარმოადგენს მისი საკუთარი ელექტროფორეტული ძვრადობის და კაპილარში აღძრული ელექტროოსმოტური ძვრადობების ვექტორულ ჯამს.

კაპილარული ელექტროფორეზის მეშვეობით ენანტიომერების დაყოფა პირველად მე-20 საუკუნის 80-იან წლებში გახდა შესაძლებელი. აღნიშნულ მეთოდს მნიშვნელოვანი უპირატესობები გააჩნია გაზურ და სითხურ ქრომატოგრაფიასთან შედარებით, რადგან

კაპილარული ელექტროფორეზის მეთოდით შეიძლება დაიყოს ისეთი ნივთიერებები, რომელთა დაყოფა გაზური და სითხური ქრომატოგრაფიის მეთოდებით შეუძლებელია. მეთოდის ძირითადი უპირატესობებია: ანალიზის მცირე დრო, ნიმუშებისა და რეაგენტების მცირე რაოდენობა, ეფექტური დაყოფა და სხვა. ამასთან კაპილარულ ელექტროფორეზული მეთოდი შედარებით იაფი და ეკოლოგიურად სუფთაა, ვინაიდან აქ არ გამოიყენება ტოქსიკური ორგანული გამხსნელები, ხოლო მეთოდის ნაკლი დეტექტორის დაბალი მგრძობიარობაა.

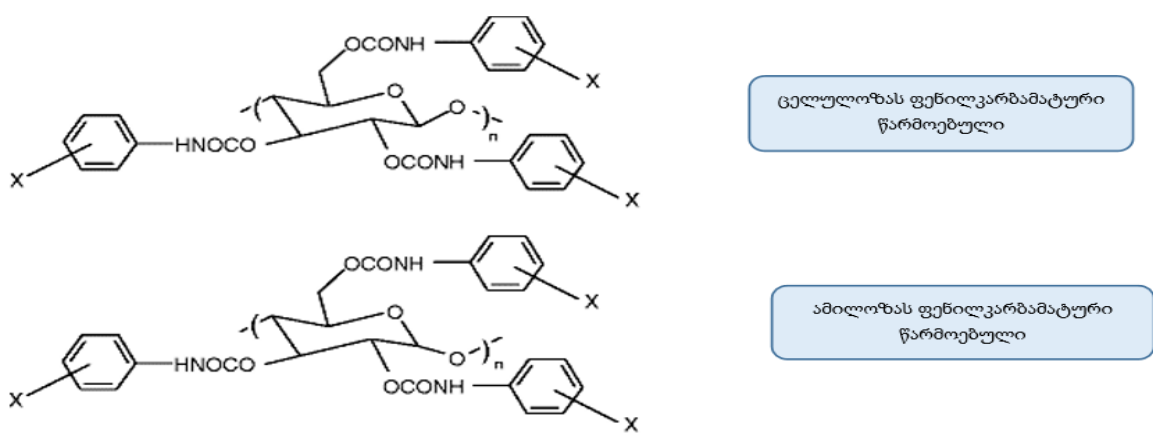
2.3. პოლისაქარიდული ქირალური სტაციონალური ფაზები

ბოლო 50 წლის განმავლობაში ასეულობით ქირალური სელექტორის აღწერა და შესწავლა მოხერხდა, თუმცა მხოლოდ რამდენიმე მათგანის კომერციალიზაცია გახდა შესაძლებელი. ცნობილია 100-ზე მეტი ქირალური სელექტორი. ყველაზე გამოყენებადი ქირალური სვეტების უმეტესობა დამზადებულია პოლისაქარიდული ქირალური სელექტორების გამოყენებით. ეს გამოწვეულია იმით, რომ ამ ტიპის ქირალური სელექტორები აკმაყოფილებენ ძირითად კრიტერიუმებს, რაც აუცილებელია ენანტიომერული დაყოფისათვის. ეს კრიტერიუმებია: წარმოქმნას მოლეკულათაშორისი (გარდამავალი) კომპლექსები ქირალურ საანალიზო ნივთიერებებთან, გამოყენებული იქნას სხვადასხვა მოძრავ ფაზებში: პოლარულ-ორგანული ფაზები, არაპოლარული-ორგანული, ორგანული ფაზა/წყლის ნარევი და ზეკრიტიკული სითხეები. ასევე უნდა გააჩნდეს მრავალრიცხოვანი განსხვავებული სტრუქტურების მქონე ქირალური ნივთიერებების ენანტიოსელექტიური გარჩევის უნარი, შესაძლებელი უნდა იყოს მისი გამოყენება მიკრო და ნანო მასშტაბის დაყოფის მეთოდებისთვის, ასევე ანალიზური და პრეპარატიული დაყოფებისთვისაც. ქირალური სელექტორის მოსამზადებელი მასალები და რეაგენტები აუცილებელად უნდა იყოს ხელმისაწვდომი.

მაღალეფექტურ სითხურ ქრომატოგრაფიაში პოლისაქარიდული ტიპის სელექტორებიდან ენანტიომერების დასაყოფის მიზნით ყველაზე ფართოდ გამოიყენება: ცელულოზას და ამილოზას ნაწარმები. ვინაიდან აღმოჩნდა, რომ ისინი წარმოადგენენ საინტერესო მასალებს, მათი ქირალური გამოცნობის თვალსაზრისით, დამუშავების

სიმარტივით, სუფთა სახით ხელმისაწვდომობით [6]. ცელულოზის შემთხვევაში, ქირალური სელექტორის მოსამზადებლად ძირითადად გამოიყენება მიკროკრისტალური ცელულოზა კომერციული სახელწოდებით „ავიცელი“ (Avicel), ხოლო ამილოზის შემთხვევაში ის შეიძლება იყოს ბუნებრივი ან ნახევრადსინთეზური ამილოზა. ბუნებრივი ამილოზის წყარო შეიძლება იყოს კარტოფილის, სიმინდის, ბრინჯის, ხორბლის და ლობიოს სხვადასხვა ჯიშისგან მიღებული სახამებელი. ბუნებრივი პროდუქტის წყარო გავლენას ახდენს ქირალური გამოცნობის შესაძლებლობაზე. ხელოვნურ ამილოზას უპირატესობა აქვს კონტროლირებადი მოლეკულური მასის და მისი ვიწრო განაწილების გამო[7].

ამილოზას და ცელულოზას ნაწარმებიდან ყველაზე მნიშვნელოვანია ფენილკარბამატური წარმოებულები:



ნახ.7. ცელულოზას და ამილოზას ფენილკარბამატური ნაწარმები

დადგენილია, რომ ცელულოზას ფენილკარბამატებს, რომელთაც აქვთ უფრო ძლიერ პოლარული ჩამნაცვლებლები ფენილის ჯგუფში, მაგალითად როგორც ნიტრო და მეთოქსი ჯგუფთა, ამჟღავნებენ უფრო დაბალი ქირალურ გამოცნობის უნარს. ეს ჯგუფები მდებარეობს ქირალური გლუკოზის ბირთვისგან მოშორებით. ამიტომაც ქირალური გამოცნობის უნარის გასაუმჯობესებლად ცელულოზას ფენილკარბამატებში ძლიერ პოლარული ჩამნაცვლებლები არ გამოიყენება. აღსანიშნავია ისიც, რომ ქირალურ სელექტორსა და საანალიზო ნივთიერების მოლეკულას შორის კავშირის სიდიდე არაა განმსაზღვრელი მისი ქირალური გამოცნობისთვის. არა მხოლოდ ბუნება, არამედ ჩამნაცვლებლის მდებარეობაც ფენილის ბირთვში მნიშვნელოვან გავლენას ახდენს

პოლისაქარიდის ფენილკარბამატის ქირალური გამოცნობის უნარზე. მაგალითად, უმეტესობა ორთო-ჩანაცვლებული ცელულოზას ნაწარმებისა ხასიათდებიან დაბალი ქირალური გამოცნობით, მაშინ როცა მეტა და პარა ნაწარმები უნივერსალური ქირალური სელექტორებია.

2.3.1. ქირალური სტაციონალური ფაზების ოპტიმიზაცია

ქრომატოგრაფიული სვეტის ორი ძირითადი კომპონენტის: ქირალური სელექტორისა და სარჩულის ოპტიმიზაციის სხვადასხვა გზა არსებობს. თავდაპირველი მეთოდი იყო პოლისაქარიდული ნაწარმების დაფენა სარჩულზე, უმეტესწილად ფოროვან სილიკაგელზე. ამ მეთოდის უმთავრესი უპირატესობა ის არის, რომ პოლისაქარიდების ტრის ნაწარმები, როცა პოლისაქარიდის ფრაგმენტში სამივე ჰიდროქსილის ჯგუფი დაკავშირებულია კარბამატის ან ესტერის ჯგუფთან, შესაძლოა იყოს გამოყენებული, ასეთ შემთხვევაში ქირალური სელექტორსა და სარჩულს შორის კოვალენტური კავშირის გამყარების აუცილებლობა არ არსებობს. ამასთან დაფენის პროცესი არ მოითხოვს ნივთიერების და სარჩულის ზედაპირის წინასწარ აქტივაციას. დაფენილი პოლისაქარიდული ნაწარმი ინარჩუნებს მაღალ მოქნილობას. თუმცა ამ მეთოდის უმთავრესი ნაკლია გამხსნელების მიმართ დაბალი სტაბილურობა.

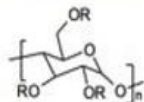
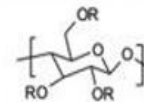
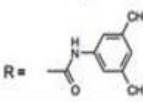
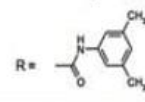
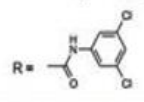
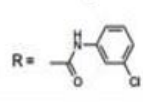
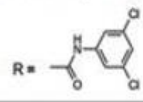
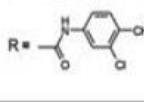
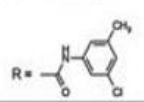
მოგვიანებით შემუშავდა პოლისაქარიდული ნაწარმების სარჩულზე კოვალენტური იმობილიზაციის მეთოდი. ყველა შემთხვევაში ასე მომზადებული სტაციონალური ფაზა უფრო მაღალი სტაბილურობით ხასიათდებოდა გამხსნელების მიმართ, თუმცა დაყოფის ეფექტურობა და ენანტიოსელექტივობა ზოგ შემთხვევაში მცირდება.

ქირალური სელექტორის სილიკაგელზე კოვალენტური იმობილიზაციის მთავარი მიზანი იყო ის, რომ სისტემა გახდეს მედეგი სხვადასხვა გამხსნელის მიმართ. ამასთან, არ შემცირდეს ის ეფექტურობა და ენანტიოსელექტივობა, რაც ანალოგიურ პოლისაქარიდული ნაწარმების დაფენილ სვეტებს ახასიათებდათ. ქიმიური იმობილიზაციისას აუცილებლად საყურადღებოა სილიკაგელსა და პოლისაქარიდულ ნაწარმს შორის კოვალენტური ბმების რაოდენობა, რამაც შესაძლოა დაარღვიოს

პოლისაქარიდების მოწესრიგებული სტრუქტურა, რაც უმნიშვნელოვანესია ქირალური გამოცნობისთვის[7].

იმობილიზებული სვეტებით შესაძლებელია ფართო სხვადასხვა მოძრავ ფაზებთან მუშაობა, როგორც ნორმალურ ისე შებრუნებულფაზიან ქრომატოგრაფიაში.

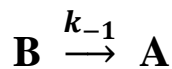
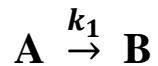
ნახ.8. ამილოზასა და ცელულოზას ბაზაზე მომზადებული კოვალენტურად იმობილიზებული რამდენიმე სვეტი.

AMYLOSE-BASED		CELLULOSE-BASED	
			
<p>CHIRALPAK® IA</p> <p>Amylose tris(3,5-dimethylphenylcarbamate) immobilized on 5µm silica-gel</p> <p>R = </p>	<p>CHIRALPAK® IB</p> <p>Cellulose tris(3,5-dimethylphenylcarbamate) immobilized on 5µm silica-gel</p> <p>R = </p>	<p>CHIRALPAK® IC</p> <p>Cellulose tris(3,5-dichlorophenylcarbamate) immobilized on 5µm silica-gel</p> <p>R = </p>	<p>CHIRALPAK® ID</p> <p>Amylose tris(3-chlorophenylcarbamate) immobilized on 5µm silica gel</p> <p>R = </p>
<p>CHIRALPAK® IE</p> <p>Amylose tris(3,5-dichlorophenylcarbamate) immobilized on 5µm silica gel</p> <p>R = </p>	<p>CHIRALPAK® IF</p> <p>Amylose tris(3-chloro-4 methylphenylcarbamate) immobilized on 5µm silica gel.</p> <p>R = </p>	<p>CHIRALPAK® IG</p> <p>Amylose tris(3-chloro-5 methylphenylcarbamate) immobilized on 5µm silica</p> <p>R = </p>	

2.4. ენანტიომერიზაცია

2.4.1. ენანტიომერიზაცია და რაცემიზაცია

ტერმინი „ენანტიომერიზაცია“ შემოდებულია ისეთი პროცესის დასახასიათებლად, რომლის დროსაც ხდება რაცემულ ნარევეში არსებული ენანტიომერების შესაბამისი სტერეოქიმიური კონფიგურაციების შებრუნება ქრომატოგრაფული დაყოფის დროს, ანუ ენანტიომერიზაცია არის მიკროსკოპული პროცესი, რომელიც აღწერს ერთი ენანტიომერის (A) მეორე ენანტიომერში (B) შექცევად გადასვლას და პირიქით [10].



სადაც: k_1 არის პირველი ენანტიომერის მეორეში გარდაქმნის სიჩქარის მუდმივა

k_{-1} არის მეორე ენანტიომერის პირველში გარდაქმნის სიჩქარის მუდმივა

მაშასადამე, სათანადო სტაციონალური ფაზის შერჩევის გზით ქრომატოგრაფიულ სვეტში შესაძლოა შეიქმნას ქირალური გარემო, სადაც წარმართება როგორც ენანტიომერების ეფექტური დაყოფა, ასევე მათი ურთიერთგარდაქმნის პროცესი ანუ ენანტიომერიზაცია.

ენანტიომერიზაციის პროცესს ხშირად აიგივებენ რაცემიზაციასთან, თუმცა ენანტიომერიზაციისგან განსხვავებით რაცემიზაცია წარმოადგენს მაკროსკოპიულ პროცესს და იგი გულისხმობს ერთი ენანტიომერიდან ან ენანტიომერების არარაცემული ნარევიდან რაცემატის წარმოქმნას ($A + B$) მოლეული თანაფარდობით 1 : 1 .



მიღებულია, რომ ენანტიომერიზაციის პროცესი წარმოადგენს პირველი კინეტიკური რიგის მქონე შექცევად გარდაქმნას, ე.ი. მათი სიჩქარეები პროპორციულნი არიან სისტემაში A და B კომპონენტების მოლეული კონცენტრაციების პირველი ხარისხისა. პროპორციულობის კოეფიციენტები წარმოადგენენ შესაბამის სიჩქარეთა მუდმივებს k_1 და k_{-1} , რომელთა განზომილებებია (დრო)⁻¹ . რაც შეეხება რაცემიზაციას, იგი არის

ორმხრივი პროცესი , რის გამოც მისი სიჩქარის მუდმივა შეიძლება ჩაიწეროს შემდეგნაირად:

$$k_{rac} = k_1 + k_{-1} \quad (16)$$

ჩვეულებრივ, $k_1 \approx k_{-1}$, ამდენად:

$$k_{rac} \approx 2 k_1 \approx 2 k_{-1} \quad (17)$$

ენანტიომერის მაკროსკოპიულ მახასიათებელს მიეკუთვნება მისი ნახევრად-გარდაქმნის დრო $\tau_{1/2}$. პირველი რიგის პროცესების მათემატიკური აღწერიდან გამომდინარე, რაცემიზაციის პროცესისათვის შეგვიძლია დავწეროთ:

$$\tau_{1/2} = \frac{\ln 2}{k_{rac}} \approx \frac{0,693}{2 k_1} \quad (18)$$

ნახევრად-გარდაქმნის დრო მნიშვნელოვანი კინეტიკური პარამეტრია, ვინაიდან იგი უშუალოდ ასახავს იმას, თუ რამდენად მდგრადია ენანტიომერი დროის მიმართ მოცემულ გარემოსა და პირობებში.

2.5. ენანტიომერიზაციის რეაქციის კინეტიკური დახასიათება

2.5.1 აქტიურ დაჯახებათა არენიუსის თეორია

ენანტიომერიზაციის რეაქციის კინეტიკური დახასიათებისთვის განვიხილოთ აქტიურ დაჯახებათა არენიუსის განტოლება და შემდგომ უკვე ექსპერიმენტულ მონაცემებზე დაყრდნობით და არენიუსის განტოლების გამოყენებით ვიანგარიშოთ ენანტიომერიზაციის რეაქციის სიჩქარის მუდმივები და აქტივაციის ენერგია.

თანამედროვე ქიმიურ კინეტიკაში არენიუსის განტოლებაში შემავალ E პარამეტრს უწოდებენ აქტივაციის ენერგიას. ეს უკანასკნელი არის ის მინიმალური ჭარბი ენერგია, რომელიც უნდა მიეწოდოს გამოსავალ ნივთიერებათა ნაწილაკებს (ერთ მოლზე გადაანგარიშებით), რათა მათ შეეძლოთ ქიმიურ გარდაქმნაში მონაწილეობის მიღება. სხვა სიტყვებით, აქტივაციის ენერგია ახასიათებს იმ ენერგეტიკულ ბარიერს, რომელიც უნდა გადალახოს მორეაგირე სისტემამ ქიმიური აქტის განხორციელებისათვის [12].

აღნიშნული განმარტება სამართლიანია ელემენტარული რეაქციებისათვის. რთული რეაქციების შემთხვევაში ჯამური პროცესის ეფექტური აქტივაციის ენერგია წარმოადგენს ცალკეული ელემენტარული სტადიების აქტივაციის ენერგიათა გაკვეთლ ფუნქციას.

რთული რეაქციებისათვის აქტივაციის ენერგია არის ენერგეტიკული პარამეტრი არენიუსის განტოლებაში, რომელიც ახასიათებს რეაქციის სიჩქარის მუდმივას ფარდობით ტემპერატურულ დამოკიდებულებას. ეს იმას ნიშნავს, რომ რაც მეტია E , მით უფრო სწრაფად იზრდება k ტემპერატურის მომატებისას, ე. ი. მით უფრო „მგრძობიარეა“ რეაქციის სიჩქარე ტემპერატურის ცვლილების მიმართ.

მეორეს მხრივ, თუ რომელიმე ორი რეაქციის სიჩქარის მუდმივას აქვს ერთი და იგივე ექსპონენტისწინა A მამრავლი, მაგრამ სხვადასხვა აქტივაციის ენერგიები, მაშინ გამოსახულებიდან გამომდინარეობს, რომ მაღალი რიცხვითი მნიშვნელობა ექნება იმ მუდმივას, რომლის E - ენერგიაც უფრო დაბალია ე.ი. რომლის ენერგეტიკული ბარიერიც უფრო მცირეა.

აქტივაციის ენერგია შეიძლება დავაკავშიროთ რეაქციის სიჩქარის ტემპერატურულ კოეფიციენტთან. ამისათვის ჩავწეროთ არენიუსის განტოლება T და $(T+10)$ ტემპერატურების მიმართ:

$$k(T) = A e^{-E/RT} \quad (19)$$

$$k(T+10) = A e^{-E/R(T+10)} \quad (20)$$

მიღებული გამოსახულებები ჩავსვათ $\gamma_T = \frac{k(T+10)}{k(T)}$ ფორმულაში. გალოგარითმების შემდეგ გვექნება:

$$\ln \gamma_T = \ln k_{(T+10)} - \ln k_{(T)} = \frac{E}{RT} - \frac{E}{R(T+10)} = \frac{10E}{RT(T+10)} \quad (21)$$

ზომიერი და მაღალი ტემპერატურების პირობებში $T \gg 10$. აქედან გამომდინარე, უხეში მიახლოებით შეგვიძლია ჩავწეროთ:

$$T(T+10) \approx T^2 \quad (22)$$

ე.ი.

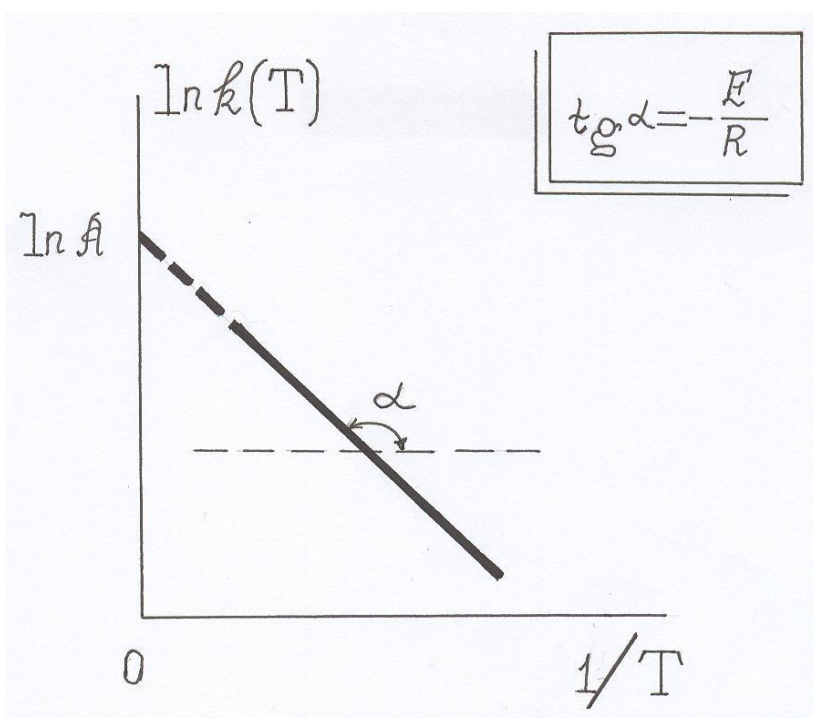
$$\ln \gamma_T \approx \frac{10E}{RT^2} \quad (23)$$

აქტივაციის ენერგიის ზუსტი ექსპერიმენტული განსაზღვრისათვის საჭიროა რეაქციის სიჩქარის მუდმივას მნიშვნელობათა დადგენა რამდენიმე ტემპერატურაზე, სასურველია - ფართო ტემპერატურულ ინტერვალში. ჩავწეროთ არენიუსის განტოლება ლოგარითმული ფორმით :

$$\ln k = \ln A - E/RT \quad (24)$$

როგორც ვხედავთ, რეაქციის სიჩქარის მუდმივას ლოგარითმი წარმოადგენს რეაგენტთა აბსოლუტური ტემპერატურის შებრუნებული სიდიდის წრფივ ფუნქციას.

აქედან გამომდინარე, ექსპერიმენტული მონაცემების საფუძველზე აგებენ გრაფიკს ე.წ. არენიუსისეულ კოორდინატებში „ $1/T$; $\ln k$ “. თუ მიღებული გრაფიკი წარმოადგენს წრფეს, მაშინ აბსცისთა ღერძის მიმართ მისი დახრილობის მიხედვით გამოითვლიან რეაქციის აქტივაციის ენერგიას, ხოლო ორდინატთა ღერძზე ჩამოჭრილი მონაკვეთის მიხედვით დაადგენენ ექსპონენტისწინა მამრავლის რიცხვით მნიშვნელობას[12].



2.5.2 ენანტიომერიზაციის რეაქციის აქტივაციის თავისუფალი ენერგია
ერთ-ერთ უმნიშვნელოვანეს მახასიათებელს, რომელიც განსაზღვრავს ენანტიომერის სტაბილურობას, წარმოადგენს მისი გარდაქმნის (ინვერსიის) ბარიერი ΔG^\ddagger . შინაარსის მიხედვით, ეს სიდიდე არის აქტივაციის თავისუფალი ენერგია, რომელიც აღწერს გიბსის ენერგიის ცვლილებას ენანტიომერის მოლეკულის საწყისი მდგომარეობიდან (A)

გააქტიურებული კომპლექსის (A^\ddagger) მდგომარეობაში გადასვლისას. იგი დამოკიდებულია მოლეკულის აღნაგობასა და ტემპერატურაზე და მოიცავს ენთალპიურ და ენტროპიურ წევრებს[11]:

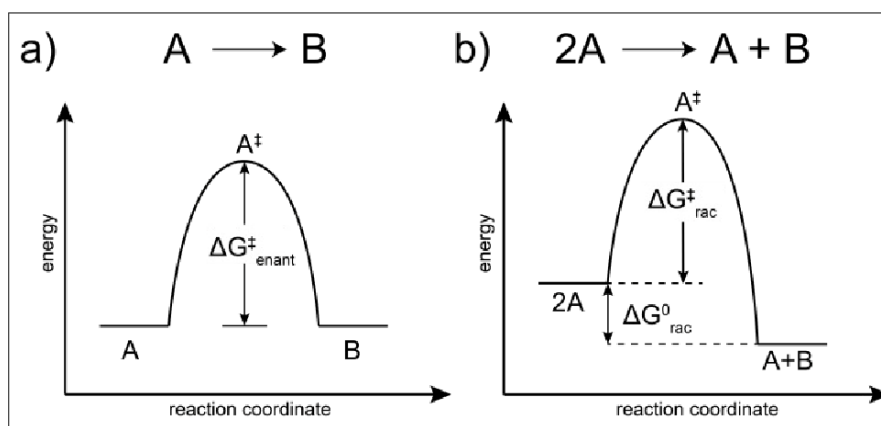
$$\Delta G^\ddagger = \Delta H^\ddagger - T \Delta S^\ddagger \quad (25)$$

აქ ΔH^\ddagger და ΔS^\ddagger წარმოადგენენ შესაბამისად ენანტიომერიზაციის აქტივაციის ენთალპიასა და ენტროპიას.

გარდაქმნის ბარიერი უშუალოდ უკავშირდება ენანტიომერიზაციის სიჩქარის მუდმივას ეირინგის განტოლების საშუალებით :

$$k_e = \frac{k_B T}{h} e^{-\frac{\Delta G^\ddagger}{RT}} \quad (26)$$

სადაც k_B და h წარმოადგენენ ბოლცმანისა და პლანკის მუდმივებს, ხოლო $k_e = k_1$ ან $k_e = k_{-1}$. R არის აირების უნივერსალური მუდმივა: $R = 8,31$ ჯ/(მოლი K).



ნახ.9. ენანტიომერიზაციისა და რაცემიზაციის პროცესების ენერგეტიკული დიაგრამები.

გამოსახულებებიდან ვღებულობთ :

$$k_e = \frac{k_B T}{h} e^{\frac{T \Delta S^\ddagger - \Delta H^\ddagger}{RT}} \quad (27)$$

ანუ:

$$\ln \left(\frac{k_e}{T} \right) = \left(\ln \frac{k_B}{h} + \frac{\Delta S^\ddagger}{R} \right) - \left(\frac{\Delta H^\ddagger}{R} \right) \frac{1}{T} \quad (28)$$

ამრიგად, თუ სხვადასხვა ტემპერატურებზე განისაზღვრება ენანტიომერიზაციის სიჩქარის მუდმივას მნიშვნელობები, ხოლო შესაბამის ექსპერიმენტულ მონაცემებს გრაფიკულად წარმოვადგენთ კოორდინატებში $1/T$; $\ln\left(\frac{k_e}{T}\right)$, მაშინ მივიღებთ წრფეს, რომლის დახრილობიდანაც (a_1) განისაზღვრება ენანტიომერიზაციის აქტივაციის ენთალპია, ხოლო ორდინატთა ღერძთან მისი გადაკვეთის წერტილის (a_0) მიხედვით შეფასდება აქტივაციის ენტროპია (იხილე ნახაზი ქვემოთ). ამ მიზნით მიმართავენ კორელაციური და რეგრესიული ანალიზის სტატისტიკურ მეთოდებს.

$$a_0 = \ln \frac{k_B}{h} + \frac{\Delta S^\ddagger}{R} \quad (29)$$

$$a_1 = - \frac{\Delta H^\ddagger}{R} \quad (30)$$

ამ გამოსახულებებში იგულისხმება, რომ ΔH^\ddagger და ΔS^\ddagger არ არიან დამოკიდებულნი ტემპერატურაზე. მეორეს მხრივ, ტემპერატურაზე დამოკიდებულია ენანტიომერიზაციის აქტივაციის ენერგია, რომელიც მოცემულ შემთხვევაში შეფასდება შემდეგი ფორმულით:

$$E_e = \Delta H^\ddagger + R T \quad (31)$$

იმის დასადგენად, თუ რამდენად ადეკვატურია რეგრესიის განტოლება ექსპერიმენტული მონაცემების მიმართ, გამოითვლიან დეტერმინაციის დარეგულირებულ კოეფიციენტს \bar{r}^2 . აქ r წარმოადგენს კორელაციის კლასიკურ კოეფიციენტს (ანუ პირსონის კოეფიციენტს), რომელიც გამოითვლება ლიტერატურაში ცნობილი ფორმულით; $-1 < r < +1$. რაც შეეხება \bar{r}^2 სიდიდეს, მოცემულ შემთხვევაში იგი განისაზღვრება შემდეგი თანაფარდობით:

$$\bar{r}^2 = 1 - (1 - r^2) \left[\frac{N-1}{N-2} \right] \quad (32)$$

კორელაციის დარეგულირებული კოეფიციენტი განსაზღვრავს იმის ალბათობას, თუ რამდენად არსებობს წრფივი კავშირი ორ, შესავალ და გამოსავალ ცვლადებს შორის. მოცემულ შემთხვევაში იგი ახასიათებს იმას, თუ როგორი ალბათობით შეგვიძლია ვამტკიცოთ წრფივი კავშირის არსებობა $\frac{1}{T}$ და $\ln\left(\frac{k_e}{T}\right)$ სიდიდეთა შორის [11].

