



ივ.ჯავახიშვილის სახელობის თბილისის სახელმწიფო
უნივერსიტეტის ზუსტ და საბუნებისმეტყველო მეცნიერებათა
ფაკულტეტი

ქიმიური ექსპერტიზა

ნინო მეგენეიშვილი

დიმეთინდენის ენანტიომერების ციკლოდექსტრინებთან
კომპლექსწარმოქმნის კვლევა ელექტროფორეტული და
მიკროკალორიმეტრული მეთოდებით

ნაშრომი შესრულებულია ქიმიური ექსპერტიზის მაგისტრის ხარისხის
მოსაპოვებლად

სამეცნიერო ხელმძღვანელები:

ქიმიის მეცნიერებათა დოქტორი, პროფესორი ბეჟან ჭანკვეტაძე

ქიმიის აკადემიური დოქტორი რუსუდან კაკავა

ქიმიის აკადემიური დოქტორი ანა გოგოლაშვილი

თბილისი

2021 წელი

ანოტაცია

მოლეკულის ქირალობა ხშირ შემთხვევაში დამოკიდებულია მასში ასიმეტრიული ნახშირბადატომის არსებობასთან. ასეთ მოლეკულას გააჩნია მისი სარკისებური გამოსახულება და მათ ენანტიომერები ეწოდებათ. ენანტიომერებს ერთნაირი ქიმიური და ფიზიკური თვისებები გააჩნია და მათი განსხვავება შესაძლებელია მხოლოდ პოლარიზებული სინათლის სიბრტყის ბრუნვის კუთხის ნიშნის მიხედვით.

მიუხედავად იმისა, რომ ენანტიომერებს ერთნაირი ფიზიკური და ქიმიური თვისებები აქვთ, ფარმაკოლოგიური მოქმედებით მკვეთრად განსხვავდებიან ერთმანეთისგან. დღესდღეობით მედიცინაში გამოყენებული სამკურნალწამლო საშუალებების დიდი ნაწილი სწორედ ქირალური ნივთიერებებია, რომელთაგან მხოლოდ მცირე ნაწილი გამოიყენება სუფთა ენანტიომერების სახით.

ენანტიომერები განსხვავებულად ურთიერთქმედებენ ქირალურ სელექტორებთან და რადგან ადამიანის ორგანიზმი ერთგვარ, მძლავრ ქირალურ სელექტორს წამოადგენს, ერთ-ერთმა ენანტიომერმა შეიძლება დადებითი გავლენა მოახდინოს შესაბამის პროცესზე, ხოლო მეორემ, ტოქსიკური მოქმედება გამოამჟღავნოს. სწორედ ამიტომ, ძალიან მნიშვნელოვანია ენანტიომერული ნარევების დაყოფა.

კაპილარული ელექტროფორეზი წარმოადგენს, ქირალური ნივთიერებების დაყოფის მეთოდს, რომელსაც მთელი რიგი უპირატესობები გააჩნია ქრომატოგრაფიულ მეთოდებთან შედარებით.

პირველ რიგში ეს მეთოდი საკმაოდ მოქნილი და იაფია. გარდა ამისა, ის გამოირჩევა მაღალი ეფექტურობითა და ანალიზის ჩატარების მცირე დროთ.

გარდა ენანტიომერების დაყოფისა, მნიშვნელოვანია დავადგინოთ კომპლექსწარმოქმნის თერმოდინამიკური პარამეტრები და ზოგადად, კომპლექსის წამოქმნისათვის შევარჩიოთ ისეთი პირობები, სადაც მივიღებთ ყველაზე მეტად მდგრად კომპლექსს.

მიკროკალორიმეტრული ექსპერიმენტი საშუალებას გვაძლევს პირდაპირი გზით განვსაზღვროთ ისეთი მახასიათებლები როგორცაა: ენთალპია, ენტროპია, გიბსის თავისუფალი ენერჯია და კომპლექსების სტექიომეტრია.

ჩვენს სამუშაოში შესწავლილია დიმეთინდენის ენანტიომერების დაყოფა კაპილარულ ელექტროფორეზში ციკლოდექსტრინების გამოყენებით ქირალურ სელექტორებად და კომპლექსარმოქმნის თერმოდინამიკული პარამეტრების კვლევა იზოთერმული ტიტრაციის კალორიმეტრიის გამოყენებით.

ექსპერიმენტის მსვლელობისას ჩვენ გამოვიყენეთ როგორც ნატივური, ასევე მოდიფიცირებული ციკლოდექსტრინები.

დიმეთინდენის შემთხვევაში მიგრაციის რიგის შებრუნება მოხდა ნატივური ბეტა ციკლოდექსტრინსა და მოდიფიცირებული ტრიმეთილ ბეტა ((β -CD)) ციკლოდექსტრინს შორის.

Summary

A chiral molecule is a type of molecule that has a non-superposable mirror image. The cause of chirality in molecules is the presence of an asymmetric atom– chiral center. A chiral molecule and its mirror image are called enantiomers. The enantiomers have same physical and chemical properties in achiral environment and only way to distinguish between them in such environment is the sign of rotation angle of polarized light. The identity of physical and chemical properties makes a separation of enantiomers as very challenging task.

The chirality of a molecule may considerably affect its physiological activity. Many compounds of biological and pharmacological interest are chiral. Approximately 40% of the drugs in use are known to be chiral and only a small part of it are administered as pure enantiomers. Enantiomers differ from each other from the viewpoint of their absorption, distribution, protein binding, receptor affinity, transformation (metabolism) in the body and pharmacokinetics. The living body with its numerous homochiral compounds being amazingly chiral selector, will interact with each racemic drug differently and metabolize each enantiomer by a separate pathway to generate different pharmacological activity. Thus, one isomer may produce the desired therapeutic activities, while the other may be inactive or, in worst cases, produce undesired or toxic effects.

Capillary electrophoresis is one of the youngest methods for separation of enantiomers, established as very popular tool in this field. The major reasons for such a popularity of CE is its own unique mechanism for separation of enantiomers. In addition, CE is highly efficient, very flexible and cost-effective technique.

In the present study the enantiomer migration order (EMO) of Dimethindene Maleate in the presence of various cyclodextrins (CDs) was investigated by capillary electrophoresis (CE). Opposite EMO of Dimethindene maleate was observed when β -CD or heptakis (2,3,6-tri- methyl)- β -CD were used as the chiral selectors. The thermodynamic quantities of dimethindene interaction with cyclodextrins were determined by using isothermal titration microcalorimetry.

შინაარსი

ანოტაცია	2
შინაარსი	5
1 შესავალი	6
2. ლიტერატურული ნაწილი	8
1.1 ენანტიომერების დაყოფის მეთოდები	8
1.2 კაპილარული ელექტროფორეზის სახესხვაობები	9
1.3 კაპილარული ელექტროფორეზის ხელსაწყო	11
1.4 კაპილარული ელექტროფორეზის უპირატესობები	12
1.5 ციკლოდექსტრინების გამოყენება ქირალურ სელექტორებად	17
1.6 თერმოდინამიკური პარამეტრები ციკლოდექსტრინი-ლიგანდი ურთიერთქმედებისას	21
1.7 იზოთერმული ტიტრირების კალორიმეტრია	22
1.8 იზოთერმული ტიტრირების კალორიმეტრი	23
3. ექსპერიმენტული ნაწილი	
5.1 ექსპერიმენტში გამოყენებული ხელსაწყოები	24
5.2 ექსპერიმენტში გამოყენებული ნივთიერებები	26
5.3 კაპილარული ელექტროფორეზის ექსპერიმენტი	27
5.4 იზოთერმული ტიტრირების კალორიმეტრული ექსპერიმენტი	28
4. მიღებული შედეგები და განსჯა	30
5. დასკვნები	47
6. გამოყენებული ლიტერატურა	48

1. შესავალი

დღესდღეობით სამკურნალო პრაქტიკაში გამოყენებული პრეპარატების უმრავლესობა ქირალური ნივთიერებებია მათი უმრავლესობა გამოიყენება რაცემული ნარეგების სახით ე.ი შედგება ორი ენანტიომერისაგან 50:50 თანაფარდობით. სამკურნალწამლო საშუალებებში შემავალ ენანტიომერებს ხშირ შემთხვევაში განსხვავებული ფარმაკოლოგიური მოქმედება აქვთ ცოცხალ ორგანიზმზე. ძირითადად განასხვავებენ ცოცხალ ორგანიზმზე მოქმედების სამ სახეს:

- 1) მხოლოდ ერთი ენანტიომერს აქვს დადებითი ფარმაკოლოგიური ეფექტი, მეორე ენანტიომერი ბალასტია, ან უარეს შემთხვევაში შეიძლება ჰქონდეს უარყოფითი გვერდითი ეფექტიც.
- 2) შეიძლება მხოლოდ ერთ ენანტიომერს ჰქონდეს დადებითი ეფექტი, მაგრამ ორგანიზმში ენზიმების მოქმედების შედეგად მეორე ენანტიომერი გარდაიქმნებოდეს აქტიურ ენანტიომერად.
- 3) ერთი ენანტიომერის მოქმედება ბევრად აღემატება მეორე ენანტიომერისას.