2.5.3 ენანტიომერიზაციის კინეტიკის ექსპერიმენტული შესწავლა

ექსპერიმენტული მეთოდები, რომელთა დახმარებითაც შესაძლებელია ენანტიომერიზაციის სიჩქარის მუდმივების განსაზღვრა, შეიძლება დაიყოს რამდენიმე ჯგუფად: 1) **დინამიური ბირთვულ-მაგნიტური რეზონანსის სპექტროსკოპიის (DNMR)** გამოყენებას საფუძვლად უდევს ის გარემოება, რომ ატომბირთვები, რომლებიც შედიან იზომერების მოლეკულათა შემადგენლობაში და უშუალოდ მონაწილეობენ ენანტიომერიზაციის პროცესში, იმყოფებიან განსხვავებულ ელექტრონულ გარემოცვაში. ამის შედეგად სპექტრომეტრის მიერ დაფიქსირებული ქიმიური წანაცვლებებიც (ν) ერთმანეთისგან განსხვავდება. აღნიშნულ წანაცვლებებს შორის სხვაობის ($\Delta\nu$) გაზომვით შესაძლებელი ხდება ენანტიომერიზაციის სიჩქარის k_e მუდმივების დადგენა.

აღნიშნული მეთოდი ითვალისწინებს სიჩქარეთა მუდმივების განსაზღვრას რაცემატულ ნარევიში. აუცილებელ პირობას წარმოადგენს შემდეგი: ენანტიომერის ნახევრადგარდაქმნის დრო უნდა შეესაბამებოდეს სპექტრომეტრის მუშაობის „დროით სკალას“. ეს იმას ნიშნავს, რომ ენანტიომერიზაცია არ უნდა მიმდინარეობდა ძლიერ მაღალი სიჩქარით; აქედან გამომდინარე, DNMR მეთოდი ხშირად გამოიყენება დაბალ ტემპერატურებზე მიმდინარე იზომერიზაციის პროცესების შესასწავლად, როდესაც k_e მუდმივების მნიშვნელობები საკმაოდ დაბალია[13].

აქტივაციის თავისუფალი ენერჯიის გამოსათვლელად იყენებენ შემდეგ ფორმულას:

$$\Delta G^\ddagger = R T \left[\ln \left(\frac{k_B T}{h} \right) - \ln \left(\frac{\pi \Delta \nu}{\sqrt{2}} \right) \right] \quad (33)$$

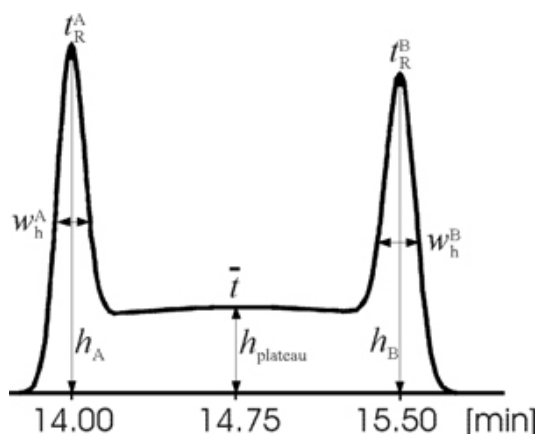
2) **დინამიური სპექტროსკოპიის** გამოყენებას საფუძვლად უდევს ის გარემოება, რომ ერთი და იგივე ოპტიკურად აქტიური ნივთიერების ენანტიომერები ურთიერთსაპირისპირო მიმართულებებით აბრუნებენ მათში გამავალი სინათლის პოლარიზაციის სიბრტყეს. წრიული დიქროიზმის სპექტრომეტრის გამოყენებით შესაძლებელი ხდება დავაკვირდეთ მხოლოდ ერთი ენანტიომერის მიერ პოლარიზებული სინათლის შთანთქმას და ლამბერტ-ბერის კანონის საფუძველზე - მისი კონცენტრაციის ცვლილებას ენანტიომერიზაციის პროცესში. მიღებული მონაცემების დამუშავებით განისაზღვრება შესაბამისი სიჩქარის მუდმივების რიცხვითი მნიშვნელობები. ამავე მიზნებისათვის შესაძლებელია პოლარიმეტრების გამოყენებაც.

იმ შემთხვევაში, როდესაც რაცემატის დაყოფა ენანტიომერებად ვერ ხერხდება, ზოგჯერ შესაძლებელი ხდება ლუმინესცენტური მეთოდის გამოყენება: რაცემულ ნარევს ასხივებენ წრიულად პოლარიზებული სინათლის სხივებით, რაც იწვევს ერთ-ერთი ენანტიომერის უპირატეს აგზნებას. ამის შედეგად მიიღება არარაცემული აგზნებული ნარევი, რომლის ლუმინესცენტური ნათების დროში შესუსტების შესწავლით შესაძლებელი ხდება ენანტიომერიზაციის კინეტიკური პარამეტრების დადგენა. აქ მხედველობაში მისაღებია ის გარემოება, რომ მიღებული კინეტიკური მონაცემები ასახავენ მხოლოდ აგზნებული სტრუქტურების გარდაქმნის დინამიკას[13].

3) **დინამიკური ქრომატოგრაფია** ხასიათდება გარკვეული თავისებურებებით: იგი საშუალებას იძლევა გამოვიკვლიოთ ნიმუშების ენანტიომერიზაციის კინეტიკა. ამით გამოირიცხება ქირალური და აქირალური მინარევების გავლენა საბოლოო შედეგებზე. ქირალური სპექტროსკოპიის მეთოდისგან განსხვავებით, ამ შემთხვევაში აუცილებელი არ არის ენანტიომერულად სუფთა ნიმუშების წინასწარი მიღება.

ექსპერიმენტში, გამოიყენება სითხურ ქრომატოგრაფი, რომელიც აღჭურვილია სვეტის თერმოსტატით ტემპერატურის კონტროლისათვის. კინეტიკური ექსპერიმენტებისათვის საჭიროა ქირალური სტაციონარული ფაზის შემცველ სვეტებზე მუშაობა.

ამრიგად, ზემოაღნიშნულ ქრომატოგრაფიულ სვეტებში მიმდინარეობენ როგორც ენანტიომერების დაცილების, ასევე მათი ურთიერთგარდაქმნის პროცესები. თუ ენანტიომერიზაციის სიჩქარე საკმარისად დაბალია, ქრომატოგრაფიული სვეტიდან გამოსვლის შემდეგ დეტექტორი აფიქსირებს ერთმანეთისგან განცალკევებულ ორ ინდივიდუალურ პიკს, რომლებიც შეესაბამებიან ორ სტერეოიზომერს. თუკი ენანტიომერიზაციის სიჩქარე საკმარისად მაღალია, მაშინ ქრომატოგრამაზე ჩნდება გარკვეული პლატო ორ პიკს შორის, როგორც ეს ნაჩვენებია ნახაზზე (ნახ.10).

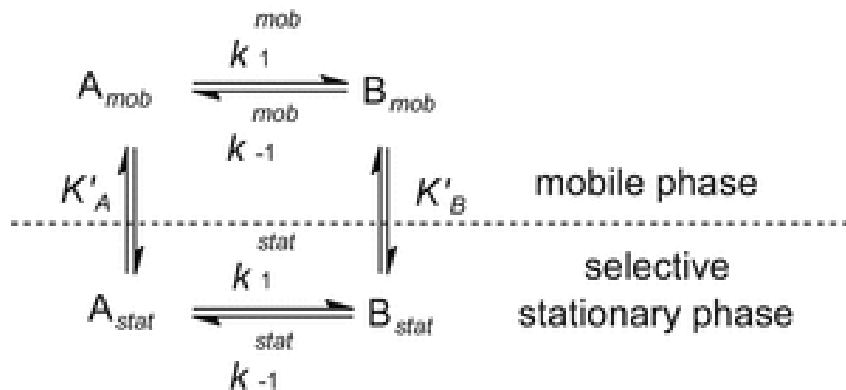


ტემპერატურის მომატებისას იზრდება ენანტიომერიზაციის სიჩქარე, რაც იწვევს პლატოს სიმაღლის მომატებას. მაღალ ტემპერატურებზე პლატოს სიმაღლე თითქმის უთანაბრდება პიკების სიმაღლეს, რაც განაპირობებს ორი პიკის ურთიერთშერწყმას და, პრაქტიკულად, ერთი პიკის წარმოქმნას. ასეთ პირობებში აღნიშნული მეთოდით ენანტიომერიზაციის კინეტიკის შესწავლა შეუძლებელი ხდება[13].

დინამიური ქრომატოგრაფიის მეთოდის ერთ-ერთი სახესხვაობა გულისხმობს კინეტიკის შესწავლას დაყოფის ისეთ პირობებში, როდესაც ქრომატოგრამაზე მკაფიოდ გამოკვეთილია ენანტიომერების პიკებს შორის არსებული პლატო. ასეთ შემთხვევაში პიკების პროფილის მათემატიკური დამუშავება, რაც გულისხმობს სვეტში მიმდინარე პროცესების კომპიუტერულ მოდელირებას, საშუალებას იძლევა განისაზღვროს ენანტიომერიზაციის სიჩქარის მუდმივები k_1 და k_{-1} სხვადასხვა ტემპერატურებზე. მიღებული შედეგების საფუძველზე ადვილად შეფასდება ენანტიომერიზაციის აქტივაციის თერმოდინამიკური პარამეტრებიც: ΔG_e^\ddagger , ΔH_e^\ddagger და ΔS_e^\ddagger . ამ მიზნით მაგალითად, გამოიყენება სპეციალური კომპიუტერული პროგრამა *DCXplorer*.

უნდა აღინიშნოს შემდეგი გარემოებაც: ქრომატოგრაფიულ სვეტში ენანტიომერების ურთიერთგარდაქმნა შესაძლებელია მიმდინარეობდეს არა მარტო ქირალური სტაციონარული ფაზის ზედაპირზე, არამედ მოძრავ ფაზაშიც. გარდა ამისა, გარდაქმნის კინეტიკაზე შეაძლებელია გავლენა მოახდინოს ფაზათა გამყოფ ზედაპირთან მიმდინარე

ნივთიერებათა ადსორბცია - დესორბციის პროცესებში. ეს იმას ნიშნავს, რომ მარტივი სქემის ნაცვლად უნდა განვიხილოთ უფრო სრული სქემატური წარმოდგენა(ნახ.11):



აქ “**mob**” ინდექსი შეესაბამება მოძრავ ფაზას, ხოლო „**stat**“ - უძრავ ფაზას. K'_A და K'_B ასახავენ ორ ფაზას შორის **A** და **B** ენანტიომერების ადსორბციულ - დესორბციული წონასწორობის მუდმივებს.

ჩატარებული გამოკვლევებით დადგინდა, რომ სვეტში ადსორბციულ - დესორბციული პროცესები მიმდინარეობენ საკმაოდ სწრაფად და ისინი, ჩვეულებრივ, არ აღიმიტირებენ ენანტიომერების ურთიერთგარდაქმნას. აქედან გამომდინარეობს, რომ კინეტიკური პარამეტრების განსაზღვრის აღწერილი პროცედურები სავსებით მისაღებია. ამრიგად, შეგვიძლია მივიღოთ, რომ ენანტიომერიზაციის სიჩქარის მუდმივები მოიცავენ ორ მდგენელს - ჰომოგენურს და ჰეტეროგენულს:

$$k_1 = k_1^{mob} + k_1^{stat} \quad (34)$$

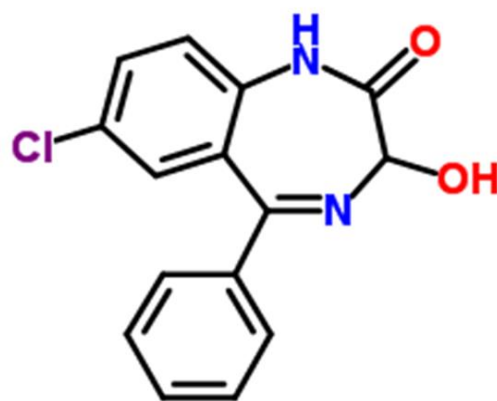
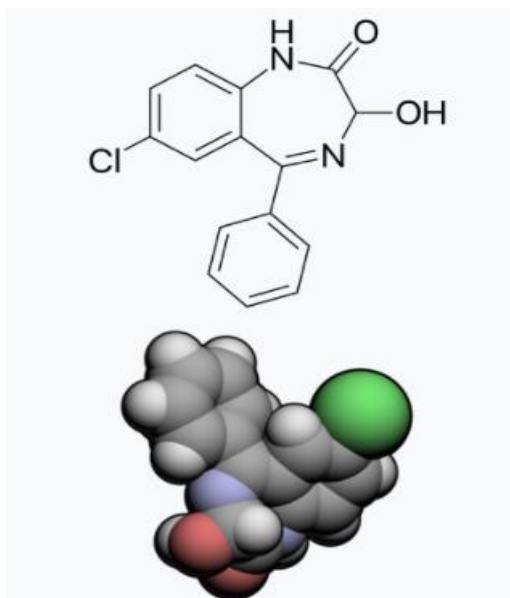
$$k_{-1} = k_{-1}^{mob} + k_{-1}^{stat} \quad (35)$$

სავარაუდოდ, მოძრავ ფაზაში ენანტიომერიზაციის პროცესები მიმდინარეობს გაცილებით დაბალი სიჩქარით, ვიდრე ქირალური სტაციონარული ფაზის ზედაპირზე, ანუ: $k_1^{mob} \ll k_1^{stat}$ და $k_{-1}^{mob} \ll k_{-1}^{stat}$. ასეთ შემთხვევაში გვრჩება, რომ ენანტიომერების ურთიერთგარდაქმნის აქტივაციის დადგენილი კინეტიკური და თერმოდინამიკური პარამეტრები ძირითადად ასახავენ ფაზათა გამყოფ ზედაპირზე მიმდინარე ჰეტეროგენულ პროცესებს[13].

3. ექსპერიმენტული ნაწილი

3.1. საკვლევი ნივთიერება

ოქსაზეპამი არის ბენზოდიაზეპინების ოჯახის წარმომადგენელი დამამშვიდებელი, საძილე ნივთიერება. მას აქვს ქირალობის ერთი ცენტრი და შესაბამისად ორი ენანტიომერი. არსებობს რაცემატის სახით, თუმცა შესაძლებელია ენანტიომერების ერთმანეთისგან გამოყოფა. იგი მოქმედებს თავის ტვინზე და ცენტრალურ ნერვულ სისტემაზე და მოქმედებს შფოთვის, დეპრესიის და კრუნჩხვის თავიდან ასაცილებლად. ოქსაზეპამის გვერდითი მოვლენები სხვა ბენზოდიაზეპინების მსგავსია იწვევს თავბრუსხვევას, ძილიანობას, თავის ტკივილს, მეხსიერების დაქვეითებას, პარადოქსულ აღზუნებას და ა.შ. ამასთან ხანგრძლივი გამოყენებისას იწვევს დამოკიდებულებას, დოზის გადაჭარბება კი შესაძლოა დამთავრდეს ფატალური შედეგით, ხოლო დოზის სწრაფი შემცირება ან მისი მიღების მყისიერი შეწყვეტა იწვევს მუცლის ღრუს და კუნთების კრუნჩხვებს, დეპრესიას, უძილბას, კანკალს და ა.შ. ამიტომ 2020 წელს აშშ-ს სურსათისა და წამლების ადმინისტრაციამ FDA-მ დააწესა შეზღუდვა ბენზოდიაზეპინების ყველა მედიკამენტის გამოყენებასთან დაკავშირებით.

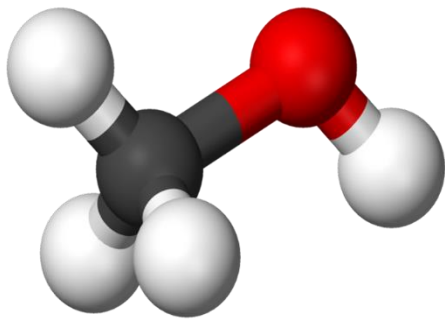


ნახ.12. ოქსაზეპამი (7-ქლორ-1,3-დიჰიდრო-3-ჰიდროქსი-5-ფენილ-1,4-ბენზოდიაზეპინ-2-ონი) $C_{15}H_{11}ClN_2O_2$

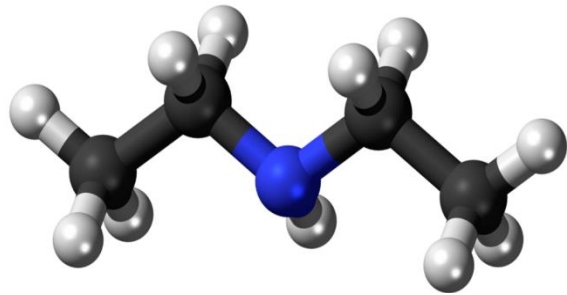
3.2. მოძრავი ფაზა

ექსპერიმენტში მოძრავ ფაზებად გამოვიყენეთ სუფთა მეთანოლი (MeOH) და მეთანოლს დამატებული 0.1% დიეთილამინი.

საერთოდ, მჟავა ან ფუძე დამატების გამოყენება მოძრავ ფაზაში ფართოდ არის გავრცელებული და მიიჩნევა, რომ ისინი აუმჯობესებენ დაყოფას, შესაბამისად, მჟავა ბუნებისა და ფუძე ბუნების ნაერთებისთვის ქრომატოგრაფიული დაყოფის დროს.



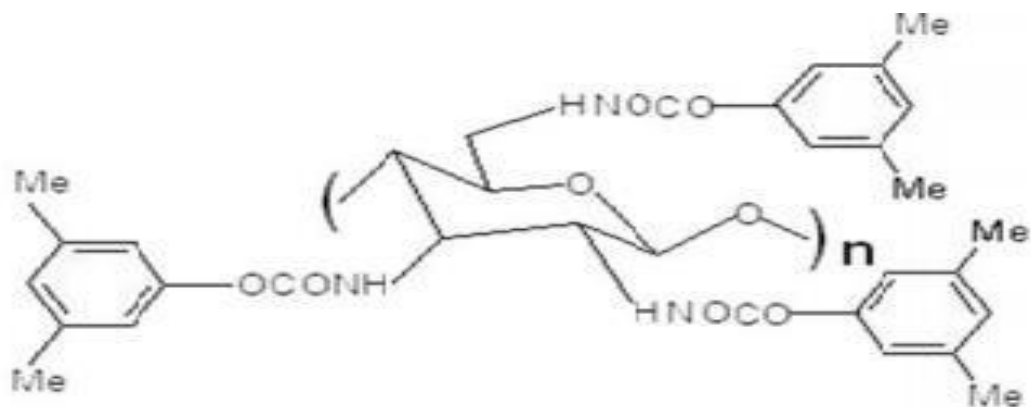
ნახ.13. მეთანოლი



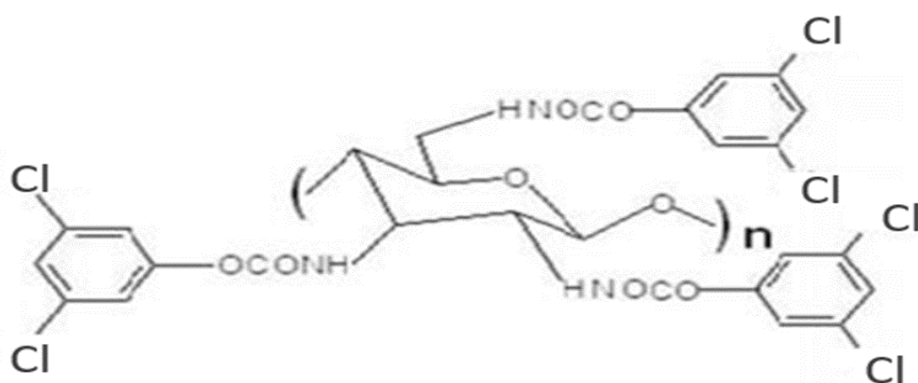
ნახ.14. დიეთილამინი

3.3. ქირალური სტაციონალური ფაზები

ექსპერიმენტში გამოვიყენეთ ორი ქრომატოგრაფიული სვეტი ერთი ქირალური სელექტორის სილიკაგელზე დაფენით მომზადებული ხოლო მეორე ქირალური სელექტორის სილიკაგელზე კოვალენტურად იმობილიზებული სვეტი. როგორც უკვე ავღნიშნეთ სტაციონარული ფაზა შეიძლება დაფენილი იყოს სილიკაგელის ზედაპირზე ან იყოს კოვალენტურად ბმული, ანუ იმობილიზებული. ექსპერიმენტები აჩვენებს, რომ დაფენილი სვეტები დაყოფის თვალსაზრისით უპირატესობას ამჟღავნებენ. თავისი დადებითი მხარეები აქვს იმობილიზებული სვეტების გამოყენებასაც, ის უფრო სტაბილურია როგორც ნორმალურფაზიან, ასევე შებრუნებულფაზიან ქრომატოგრაფიაში, შესაბამისად ისეთი გამხსნელების გამოყენება არის შესაძლებელი, რომლების დაფენილ ანალოგიურ სვეტებზე გამოყენება შეუძლებელია, მათი ამ გამხსნელში არასტაბილურობის გამო. ეს ზრდის კოვალენტურად ბმული სვეტების გამოყენების სფეროს. ასევე დაფენილთან შედარებით ადვილია სვეტის რეგენერაცია.



ნახ.15. ცელულოზა-1: ცელულოზა ტრის (3,5 დიმეთილფენილკარბამატი)



ნახ.16. იმობილიზებული ცელულოზა-5 (iSP5-10 5a): ცელულოზა ტრის (3,5 დიქლორფენილკარბამატი)

3.4. ანალიზის პირობები

- ❖ საანალიზოდ აღებული ნიმუშის მოცულობა 2 მიკროლიტრი
- ❖ მოძრავი ფაზის ნაკადის სიჩქარე 1 მლ/წთ
- ❖ დეტექტორის ტალღის სიგრძე 254 ნმ
- ❖ ტემპერატურული ინტერვალი 15°C-დან 55°C-ის ჩათვლით, 5°C-ის ბიჯით

3.5. გამოყენებული აპარატურა

ექსპერიმენტში გამოყენებული იყო Agilent 1200 სერიის მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფი. მისი ძირითადი ნაწილებია:

1. ტუმბო
2. ინჯექტორი
3. სვეტების თერმოსტატი
4. ულტრაიისფერი დეტექტორი
5. კომპიუტერი, რომელშიც სპეციალური პროგრამის დახმარებით შესაძლებელია ხელსაწყო მართვა და შედეგების დამუშავება

ხელსაწყო აღჭურვილია Quaternary 0491-0131 ტუმბოთი, რომელიც საშუალებას იძლევა ნაკადის სიჩქარის განვითარებას 5 მლ/წთ-მდე და 400 ბარ წნევამდე. ავტონჯექტორში თავსდება ვიალების ორი თარო, 96 ვიალით; ინჯექტირების მაქსიმალური მოცულობა 100 მკლ-ია. სვეტი თავსდება თერმოსტატში, აღნიშნულ ხელსაწყოზე თერმოსტატი მუშაობს -5 °C-დან 100 °C-მდე. რაც შეეხება დეტექტორს, მისი დიაპაზონი 190-600 ნმ-ია. კომპიუტერული სისტემის მეშვეობით, Agilent ChemStation for LC & LC/MS Systems პროგრამის დახმარებით ხდება ხელსაწყო მართვა და შედეგების დამუშავება.

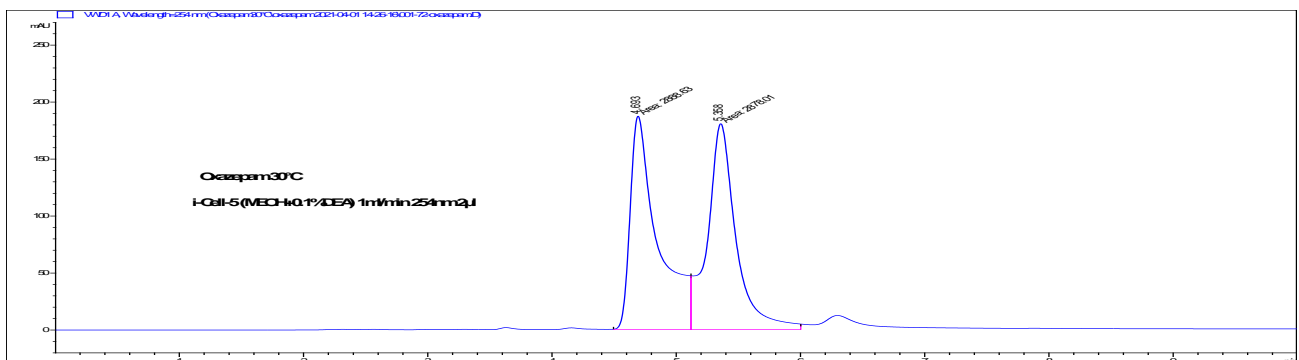
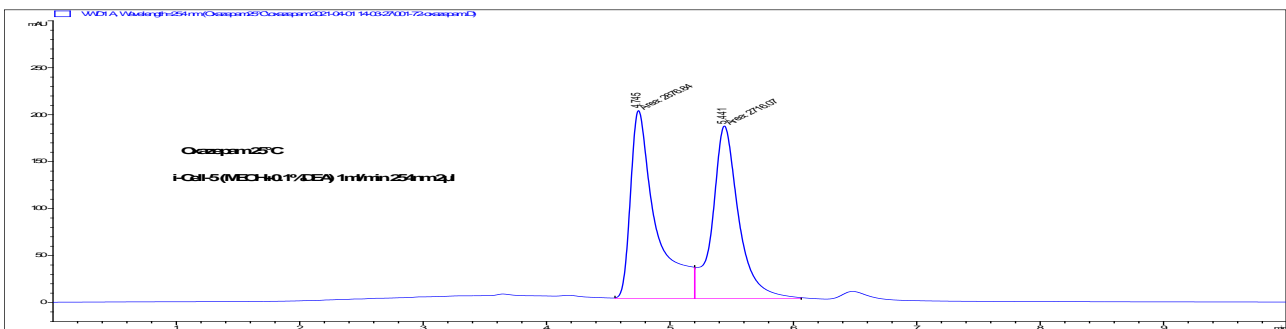
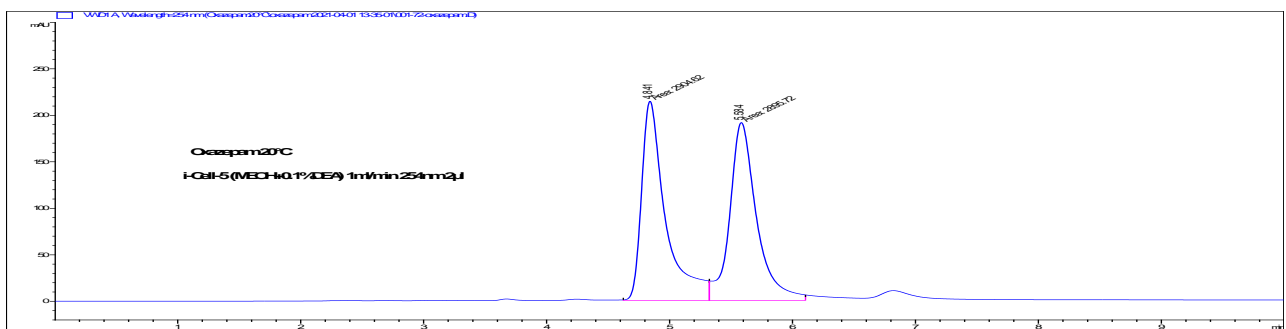
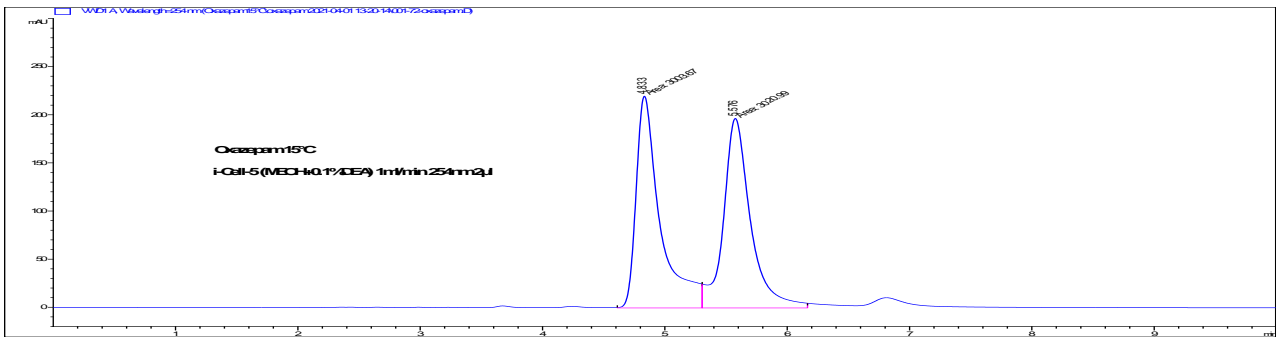