კაპილარული ელექტროფორეზი საკმაოდ ახალი მეთოდია. კაპილარული ელექტროფორეზის სისტემა პირველად შექმნა ჰერტენმა ცილების, ნუკლეინის მჟავებისა და არაორგანული იონების დასაყოფად 1965 წელს. თავდაპირველად იგი გამოიყენებოდა ცილებისა და ნუკლეინის მჟავების ანალიზისთვის, მოგვიანებით კი ფარმაცევტულ ანალიზებშიც ჰპოვა გამოყენება. ამ მეთოდით შესაძლებელია გაანალიზდეს როგორც მცირე, ასევე საკმაოდ დიდი ზომის ორგანული და არაორგანული ნივთიერებები.

კაპილარული ელექტროფორეზი წარმოადგენს ქირალური ნივთიერებების დაყოფის ერთ-ერთ მძლავრ მეთოდს, რომელსაც მთელი რიგი უპირატესობები გააჩნია

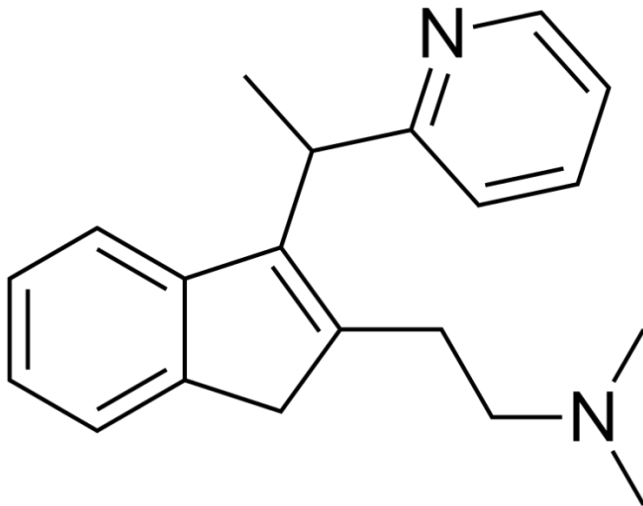
ქრომატოგრაფიულ მეთოდებთან შედარებით. ამ მეთოდის უპირატესობას წარმოადგენს: სიმარტივე, მაღალი ეფექტურობა (თეორიული თევშების მაღალი რიცხვი), კარგი გარჩევითობა, უნივერსალურობა, ანალიზის მცირე დრო და მინიმალური ხარჯები. ასევე კაპილარულ ელექტროფორეზთან მუშაობისას ნაკლებად გვაქვს შეხება ტოქსიკურ, ორგანულ გამხსნელებთან. კაპილარულ ელექტროფორეზში ენანტიომერების დაყოფა მიიღწევა ქირალური სელექტორის გამოყენებით, რომელიც ცალკეულ ენანტიომერს იკავშირებს განსხვავებული სიმტკიცით. დღეისათვის ამა თუ იმ ქირალური დაყოფის ჩასატარებლად ქირალური სელექტორის შერჩევა ხდება ემპირიულად, რაც დროის დიდ დანახარჯს განაპირობებს. კაპილარული ელექტროფორეზის პოტენციური ენანტიოსელექტიური მოლეკულათშორისი ურთიერთქმედებების კვლევის მიზნით ნაკლებად არის შესწავლილი. კაპილარული ელექტროფორეზის გამოყენების თვალსაჩინო უპირატესობა ამ თვალსაზრისით ის არის ის, რომ ეს მეთოდი საშუალებას იძლევა აღმოვაჩინოთ ისეთი ნატიფი ენანტიოსელექტიური ეფექტები მოლეკულათშორის ურთიერთქმედებებში, რომელთა დამზერა სხვა მეთოდების გამოყენებით არ ხერხდება.

იზოთერმული ტიტრაციის კალორიმეტრიის ტექნიკა დამყარებულია კომპლექსწარმოქმნის რეაქციის შედეგად გამოყოფილი ან შთანთქმული სითბოს გაზომვაზე. ამ მეთოდით მიღებული შედეგები გამოიყენება მრავალ სფეროში და მნიშვნელოვან ინფორმაციას გვაძლევს ენანტიომერებსა და ციკლოდექსტრინებს შორის წამოქმნილი კომპლექსების თერმოდინამიკურ პარამეტრებზე.

იზოთერმული ტიტრაციული კალორიმეტრია არის ყველაზე მგრძობიარე მეთოდი, რომელიც საშუალებას გვაძლევს პირდაპირი გზით დავადგინოთ ისეთი მნიშვნელოვანი პარამეტრები როგორცაა : კომპლექსწარმოქმნის მუდმივა K , ენთალპია ΔH , ენტროპია ΔS , გიბსის თავისუფალი ენერგია ΔG და კომპლექსების სტექიომეტრია. ეს მეთოდი გახდა ალტერნატივა ვანტჰოფის ფორმულიდან ადრე გამოთვლილი პარამეტრების პირდაპირი განსაზღვრისთვის.

ჩვენს სამუშაოში შესწავლილია დიმეთინდენის ენანტიომერების დაყოფა კაპილარულ ელექტროფორეზში ციკლოდექსტრინების გამოყენებით ქირალურ სელექტორებად და კომპლექსწარმოქმნის თერმოდინამიკური პარამეტრების კვლევა იზოთერმული ტიტრაციული კალორიმეტრული მეთოდით.

დიმეთინდენ მალეატი (ნახ. 1) არის პირველი თაობის ანტიჰისტამინური მოქმედების პრეპარატი. ის არის H1 ანტაგონისტი, რადგან მინიმალურად გადის ჰემატოენცეფალურ ბარიერს. იგი არის აგრეთვე M2 რეცეპტორების ანტაგონისტი. მედიცინაში იგი გამოიყენება ადგილობრივი ალერგიული რეაქციით გამოწვეული ქავილის, გამონაყარისა და კანის გაღიზიანების სამკურნალოდ. დიმეთინდენის შემცველი პრეპარატი ცნობილია ფენისტილის სახელწოდებით.



ნახ. 1 დიმეთინდენ მალეატი

2. ლიტერატურული ნაწილი

2.1 ქირალური დაყოფის მეთოდები:

ქირალობა ძველი ბერძნული სიტყვაა და ხელს ნიშნავს. ქირალური მოლეკულები ერთმანეთის სარკისებურ გამოსახულებებს წამოადგენენ, ისინი ერთმანეთის მიმართ ისეთ შესაბამისობაში არიან, როგორც მარჯვენა და მარცხენა ხელი. ენანტიომერები ხასიათდებიან ერთნაირი ქიმიური და ფიზიკური თვისებებით, მათი განსხვავება

შესაძლებელია ბრტყლად პოლარიზებული სინათლის სიბრტყის შემობრუნების კუთხის ნიშნით.

ცოცხალი ორგანიზმები ჰომოქირალურია და მასში შემავალი ამინომჟავები, დნმ, პროტეინები და შაქრები უპირატესად მხოლოდ ერთი ენანტიომერის სახით გვხვდება.

მედიცინაში გამოყენებული სამკურნალწამლო საშუალებათა თითქმის 40% ქირალური ნივთიერებებია, ამიტომ ამ და მთელ რიგ სხვა სფეროებში ქირალური დაყოფის მეთოდები მეტად აქტუალურია.