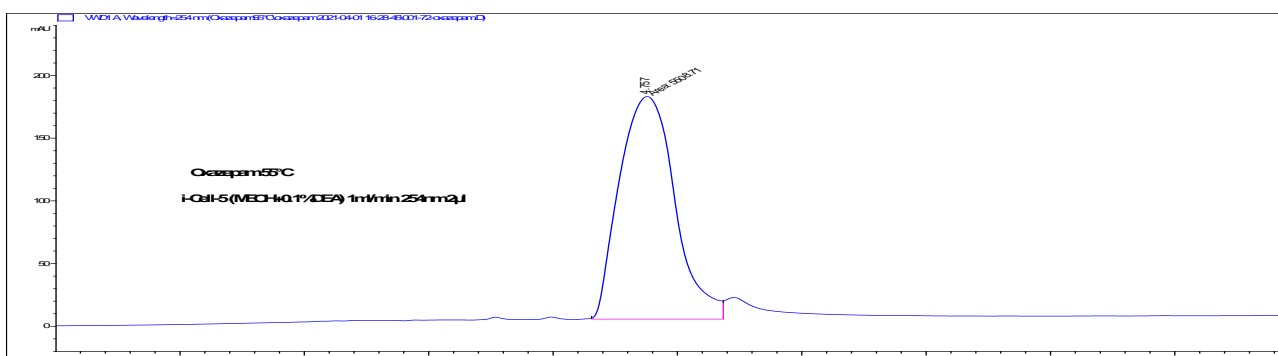
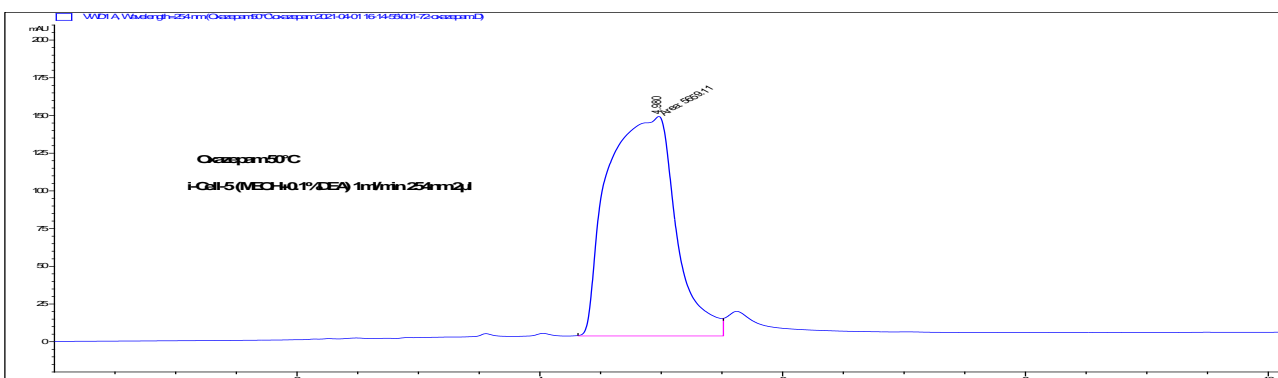
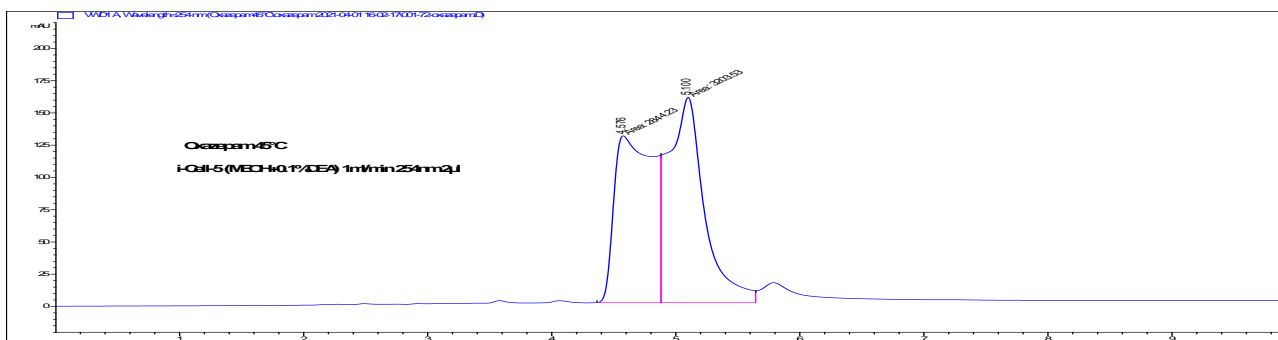
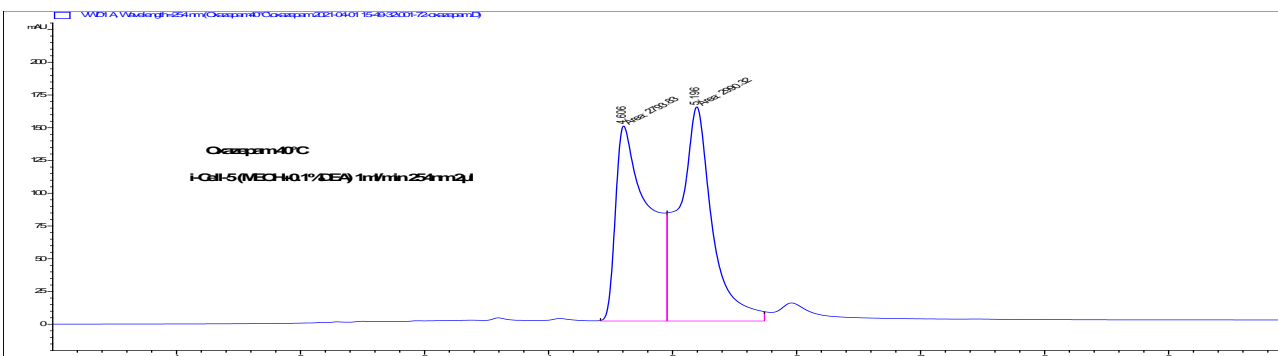
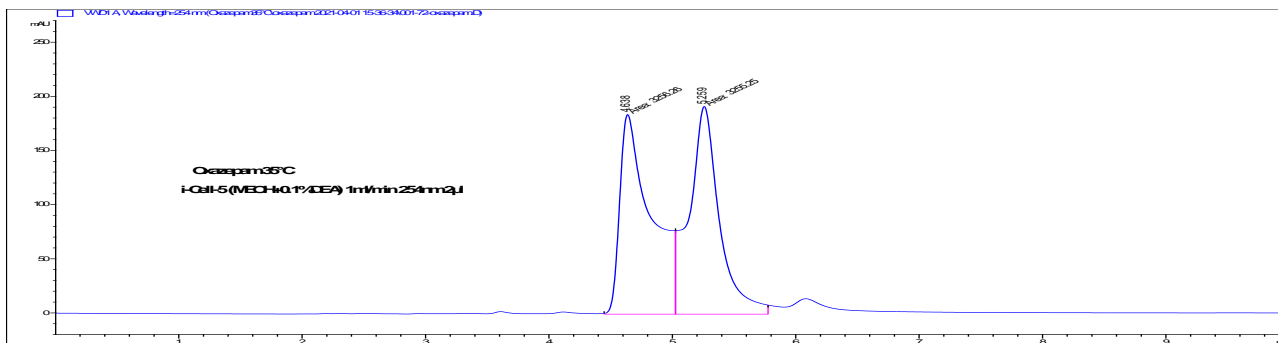
ნახ.17. Agilent 1200 სერიის მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფი (HPLC)

4. ექსპერიმენტის შედეგები და მათი განსჯა

4.1. ქრომატოგრამები იმობილიზებული ცელულოზა-5 სვეტისთვის

ექსპერიმენტი გვიჩვენებს ტემპერატურის გავლენას ოქსაზეჰამის ენანტიომერების ურთიერთგარდაქმნის პროცესზე იმობილიზებული ცელულოზა-5 სტაციონალური ფაზის ზედაპირზე 15°C- 55°C ტემპერატურულ ინტერვალში, 5°C-ის ბიჯით.



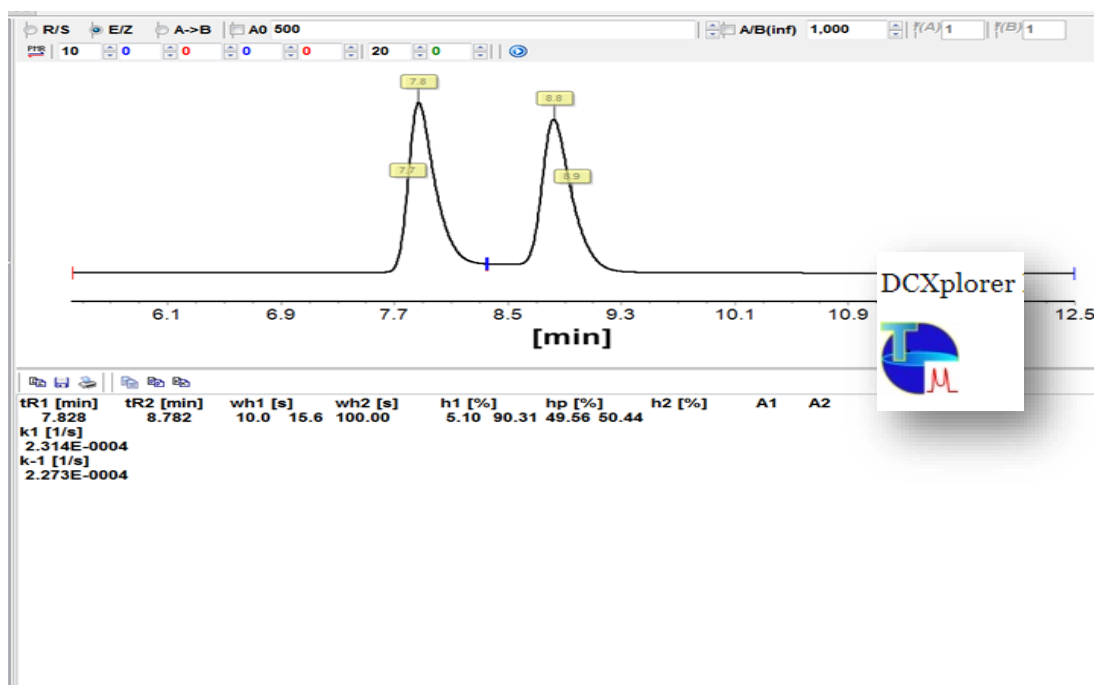


4.1.1. კინეტიკური გამოთვლები იმობილიზებული ცელულოზა-5

სვეტისთვის არენიუსის განტოლების გამოყენებით

აქტივაციის ენერჯის მნიშვნელობები დავთვალეთ, როგორც არენიუსის განტოლების ისე ეირინგის განტოლების გამოყენებით, თუმცა ამისათვის, პირველ რიგში გამოვთვალეთ ერთი ენანტიომერის მეორეში გარდაქმნის k_1 და მეორე ენანტიომერის პირველში გარდაქმნის k_{-1} რეაქციის სიჩქარის მუდმივების მნიშვნელობები სხვადასხვა ტემპერატურაზე.

ამისათვის გამოვიყენეთ სპეციალური კომპიუტერული პროგრამა DCX plorer. ამ პროგრამაში ხდება ქრომატოგრაფიული ხელსაწყოდან ამოღებული დიგიტალური ქრომატოგრამების ატვირთვა, რის საფუძველზეც ხელსაწყო ითვლის ენანტიომერიზაციის პროცესის სიჩქარის მუდმივების რიცხვით მნიშვნელობებს. ამასთან აღსანიშნავია, რომ მაღალ ტემპერატურაზე პიკებს შორის პლატოს სიმაღლე უტოლდება თავად პიკების სიმაღლეებს, რის შედეგადაც პრაქტიკულად ვიღებთ ერთ პიკს, ამიტომაც გარკვეული ტემპერატურის ზემოთ აღნიშნული პროგრამით ენანტიომერიზაციის კინეტიკის შესწავლა შეუძლებელი ხდება.

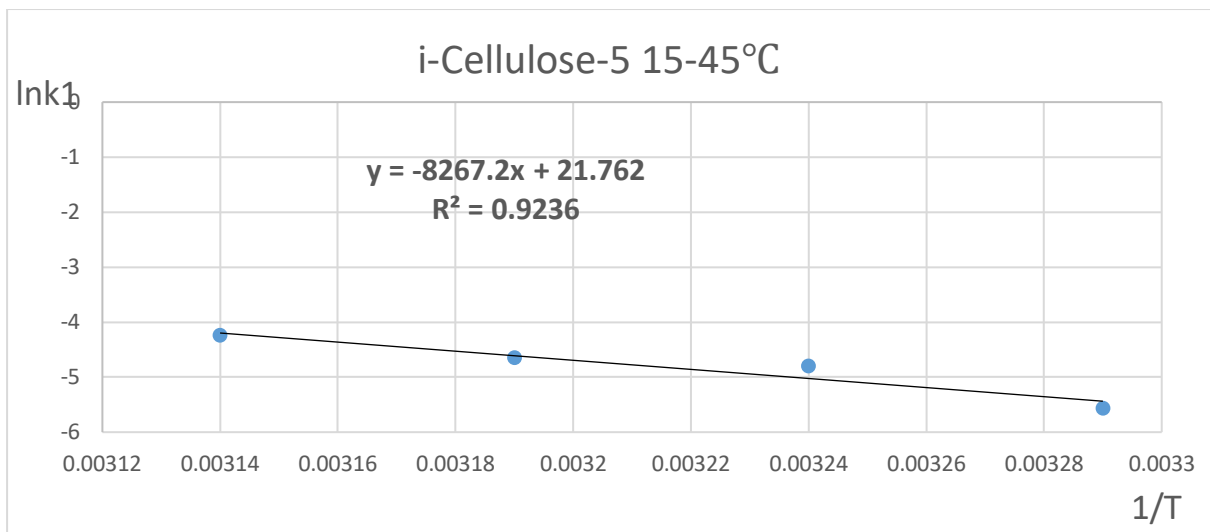


ნახ.18. DCX plorer პროგრამის ინტერფეისი

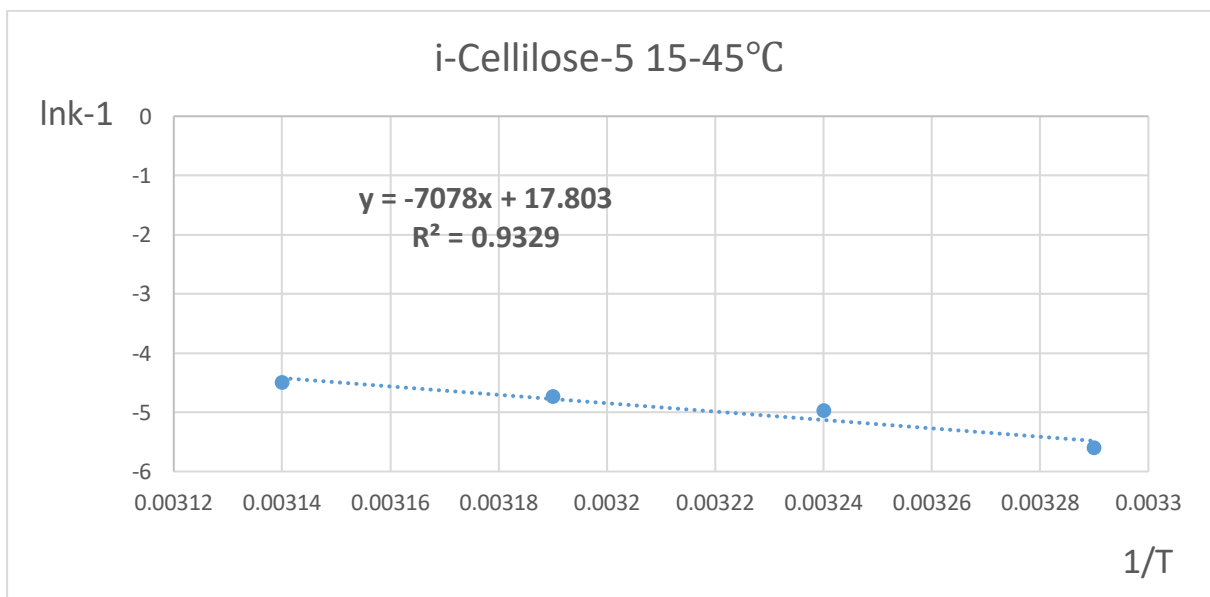
ცხრილი 1. ერთი ენანტიომერის მეორეში გარდაქმნის k_1 და მეორე ენანტიომერის პირველში გარდაქმნის k_{-1} რეაქციის სიჩქარის მუდმივების მნიშვნელობები სხვადასხვა ტემპერატურაზე i-Cellulose-5 სტაციონალური ფაზების ზედაპირზე.

T°C	1/T K	lnk1 s ⁻¹	lnk-1 s ⁻¹	k1 s ⁻¹	k-1 s ⁻¹
15	0.00346	-3.6848	-3.9373	0.0251	0.0195
20	0.00341	-3.8258	-3.8680	0.0218	0.0209
25	0.00335	-3.2675	-3.3581	0.0381	0.0348
30	0.00329	-5.5727	-5.5994	0.0038	0.0037
35	0.00324	-4.8036	-4.9762	0.0082	0.0069
40	0.00319	-4.6459	-4.7330	0.0096	0.0088
45	0.00314	-4.2474	-4.5008	0.0143	0.0111
50	0.00309	No rate constant calculated!			
55	0.00305				
60	0.0030				

აქტივაციის ენერჯის ზუსტი ექსპერიმენტული განსაზღვრისათვის საჭიროა რეაქციის სიჩქარის მუდმივას მნიშვნელობათა დადგენა რამდენიმე ტემპერატურაზე სასურველია - ფართო ტემპერატურულ ინტერვალში(ცხრილი.1), ჩვენს შემთხვევაში გამოვიანგარიშეთ 15°C- 45°C ინტერვალში. აქედან გამომდინარე, ექსპერიმენტული მონაცემების საფუძველზე ავაგეთ გრაფიკი ე.წ. არენიუსისეულ კოორდინატებში „1/T; lnk” მიღებული გრაფიკი წარმოადგენს წრფეს (ნახ.19, ნახ.20), შესაბამისდ აბსცისთა ღერძის მიმართ მისი დახრილობის მიხედვით გამოითვალეთ რეაქციის აქტივაციის ენერჯია, ხოლო ორდინატთა ღერძზე ჩამოჭრილი მონაკვეთის მიხედვით დავადგინეთ ექსპონენტისწინა მამრავლის რიცხვით მნიშვნელობა[12].



ნახ.19. $\ln k_1 - 1/T$ დამოკიდებულების გრაფიკი i-Cellulose5 სვეტისთვის



ნახ.20. $\ln k_{-1} - 1/T$ დამოკიდებულების გრაფიკი i-Cellulose5 სვეტისთვის

მოცემული გრაფიკებისა და არენიუსის განტოლების მეშვეობით გამოვთვალეთ ენანტიომერიზაციის რეაქციის აქტივაციის ენერჯის რიცხვითი მნიშვნელობა ერთი ენანტიომერის მეორეში გარდაქმნის და მეორე ენანტიომერის პირველში გარდაქმნის დროს.

ჩავწერთ არენიუსის განტოლება ლოგარითმული ფორმით:

$$\ln k = \ln A - E/RT$$

მაშინ პირველი ენანტიომერის მეორეში გარდაქმნის აქტივაციის ენერჯის მნიშვნელობა

იქნება: $E/R=8267.2$; $E=8267.2*8.31=68.7$ კჯოული/მოლი

ხოლო შესაბამისად მეორე ენანტიომერის პირველში გარდაქმნის აქტივაციის ენერჯია

იქნება: $E/R=7078.0$; $E=7078.0*8.31=58.8$ კჯოული/მოლი

4.1.2. კინეტიკური გამოთვლები იმობილიზებული ცელულოზა-5 სვეტისთვის ეირინგის განტოლების გამოყენებით

ენანტიომერიზაციის, როგორც პირველი რიგის ელემენტარული პროცესის სიჩქარის მუდმივა შეიძლება გამოვსახოთ ეირინგის განტოლებით:

$$k = \frac{k_B T}{h} e^{-\frac{\Delta G^\ddagger}{RT}} = \frac{k_B T}{h} e^{\frac{T \Delta S^\ddagger - \Delta H^\ddagger}{RT}} \quad (36)$$

სადაც k_B ბოლცმანის მუდმივაა, h - პლანკის მუდმივა, ΔG^\ddagger - აქტივაციის თავისუფალი ენერჯია (გიბსის ენერჯია), ΔS^\ddagger და ΔH^\ddagger - შესაბამისად აქტივაციის ენტროპია და ენთალპია. ამ გამოსახულების გალოგარითმება გვაძლევს:

$$\ln \frac{k}{T} = \left(\ln \frac{k_B}{h} + \frac{\Delta S^\ddagger}{R} \right) - \left(\frac{\Delta H^\ddagger}{R} \right) \frac{1}{T} \quad (37)$$

თუ ჩავთვლით, რომ აქტივაციის ენტროპია და ენთალპია, პრაქტიკულად, არ არიან ტემპერატურაზე დამოკიდებულნი, მაშინ ვღებულობთ, რომ $\ln \frac{k}{T}$ ცვლადი წარმოადგენს ცდის T ტემპერატურის შებრუნებული სიდიდის წრფივ ფუნქციას:

$$\ln \frac{k}{T} = a_0 + a_1 \left(\frac{1}{T} \right) \quad (38)$$

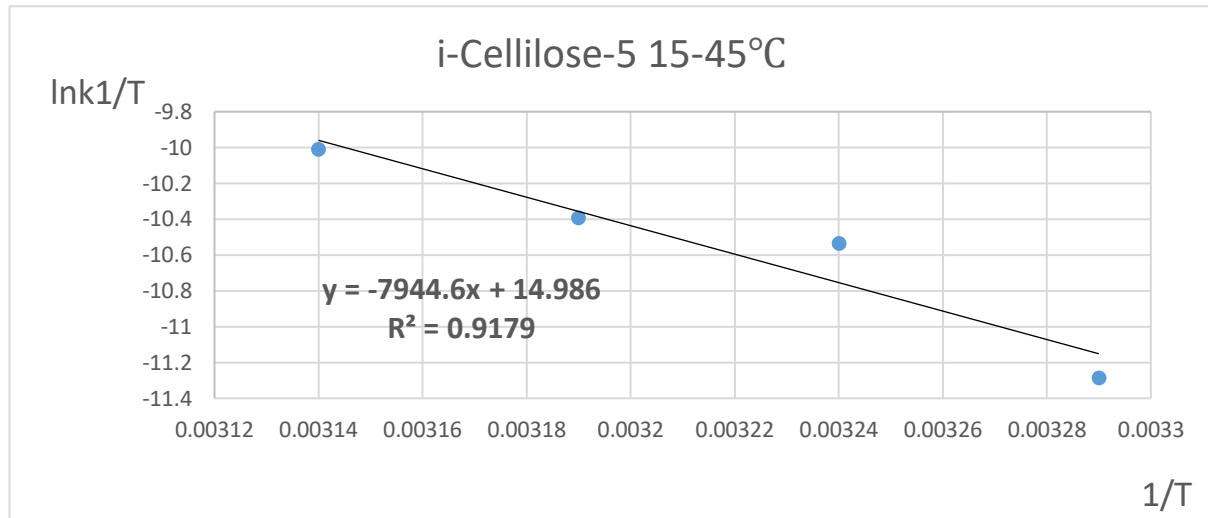
სადაც თავისუფალი წევრი $a_0 = \ln \frac{k_B}{h} + \frac{\Delta S^\ddagger}{R}$, ხოლო წრფივი კოეფიციენტი

$$a_1 = - \frac{\Delta H^\ddagger}{R}.$$

აქედან გამომდინარეობს, რომ თუ ექსპერიმენტულ მონაცემებს გრაფიკულად წარმოვადგენთ ეირინგის კოორდინატებში $[1/T, \ln(k/T)]$, მაშინ მივიღებთ რეგრესიის წრფეს, რომლის დახრილობიდანაც დავადგენთ ΔH^\ddagger სიდიდეს, ხოლო ორდინატა ღერძზე ჩამოჭრილი მონაკვეთიდან - აქტივაციის ენტროპიას [11].

T, K	$1/T, K^{-1}$	k_1, s^{-1}	k_{-1}, s^{-1}	$\ln \frac{k_1}{T}$	$\ln \frac{k_{-1}}{T}$
288	0.00346	0.0251	0.0195	-9.3478	-9.6003
293	0.00341	0.0218	0.0209	-9.5060	-9.5481
298	0.00335	0.0381	0.0348	-8.9646	-9.0552
303	0.00329	0.0038	0.0037	-11.2864	-11.3131
308	0.00324	0.0082	0.0069	-10.5337	-10.7063
313	0.00319	0.0096	0.0088	-10.3921	-10.4792
318	0.00314	0.0143	0.0111	-10.0095	-10.2628
323	0.00309				

ცხრილი 2. ერთი ენანტიომერის მეორეში გარდაქმნის k_1 და მეორე ენანტიომერის პირველში გარდაქმნის k_{-1} რეაქციის სიჩქარის მუდმივების მნიშვნელობები სხვადასხვა ტემპერატურაზე i-Cellulose-5 სტაციონალური ფაზების ზედაპირზე.