ქირალური ნივთიერებების დაყოფის სხვადასხვა მეთოდები არსებობს, მათ შორის ერთ-ერთი პოპულარული სწორედ კაპილარული ელექტროფორეზია. ამ მეთოდის უპირატესობას წარმოადგენს ის, რომ შესაძლებელია როგორც რაცემატის ენანტიომერებად დაყოფა, ასევე ენანტიომერული სისუფთავის კონტროლი სინთეზის სხვადასხვა ეტაპზე.

ქირალური ნივთიერებების დასაყოფად გამოიყენება ქირალური სელექტორები, რომლებიც თავადაც ქირალური ნივთიერებები არიან და განსხვავებულად ურთიერთქმედებენ თითოეულ ენანტიომერთან. ეს განსხვავება შეიძლება გამოიხატოს როგორც განსხვავებული კომპლექსების წარმოქმნაში, ასევე განსხვავებულ ადსორბცია-დესორბციისუნარში.

ქირალური დაყოფის გამომწვევი არაკოვალენტური ძალებიდან მნიშვნელოვანია :

- ✓ წყალბადური ბმა
- ✓ π - π ურთიერთქმედება
- ✓ იონური ურთიერთქმედება;

2.2 კაპილარული ელექტროფორეზის სახესხვაობები

2.2.1 კაპილარული ზონური ელექტროფორეზი

კაპილარული ზონური ელექტროფორეზი ყველაზე პოპულარული და მარტივი მეთოდია ელექტროფორეზის ექსპერიმენტებში. ამ მეთოდში დაყოფა მიიღწევა ნაწილაკებს შორის განსხვავებული ელექტროფორეტული ძვრადობების არსებობით. ასეთი განსხვავებები შესაძლოა გამოწვეული იყოს დასაყოფი ნაწილაკების ეფექტური მუხტის განსხვავებული სიმკვრივით, რაც თავის მხრივ შეიძლება განპირობებული იყოს ნივთიერებების განსხვავებული მასით, მუხტით, ან სტრუქტურით.

2.2.2 კაპილარული ელექტროკინეტიკური ქრომატოგრაფია

კაპილარული ელექტროკინეტიკური ქრომატოგრაფია მეორე ყველაზე გავრცელებული მეთოდია ზონური ელექტროფორეზის შემდეგ. აღნიშნული მეთოდი პრაქტიკაში შემოიტანა ტერაბეს ჯგუფმა 1984 წელს. კაპილარული ელექტროკინეტიკური ქრომატოგრაფია დაფუძნებულია ნივთიერებების გადაადგილების ელექტროფორეტულ/ელექტროკინეტიკურ პრინციპზე და დაყოფის ქრომატოგრაფიულ მექანიზმზე. ეს უკანასკნელი კი ნიშნავს, რომ დაყოფა ხდება საანალიზო ნივთიერებების სხვადასხვა განაწილებით ბუფერსა და ფსევდოფაზას შორის, რომელთაც გააჩნიათ განსხვავებული ძვრადობები.

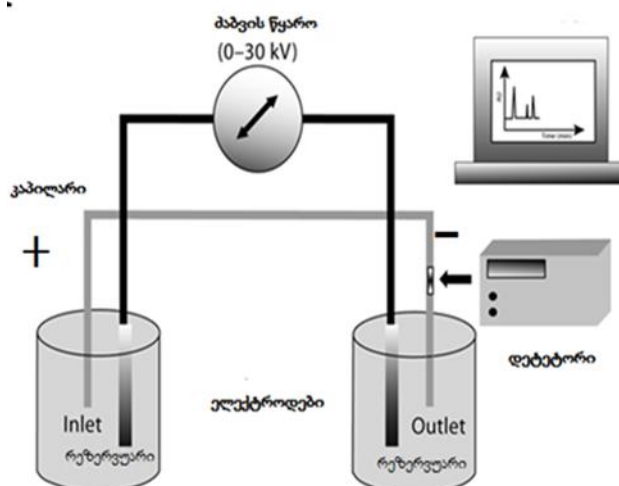
2.2.3 კაპილარული გელ ელექტროფორეზი

კაპილარული გელ ელექტროფორეზი დაფუძნებულია გელის ფორეზში ნივთიერებათა მოლეკულების განაწილებაზე მათი მუხტისა და მასის მიხედვით. ეს მეთოდი ძირითადად გამოიყენება დიდი ზომის მოლეკულების დაყოფისთვის, მაგ. პროტეინებისა და ნუკლეინის მჟავებისათვის.

2.2.4 კაპილარული ელექტროქრომატოგრაფია

კაპილარული ელექტროქრომატოგრაფია წარმოადგენს მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფიისა და კაპილარული ელექტროფორეზის ჰიბრიდს. აღნიშნული მეთოდი დაფუძნებულია ნივთიერებათა განაწილებაზე უძრავ და მოძრავ ფაზებს შორის. ამ მეთოდში გარდა სტაციონარული ფაზით შევსებული კაპილარებისა, გამოიყენება ასევე დაფენილი კაპილარები. დაყოფის ეფექტურობის თვალსაზრისით უპირატესია ელექტროკინეტიკური ანალიზები ისევ და ისევ ელექტროოსმოსური ნაკადის წაკვეთილი კონუსური ფორმის გამო, რის შედეგადაც მიიღება მაღალეფექტური დაყოფები.

2.3 კაპილარული ელექტროფორეზის ხელსაწყო



ნახ. 2 კაპილარული ელექტროფორეზის ხელსაწყოთა ზოგადი სქემა

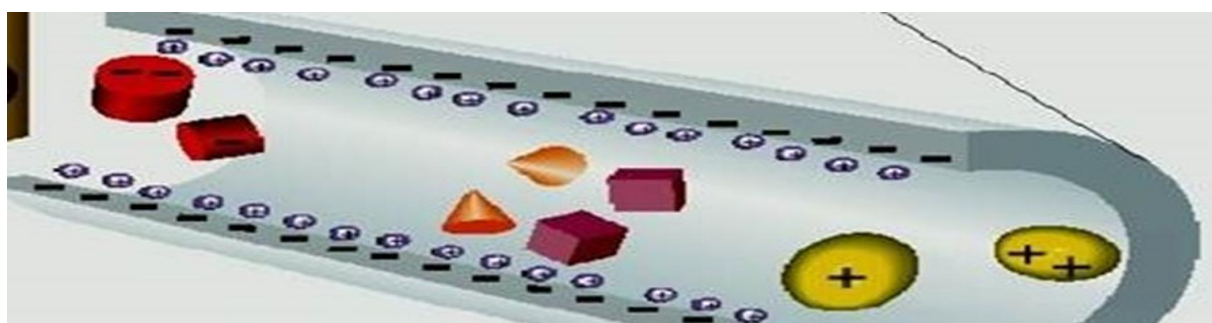
ნახაზზე მოცემულია კაპილარული ელექტროფორეზის ხელსაწყოთა ზოგადი სქემა (ნახ.2), რომელიც შედგება შემდეგი ძირითადი ბლოკებისგან:

1. ვიწრო დიამეტრის მქონე კაპილარი, სადაც ხდება ნივთიერებათა დაყოფა ერთ ფაზაში
2. მაღალი ძაბვის წყარო
3. პლატინის ელექტროდები
4. Inlet და Outlet რეზერვუარები, რომლებშიც მოთავსებულია ბუფერი, ან ქირალური სელექტორიანი ბუფერული ხსნარები. ნიმუშის ინიცირების დროს ერთ-ერთი ეს ბოთლი იცვლება საანალიზო ნიმუშის შემცველი ბოთლით.
5. დეტექტორი.