ნახ. 21. $\ln k_1/T - 1/T$ დამოკიდებულების გრაფიკი i-Cellulose 5 სვეტისთვის

გამოთვლილი რეაქციის სიჩქარეთა მუდმივების და გრაფიკის გამოყენებით განვსაზღვრეთ აქტივაციის ენთალპიის და ენტროპიის მნიშვნელობა და შესაბამისად აქტივაციის თავისუფალი ენერგიისა (ΔG^\ddagger) და აქტივაციის E_a ენერგიის (აქტივაციური ბარიერის) რიცხვითი მნიშვნელობები 298 K ტემპერატურაზე პირველი ენანტიომერის მეორეში გარდაქმნის დროს:

$$\Delta G^\ddagger = \Delta H^\ddagger - T \Delta S^\ddagger$$

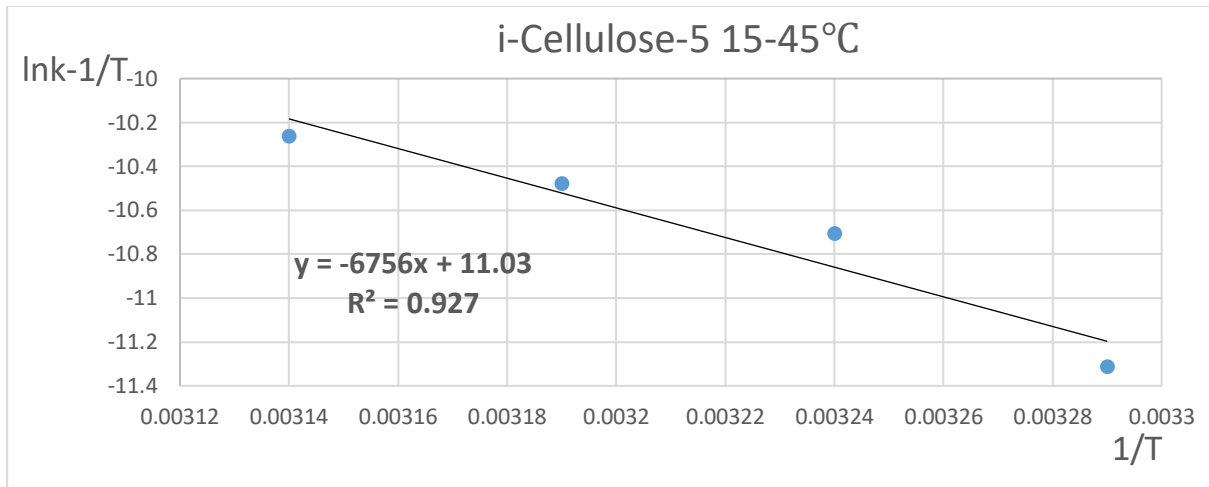
$$E_a = \Delta H^\ddagger + R T$$

$$\Delta H^\ddagger = -8.31 \cdot a_1 = 66019 \text{ ჯ.მოლი}^{-1} = 66.02 \text{ კჯ.მოლი}^{-1}$$

$$\Delta S^\ddagger = [a_1 - \ln k/h] R = 8.31(14.986 - 23.76) = -72.9119 \text{ ჯ.მოლი}^{-1} \text{K}^{-1}$$

$$\Delta G^\ddagger = \Delta H^\ddagger - T \Delta S^\ddagger = 87746.74 \text{ ჯ.მოლი}^{-1} = 87.74 \text{ კჯ.მოლი}^{-1}$$

$$E_a = \Delta H^\ddagger + R T = 68495.38 \text{ ჯ.მოლი}^{-1} = 68.49 \text{ კჯ.მოლი}^{-1}$$



ნახ.22. $\ln k-1/T-1/T$ დამოკიდებულების გრაფიკი i-Cellulose5 სვეტისთვის

აქტივაციის ენთალპიის და ენტროპიის მნიშვნელობა და შესაბამისად აქტივაციის თავისუფალი ენერჯის (ΔG^\ddagger) და აქტივაციის E_a ენერჯის (აქტივაციური ბარიერის) რიცხვითი მნიშვნელობები 298 K ტემპერატურაზე მეორე ენანტიომერის პირველში გარდაქმნის დროს:

$$\Delta G^\ddagger = \Delta H^\ddagger - T \Delta S^\ddagger$$

$$E_a = \Delta H^\ddagger + R T$$

$$\Delta H^\ddagger = -8.31 \cdot a_1 = 56142.36 \text{ ჯ.მოლი}^{-1} = 56.14 \text{ კჯ.მოლი}^{-1}$$

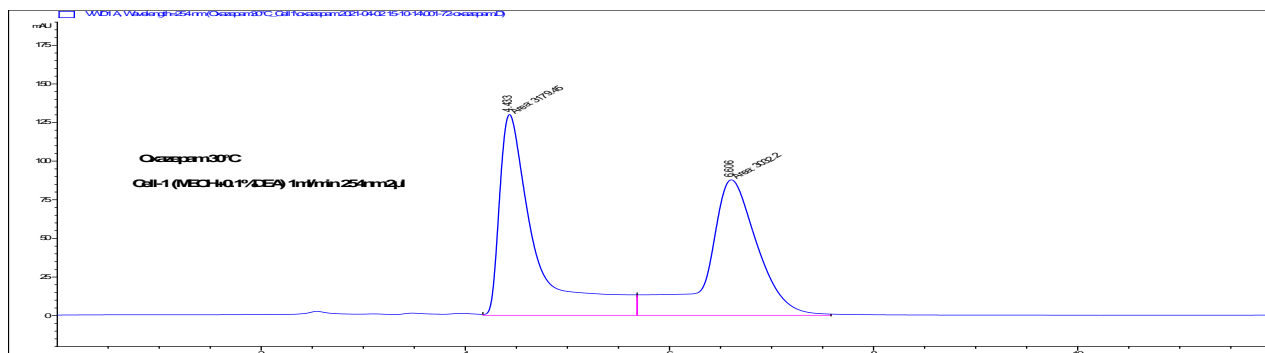
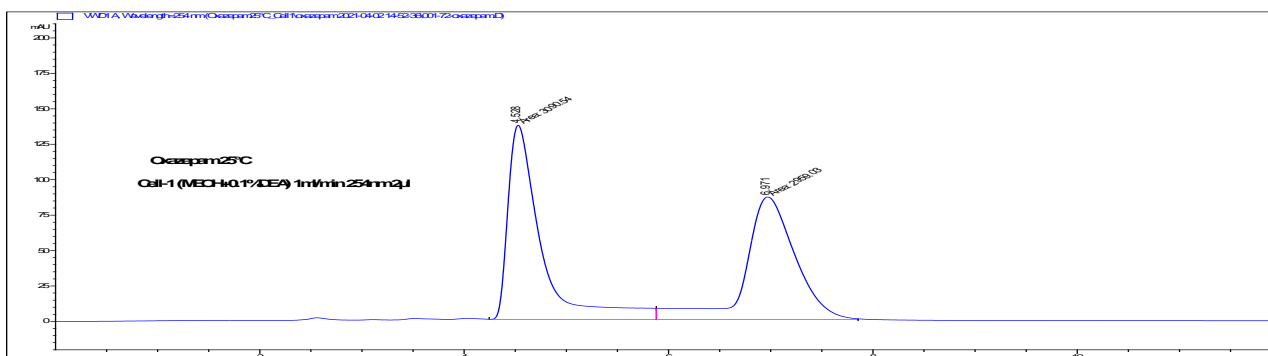
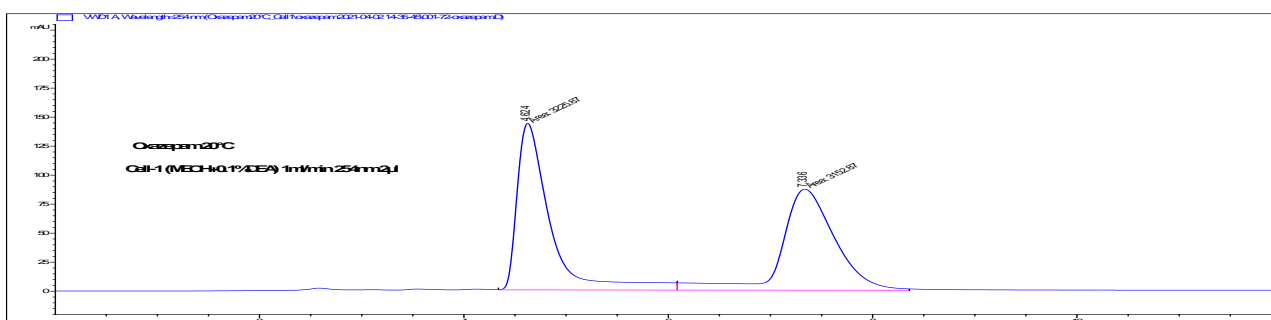
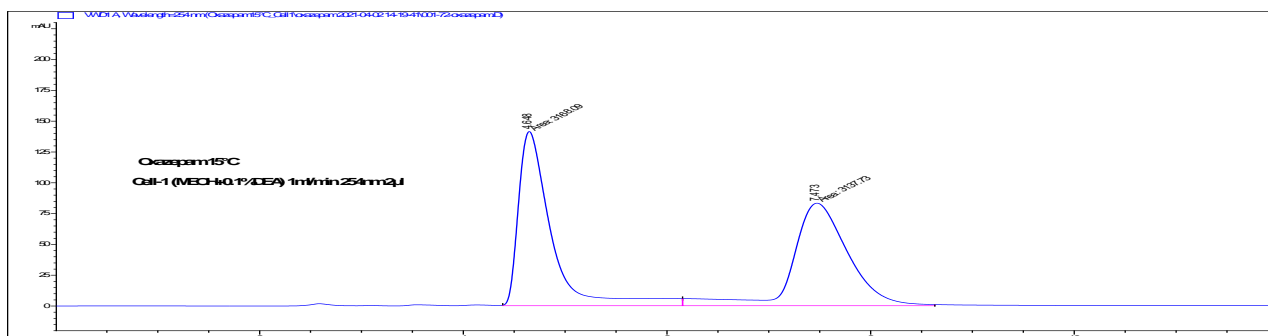
$$\Delta S^\ddagger = [a_1 - \ln k/h]R = 8.31(11.03 - 23.76) = -105.7863 \text{ ჯ.მოლი}^{-1}\text{K}^{-1}$$

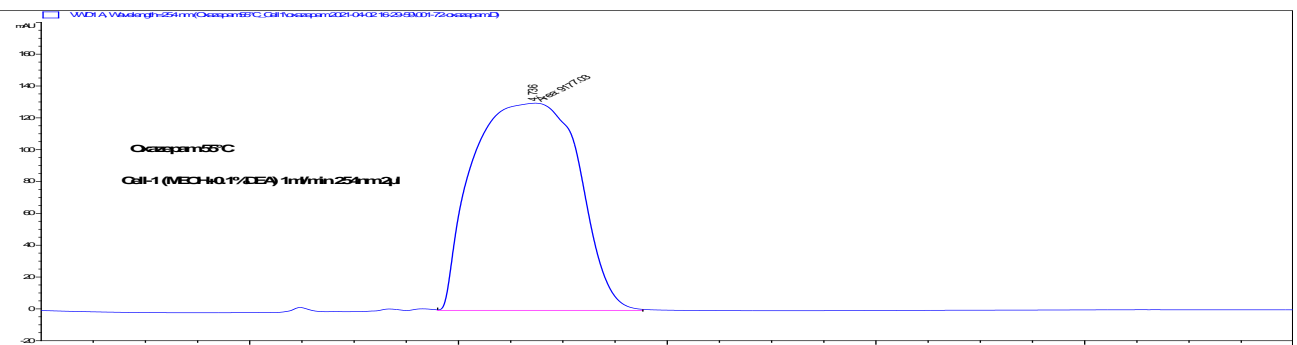
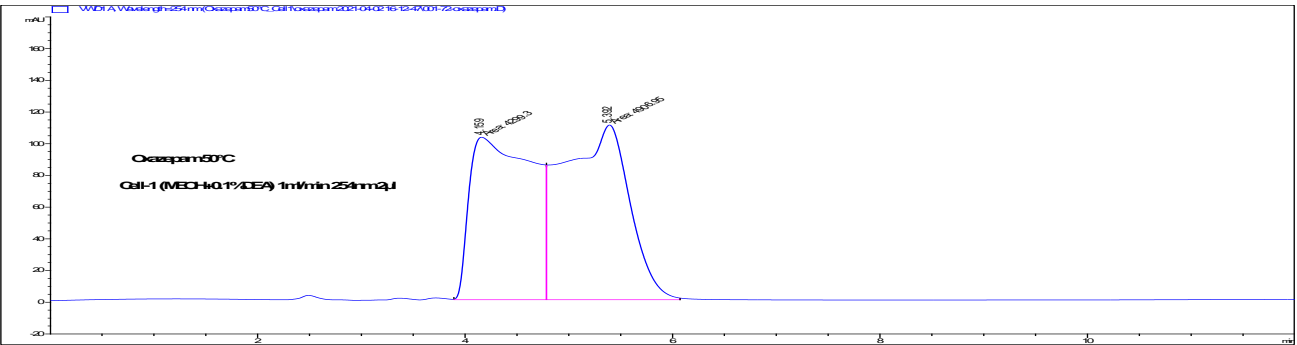
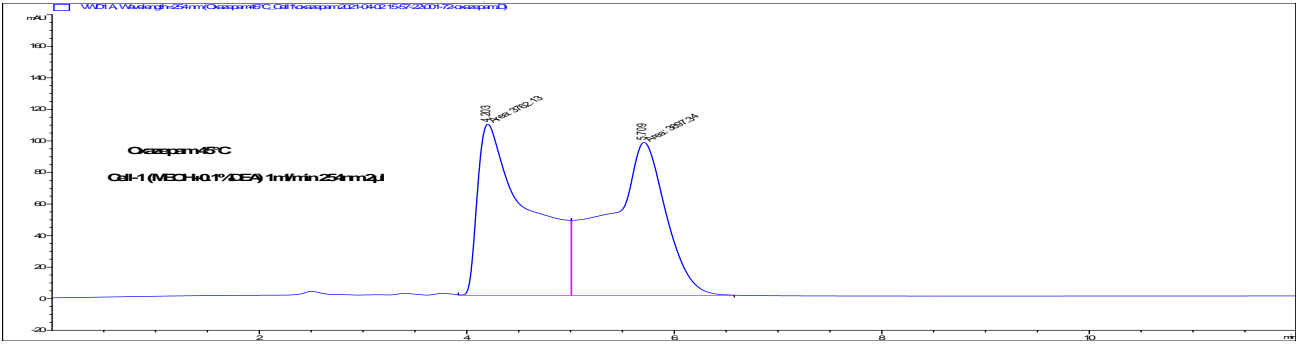
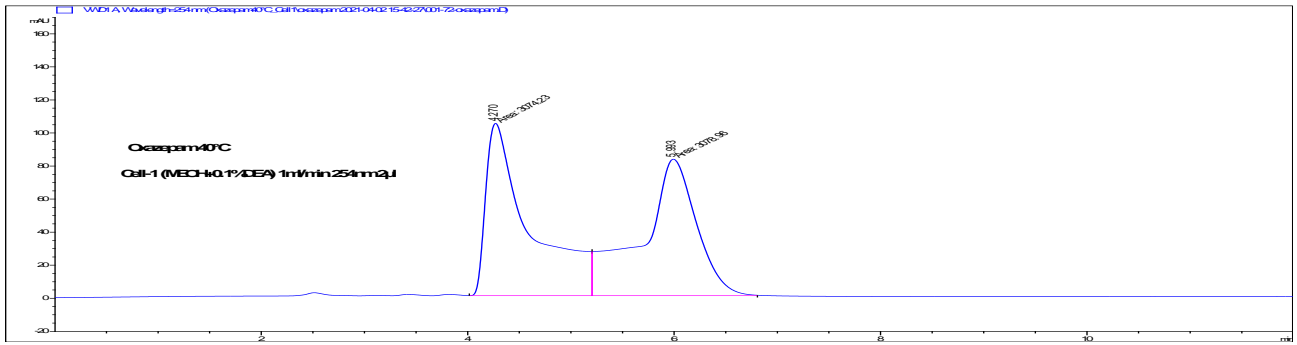
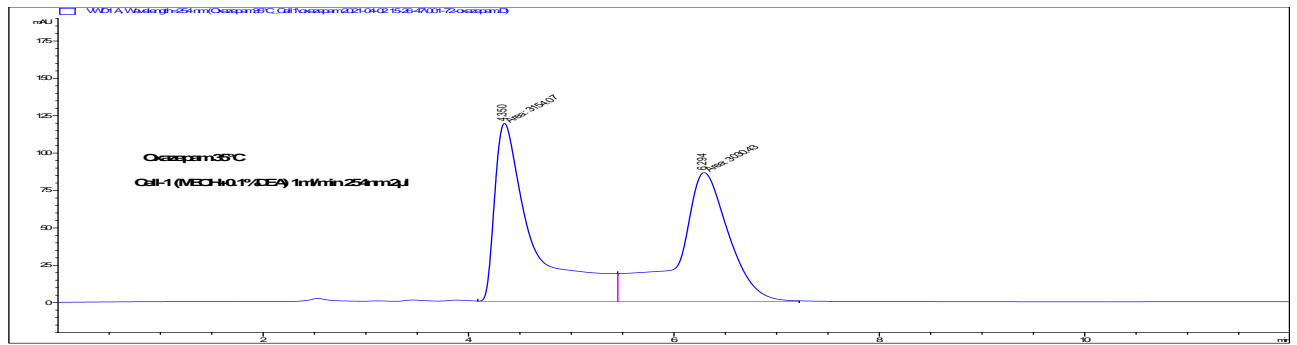
$$\Delta G^\ddagger = \Delta H^\ddagger - T \Delta S^\ddagger = 87666.67 \text{ ჯ.მოლი}^{-1} = 87.66 \text{ კჯ.მოლი}^{-1}$$

$$E_a = \Delta H^\ddagger + R T = 56142.36 + 8.31 \cdot 298 = 58.61 \text{ კჯ.მოლი}^{-1}$$

4.2. ქრომატოგრამები ცელულოზა-1 სვეტისთვის

ექსპერიმენტი გვიჩვენებს ტემპერატურის გავლენას ოქსაზეჰამის ენანტიომერების ურთიერთგარდაქმნის პროცესზე ცელულოზა-1 სტაციონალური ფაზის ზედაპირზე 15°C- 55°C ტემპერატურულ ინტერვალში, 5°C-ის ბიჯით.



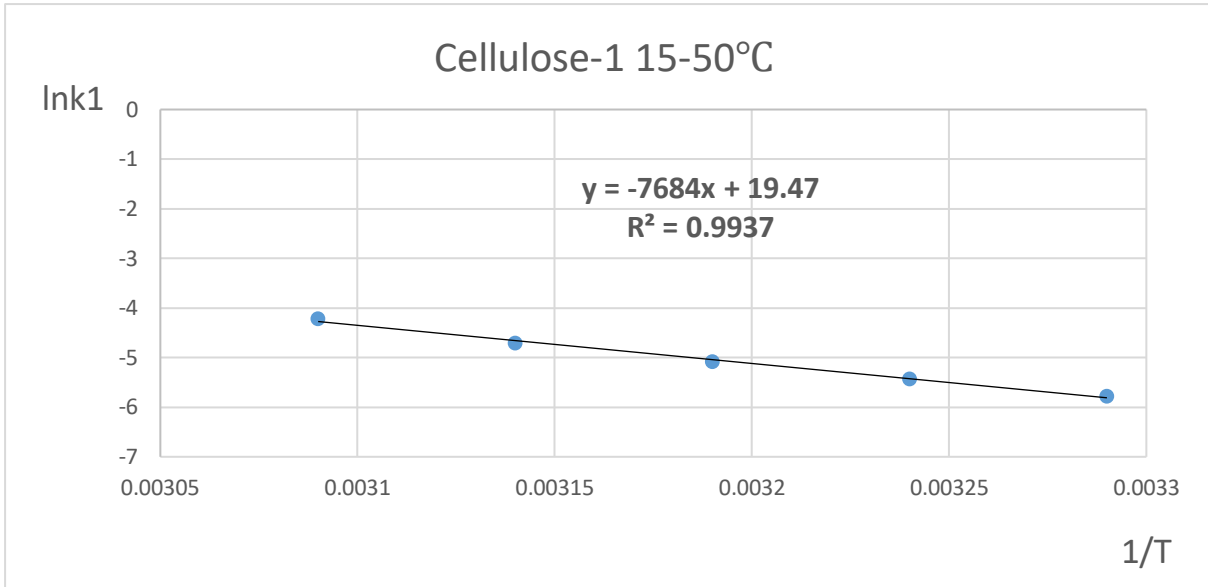


4.2.1. კინეტიკური გამოთვლები ცელულოზა-1 სვეტისთვის
არენიუსის განტოლების გამოყენებით

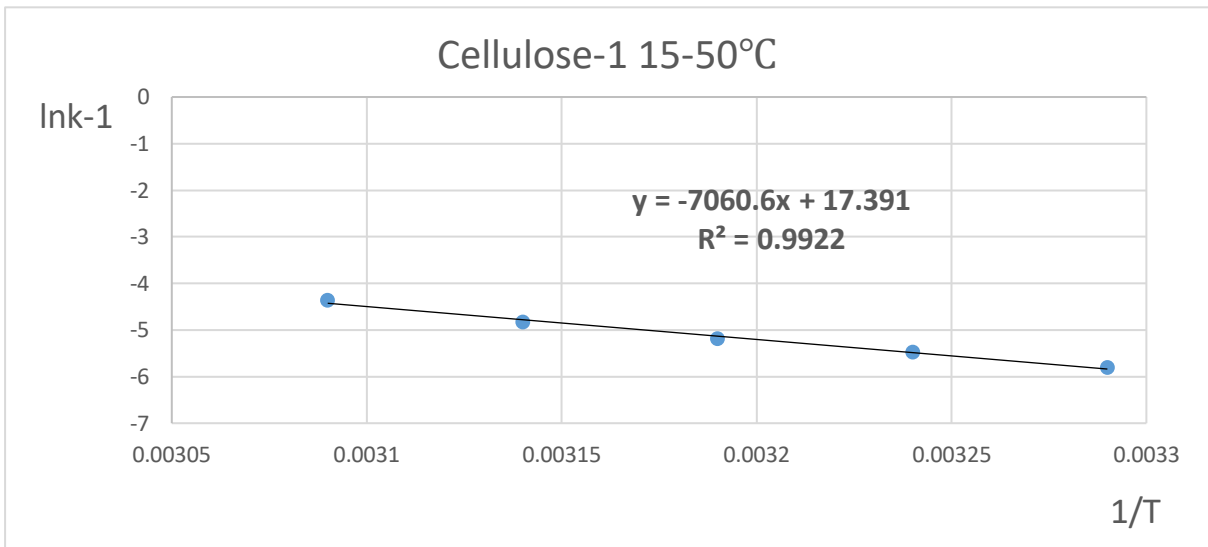
T°C	1/T K	lnk1 s ⁻¹	lnk-1 s ⁻¹	k1	k-1
15	0.00346	-4.0804	-4.0686	0.0169	0.0171
20	0.00341	-4.0398	-4.0229	0.0176	0.0179
25	0.00335	-3.4769	-3.4705	0.0309	0.0311
30	0.00329	-5.7763	-5.8091	0.0031	0.0030
35	0.00324	-5.4261	-5.4726	0.0044	0.0042
40	0.00319	-5.0832	-5.1849	0.0062	0.0056
45	0.00314	-4.7105	-4.8283	0.0090	0.0080
50	0.00309	-4.2131	-4.3661	0.0148	0.0127
55	0.00305	No rate constant calculated!			
60	0.0030				

ცხრილი 3. ერთი ენანტიომერის მეორეში გარდაქმნის k_1 და მეორე ენანტიომერის პირველში გარდაქმნის k_{-1} რეაქციის სიჩქარის მუდმივების მნიშვნელობები სხვადასხვა ტემპერატურაზე Cellulose-1 სტაციონალური ფაზების ზედაპირზე. გამოთვლილი DCX plorer პროგრამით.

მოცემული ცხრილის მიხედვით ავაგე გრაფიკები არენიუსის კოორდინატებში:



ნახ23. $\ln k_1 - 1/T$ დამოკიდებულების გრაფიკი Cellulose-1 სვეტისთვის



ნახ24. $\ln k_{-1} - 1/T$ დამოკიდებულების გრაფიკი Cellulose-1 სვეტისთვის

მოცემული გრაფიკებისა და არენიუსის განტოლების მეშვეობით გამოვთვალეთ ენანტიომერიზაციის რეაქციის აქტივაციის ენერჯის რიცხვითი მნიშვნელობა ერთი ენანტიომერის მეორეში გარდაქმნის და მეორე ენანტიომერის პირველში გარდაქმნის დროს.

ჩავწეროთ არენიუსის განტოლება ლოგარითმული ფორმით:

$$\ln k = \ln A - E/RT$$

მაშინ პირველი ენანტიომერის მეორეში გარდაქმნის აქტივაციის ენერჯის მნიშვნელობა

იქნება: $E/R=7684.0$; $E=7684.0 \cdot 8.31=63.8$ კჯოული/მოლი

ხოლო შესაბამისად მეორე ენანტიომერის პირველში გარდაქმნის აქტივაციის ენერჯია

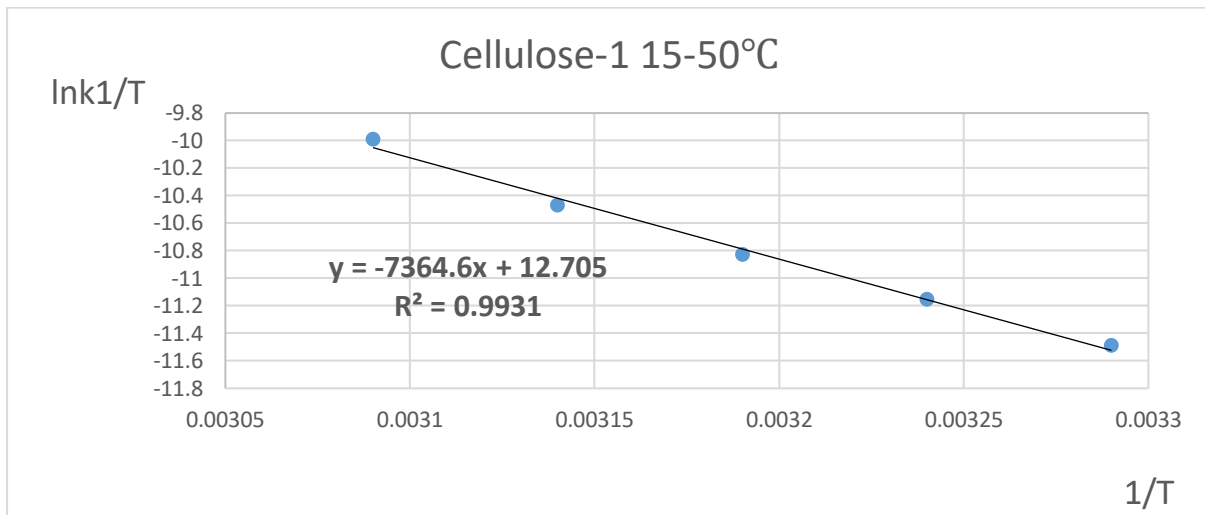
იქნება: $E/R=7060.6$; $E=7060.6 \cdot 8.31=59.7$ კჯოული/მოლი

4.2.2. კინეტიკური გამოთვლები ცელულოზა-1 სვეტისთვის ეირინგის განტოლების გამოყენებით

T, K	$1/T, K^{-1}$	k_1, s^{-1}	k_{-1}, s^{-1}	$\ln \frac{k_1}{T}$	$\ln \frac{k_{-1}}{T}$
288	0.00346	0.0169	0.0171	-9.7434	-9.7326
293	0.00341	0.0176	0.0179	-9.7200	-9.7031
298	0.00335	0.0309	0.0311	-9.1740	-9.1676
303	0.00329	0.0031	0.0030	-11.4900	-11.5228
308	0.00324	0.0044	0.0042	-11.1562	-11.2027
313	0.00319	0.0062	0.0056	-10.8294	-10.9311
318	0.00314	0.0090	0.0080	-10.4725	-10.5903
323	0.00309	0.0148	0.0127	-9.9907	-10.1438

ცხრილი 4. ერთი ენანტიომერის მეორეში გარდაქმნის k_1 და მეორე ენანტიომერის პირველში გარდაქმნის k_{-1} რეაქციის სიჩქარის მუდმივების მნიშვნელობები სხვადასხვა ტემპერატურაზე Cellulose-1 სტაციონალური ფაზების ზედაპირზე. გამოთვლილი DCX plorer პროგრამით.

თუ ექსპერიმენტულ მონაცემებს გრაფიკულად წარმოვადგენთ ეირინგის კოორდინატებში $[1/T, \ln(k/T)]$, მაშინ მივიღებთ რეგრესიის წრფეს, რომლის დახრილობიდანაც დავადგენთ ΔH^\ddagger სიდიდეს, ხოლო ორდინატთა ღერძზე ჩამოჭრილი მონაკვეთიდან - აქტივაციის ენტროპიას[11].



ნახ.25. $\ln k_1/T - 1/T$ დამოკიდებულების გრაფიკი Cellulose-1 სვეტისთვის

მაშინ თავისუფალი ენერგიისა (ΔG^\ddagger) და აქტივაციის E_a ენერგიის (აქტივაციური ბარიერის) რიცხვითი მნიშვნელობები 298 K ტემპერატურაზე პირველი ენანტიომერის მეორეში გარდაქმნის დროს იქნება:

$$\Delta G^\ddagger = \Delta H^\ddagger - T \Delta S^\ddagger$$

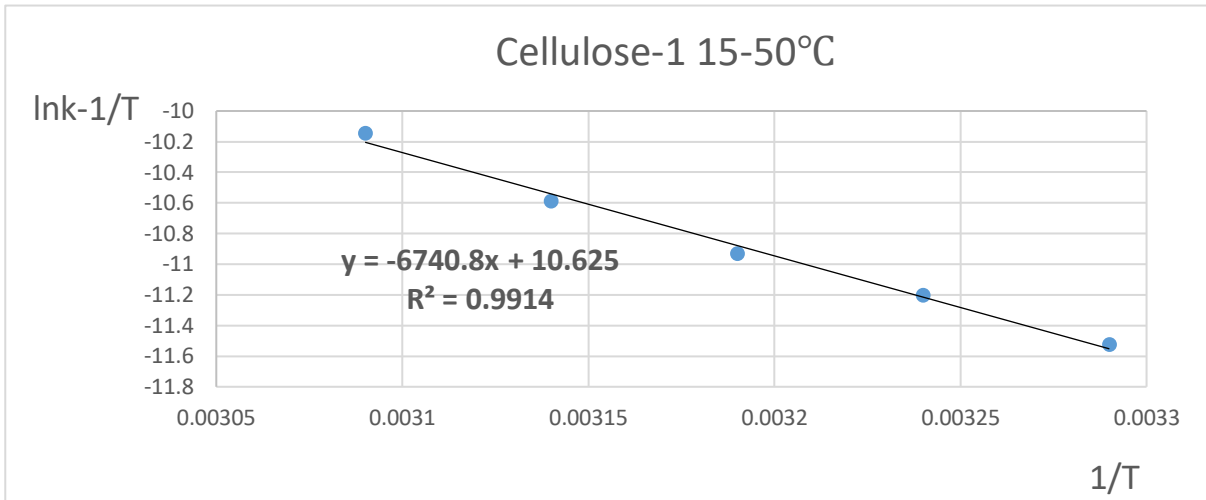
$$E_a = \Delta H^\ddagger + R T$$

$$\Delta H^\ddagger = -8.31 \cdot a_1 = 61199.826 \text{ჯ.მოლი}^{-1} = 61.19 \text{კჯ.მოლი}^{-1}$$

$$\Delta S^\ddagger = [a_1 - \ln(k/h)]R = 8.31(12.705 - 23.76) = -91.86 \text{ჯ.მოლი}^{-1}\text{K}^{-1}$$

$$\Delta G^\ddagger = \Delta H^\ddagger - T \Delta S^\ddagger = 88.57 \text{ კჯ.მოლი}^{-1}$$

$$E_a = \Delta H^\ddagger + R T = 63.67 \text{ კჯ.მოლი}^{-1}$$



ნახ.26. $\ln k_1/T-1/T$ დამოკიდებულების გრაფიკი Cellulose-1 სვეტისთვის

აქტივაციის ენთალპიის და ენტროპიის მნიშვნელობა და შესაბამისად აქტივაციის თავისუფალი ენერჯისა (ΔG^\ddagger) და აქტივაციის E_a ენერჯის (აქტივაციური ბარიერის) რიცხვითი მნიშვნელობები 298 K ტემპერატურაზე მეორე ენანტიომერის პირველში გარდაქმნის დროს:

$$\Delta G^\ddagger = \Delta H^\ddagger - T \Delta S^\ddagger$$

$$E_a = \Delta H^\ddagger + R T$$

$$\Delta H^\ddagger = -8.31 \cdot a_1 = 59016.04 \text{ ჯ.მოლი}^{-1} = 56.01 \text{ კჯ.მოლი}^{-1}$$

$$\Delta S^\ddagger = [a_1 - \ln k/h]R = 8.31(10.625 - 23.76) = -109.15 \text{ ჯ.მოლი}^{-1} \text{K}^{-1}$$

$$\Delta G^\ddagger = \Delta H^\ddagger - T \Delta S^\ddagger = 91.54 \text{ კჯ.მოლი}^{-1}$$

$$E_a = \Delta H^\ddagger + R T = 61.49 \text{ კჯ.მოლი}^{-1}$$

4.3. თხევად ფაზაში მიმდინარე რაცემიზაციის რეაქცია

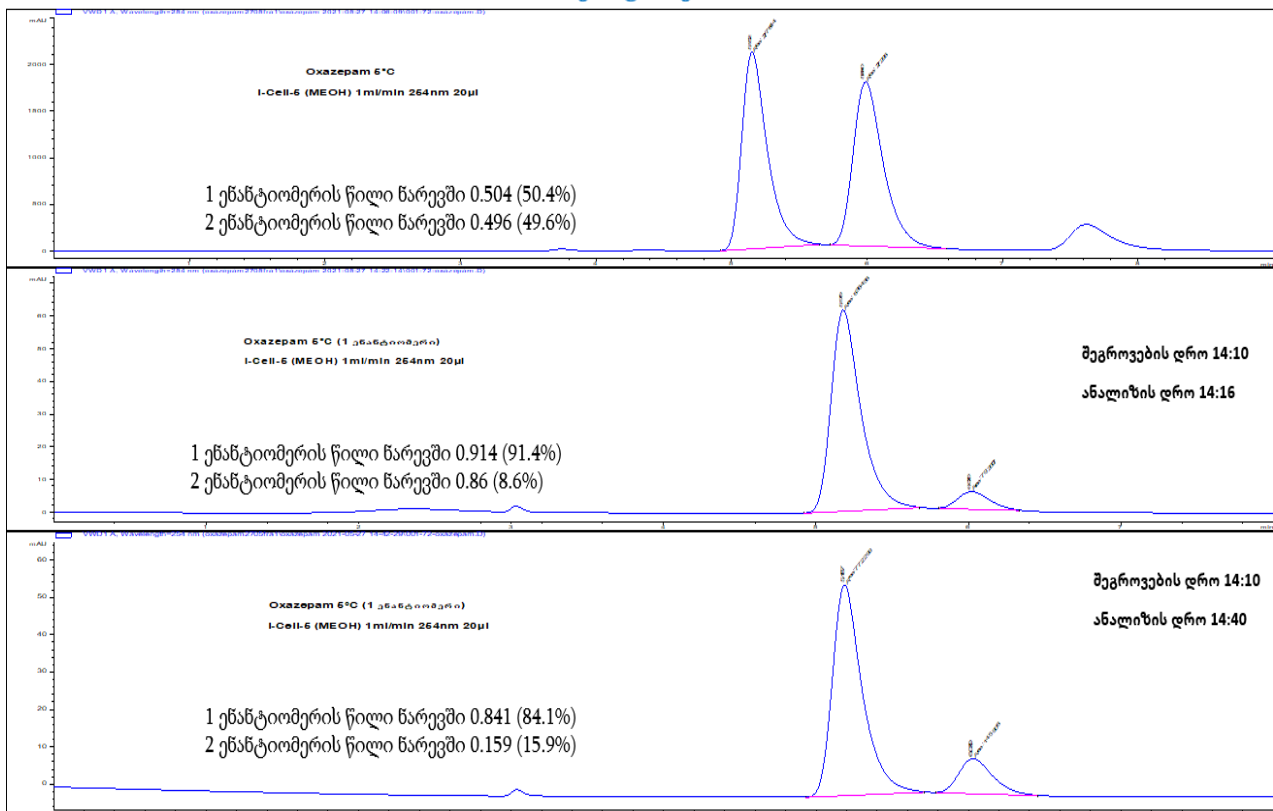
ექსპერიმენტის შემდეგ ეტაპზე მოვახდინეთ ჩვენი საკვლევი ნივთიერება ოქსაზეპამის ენანტიომერების ფრაქციონირება, რათა შეგვესწავლა თითოეული ენანტიომერისათვის რაცემიზაციის რეაქციის კინეტიკა ქრომატოგრაფიულ ექსპერიმენტში გამოყენებულ მოძრავ ფაზაში. პირველ ეტაპზე ენანტიომერები შევავროვეთ სუფთა მეთანოლში და შევინახეთ 0°C, შემდეგ 5°C ტემპერატურაზე, რადგან ოთახის და უფრო მაღალ ტემპერატურაზე რაცემიზაციის რეაქცია მიმდინარეობს ძალიან სწრაფად. ასე შეგროვებული და დაყოფილი ენანტიომერების ქრომატოგრაფიულ ანალიზს ვახდენდით შეგროვებიდან ყოველ ნახევარ საათში ერთხელ ცალ-ცალკე 1 და 2 ენანტიომერისათვის და ვაკვირდებოდით რაცემიზაციის რეაქციის სიჩქარეს პიკის ფართობების მიხედვით ანუ ვანგარიშობდით თითოეული ენანტიომერის წილს მათ ნარევეში. ასე მაგალითად ცალკე შეგროვებული 1 ენანტიომერის ანალიზმა გვაჩვენა, რომ დროის მატებასთან ერთად მცირდებოდა პირველი ენანტიომერის წილი ნარევეში და პროპორციულად იზრდებოდა მეორე ენანტიომერის წილი. რეაქციის დამთავრების მომენტისთვის წარმოიქმნებოდა რაცემული ნარევი ენანტიომერების 1:1 თანაფარდობით. შეგვიძლია დავასკვნათ, რომ მაშასადამე რაცემიზაცია მიმდინარეობს ჰომოგენურ პირობებში. მეორეს მხრივ, დაბალ ტემპერატურაზე სვეტში მიმდინარე ენანტიომერიზაცია ძლიერ შენელებულია (ჩვენი გათვლებით, ოთახის ტემპერატურასთან შედარებით, 5°C ტემპერატურაზე k_1 და k_{-1} მუდმივების მნიშვნელობები შემცირებულია ~ 15 - ჯერ: $k_e \approx 2,1 \cdot 10^{-4} \text{ წმ}^{-1}$, 0°C-ზე კიდევ უფრო მეტად). გარდა ამისა, ენანტიომერების სვეტში შეკავების დროები საკმაოდ მცირეა (5 – 7 წუთი) ჭურჭელში მიმდინარე პროცესის დროსთან შედარებით.

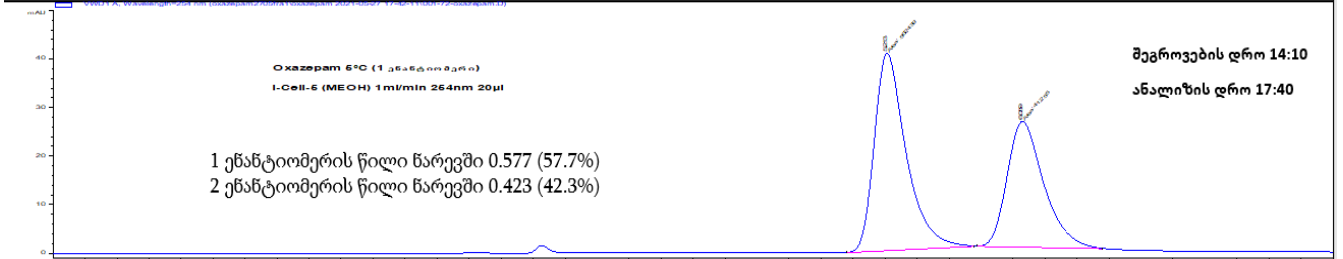
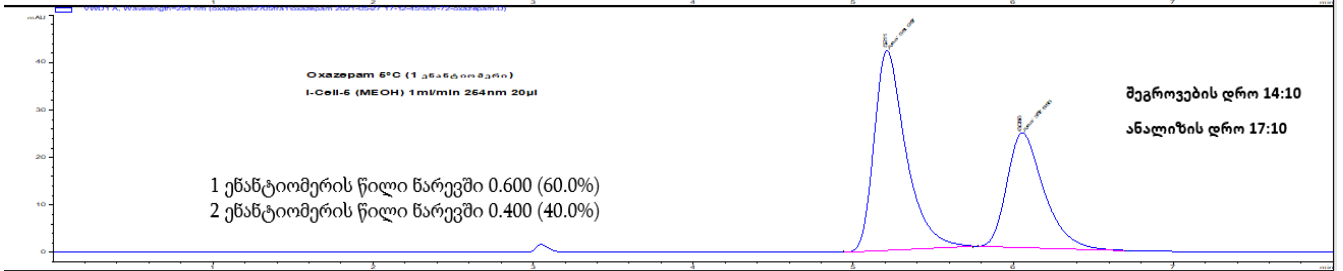
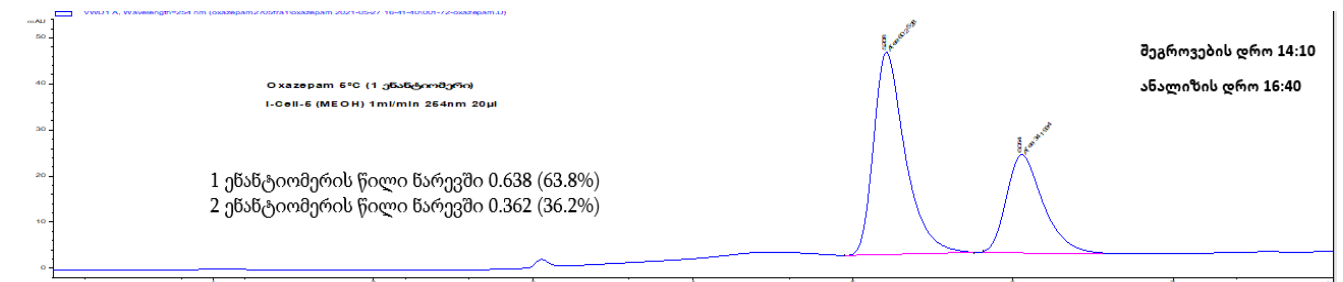
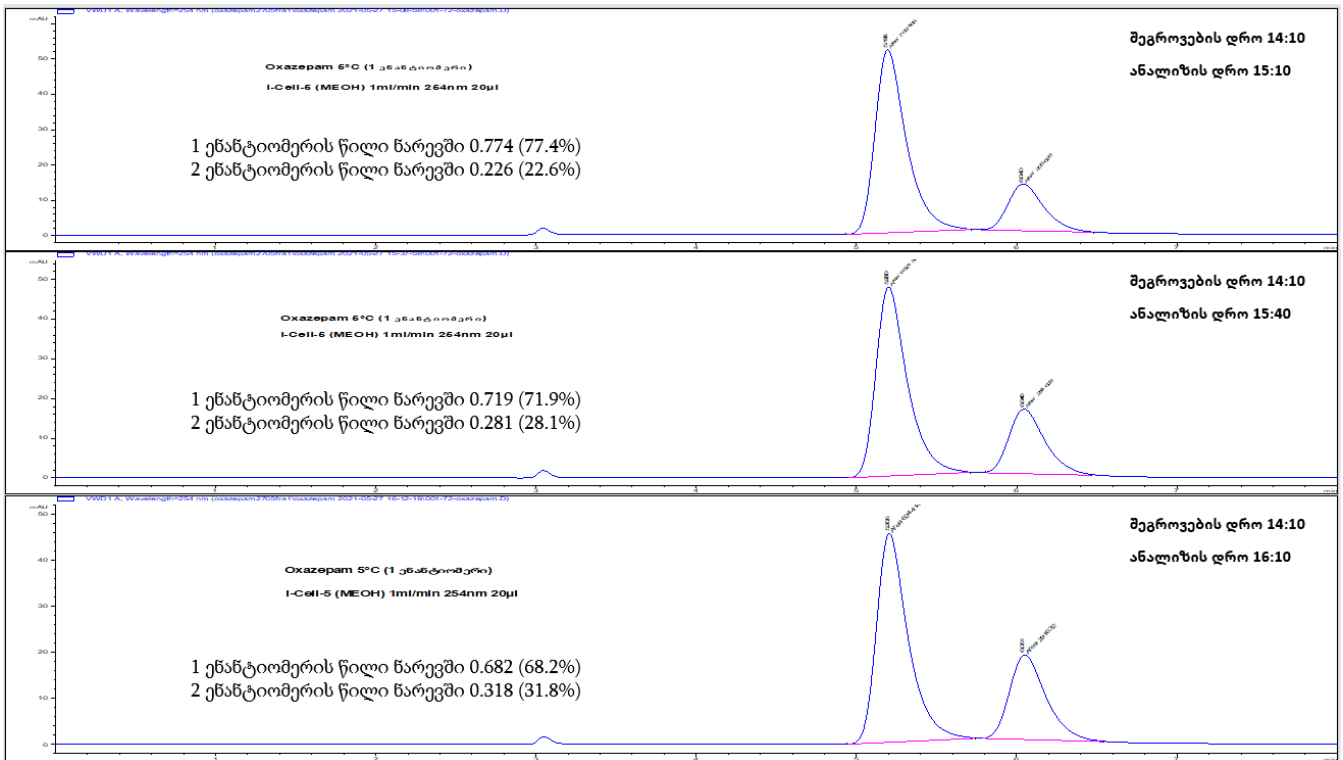
ექსპერიმენტის პირობები:

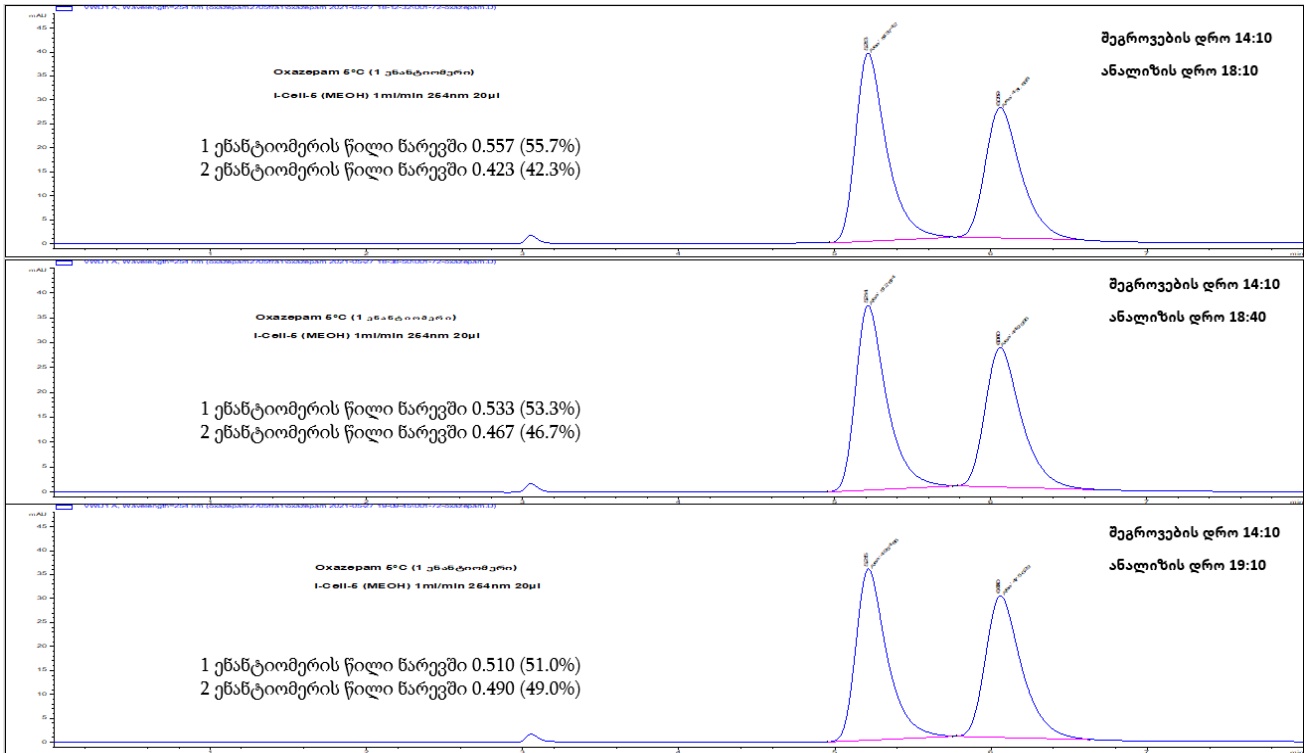
- ❖ მოძრავი ფაზა- მეთანოლი
- ❖ სტაციონალური ფაზა- იმობილიზებული ცელულოზა-5 (iSP5-10 5 μ)
- ❖ საანალიზოდ აღებული ნიმუშის მოცულობა 20 მიკროლიტრი
- ❖ მოძრავი ფაზის ნაკადის სიჩქარე 1 მლ/წთ
- ❖ დეტექტორის ტალღის სიგრძე 254 ნმ
- ❖ ქრომატოგრაფიული ანალიზის ტემპერატურა 5°C, დაყოვნებული 0°C
- ❖ ქრომატოგრაფიული ანალიზის დრო 5-7 წუთი, დაყოვნების დრო 30 წუთი

ექსპერიმენტის შედეგად მიღებული ქრომატოგრაფები 1 ენანტიომერისათვის:

ფრაქციონირებული ნიმუშის ქრომატოგრაფიული ანალიზი ყოველ ნახევარ საათში 5°C-ზე, დაყოვნებული 0°C-ზე
1 ენანტიომერი

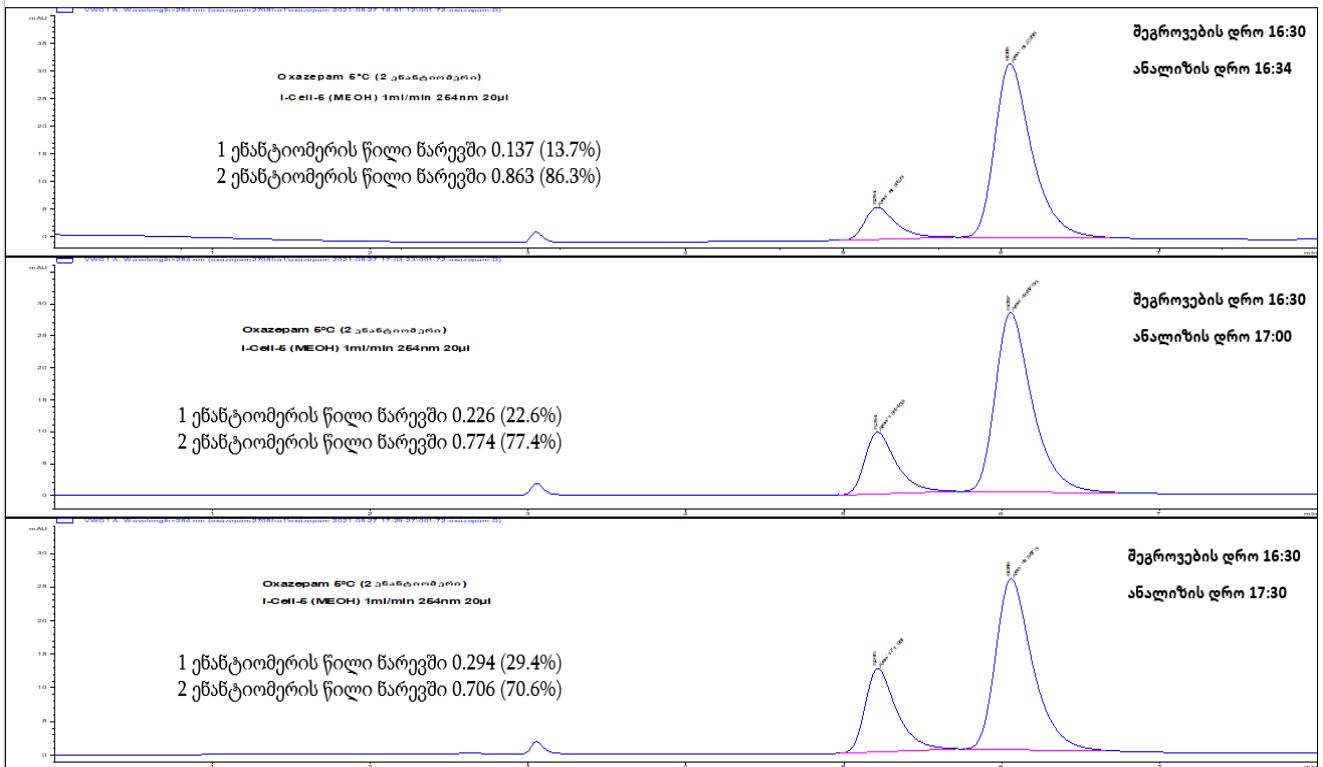


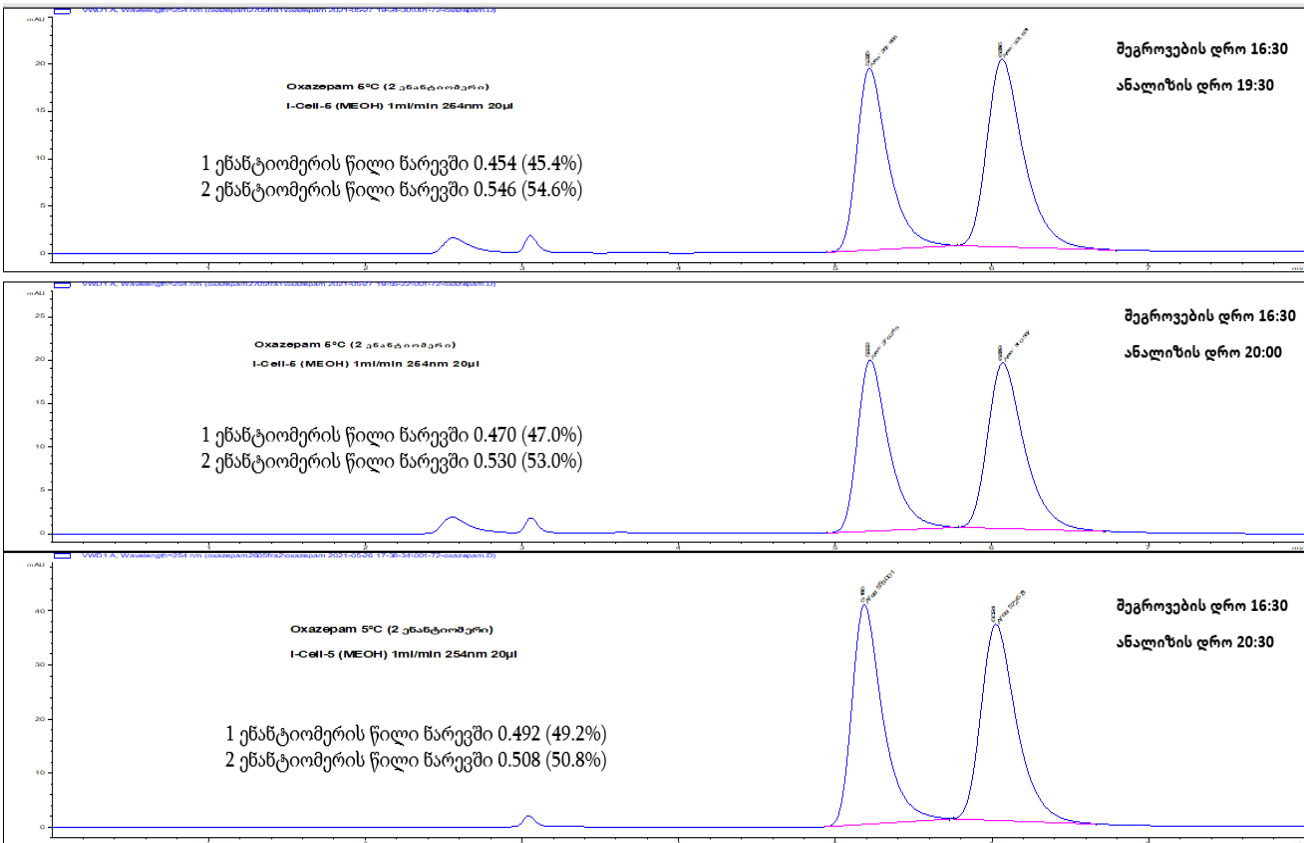
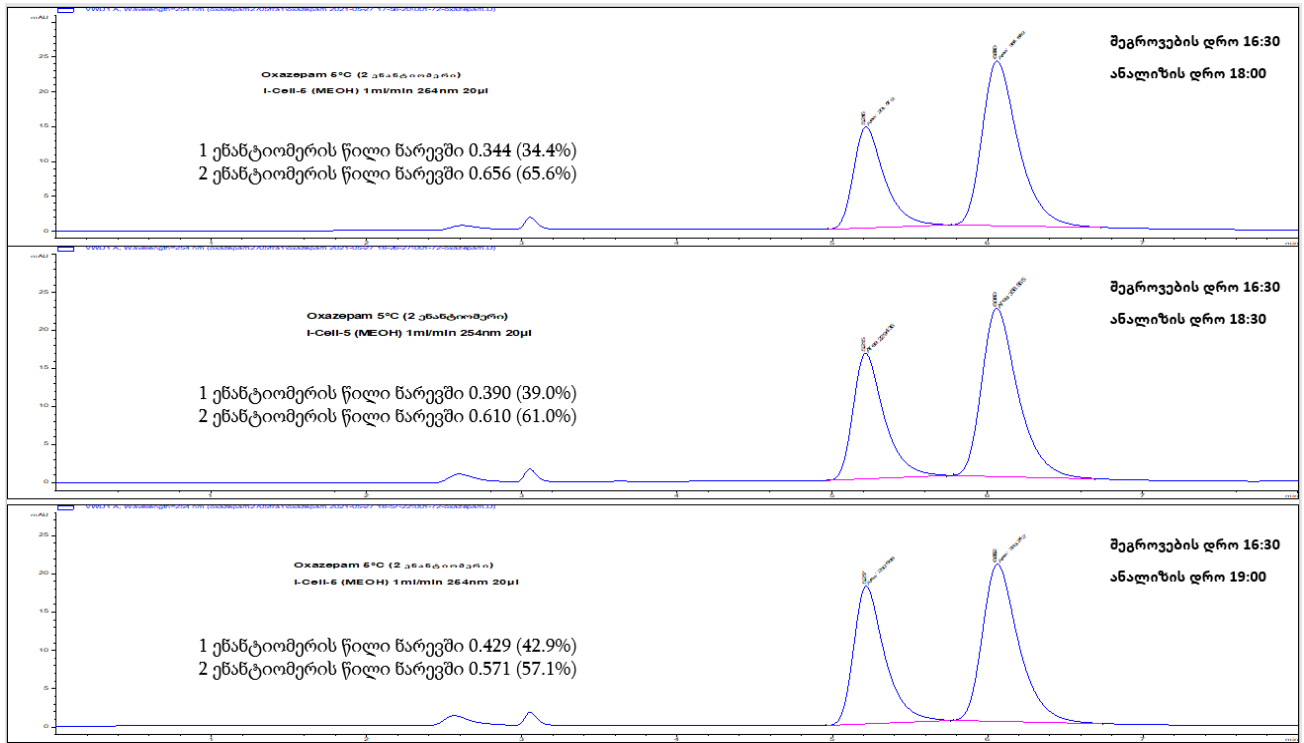




ქრომატოგრამები 2 ენანტიომერისთვის:

ფრაქციონირებული ნიმუშის ქრომატოგრაფიული ანალიზი ყოველ ნახევარ საათში 5°C-ზე, დაყოვნებული 0°C, 2 ენანტიომერი





4.3.1 ჰომოგენური ენანტიომერიზაციის რეაქციის კინეტიკური დახასიათება.