მაღალი ძაბვის წყარო, რომელიც იძლევა საშუალებას 30 kV-მდე ძაბვის ქვეშ ჩატარდეს ანალიზები, დაკავშირებულია ორ პლატინის ელექტროდთან, რომლებიც ჩაშვებულია ბუფერულ ხსნარში. კაპილარის ბოლოები (შიდა დიამეტრით 20-100 მკმ) ჩაშვებულია აგრეთვე ორ ბუფერულ ხსნარში (inlet და outlet ბოთლებში) პლატინის ელექტროდების გავლით. კაპილარულ ელექტროფორეზში გამოყენებული კაპილარები გარედან დაფარულია პოლიიმიდის ფენით მოქნილობის გასაზრდელად. დაახლოებით 9 სმ სიგრძეზე outlet ბოთლის მხრიდან დეტექტირების არხამდე კაპილარს უკეთდება ფანჯარა დაახლოებით 4-5 მმ სიგრძის პოლიიმიდის მოწვის ხარჯზე. სწორედ დეტექტირების ფანჯარაში ხდება ნივთიერებათა დეტექტირება ყველაზე ხშირად გამოყენებული ულტრაიისფერი გამოსხივებით, რომლის ნათურაც დაყენებულია დეტექტირების ფანჯრის პირდაპირ და მისი გამოსხივება უმზერს დეტექტირების ფანჯარაში გამავალ ნივთიერებებს. მიღებული სიგნალები ელექტრონულად ჩაიწერება და გამოისახება პიკების სახით.

2.4 კაპილარული ელექტროფორეზის მეთოდები და მათი შედარება დაყოფის სხვა მეთოდებთან

კაპილარული ელექტროფორეზი წარმოადგენს ნივთიერებათა დაყოფის მეთოდს, რომელიც დაფუძნებულია ნარევის შემადგენელი კომპონენტების განსხვავებულ ძვრადობაზე ელექტრულ ველში, რაც განპირობებულია ელექტროოსმოსური და ელექტროფორეტული ძვრადობით. ელექტროფორეტული ძვრადობა აღიძვრება საკვლევი ნიმუშის ყველა დამუხტულ კომპონენტში და იწვევს მათ გადაადგილებას ელექტრულ ველში. ელექტროფორეტული ძვრადობა თითოეული კომპონენტის მუხტის სიმკვრივეზეა დამოკიდებული, რის შედეგადაც კომპონენტები რომელთა მუხტი უფრო დიდია, ხოლო რადიუსი ნაკლები უფრო სწრაფად გადაადგილდებიან კაპილარში. მუხტის სიმკვრივე ხშირად კომპონენტების pK სიდიდეზეა დამოკიდებული, შესაბამისად საჭიროა ისეთი pH -ის შერჩევა, რომელზეც საკვლევი ნიმუშის ყველა კომპონენტს განსხვავებული მუხტის სიმკვრივე ექნებათ. თუ ნივთიერება არ არის დამუხტული, ამ დროს მოცემული კომპონენტის სიჩქარე ელექტროოსმოსური ნაკადის სიჩქარის ტოლი იქნება, განსხვავებით სხვა კომპონენტების სიჩქარეებისაგან, რომელთა მუხტიც ნულისაგან განსხვავებულია. (ნახ. 3).



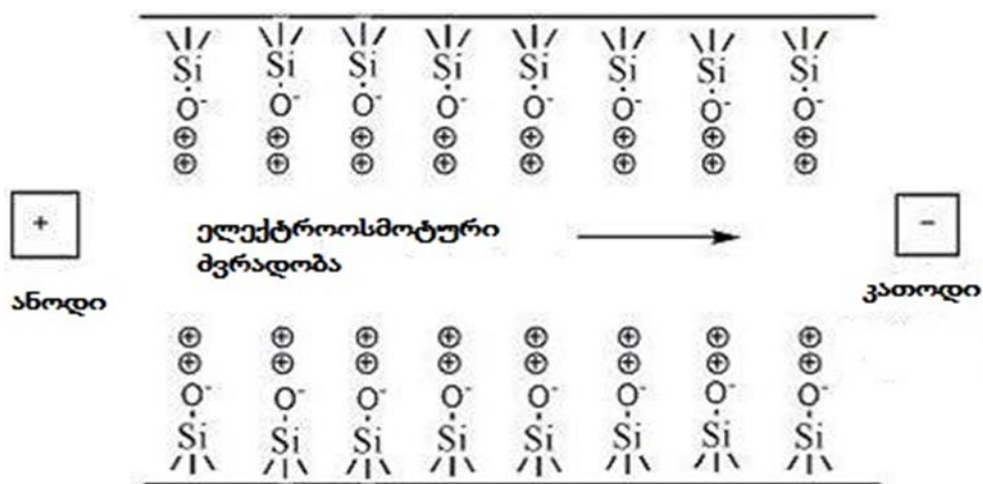
ნახ. 3 ელექტროფორეტული ძვრადობის სქემატური გამოსახულება

ელექტროოსმოსური ნაკადი კაპილარული ელექტროფორეზის ექსპერიმენტის ერთ-ერთი მნიშვნელოვანი შემადგენელი კომპონენტია, რადგან სწორედ ელექტროოსმოსური ნაკადის გავლენით გადაადგილდება კაპილარში ნეიტრალური კომპონენტები. ელექტროოსმოსური ნაკადი აღიძვრება კაპილარის ზედაპირზე არსებული სხვადასხვა

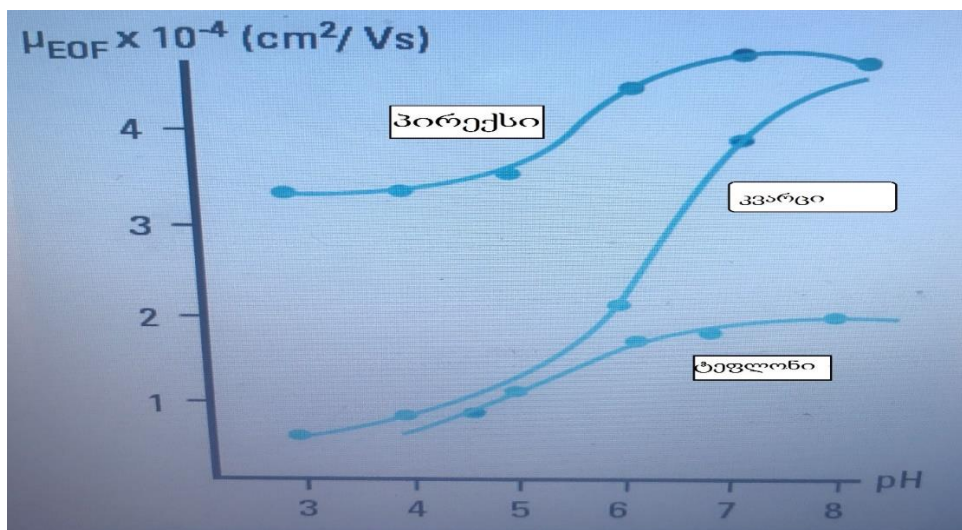
(უმთავრესად სილანოლის) ჯგუფების იონიზაციის შედეგად (სურ. 4), ან ხსნარში არსებული იონების ადსორბციით კაპილარის ზედაპირზე. ჩვენს შემთხვევაში ვიყენებით კვარცის კაპილარს (ასევე გამოიყენება ტეფლონის და პირექსის კაპილარები). შესაბამისად, ამ შემთხვევაში ხდება კაპილარის ზედაპირზე არსებული სილანური ჯგუფების იონიზაცია, რის შედეგადაც კაპილარის ზედაპირზე ხდება უარყოფითი მუხტის კონცენტრირება, ხოლო ბუფერულ ხსნარში არსებული დადებითად დამუხტული ნაწილაკების აკუმულირება სწორედ კაპილარის ზედაპირზე არსებული უარყოფითი მუხტის გასწვრივ ხდება. აღნიშნული მუხტის გადანაწილება თავის მხრივ იწვევს ორმაგი ელექტრული შრის წარმოქმნას. ელექტროსმოსური ძვრადობის როლი კაპილარულ ელექტროფორეზში ძალიან დიდია. ელექტროსმოსური ძვრადობა რამდენიმე პარამეტრის ცვლილებით შეგვიძლია ვარეგულიროთ. პირველი და ყველაზე მნიშვნელოვანი პარამეტრი, რომლის ცვლილებაც ანალიზის შედეგზე ფუნდამენტურ გავლენს არ ახდენს (იშვიათი გამონაკლისების გარდა) ბუფერული ხსნარის pH-ია, რაც უფრო მაღალია იგი მით უფრო მეტი სილანური ჯგუფების იონიზაცია ხდება კაპილარში და შესაბამისად უფრო მაღალია ელექტროსმოსური ნაკადის მნიშვნელობაც. აუცილებელია აღინიშნოს, რომ იმის მიხედვით, თუ რომელი მასალისგან დამზადებულ კაპილარს ვიყენებთ, ელექტროსმოსური ნაკადის მნიშვნელობა მნიშვნელოვნად იცვლება (სურ. 5). ელექტროსმოსური ნაკადის ვარიაციის/ცვლილების გამო მნიშვნელოვანია ბუფერული ხსნარის pH-ის ანალიზის მიზნებიდან გამომდინარე ცვლილება, რადგან ისეთი pH-ის შერჩევას, როდესაც ელექტროსმოსური ნაკადი ძალიან მცირე სიდიდეა, შესაძლებელია მოხდეს უარყოფითად დამუხტული ნაწილაკების ადსორბირება კაპილარის ზედაპირზე, რაც დიდ პრობლემას წარმოადგენს ცილების ანალიზში. ანალიზის ისეთი მეთოდებისთვის, როგორსაც წარმოადგენს იზოელექტრული ფოკუსირება, იზოტახოფორეზი და კაპილარული გელ-ელექტროფორეზი, საჭიროა ელექტროსმოსური ნაკადის მინიმუმამდე დაყვანა ამ მთლიანად მოსპობა [4].

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

ასევე შესაძლებელია ბუფერული ხსნარის კონცენტრაციისა და ტემპერატურის ცვლილების მიხედვით ელექტროოსმოსურ ნაკადზე გავლენის მოხდენა. გარდა ზემოთ აღნიშნულისა, არსებობს მეთოდები რომლის საშუალებითაც შესაძლებელია კაპილარის ზედაპირზე ნეიტრალური ან დადებითად ან უარყოფითად დამუხტული პოლიმერის დაფენა, რომელიც უზრუნველყოფს ელექტროოსმოსური ნაკადის არამართო მთლიანად გაქრობას ან შემცირებას, არამედ მისი მიმართულების შეცვლასაც კი იმ შემთხვევაში, თუ მოვახდენთ ზედაპირის დადებითად დამუხტული პოლიმერით დაფარვას.



ნახ. 4 ელექტროოსმოსური ძვრალობის სქემატური გამოსახულება



ნახ. 5 ელექტროოსმოსური ძვრადობის pH-ზე დამოკიდებულების გრაფიკი სხვადასხვა მასალისგან მომზადებული კაპილარისთვის.

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

კაპილარული ელექტროფორეზის მეთოდის პრაქტიკული უპირატესობები განპირობებულია ხელსაწყოს აგებულებით და იწვევს იმას, რომ კაპილარულ ელექტროფორეზში არ გვაქვს მკვდარი მოცულობა, რადგან არ გვაქვს ინიცირებისა და დეტექტირების ბლოკები, ამ შემთხვევაში ინიცირებაც და დეტექტირებაც ხდება კაპილარში (სურ. 2). კაპილარული ელექტროფორეზის ზემოთ ნახსენები უპირატესობები გამოწვეულია ხელსაწყოს სიმარტივით, რომელიც მოიცავს ბუფერით შევსებულ რეზერვუარებს, რომელშიც კაპილარის ბოლოებია ჩაძირული, რათა მოხდეს ელექტრული წრედის შეკვრა, რაც გამოიწვევს კაპილარში ელექტროოსმოსური ნაკადის, ხოლო საანალიზო ნიმუშში ელექტროფორეტული ძვრადობის გაჩენას. დეტექტირება, როგორც ზემოთ იყო აღნიშნული ინიცირების მსგავსად თავად კაპილარში ხდება, რომლის გარე ზედაპირის კაპილარისთვის დრეკადობის მინიჭების მიზნით პოლიმერით არის დაფარული, სწორედ ამიტომ კაპილარის გარკვეულ ნაწილზე საჭიროა პოლიმერის მოშორება, რათა გარკვეულ მონაკვეთზე კაპილარი გახდეს ხილულ და ულტრაიისფერ უბანში გამჭირვალე. პოლიმერის მოშორება კაპილარის გახურებით ხდება რის შედეგადაც კაპილარს დეტექტირების ფანჯარა უკეთდება.

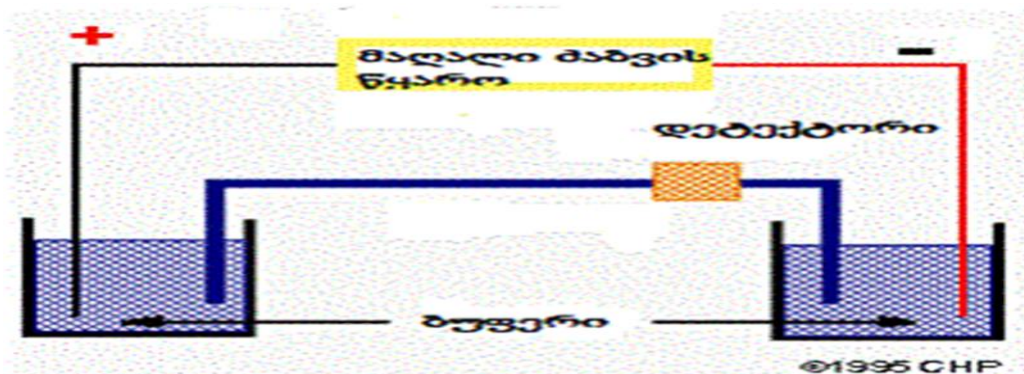
ასევე მნიშვნელოვანია წაკვეთილი კონუსის ფორმის ნაკადი კაპილარულ ელექტროფორეზში, რაც გამოწვეულია ელექტროოსმოსური ნაკადის გავლენით წარმოქმნილი ორმაგი ელექტრული შრის შედეგად. იმის გამო რომ ხსნარში არსებული დადებითი მუხტის ლოკალიზება კაპილარის კედლებთან ხდება, ერთი შეხედვით ხსნარის ამ ნაწილის ელექტროფორეტული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

რაც საშუალებას გვაძლევს კაპილარულ ელექტროფორეზში მივიღოთ ბევრად უფრო ვიწრო პიკები, ვიდრე სითხურ ქრომატოგრაფიაში (ნახ. 6).



ნახ. 6 ელექტროოსმოსური ნაკადისა და ლამინარული ნაკადის შედარება

კაპილარულ ელექტროფორეზის მეთოდის ერთ-ერთ ძირითად უპირატესობას ასევე წარმოადგენს ის, რომ მიიღწევა თეორიული თევშების ძალიან მაღალი რიცხვი (უმეტესად მეტია 100000-ზე), რაც გამოწვეულია იმით, რომ ვან დეემტერის განტოლებაში არ გვაქვს A (გრიგალისებური დიფუზია) და C (მასის გადატანის წინააღმდეგობა) კოეფიციენტი, რადგან დაყოფა ხდება ბუფერით შევსებულ კაპილარსა და ერთ ფაზაში [5].