ტრადიციული (კლასიკური) კინეტიკური მეთოდი გულისხმობს ენანტიომერიზაციის ჩატარებას სარეაქციო ჭურჭელში სტატიკურ პირობებში მოცემულ ტემპერატურაზე. ჭურჭელში ათავსებენ ერთ-ერთი ენანტიომერის ხსნარს და ინიშნავენ გარდაქმნის დაწყების დროს. გარკვეული დროითი ინტერვალების შემდეგ ხსნარიდან იღებენ საანალიზო სინჯებს და საზღვრავენ გარდაქნილი და წარმოქმნილი ენანტიომერების პროცენტულ შემცველობებს. მიღებული შედეგების სათანადო დამუშავებით შესაძლებელია გამოითვალოს ენანტიომერიზაციის სიჩქარეთა მუდმივები. თუ ექსპერიმენტი ჩატარდება სხვადასხვა ტემპერატურის პირობებში, მაშინ განისაზღვრება პროცესის აქტივაციის თერმოდინამიკური მახასიათებლებიც, აგრეთვე აქტივაციის ენერგია.

მათემატიკური დამუშავებისათვის შეიძლება გამოვიყენოთ სტატისტიკური მეთოდები, აგრეთვე შექცევადი რეაქციის კინეტიკური განტოლება, რომელიც აღწერს პირველი რიგის მქონე ურთიერთსაპირისპირო პროცესების მიმდინარეობას. თუ რეაქციის დასაწყისში სისტემა შეიცავს ორივე ტიპის ენანტიომერს საწყისი კონცენტრაციებით a და b , მაშინ კინეტიკური განტოლება იღებს შემდეგ სახეს:

$$\ln \frac{X_e}{X_e - X} = (k_1 + k_{-1}) t \quad (39)$$

სადაც

$$\alpha = \frac{K_e a - b}{1 + K_e} \quad (40)$$

X შეესაბამება მოცულობის ერთეულში A ენანტიომერის გარდაქმნილი მოლეკულის რიცხვს დროის t მომენტისათვის. K_e წარმოადგენს ენანტიომერიზაციის წონასწორობის მუდმივას:

$$K_e = \frac{k_1}{k_{-1}} = \frac{[B]_{\infty}}{[A]_{\infty}}, \quad (41)$$

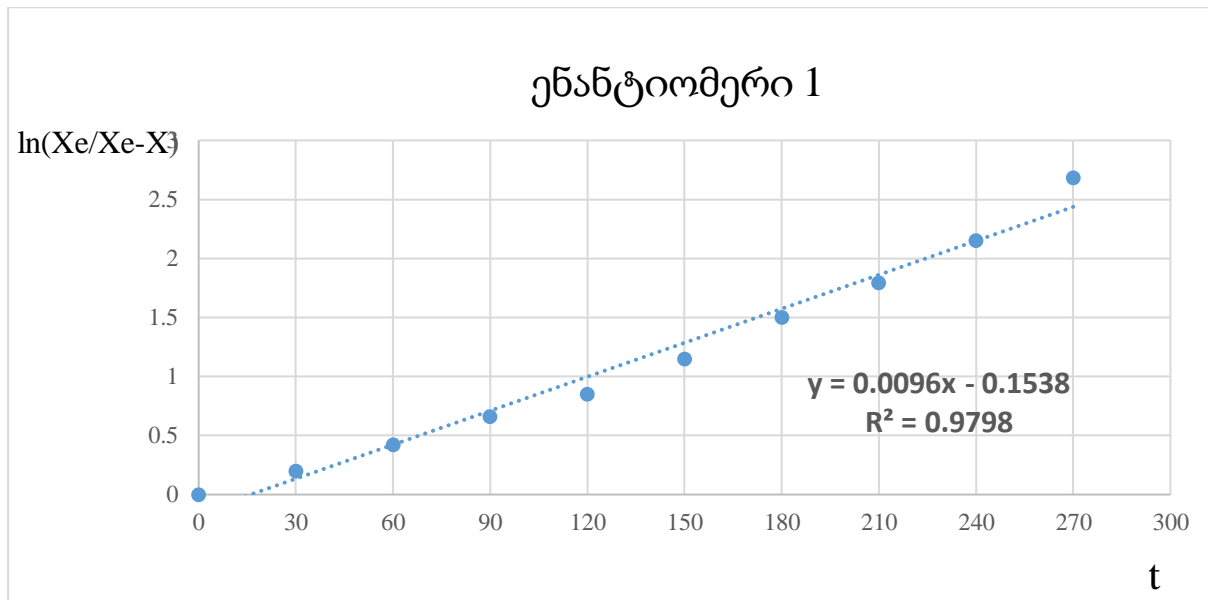
სადაც $[A]_{\infty}$ და $[B]_{\infty}$ ასახავენ ენანტიომერების საბოლოო წონასწორობულ კონცენტრაციებს. თუ ექსპერიმენტის შედეგებს წარმოვადგენთ კოორდინატებში t , $\ln \frac{X_e}{X_e - X}$ მაშინ მიღებული წრფის დახრილობიდან განისაზღვრება რეაქციის მუდმივა k_{rac} , ხოლო თუ დამაკმაყოფილებელი სიზუსტით შევასდება წონასწორობის მუდმივა, მაშინ

შესაძლებელი ხდება ცალ-ცალკე დადგინდეს ენანტიომერიზაციის k_1 და k_{-1} მუდმივები.

დრო (წთ)	0 წთ	30 წთ	60 წთ	90 წთ	120 წთ	150 წთ	180 წთ
1-ენანტიომერის ფართობი	0.914 (91.4%)	0.841 (84.1%)	0.774 (77.4%)	0.719 (71.9%)	0.682 (68.2%)	0.638 (63.8%)	0.60 (60%)
2-ენანტიომერის ფართობი	0.86 (8.6%)	0.159 (15.9%)	0.226 (22.6%)	0.281 (28.1%)	0.318 (31.8%)	0.362 (36.2%)	0.40 (40%)

დრო (წთ)	210 წთ	240 წთ	270 წთ	330 წთ			
1-ენანტიომერის ფართობი	0.577 (57.7%)	0.557 (55.7%)	0.533 (53.3%)	0.510 (51.0%)			
2-ენანტიომერის ფართობი	0.423 (42.3%)	0.443 (44.3%)	0.467 (46.7%)	0.490 (49.0%)			

ცხრილი 5. პიკის ფართობები დროის მიხედვით.



ნახ.27. $\ln(X_e/X_e - X)$ -t დამოკიდებულების გრაფიკი.

მიღებული წრფის დახრილობიდან გამოვიანგარიშეთ რაცემიზაციის რაექციის ჯამური სიჩქარის მუდმივა პირველი და მეორე ენანტიომერისათვის:

$$(k_1+k_{-1})=0.0096 \text{ წთ}^{-1} = 1.6 \times 10^{-4} \text{ წმ}^{-1}$$

მიღებული შედეგებიდან შესაძლებელია მიახლოებით შევაფასოთ k_1 და k_{-1} მუდმივების მნიშვნელობები 0°C ტემპერატურისათვის, როდესაც პროცესი მიმდინარეობს მხოლოდ თხევად ფაზაში. შეგვიძლია ჩავწეროთ შემდეგი სისტემა:

$$k_1 + k_{-1} = 1.6 \cdot 10^{-4} (\text{წმ}^{-1}),$$

$$\frac{k_1}{k_{-1}} = 0,96$$

სისტემის ამოხსნა გვაძლევს, რომ:

$$k_1 = 0,77 \cdot 10^{-4} \text{ წმ}^{-1}$$

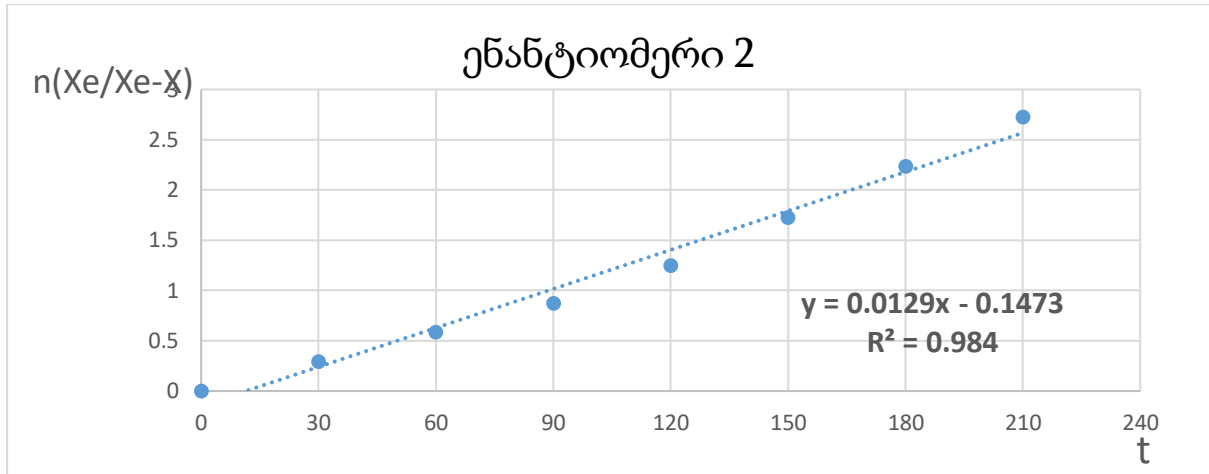
$$k_{-1} = 0,81 \cdot 10^{-4} \text{ წმ}^{-1}$$

ანალოგიურად მოცემულ განტოლებასა და ექსპერიმენტულ მონაცემებზე დაყრდნობით ვიანგარიშოთ რაექციის სიჩქარის მუდმივა მეორე ენანტიომერისთვის.

დრო (წთ)	0 წთ	30 წთ	60 წთ	90 წთ	120 წთ	150 წთ
1-ენანტიომერის ფართობი	0.137 (13.7%)	0.226 (22.6%)	0.294 (29.4%)	0.344 (34.4%)	0.390 (39.0%)	0.429 (42.9%)
2-ენანტიომერის ფართობი	0.863 (86.3%)	0.773 (77.3%)	0.706 (70.6%)	0.656 (65.6%)	0.610 (61.0%)	0.571 (57.1%)

დრო (წთ)	180 წთ	210 წთ	240 წთ			
1-ენანტიომერის ფართობი	0.454 (45.4%)	0.470 (47.0%)	0.492 (49.27%)			
2-ენანტიომერის ფართობი	0.546 (54.6%)	0.530 (53.0%)	0.508 (50.8%)			

ცხრილი 6. პიკის ფართობები დროის მიხედვით.



ნახ.28. $\ln(Xe/Xe-X)$ -t დამოკიდებულების გრაფიკი.

მიღებული წრფის დახრილობიდან გამოვიანგარიშეთ რაცემიზაციის რაექციის ჯამური სიჩქარის მუდმივა პირველი და მეორე ენანტიომერისათვის:

$$(k_1+k_{-1})=0.0129 \text{ წთ}^{-1} = 2.1 \times 10^{-4} \text{ წმ}^{-1}$$

მიღებული შედეგებიდან შესაძლებელია მიახლოებით შევაფასოთ k_1 და k_{-1} მუდმივების მნიშვნელობები 0°C ტემპერატურისათვის, როდესაც პროცესი მიმდინარეობს მხოლოდ თხევად ფაზაში. მართლაც, შეგვიძლია ჩავწეროთ შემდეგი სისტემა:

$$k_1 + k_{-1} = 2.1 \cdot 10^{-4} (\text{წმ}^{-1}),$$

$$\frac{k_1}{k_{-1}} = 1.03$$

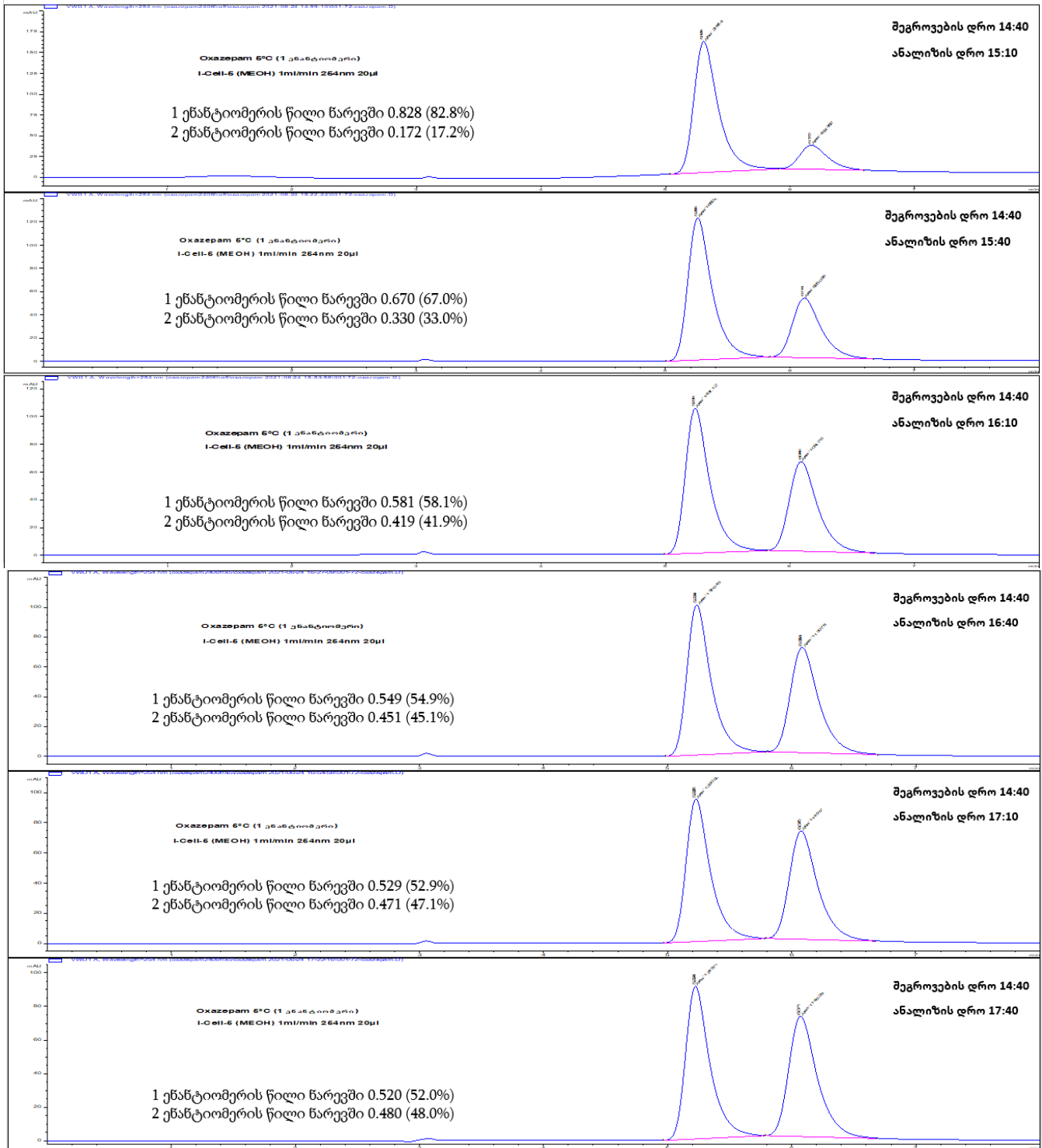
ამ სისტემის ამოხსნა გვაძლევს:

$$k_1 = 1.03 \cdot 10^{-4} \text{ წმ}^{-1}$$

$$k_{-1} = 1.06 \cdot 10^{-4} \text{ წმ}^{-1}$$

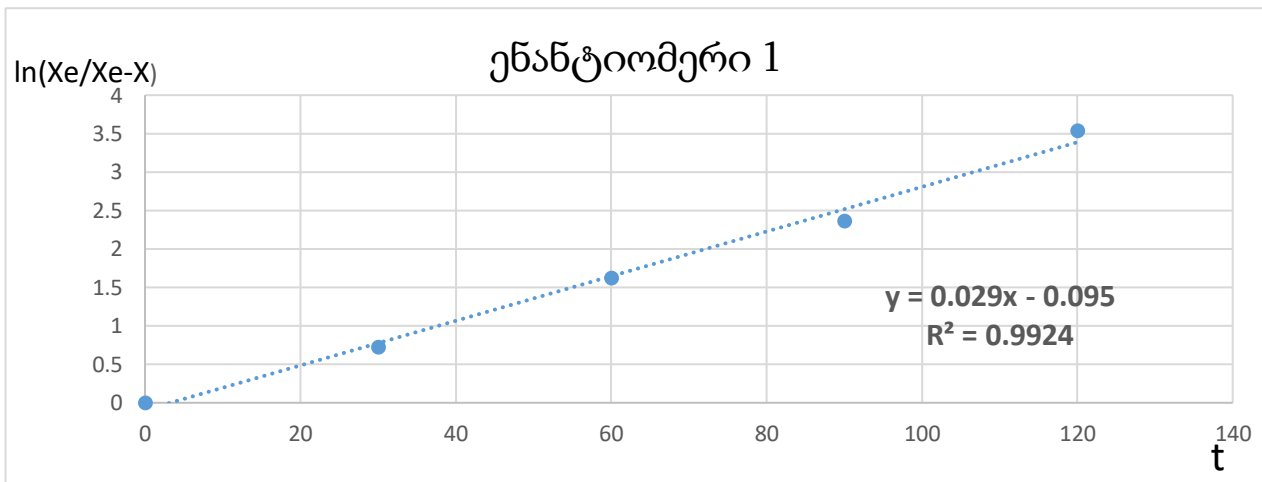
როგორც უკვე ავღნიშნეთ შემდეგ ფრაქციონირებული ენანტიომერები დავაყოვნეთ 5°C ტემპერატურაზე და ქრომატოგრაფიულ ანალიზს ვატარებდით ყოველ 30 წუთში ერთხელ. ავაგეთ სათანადო გრაფიკები პირველი რიგის კინეტის განტოლების გამოყენებით და გამოვთვალეთ რეაქციის სიჩქარის მუდმივები. ექსპერიმენტის შედეგად მიღებული ქრომატოგრაფები 1 ენანტიომერისათვის შემდეგნაირად გამოიყურება:

ფრაქციონირებული ნიმუშის ქრომატოგრაფიული ანალიზი ყოველ ნახევარ საათში 5°C-ზე, დაყოვნებული 5°C-ზე 1 ენანტიომერი



დრო (წთ)	0 წთ	30 წთ	60 წთ	90 წთ	120 წთ	150 წთ
1-ენანტიომერის ფართობი	0.828 (82.8%)	0.670 (67.0%)	0.581 (58.1%)	0.549 (54.9%)	0.529 (52.9%)	0.520 (52.0%)
2-ენანტიომერის ფართობი	0.172 (17.2%)	0.330 (33.0%)	0.419 (41.9%)	0.451 (45.1%)	0.471 (47.1%)	0.480 (48.0%)

ცხრილი 7. პიკის ფართობები დროის მიხედვით.



ნახ.29. $\ln(X_e/X_{e-X})$ -t დამოკიდებულების გრაფიკი.

მიღებული წრფის დახრილობიდან გამოვიანგარიშეთ რაცემიზაციის რაექციის ჯამური სიჩქარის მუდმივა პირველი და მეორე ენანტიომერისათვის:

$$(k_1+k_{-1})=0.029 \text{ წთ}^{-1} = 4.83 \times 10^{-4} \text{ წმ}^{-1}$$

არსებული შედეგებიდან შესაძლებელია მიახლოებით შევავასოთ k_1 და k_{-1} მუდმივების მნიშვნელობები 5°C ტემპერატურისათვის, როდესაც პროცესი მიმდინარეობს მხოლოდ თხევად ფაზაში. შეგვიძლია ჩავწეროთ შემდეგი სისტემა:

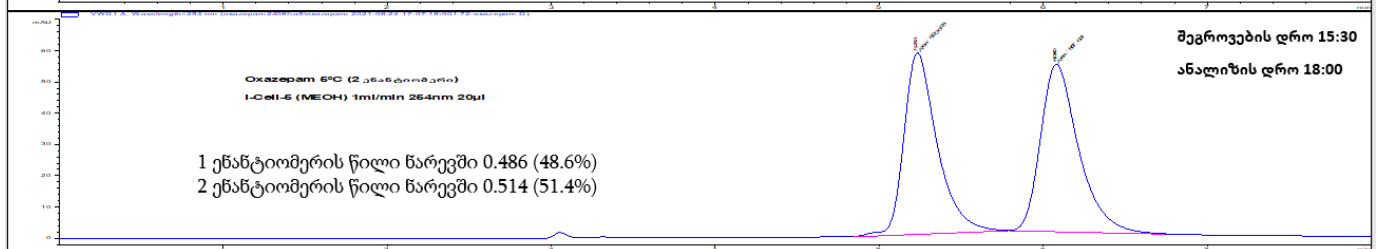
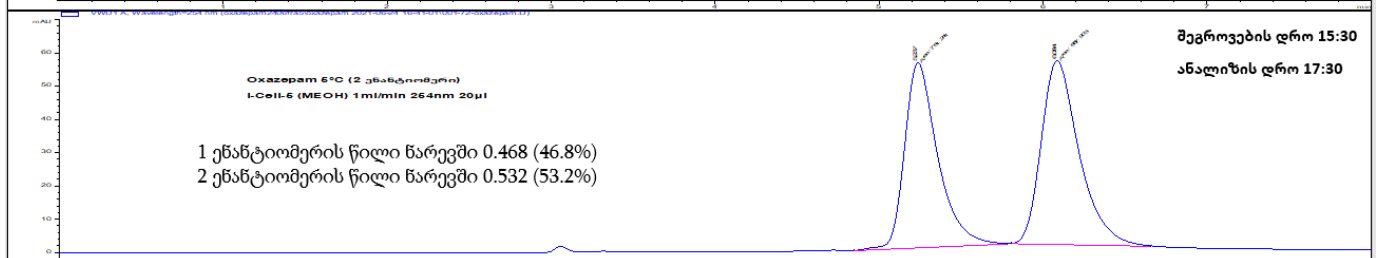
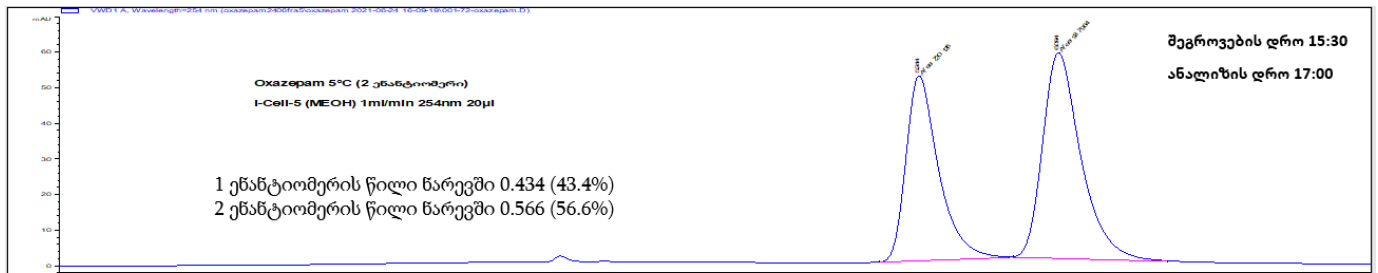
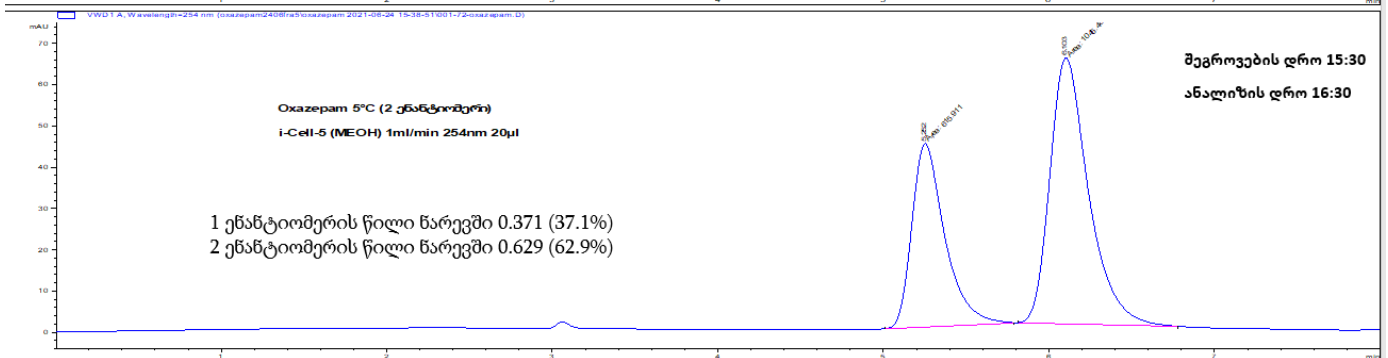
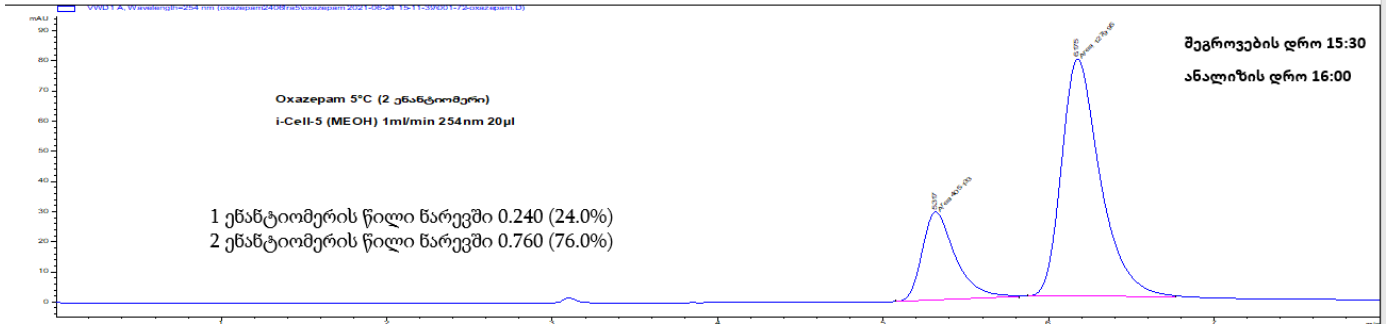
$$k_1 + k_{-1} = 4.83 \cdot 10^{-4} (\text{წმ}^{-1}),$$

$$\frac{k_1}{k_{-1}} = 0.92$$

ამ სისტემის ამოხსნა გვაძლევს: $k_1 = 2.3 \cdot 10^{-4} \text{ წმ}^{-1}$ $k_{-1} = 2.5 \cdot 10^{-4} \text{ წმ}^{-1}$

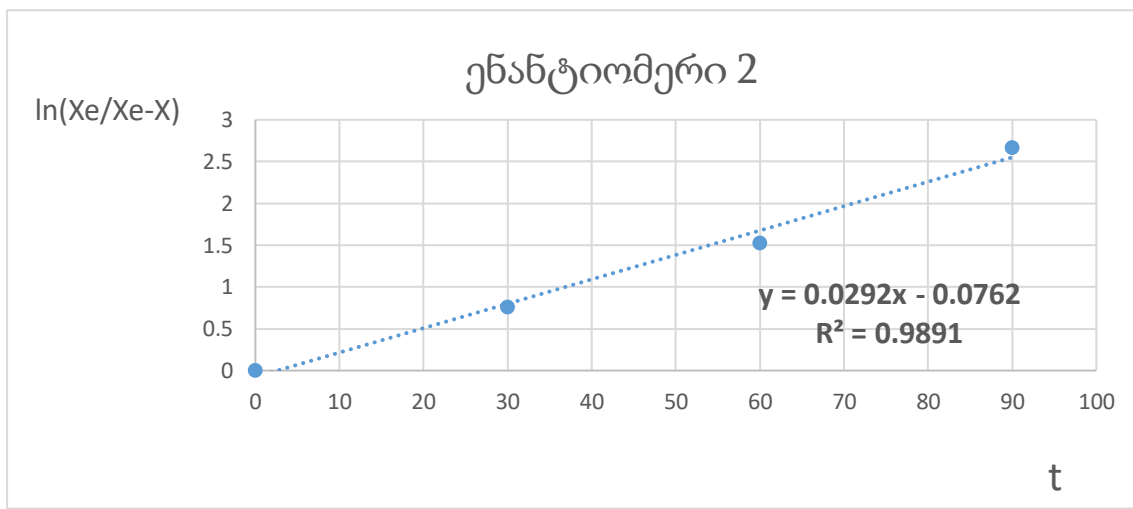
ქრომატოგრამები მეორე ენანტიომერისთვის:

ფრაქციონირებული ნიმუშის ქრომატოგრაფიული ანალიზი ყოველ ნახევარ საათში 5°C-ზე, დაფიქსირებული 5°C-ზე 2 ენანტიომერი



დრო (წთ)	0 წთ	30 წთ	60 წთ	90 წთ	120 წთ
1-ენანტიომერის ფართობი	0.240 (24.0%)	0.371 (37.1%)	0.434 (43.4%)	0.468 (46.8%)	0.486 (48.6%)
2-ენანტიომერის ფართობი	0.760 (76.0%)	0.629 (62.9%)	0.566 (56.6%)	0.532 (53.2%)	0.514 (51.4%)

ცხრილი 8. პიკის ფართობები დროის მიხედვით.