ნახ. 7 კაპილარული ელექტროფორეზის ხელსაწყოა სქემა

ქირალური დაყოფებისთვის კაპილარულ ზონურ ელექტროფორეზს ვერ გამოვიყენებთ, რადგან ენანტიომერებს გააჩნიათ ერთნაირი ფიზიკური და ქიმიური თვისებები, აქედან გამომდინარე მათი მუხტის სიმკვრივე ელექტრულ ველში იქნება ერთმანეთის ტოლი. ქირალური დაყოფისათვის კაპილარულ ელექტროფორეზში აუცილებელია გამოვიყენოთ ქირალური სელექტორი, რომელიც განასხვავებს ენანტიომერებს ერთმანეთისაგან და რაც ყველაზე მნიშვნელოვანია, შესძენს მათ განსხვავებულ სიჩქარეებს. ამისათვის კი

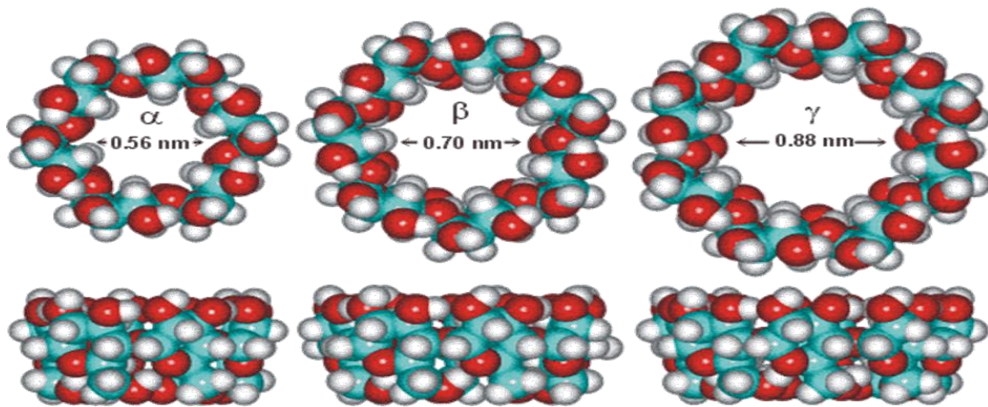
აუცილებელია გამოვიყენოთ კაპილარული ელექტროკინეტიკური ქრომატოგრაფია, რომელიც გულისხმობს ბუფერში ფსევდოფაზის დამატებას და შემდეგ ქირალური დაყოფის მიღწევას სწორედ ფსევდოფაზასა და საკვლევ ნიმუშის ურთიერთქმედების ხარჯზე, ფსევდოფაზებად საკმაოდ აქტუალურია ციკლოდექსტრინების გამოყენება.

2.5 ციკლოდექსტრინების გამოყენება ქირალურ სელექტორებად

ციკლოდექსტრინები წარმოადგენენ (უსულო საგნებთან ზმნა უნდა გამოიყენო მხოლოდობით რიცხვში. ეს ეხება მთელ ტექსტს) ციკლურ ოლიგოსაქარიდებს, რომლებიც გამოიყენებიან როგორც ფარმაცევტულ წარმოებაში, ასევე საკვები დანამატების სახითაც. ციკლოდექსტრინები მიიღება ბუნებრივად სახამებლის ბაქტერიული გარდაქმნით ან შესაბამისი ფერმენტის მოქმედებით. იმის გამო, რომ ციკლოდექსტრინები მიღებულია სახამებლის ბაქტერიული გარდაქმნით, ისინი არსებობს ერთი ენანტიომერული ფორმის სახით და არ არსებობს მათი ოპტიკური ანტიპოდი. ისინი შედგება 1,4-ბმით დაკავშირებული α -D-გლუკოპირანოზის ჯგუფების სხვადასხვა რაოდენობისგან. ციკლოდექსტრინების შიგა ღრუ ჰიდროფობურია, ხოლო გარე შრე ჰიდროფილური. იმის გამო, რომ გლუკოპირანოზის ციკლებს აქვთ სავარძლისებური კონფორმაცია, ციკლოდექსტრინებს აქვთ წაკვეთილი კონუსური ფორმა სრულყოფილი ცილინდრული ფორმის ნაცვლად. ციკლოდექსტრინები შეიცავს როგორც პირველად, ასევე მეორეულ ჰიდროქსილის ჯგუფებს და ისინი განლაგებული არიან გარე შრეზე. პირველადი

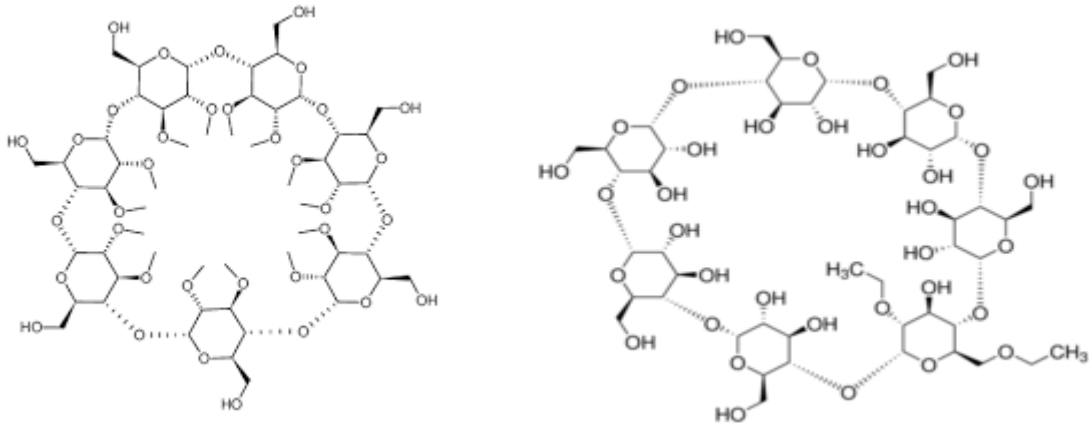
ჰოდროქსილის ჯგუფები მდებარეობენ 6C-მდგომარეობაში ციკლოდექსტრინის ღრუს ვიწრო მხარეს, ხოლო მეორეული ჰოდროქსილის ჯგუფები 2C და 3C მდგომარეობაში ღრუს განიერ მხარეს. ცენტრალური ღრუ წარმოგვიდგება ნახშირბადული ჯაჭვის სახითა და ეთერული ჟანგბადის სახით გლუკოზის ნაშთებში, რაც წარმოადგენს ციკლოდექსტრინის ღრუს ჰიდროფობურობის მიზეზს. გლიკოზიდური ჟანგბადის გაუწყვილებელი ელექტრონები, რომლებიც ორიენტირებული არიან ციკლოდექსტრინის ღრუს ცენტრისკენ, ღრუს ანიჭებენ ლუისის ფუძის თვისებას.

ბუნებრივ ციკლოდექსტრინებს წარმოადგენს α , β და γ ციკლოდექსტრინები, რომელთაგანაც ალფა ექვსი, ბეტა შვიდი, ხოლო გამა რვა გლუკოპირანოზას ნაშთისგან შედგენილი ციკლური ოლიგოსაქარიდია. ბუნებრივი ციკლოდექსტრინების დერივატიზაციას 2, 3 და 6 მდგომარეობაში არსებული ჰიდროქსილის ჯგუფებში ახდენენ.



ნახ. 8 ნატიური ციკლოდექსტრინები

ქირალური დაყოფებისთვის კაპილარულ ელექტროფორეზში გამოიყენება როგორც ბუნებრივი, ასევე მათი მოდიფიცირებით მიღებული ციკლოდექსტრინები. კაპილარულ ელექტროფორეზში ციკლოდექსტრინების გამოყენების ერთ-ერთი მნიშვნელოვანი უპირატესობა არის წყლიან ბუფერში მათი კარგი ხსნადობა და ხილულ და ულტრაიისფერ უბნებში მათი გამჭირვალობა.



ნახ. 9 ალკილის ჯგუფით მოდიფიცირებული ციკლოდექსტინების მაგალითები. აქ მარცხნივ არის ჰეპტაკის (2,3-დი-*O*-მეთილ) ბეტა ციკლოდექსტრინი, ხოლო მარჯვნივ მონო (3,6-დი-*O*-ეთილ) ბეტა ციკლოდექსტრინი.

2.5 თერმოდინამიკური პარამეტრების შესწავლა ციკლოდექსტრინი-ლიგანდი ურთიერთქმედებისას

ციკლოდექსტრინი-ლიგანდი კომპლექსწარმოქმნა მომდინარეობს ვან დერ ვაალსის ან ჰიდროფობური ურთიერთქმედების მექანიზმებით. თერმოდინამიკური პარამეტრები გვიჩვენებს თუ რა ტიპის მექანიზმით მიმდინარეობს პროცესი .

ვარაუდობენ რომ ნაკლებად პოლარული ციკლოდექსტრინის ღრუ შევსებულია წყლის მოლეკულებით, ხოლო ჰიდროფობურ მოლეკულებს, რომლებსაც შეუძლიათ ურთიერთქმედება ციკლოდექსტინებთან, ღრუში არსებულ წყლის მოლეკულებს თანდათანობით აძევებენ, რის შედეგადაც წამოიქმნება უფრო სტაბილური, დაბალი ენერჯის მქონე ჩართული კომპლექსები.

ციკლოდექსტრინი-ლიგანდი კომპლექსწარმოქმნის რეაქცია წყლიან ფაზაში გამოსახება შემდეგი სქემით:



სადაც:

g- წყლის მოლეკულები რომლებიც ურთიერთქმედებენ ლიგანდთან

h- ციკლოდექსტრინის ღრუში არსებული წყლის მოლეკულები

i -თავისუფალი სახით გამოყოფილი წყალი კომპლექსწარმოქმნის პროცესში

მდგრადი კომპლექსების თერმოდინამიკური სიდიდეები ამ ტიპის ურთიერთქმედების შედეგად შეგვიძლია ადვილად განვსაზღვროთ.

იზოთერმული ტიტრირების კალორიმეტრული ანალიზის შედეგად მიღებული ΔH დამოკიდებულია რეაქციის შედეგად გამოყოფილი ან შთანთქმული სითბოს რაოდენობაზე. ΔS მაღალი დადებითი მნიშვნელობა, როგორც წესი, გვიჩვენებს ციკლოდექსტრინის მნიშვნელოვან კონფორმაციულ ცვლილებას ციკლოდექსტრინი-ლიგანდი კომპლექსწარმოქმნის პროცესში.

ენტროპია შეიძლება გამოვთვალოთ K და ΔH მნიშვნელობებით, იზოთერმული ტიტრირების კალორიმეტრული ექსპერიმენტის შედეგად მიღებული ინტეგრაციის მრუდიდან გამომდინარე

$$\Delta S = \frac{\Delta H - \Delta G}{T}$$

კომპლექსწარმოქმნის პროცესის წარმართვის ძირითადი ფაქტორებია: ვან დერ ვაალსისა და ჰიდროფობური ურთიერთქმედება.

ΔH და ΔS განსაზღვრით შეგვიძლია დავადგინოთ რა ტიპის არაკოვალენტური ძალები მონაწილეობენ ციკლოდექსტრინი-ლიგანდი კომპლექსწარმოქმნაში.

ვან დერ ვაალსის ურთიერთქმედება არის ენთალპიით გამოწვეული პროცესები, სადაც ენტროპიის მნიშვნელობა მცირედ დადებითი ან უარყოფითი უნდა იყოს.

$\Delta H > T\Delta S$

ჰიდროფობურ ურთიერთქმედებას კი განსაზღვრავს ენტროპია, ამ შემთხვევაში ხელსაყრელია $T\Delta S$ მაღალი დადებითი მნიშვნელობა, ხოლო ΔH მცირე მნიშვნელობა.

$\Delta H < T\Delta S$

კომპლექსწარმოქმნის პროცესზე მნიშვნელოვან გავლენას ახდენს ტემპერატურა.

ტემპერატურის ცვლილებით შეიძლება მოვახდინოთ ენთალპიისა და ენტროპიის ცვლილება. გარკვეულ ტემპერატურაზე ხდება გიბსის თავისუფალი ენერჯის ცვლილებაც, რაც დაკავშირებულია ენთალპიურ-ენტროპიულ კომპენსაციასთან. ამ ეფექტის მიხედვით, შეგვიძლია განვსაზღვროთ სითბოტევადობა, რომელიც განპირობებულია ლიგანდის მიერ ციკლოდექსტრინის ღრუდან წყლის გამოძევებით.

ΔC_p გამოითვლება ფორმულით:

$$\Delta C_p = \frac{\Delta H_{T_2} - \Delta H_{T_1}}{T_2 - T_1}$$

ენტალპია-ენტროპია კომპენსაციის ეფექტი შეიძლება გამოიწვიოს როგორც ციკლოდექსტრინზე ლიგანდის ურთიერთქმედებამ, ასევე ციკლოდექსტრინის ღრუში წყლის ჩანაცვლებამ სხვა გამხსნელით.

2.7 იზოთერმული ტიტრირების კალორიმეტრია

იზოთერმული ტიტრირების კალორიმეტრია ემყარება ქიმიური ან ფიზიკური პროცესების შედეგად გამოყოფილი ან შთანთქმული სითბოს გაზომვას.

ტიტრაციული კალორიმეტრული მეთოდი გამოიყენება პოლიელექტროლიტების კომპლექსების დასახასიათებლად, ადსორბციის, ნუკლეინის მჟავებთან ურთიერთქმედების და ზოგადად, კომპლექსწარმოქმნის მექანიზმების დასახასიათებლად.

ჩვენი ექსპერიმენტი კვლევის საგანს წარმოადგენს ციკლოდექსტრინი-ლიგანდი ურთიერთქმედების განსაზღვრა იზოთერმული ტიტრაციული კალორიმეტრიული მეთოდით.

იზოთერმული ტიტრაციის კალორიმეტრული მეთოდი არის ერთ-ერთი ყველაზე მგრძობიარე ტექნიკა, რომლის საშუალებითაც შეგვიძლია პირდაპირი გზით

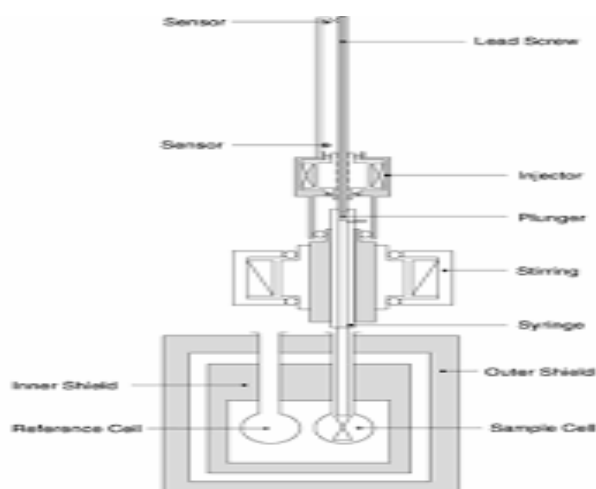
დავადგინოდ კომპლექსების სტექიომეტრია, კომპლექსწარმოქმნის მუდმივა, ენთალპია, ენტროპია და გიბსის თავისუფალი ენერია.

ტექნიკური თვალსაზრისით მეთოდი საკმაოდ მარტივი და დაბალ ბიუჯეტურია, რადგან ექსპერიმენტში გამოიყენება მცირე რაოდენობის ნივთიერებები. ექსპერიმენტი ძირითადად ტარდება ფოსფატურ ბუფერში, რომელიც გვამლევს შესაძლებლობას ვცვალოთ ხსნარის pH. გარდა ამისა, ლიგანდების დიდი ნაწილი წყალში კარგად არ იხსნება, რაც შემდგომში გვამლევს არასწორ შედეგებს. მნიშვნელოვანია ასევე ბუფერისა და ლიგანდის კონცენტრაციების ზუსტი შერჩევა და ტემპერატურის კონტროლი.

იზოთერმული ტიტრაციული კალორიმეტრის მეთოდის არსი მდგომარეობს შემდეგში:

ხელსაწყოს აქვს ორი კიუვეტა, რომელთაგან ერთ-ერთში მოთავსებულია ძირითადად გამოხდილი წყალი შესადარებლად, ხოლო მეორეში საკვლევი ნივთიერება - ლიგანდი (შებრუნებული გატიტვრის მეთოდის დროს), ან მაკრომოლეკულა (პირდაპირი გატიტვრის მეთოდის დროს). შპრიცი, რომელშიც მოთავსებულია შესაბამისად მაკრომოლეკულა ან ლიგანდი. გატიტვრის პროცესში, ტიტრანტის ყოველი ულუფის დამატებისას ხდება სითბოს შთანთქმა ან გამოყოფა რაც გვამლევს შესაბამის სიგნალს.

2.8 იზოთერმული ტიტრაციული კალორიმეტრის ხელსაწყო



ნახ. 10 ტიტრაციული კალორიმეტრის ხელსაწყოს ზოგადი სქემა

ხელსაწყოს შედგება:

1. ორი კიუვეტისაგან
2. შპრიცისგან
3. სენსორისგან
4. თერმოსტატისგან, რომელიც უზრუნველყოფს კიუვეტებში ტემპერატურის შენარჩუნებას
5. ჩამწერი მოწყობილობისგან.