ნახ30. $\ln(Xe/Xe-X)$ - t დამოკიდებულების გრაფიკი.

მიღებული წრფის დახრილობიდან გამოვიანგარიშეთ რაცემიზაციის რეაქციის ჯამური სიჩქარის მუდმივა პირველი და მეორე ენანტიომერისათვის:

$$(k_1 + k_{-1}) = 0.0292 \text{ წთ}^{-1} = 4.87 \times 10^{-4} \text{ წმ}^{-1}$$

მიღებული შედეგებიდან შესაძლებელია მიახლოებით შევაფასოთ k_1 და k_{-1} მუდმივების მნიშვნელობები 5°C ტემპერატურისათვის, როდესაც პროცესი მიმდინარეობს მხოლოდ თხევად ფაზაში. მართლაც, შეგვიძლია ჩავწეროთ შემდეგი სისტემა:

$$k_1 + k_{-1} = 4.87 \cdot 10^{-4} \text{ (წმ}^{-1}\text{)},$$

$$\frac{k_1}{k_{-1}} = 1.02$$

ამ სისტემის ამოხსნა გვაძლევს: $k_1 = 2.4 \cdot 10^{-4} \text{ წმ}^{-1}$ $k_{-1} = 2.5 \cdot 10^{-4} \text{ წმ}^{-1}$

შევაფასეთ *DCXplorer* – პროგრამის გამოყენებით მიღებული k_1 და k_{-1} მუდმივების მნიშვნელობები 5°C ტემპერატურისათვის, ანუ ჩავატარეთ მათი მნიშვნელობების ექსტრაპოლაცია 278 K ტემპერატურამდე

$$k_1 = 3.18 \cdot 10^{-4} \text{ წმ}^{-1}$$

$$k_{-1} = 5.42 \cdot 10^{-4} \text{ წმ}^{-1}$$

რეაქციის სიჩქარის ეს მნიშვნელობები, რომელიც ენანტიომერებს ჰქონდათ, პროცესის მიმდინარეობისას სვეტში აღემატება რეაქციის სიჩქარის იმ მნიშვნელობებს რომელიც ჩვენ მივიღეთ თითოეული ენანტიომერისათვის, როცა რაცემიზაცია მიმდინარეობდა სითხეში. ანუ აქედან შესაძლოა გაკეთდეს კიდევ ერთი დასკვნა, რომ ქრომატოგრაფიულ სვეტში ოქსაზეპამის ენანტიომერების ურთიერთგარდაქმნისას უპირატესობა ენიჭება ჰეტეროგენულ მექანიზმს, ანუ - ენანტიომერიზაციის მიმდინარეობას ქირალურ სტაციონალური ფაზის ზედაპირზე.

მოცემული მეთოდის და არენიუსის განტოლების გამოყენებით გამოვიანგარიშეთ აგრეთვე აქტივაციის ენერგია ორი ტემპერატურის მიხედვით:

T	$(k_1 + k_{-1}) \text{ წმ}^{-1}$ ენანტიომერი1	$(k_1 + k_{-1}) \text{ წმ}^{-1}$ ენანტიომერი2
0°C	1.6×10^{-4}	2.1×10^{-4}
5°C	4.83×10^{-4}	4.87×10^{-4}

ცხრილი 9. რეაქციის სიჩქარის მუდმივების მნიშვნელობები

$$E = R \frac{T_1 \cdot T_2}{T_2 - T_1} \ln \frac{K(T_2)}{K(T_1)}$$

პირველი ენანტიომერისათვის აქტივაციის ენერგიის მნიშვნელობა შესაბამისად იქნება: $E = 8.31 \times (273.15 \times 278.15 / 5) \ln 4.83 / 1.6 = 139.4$ კჯოული/მოლი

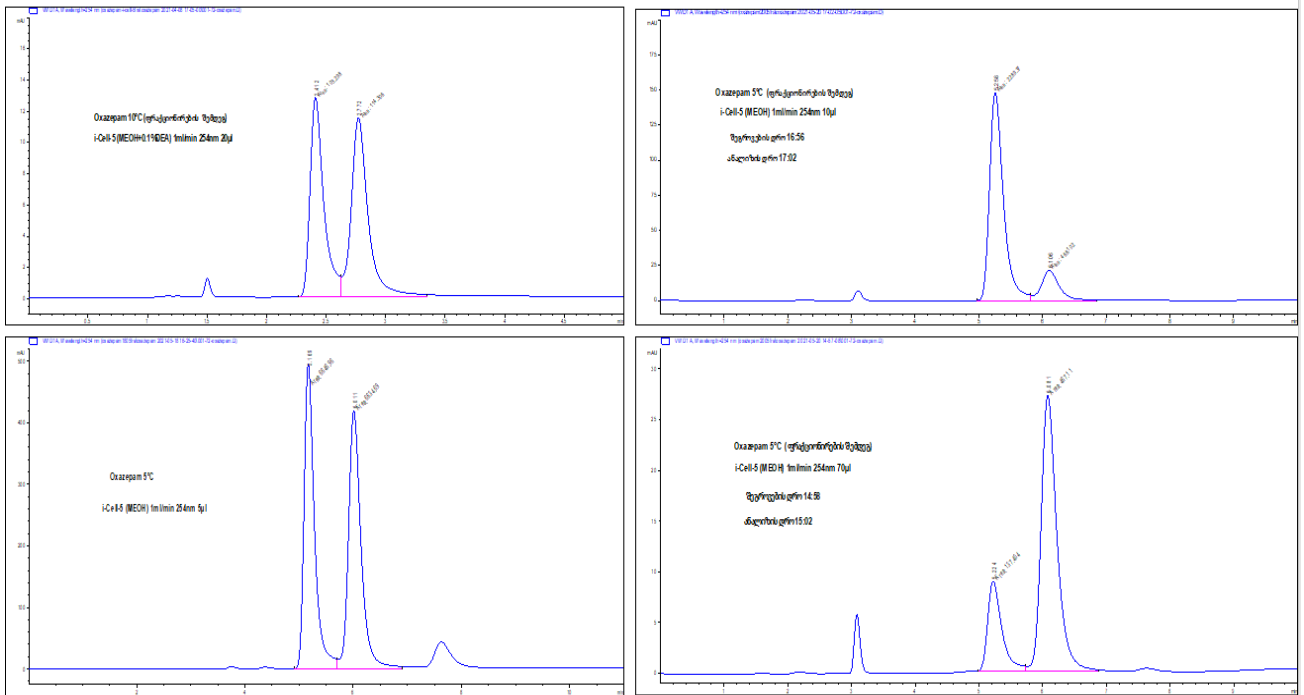
მეორე ენანტიომერისათვის აქტივაციის ენერგიის მნიშვნელობა შესაბამისად იქნება: $E = 8.31 \times (273.15 \times 278.15 / 5) \ln 4.87 / 2.1 = 106.2$ კჯოული/მოლი

4.3.2. დიეთილამინი როგორც ჰომოგენური კატალიზატორი ენანტიომერიზაციის რეაქციაში

ქრომატოგრაფიულ ანალიზში მოძრავ ფაზის ფუძე და მჟავა მოდიფიკატორები ხშირად გამოიყენება დაყოფის გაუმჯობესების მიზნით, კერძოდ ჭიანჭველამჟავა და დიეთილამინი[ლიტ.14]. თუმცა, ჩვენს შემთხვევაში, აღმოჩნდა რომ დიეთილამინი ასრულებს ჰომოგენური კატალიზატორის როლს ენანტიომერიზაციის რეაქციაში და მნიშვნელოვნად ზრდის ენანტიომერების ურთიერთგარდაქმნის რეაქციის სიჩქარეს. ამიტომაც ექსპერიმენტის შემდეგ ეტაპზე , როდესაც ჩვენ მოვახდინეთ ენანტიომერების დაყოფა, სარეაქციო არეს დვამატეთ 0.1% დიეთილამინი. ანალიზის სხვა პირობები კი უცვლელად დავტოვეთ, რათა ზუსტად შეგვეფასებინა დიეთილამინის კატალიზური როლი და შესაბამისად რამდენად გაიზრდა რაცემიზაციის რეაქციის სიჩქარე. ექსპერიმენტი ჩავატარე ორ გსნსხვავებულ ტემპერატურაზე 0°C და 5°C ტემპერატურაზე.

ფრაქციონირება-მოძრავ ფაზას
დამატებული დიეთილამინი

ფრაქციონირება-მოძრავ ფაზაზე
დიეთილამინის დანამატის გარეშე

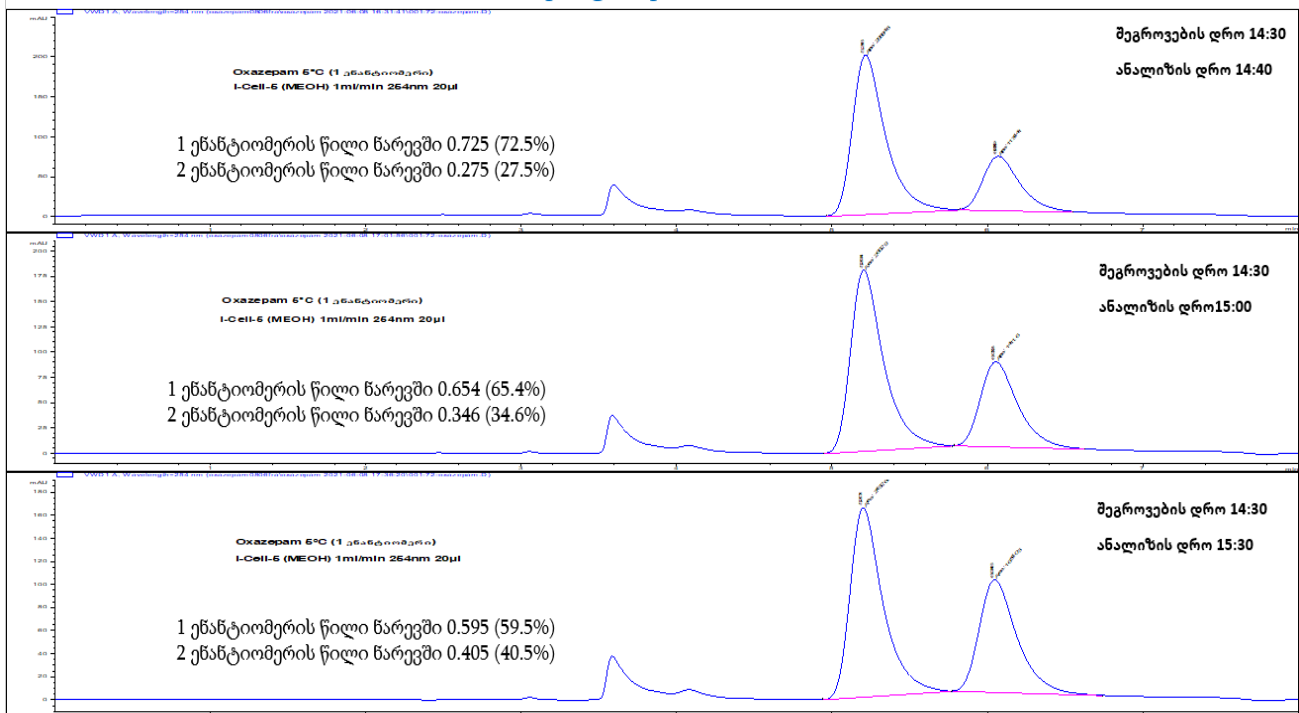


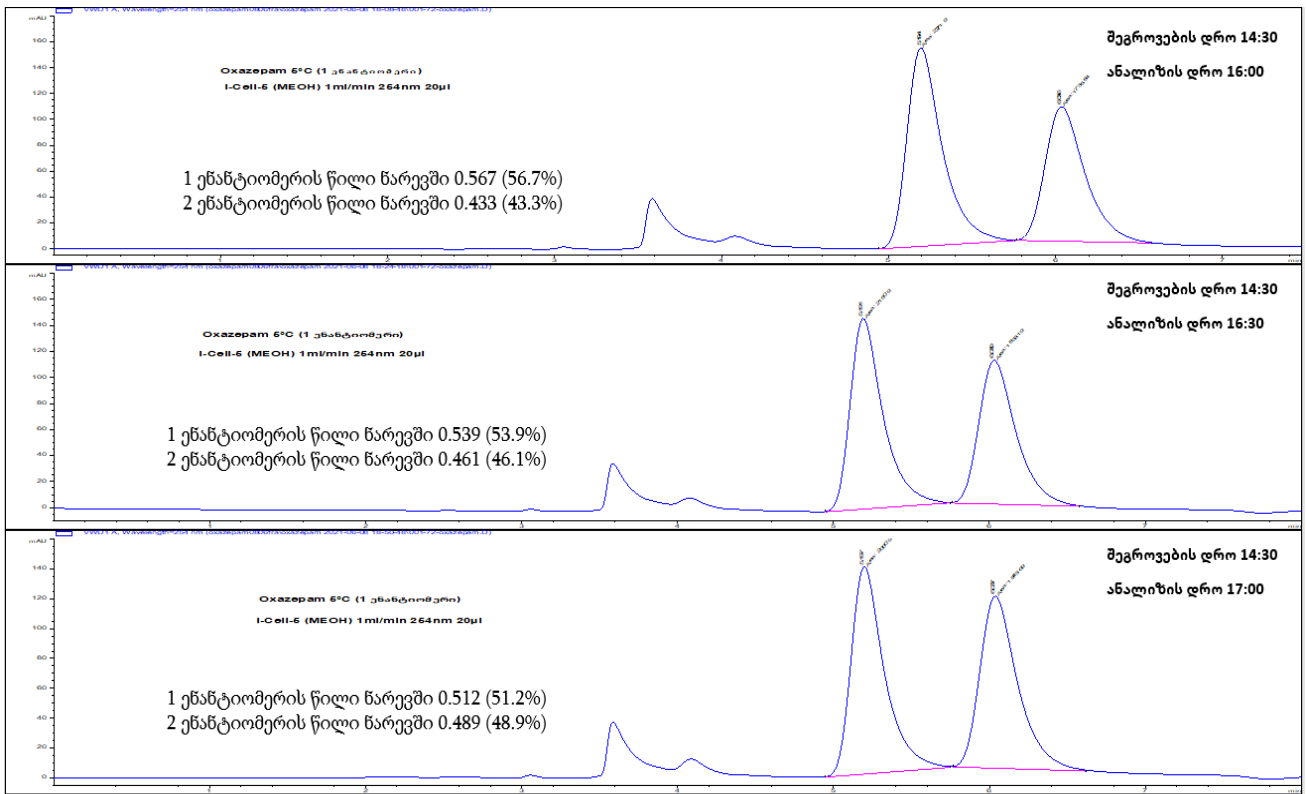
ნახ31. ფრაქციონირება დიეთილამინით და დიეთილამინის გარეშე

ანალიზის პირობები იყო იგივე რაც ექსპერიმენტის საწყის ეტაპზე, გარადა იმისა რომ სარეაქციო არეს ჰქონდა დამატებული 0.1% დიეთილამინი:

- ❖ მოძრავი ფაზა- მეთანოლი
- ❖ სტაციონალური ფაზა- იმობილიზებული ცელულოზა-5 (iSP5-10 5 μ)
- ❖ საანალიზოდ აღებული ნიმუშის მოცულობა 20 მიკროლიტრი
- ❖ მოძრავი ფაზის ნაკადის სიჩქარე 1 მლ/წთ
- ❖ დეტექტორის ტალღის სიგრძე 254 ნმ
- ❖ ქრომატოგრაფიული ანალიზის ტემპერატურა 5°C, დაყოვნებული 0°C და 5°C
- ❖ ქრომატოგრაფიული ანალიზის დრო 5-7 წუთი, დაყოვნების დრო 30 წუთი

ფრაქციონირებული ნიმუშის ქრომატოგრაფიული ანალიზი ყოველ ნახევარ საათში 5°C-ზე, დაყოვნებული 0°C-ზე, სარეაქციო ნარევის დამატებული 0.1% დიეთილამინი 1 ენანტიომერი

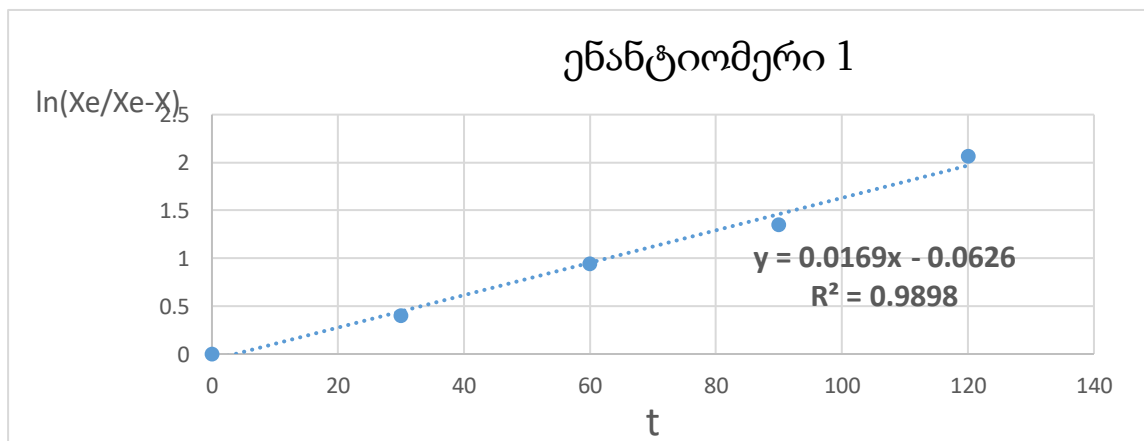




რეაქციის სიჩქარის მუდმივები ამ ექსპერიმენტშიც ვიანგარიშეთ კლასიკური კინეტიკური მეთოდის გამოყენებით:

დრო (წთ)	0 წთ	30 წთ	60 წთ	90 წთ	120 წთ	150 წთ
1-ენანტიომერის ფართობი	0.725 (72.5%)	0.654 (65.4%)	0.595 (59.5%)	0.567 (56.7%)	0.539 (53.9%)	0.512 (51.2%)
2-ენანტიომერის ფართობი	0.275 (27.5%)	0.346 (34.6%)	0.405 (40.5%)	0.433 (43.3%)	0.461 (46.1%)	0.489 (48.9%)

ცხრილი 10. პიკის ფართობები დროის მიხედვით.



ნახ31. $\ln(Xe/Xe-X)$ -t დამოკიდებულების გრაფიკი.

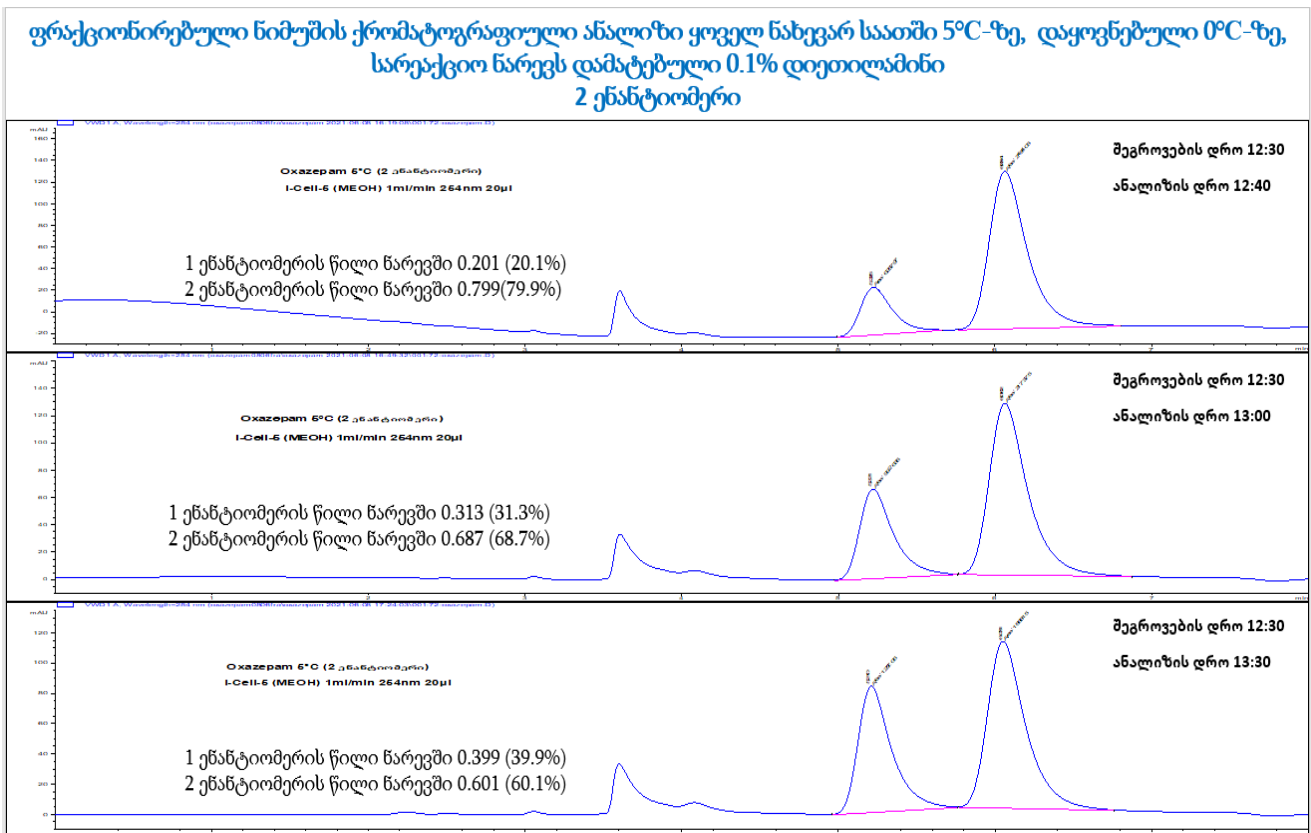
მიღებული წრფის დახრილობიდან გამოვიანგარიშეთ რაცემიზაციის რაექციის ჯამური სიჩქარის მუდმივა პირველი და მეორე ენანტიომერისათვის:

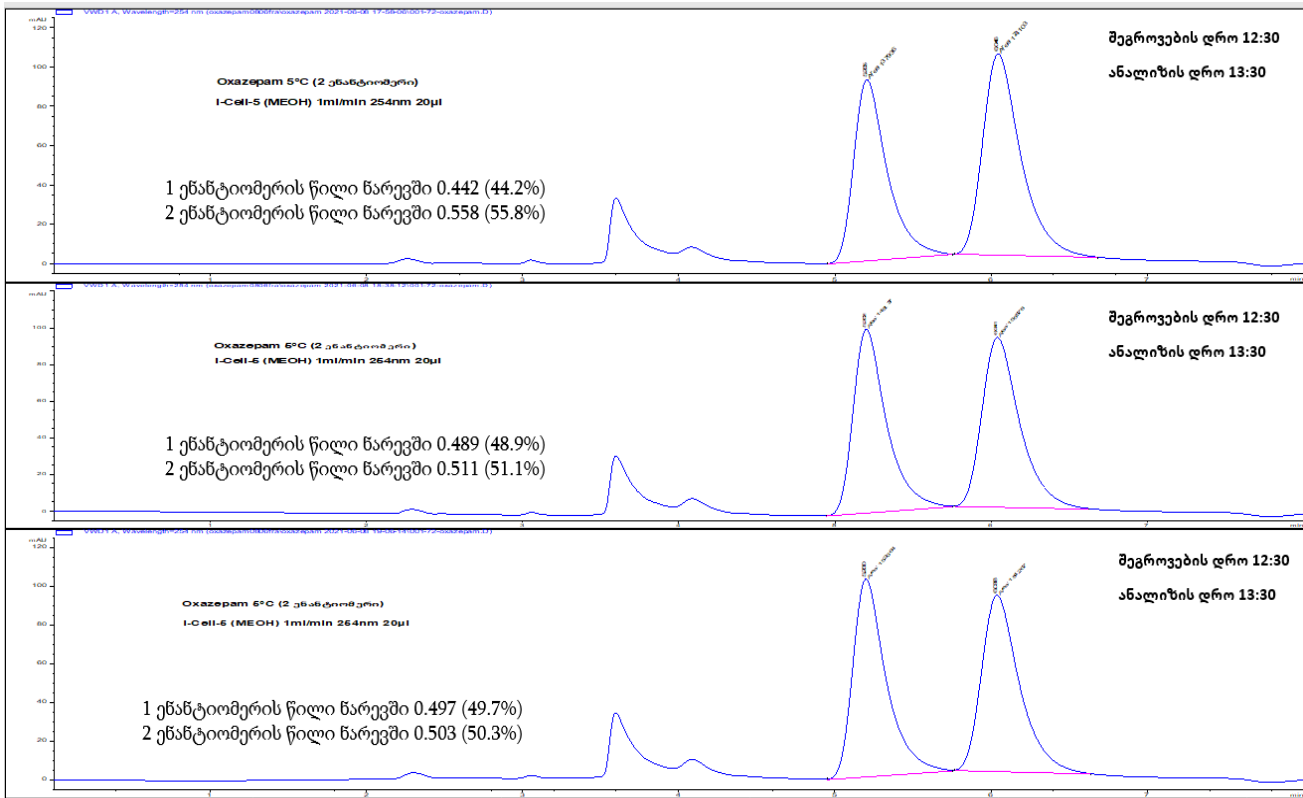
$$(k_1+k_{-1})=0.0169 \text{ წთ}^{-1} = 2.8 \times 10^{-4} \text{ წმ}^{-1}$$

$$k_1 + k_{-1} = 2.8 \cdot 10^{-4} (\text{წმ}^{-1}),$$

$$\frac{k_1}{k_{-1}} = 0.95$$

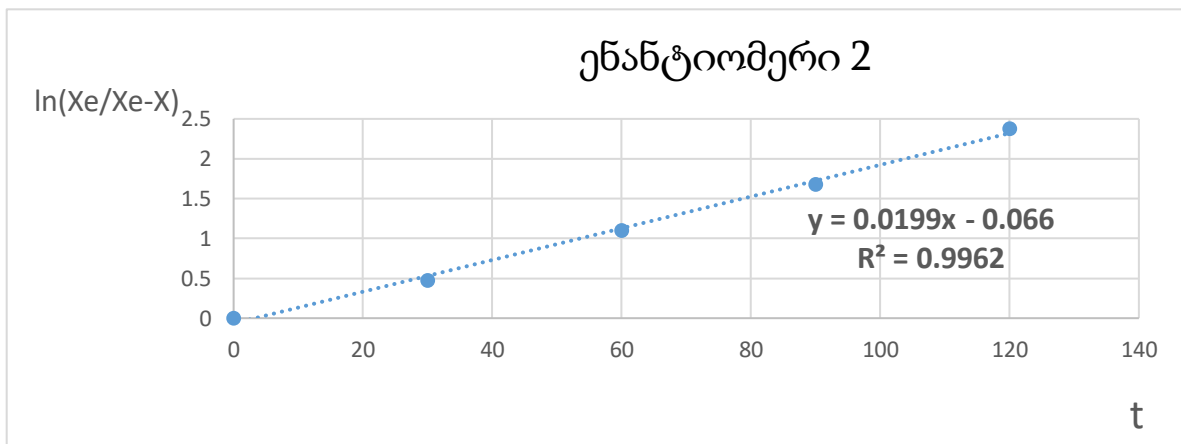
ამ სისტემის ამოხსნა გვაძლევს: $k_1 = 1.36 \cdot 10^{-4} \text{ წმ}^{-1}$ $k_{-1} = 1.43 \cdot 10^{-4} \text{ წმ}^{-1}$





დრო (წთ)	0 წთ	30 წთ	60 წთ	90 წთ	120 წთ	150 წთ
1-ენანტიომერის ფართობი	0.201 (20.1%)	0.313 (31.3%)	0.399 (39.9%)	0.442 (44.2%)	0.489 (48.9%)	0.497 (49.7%)
2-ენანტიომერის ფართობი	0.799 (79.9%)	0.687 (68.7%)	0.601 (60.1%)	0.558 (55.8%)	0.511 (51.1%)	0.503 (50.3%)

ცხრილი 11. პიკის ფართობები დროის მიხედვით.



ნახ32. $\ln(Xe/Xe-X)$ -t დამოკიდებულების გრაფიკი.

$$(k_1+k_{-1})=0.0199 \text{ წთ}^{-1} = 3.3 \times 10^{-4} \text{ წმ}^{-1}$$

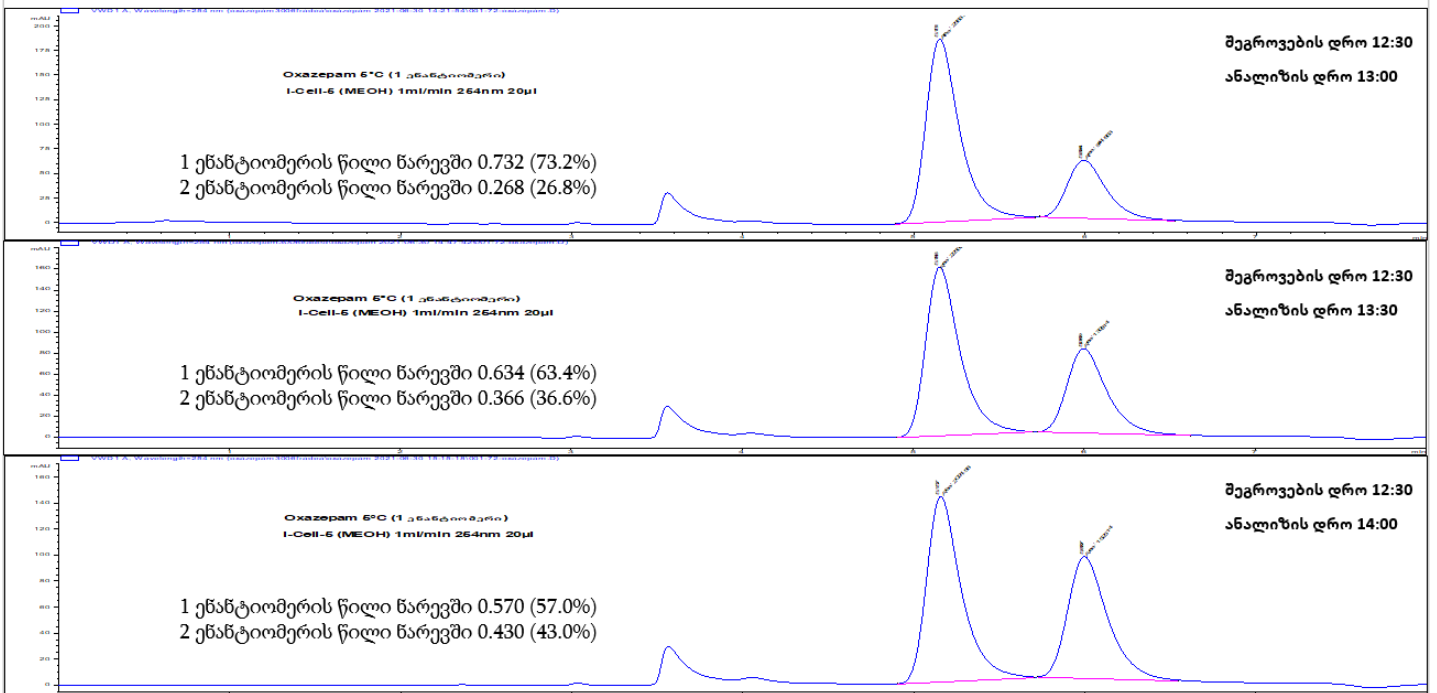
მიღებული შედეგებიდან შესაძლებელია მიახლოებით შევაფასოთ k_1 და k_{-1} მუდმივების მნიშვნელობები 0°C ტემპერატურისათვის, როდესაც პროცესი მიმდინარეობს მხოლოდ თხევად ფაზაში.

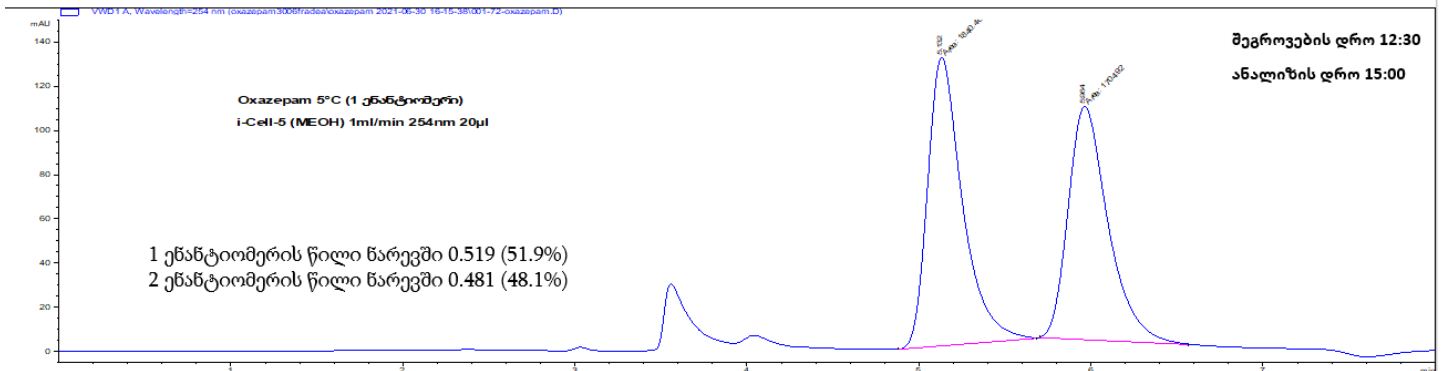
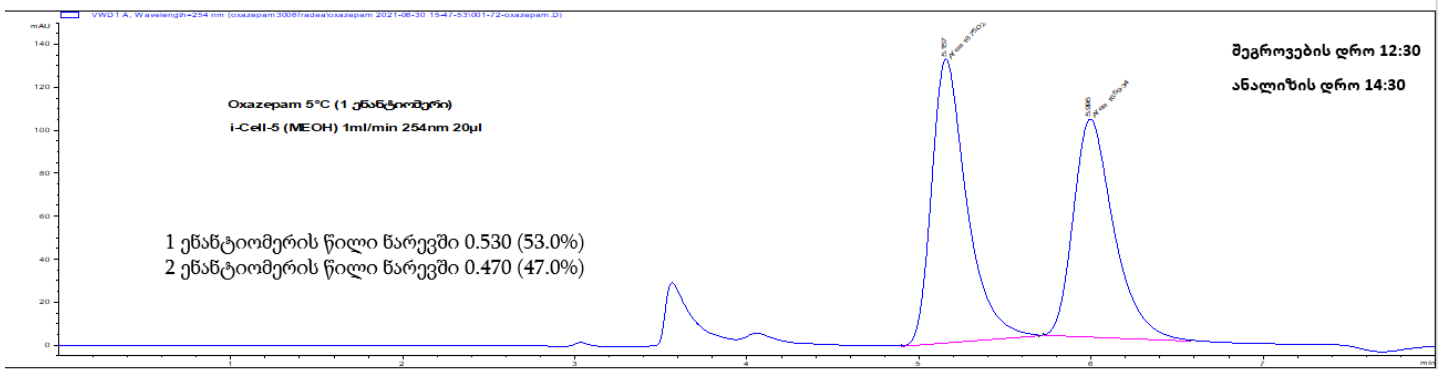
$$k_1 + k_{-1} = 3.3 \cdot 10^{-4} (\text{წმ}^{-1}),$$

$$\frac{k_1}{k_{-1}} = 1.02$$

ამ სისტემის ამოხსნა გვაძლევს: $k_1 = 1.66 \cdot 10^{-4} \text{ წმ}^{-1}$ $k_{-1} = 1.65 \cdot 10^{-4} \text{ წმ}^{-1}$

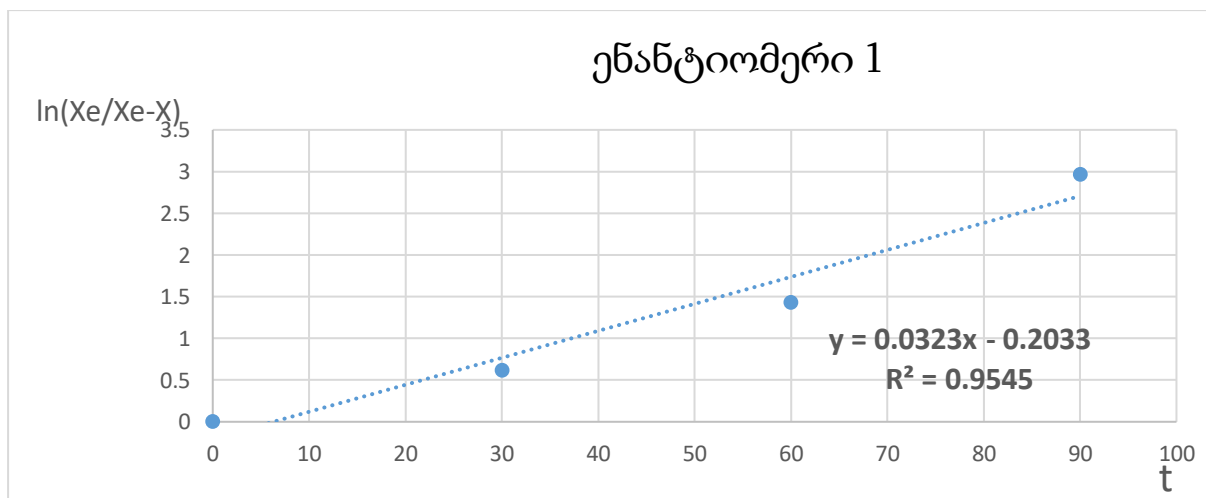
ფრაქციონირებული ნიმუშის ქრომატოგრაფიული ანალიზი ყოველ ნახევარ საათში 5°C -ზე, დაყოვნებული 5°C -ზე, სარეაქციო ნარევის დამატებული 0.1% დიეთილამინი
1 ენანტიომერი





დრო (წთ)	0 წთ	30 წთ	60 წთ	90 წთ	120 წთ
1-ენანტიომერის ფართობი	0.732 (73.2%)	0.634 (63.4%)	0.570 (57.0%)	0.530 (53.0%)	0.519 (51.9%)
2-ენანტიომერის ფართობი	0.268 (26.8%)	0.366 (36.6%)	0.430 (43.0%)	0.470 (47.0%)	0.481 (48.1%)

ცხრილი 12. პიკის ფართობები დროის მიხედვით.



ნახ33. ln(Xe/Xe-X)-t დამოკიდებულების გრაფიკი.

$$(k_1 + k_{-1}) = 0.0323 \text{ წთ}^{-1} = 5.3 \times 10^{-4} \text{ წმ}^{-1}$$

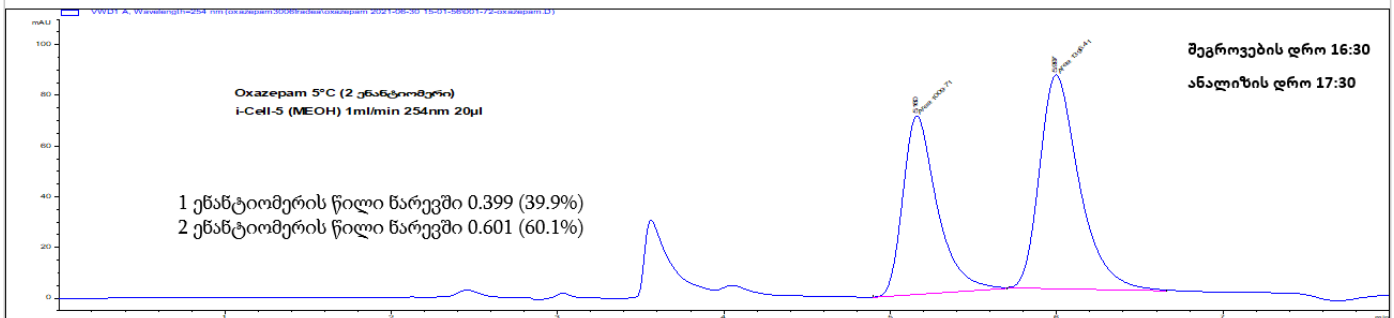
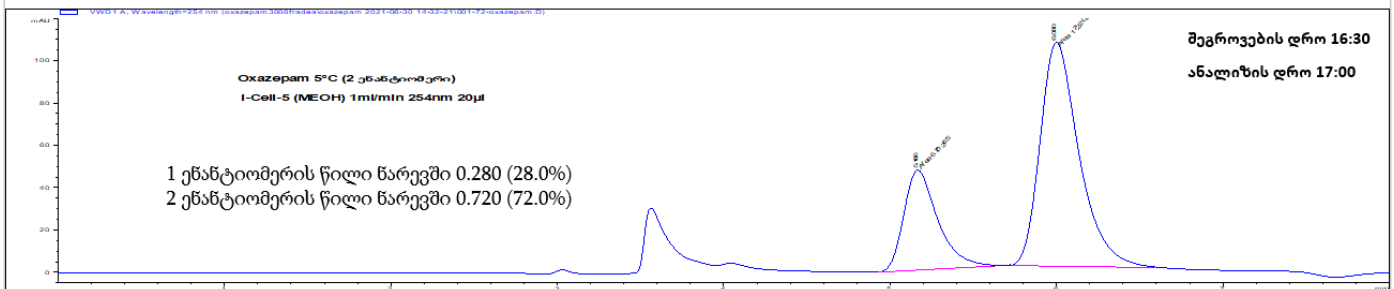
შევაფასეთ k_1 და k_{-1} მუდმივების მნიშვნელობები 0°C ტემპერატურისათვის, როდესაც პროცესი მიმდინარეობს მხოლოდ თხევად ფაზაში. შეგვიძლია ჩავწეროთ შემდეგი სისტემა:

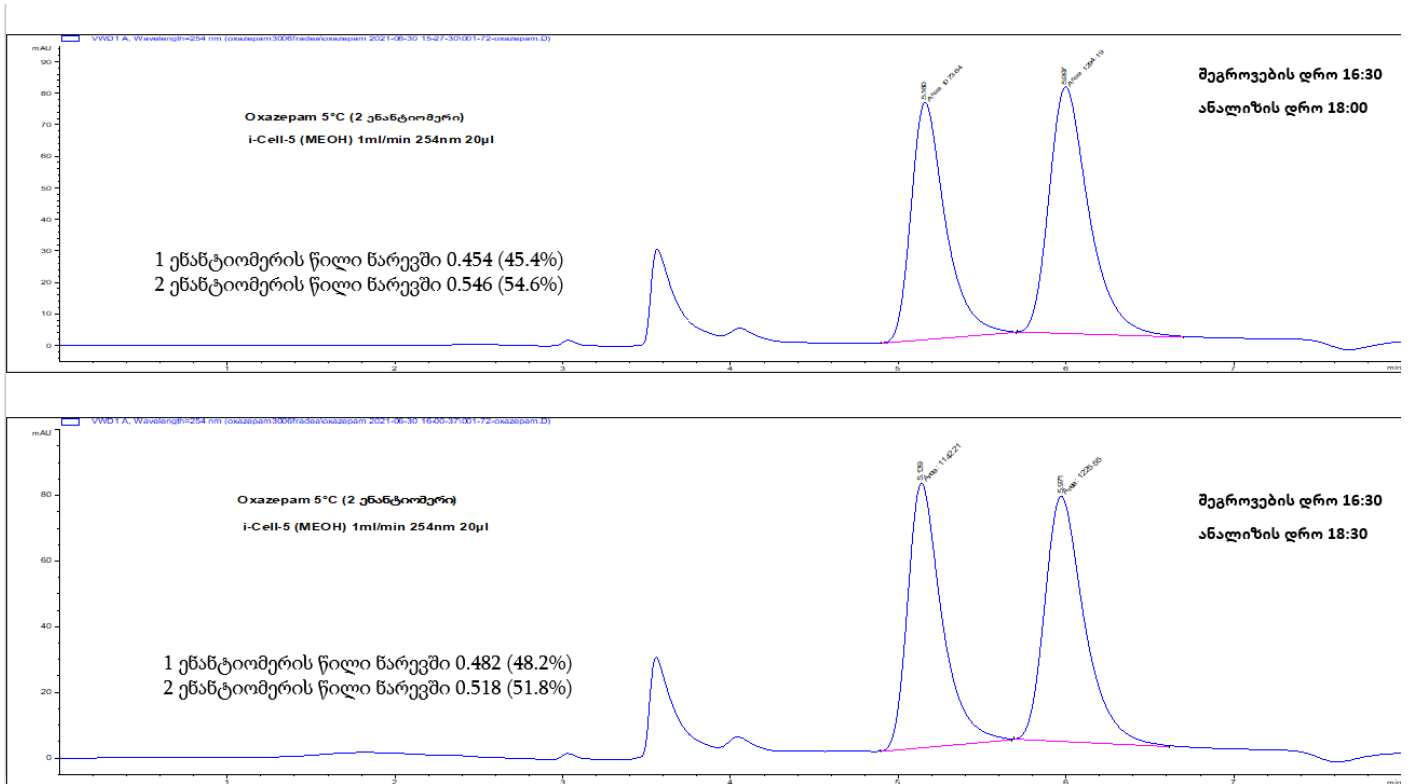
$$k_1 + k_{-1} = 5.3 \cdot 10^{-4} (\text{წმ}^{-1}),$$

$$\frac{k_1}{k_{-1}} = 0.92$$

ამ სისტემის ამოხსნა გვაძლევს: $k_1 = 2.5 \cdot 10^{-4} \text{ წმ}^{-1}$ $k_{-1} = 2.7 \cdot 10^{-4} \text{ წმ}^{-1}$

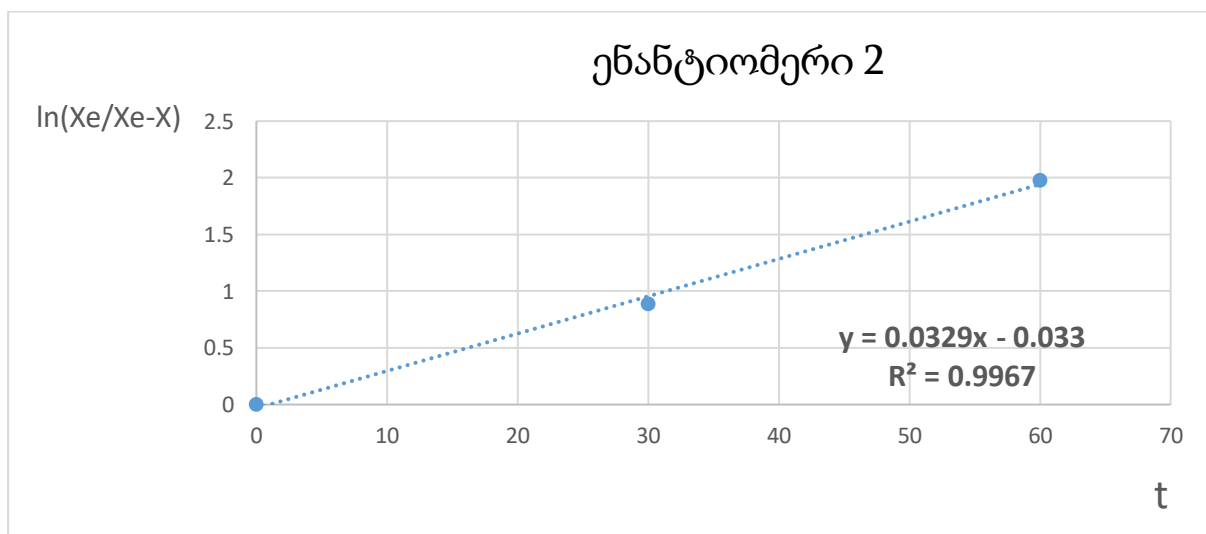
ფრაქციონირებული ნიმუშის ქრომატოგრაფიული ანალიზი ყოველ ნახევარ საათში 5°C -ზე, დაყოვნებული 0°C -ზე, სარეაქციო ნარევის დამატებული 0.1% დიეთილამინი
2 ენანტიომერი





დრო (წთ)	0 წთ	30 წთ	60 წთ	90 წთ
1-ენანტიომერის ფართობი	0.280 (28.0%)	0.399 (39.9%)	0.454 (45.4%)	0.482 (48.2%)
2-ენანტიომერის ფართობი	0.720 (72.0%)	0.601 (60.1%)	0.546 (54.6%)	0.518 (51.8%)

ცხრილი 13. პიკის ფართობები დროის მიხედვით.



ნახ34. $\ln(Xe/Xe-X)$ -t დამოკიდებულების გრაფიკი.

$$(k_1+k_{-1})=0.0329 \text{ წთ}^{-1} = 5.4 \times 10^{-4} \text{ წმ}^{-1}$$

აქაც ვიანგარიშეთ k_1 და k_{-1} მუდმივების მნიშვნელობები 0°C ტემპერატურისათვის, როდესაც პროცესი მიმდინარეობს მხოლოდ თხევად ფაზაში. შეგვიძლია ჩავწეროთ შემდეგი სისტემა:

$$k_1 + k_{-1} = 5.4 \cdot 10^{-4} (\text{წმ}^{-1}),$$

$$\frac{k_1}{k_{-1}} = 1.05$$

ამ სისტემის ამოხსნა გვაძლევს: $k_1 = 2.7 \cdot 10^{-4} \text{ წმ}^{-1}$ $k_{-1} = 2.6 \cdot 10^{-4} \text{ წმ}^{-1}$

გამოვიანგარიშოთ პროცესის აქტივაციის ენერგია:

T	$(k_1 + k_{-1}) \text{ წმ}^{-1}$ ენანტიომერი1	$(k_1 + k_{-1}) \text{ წმ}^{-1}$ ენანტიომერი2
0°C	2.8×10^{-4}	3.3×10^{-4}
5°C	5.3×10^{-4}	5.4×10^{-4}

ცხრილი 14. რეაქციის სიჩქარის მუდმივების მნიშვნელობები

პირველი ენანტიომერისათვის აქტივაციის ენერგიის მნიშვნელობა შესაბამისად იქნება: $E=8.31 \times (273.15 \times 278.15/5) \ln 5.3/2.8=80.5$ კჯოული/მოლი

მეორე ენანტიომერისათვის აქტივაციის ენერგიის მნიშვნელობა შესაბამისად იქნება: $E=8.31 \times (273.15 \times 278.15/5) \ln 5.4/3.3= 62.12$ კჯოული/მოლი

მაშასადამე, აღნიშნული ექსპერიმენტის საფუძველზე შეგვიძლია დავასკვნათ, რომ დიეთილამინი მართლაც ასრულებს ჰომოგენური კატალიზატორის როლს ენანტიომერიზაციის რეაქციაში. კერძოდ მიღებული გამოთვლებიდან ჩანს, რომ როდესაც სარეაქციო ნარევის დამატებული ქონდა 0.1% დიეთილამინი მაშინ, როგორც 0°C ისე 5°C-ს ტემპერატურაზე, ერთი ენანტიომერისგან მეორე ენანტიომერის წარმოქმნის k_1 და მეორე ენანტიომერისაგან პირველის წარმოქმნის k_{-1} რეაქციის სიჩქარის მუდმივების რიცხვითი მნიშვნელობები აღემატება ენანტიომერების იმ რეაქციის სიჩქარის მუდმივებს რომელიც მათ ჰქონდათ პირველ ექსპერიმენტში ანუ როდესაც ენანტიომერების გარდაქმნა მიმდინარეობდა სუფთა მეთანოლში ყოველგვარი დანამატის გარეშე. ამასთან აქტივაციის ენერგია პირიქით შემცირდა დიეთილამინის დამატებისას. მაგრამ მოცემული ექსპერიმენტის რეაქციის სიჩქარის მუდმივების რიცხვით მნიშვნელობები კვლავ ნაკლებია სვეტში მიმდინარე ენანტიომერიზაციის რეაქციის სიჩქარის მუდმივებზე.

5. დასკვნები:

1. ექსპერიმენტულად შესწავლილია ოქსაზეჰამის ენანტიომერების გარდაქმნის კინეტიკა როგორც ქირალური სტაციონარული ფაზის შემცველ ქრომატოგრაფიულ სვეტში, ასევე თხევად ფაზაში.
2. ტემპერატურის მატებასთან ერთად ენანტიომერიზაციის რეაქციის სიჩქარე იზრდება. გარკვეული ტემპერატურის ზემოთ კი მისი კინეტიკური დახასიათება დინამური ქრომატოგრაფიის მეთოდით შეუძლებელი ხდება.
3. ენანტიომერების ურთიერთგარდაქმნის სიჩქარეთა მუდმივები განსხვავდება ერთმანეთისგან. ხოლო წონასწორობის მუდმივები ახლოსაა 1-თან.
4. ჩატარებულ ექსპერიმენტებში აქტივაციის ენტროპიები წარმოადგენენ უარყოფით სიდიდეებს, რაც მიუთითებს იმაზე, რომ გააქტიურებულ კომპლექსთა სტრუქტურები უფრო მოწესრიგებულია, ვიდრე ენანტიომერთა მოლეკულების საწყისი სტრუქტურები.
5. გამოვლენილია გარდაქმნის სიჩქარის მუდმივებისა და სხვა კინეტიკური პარამეტრების დამოკიდებულება სტაციონარული ფაზის შედგენილობაზე, რაც მიუთითებს პროცესის მიმდინარეობაში ჰეტეროგენული ფაქტორის მონაწილეობაზე.
6. ოქსაზეჰამის ენანტიომერების ფრაქციონირება ოთახისა და უფრო მაღალ ტემპერატურაზე შეუძლებელია, რაცემიზაციის რეაქციის მაღალი სიჩქარის გამო.
7. დიეთილამინი მოქმედებს, როგორც კატალიზატორი ოქსაზეჰამის ენანტიომერების გარდაქმნის პროცესზე. იგი ზრდის რეაქციის სიჩქარის მუდმივებს, მაგრამ ამცირებს პროცესის აქტივაციის ენერგიას.
8. 0°C ტემპერატურაზე ოქსაზეჰამის ენანტიომერები სრულ რაცემიზაციას განიცდის 4-5 სთ-ის განმავლობაში. მასზე 0.1% დიეთილამინის დამატებისას რაცემიზაციის დრო მცირდება 2-3 სთ-მდე.
9. ენანტიომერების ურთიერთგარდაქმნა ჰომოგენური მექანიზმით თხევად ფაზაში მიმდინარეობს უფრო დაბალი სიჩქარით, ვიდრე ჰეტეროგენული მექანიზმით სტაციონარული ფაზის ზედაპირზე.

6. გამოყენებული ლიტერატურა:

1. შ. სამსონია, მ. გვერწითელი, ი. ჩიკვაძე, ლ. კვირიკაძე „ორგანული ქიმია“ თბილისი, უნივერსიტეტის გამომცემლობა, 2017.
2. ე. კაცაძე „ზოგადი სტერეოქიმიის სალექციო კურსი“. თბილისი, 2017
3. მ. რუხაძე- სალექციო კურსი: „ნარევთა დაყოფის ინსტრუმენტული მეთოდები“ 2014წ;
4. M.S., Ettre L.S. Tswett and the invention of chromatography. . LCGC North America. : 2003;
5. რ. კაკავა სადოქტორო ნაშრომი. ახალი ქირალური სულფოქსიდების სინთეზი, მათი ენანტიომერების დაყოფა მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფიის მეთოდით და ქირალური გამოცნობის მოლეკულური მექანიზმების კვლევა, თსუ.
6. გ.ჯიბუტი- სადისერტაციო ნაშრომი: „ქირალური ნივთიერებების დაყოფის ოპტიმიზაცია მაღალეფექტურ სითხურ ქრომატოგრაფიაში პოლისაქარიდული ქირალური სტაციონალური ფაზების გამოყენებით“ თსუ, 2014 წ.
7. B., Chankvetadze. . Recent developments on polysaccharide-based chiral stationary phases for liquid-phase separation of enantiomers. : J. Chromatogr A. 1269, PP. 26-51 2012.
8. R., Gil-Av E. Freibusch B. Charles-Sigler. Separation of enantiomers by gas liquid chromatography with an optically active stationary phase. 1966.
9. Franz P. Gemmel S. and Gemmel B. Possibilities for optimization oligomer separation with supercritical fluid chromatography. J. Chromatogr. 395. 111–123. 1987
10. M. Jung, M. Fluck, V. Schuring, Chirality 1994, 6- 510;
11. M. Jung, V. Schurig, J. Am. Chem. Soc. 1992, 114-529;
12. ბ. ჭანკვეტაძე, გ. ბეზარაშვილი. „ფიზიკური ქიმია 1“, სალექციო კურსი, თბილისი, 2011.
13. ბ. ჭანკვეტაძე, გ. ბეზარაშვილი- სალექციო კურსი: „ფიზიკური ქიმია 2“ თბილისი , 65-77; 2013
14. M.Rickhaus, L.Jundt, M.Mayor. Determining inversion barriers in atrop-isomers:A tutorial for organic chemists.- Phys. Org. Chemistry, 2016, v.70,No 3.- p. 192-202.