3.1 ექსპერიმენტში გამოყენებული ხელსაწყოები

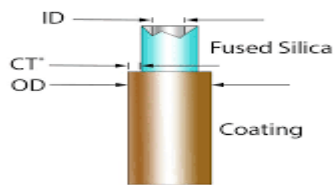
კაპილარული ელექტროფორეზის ექსპერიმენტი ჩავატარეთ Agilent G1600 მოდელის კაპილარული ელექტროფორეზის ხელსაწყოზე (ნახ. 11), რომელიც აღჭურვილია ავტომატური ინიცირების სისტემით, ულტრაიისფერი დეტექტორითა და ტემპერატურის კონტროლირებადი სისტემით. კვარცის კაპილარი მოწოდებული იქნა Polymicro Technologies მიერ (ნახ. 12), ნიმუშების აწონვა ხდებოდა მიკროსასწორზე Kern ABJ-NM-ის გამოყენებით.

მიკროკალორიმეტრული ექსპერიმენტი ჩავატარეთ VP-ITC Microcalorimeter ხელსაწყოზე (ნახ. 13).

ასევე ექსპერიმენტის მსვლელობისას გამოვიყენეთ pH მეტრი და ულტრაბგერითი აბაზანა.



ნახ.1 Agilent G1600



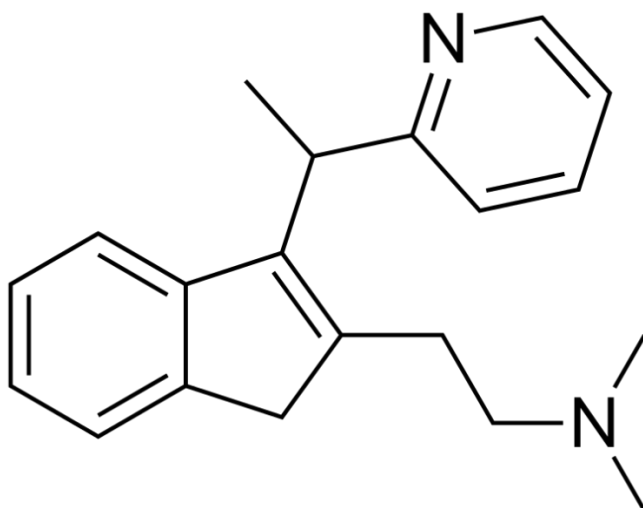
ნახ.12 კვარცის კაპილარი



ნახ.13 VP-ITC კალორიმეტრი

3.2 ექსპერიმენტში გამოყენებული ნივთიერებები

ანალიზები ჩავატარეთ რაცემულ დიმეთინდენზე, ისევე როგორც დიმეთინდენის ენანტიომერების არარაცემულ ნარევეზე.



ნახ. 14 დიმეთინდენის სტრუქტურა

აქირალურ ბუფერად გამოვიყენეთ კალიუმის დიჰიდროფოსფატის 50 მილიმოლური ხსნარი, ხოლო ქირალურ სელექტორებად ციკლოდექსტრინები:

- ალფა ციკლოდექსტრინი
- ბეტა ციკლოდექსტრინი
- გამა ციკლოდექსტრინი
- დი-მეთილ ბეტა ციკლოდექსტრინი-- ჰეპტაკის(2,6-დი-*O*-მეთილ)-β-CD (DM-β-CD)
- ტრი-მეთილ ბეტა ციკლოდექსტრინი --ჰეპტაკის(2,3,6-ტრი-*O*-მეთილ)-β-CD (TM-β-CD)

3.3 კაპილარული ელექტროფორეზის ექსპერიმენტი

კაპილარული ელექტროფორეზის ექსპერიმენტში ჩვენს მიერ იქნა დაყოფილი დიმეთინდენის ენანტიომერები ქირალურ სელექტორებად ციკლოდექსტრინების გამოყენებით.

ანალიზები ჩავატარეთ როგორც ნატივურ ალფა, ბეტა და გამა, ასევე მოდიფიცირებული დიმეთილ და ტრიმეთილ ბეტა ციკლოდექსტრინებით

ანალიზის პირობები:

- ძაბვა 20-30კვ
- დენის ძალა 150მილიამპ
- კაპილარის შიდა დიამეტრი 50მკმ
- კაპილარის ეფექტური სიგრძე 50სმ
- კაპილარის სიგრძე ფანჯრიდან 9სმ

1 მგ დიმეთინდენის რაცემატს დავუმატეთ 1მგ დიმეთინდენის სუფთა ენანტიომერი და გავხსენით 2 მლ მეთანოლში. სრულად გახსნის შემდეგ დავუმატეთ 400 მკლ 50 მილიმოლური კალიუმის დიჰიდროფოსფატის ბუფერი, რომლის pH მივიყვანეთ pH=3,0 კონცენტრირებული ორთოფოსფორმჟავით. აქირალური ბუფერის დამატება ნიმუშში აუცილებელია, რადგან მეთანოლი არ ატარებს დენს და თუ ნიმუში მხოლოდ მეთანოლში იქნებოდა გახსნილი, იგი არ გაატარებდა დენს და ინიცირებისას მოხდებოდა ძაბვის დავარდნა, ხოლო აქირალური ბუფერის მცირე რაოდენობაც კი იძლევა ნიმუშში დენის გავლის საშუალებას.

კაპილარული ელექტროფორეზის ხელსაწყოს ავტოსემპლერის გამოყენებით ვახდენთ ნივთიერების ინიცირებას. დიმეთინდენის ინიცირებას ვახდენდით 50 მილიბარი წნევით, 1 წამის განმავლობაში. ინიცირების ეს მნიშვნელობა პიკის ფართობებიდან გამომდინარე ყველაზე ოპტიმალური აღმოჩნდა.

თავდაპირველად ანალიზი ჩავატარეთ აქირალურ ბუფერში, ხოლო მას შემდეგ რაც დავინახეთ ერთი პიკი აქირალურ ბუფერში, კაპილარი შევავსეთ ქირალური ბუფერით და ვატარებდით ანალიზებს შემდეგი თანმიმდევრობით :

1. წნევა 100 მილიბარი;

2. წნევა 50 მილიბარი და ძაბვა +25კვ;
3. წნევა 25 მილიბარი და ძაბვა +25კვ
4. წნევა 10 მილიბარი და ძაბვა +25კვ;
5. მხოლოდ ძაბვა +25კვ.

მხოლოდ წნევით მიმდინარე ანალიზებში არ ხდება ენანტიომერების დაყოფა, თუმცა, ექსპერიმენტის ეს საფეხური ძალიან მნიშვნელოვანია, რადგან ამ დროს ვაკვირდებით პიკის ფორმას, ფართობს და გამოსვლის დროს, რაც გვეხმარება შემდგომში პიკის იდენტიფიცირებაში.

ზემოთ მოცემული თანმიმდევრობით ექსპერიმენტის ჩატარება საჭირო იყო, რათა დაგვეზოგადოთ ელექტროფეროგრამების ზოგად ფონს და გამოსვლის დროების ცვლილებას, ხოლო ჩვენთვის განსჯადი შედეგების მიღება ხდება მხოლოდ ძაბვით ჩატარებული ექსპერიმენტის პირობებში, რადგან სწორედ ამდროს ხდება კაპილარულ ელექტროფორეზში ენანტიომერების დაყოფა.

3.4 მიკროკალორიმეტრული ექსპერიმენტი

მიკროკალორიმეტრული ექსპერიმენტი ჩავატარეთ დიმეთინდენის რაცემატზე, ბუფერად გამოვიყენეთ 50 მილიმოლური ფოსფატური ბუფერი pH 2.5, ციკლოდექსტინები :

1. ბეტა ციკლოდექსტრინი
2. ტრიმეთილ ბეტა ციკლოდექსტრინი

ანალიზის დაწყებამდე ყველაზე მნიშვნელოვან საფეხურს წარმოადგენს საკვლევი ნივთიერებისა და ბუფერის სწორი მოლური კონცენტრაციების შერჩევა. ჩვენი ექსპერიმენტისთვის დიმეთინდენის ოპტიმალური მოლური კონცენტრაცია აღმოჩნდა 1 მილიმოლური, ხოლო ციკლოდექსტრინებისთვის 15 მილიმოლი.

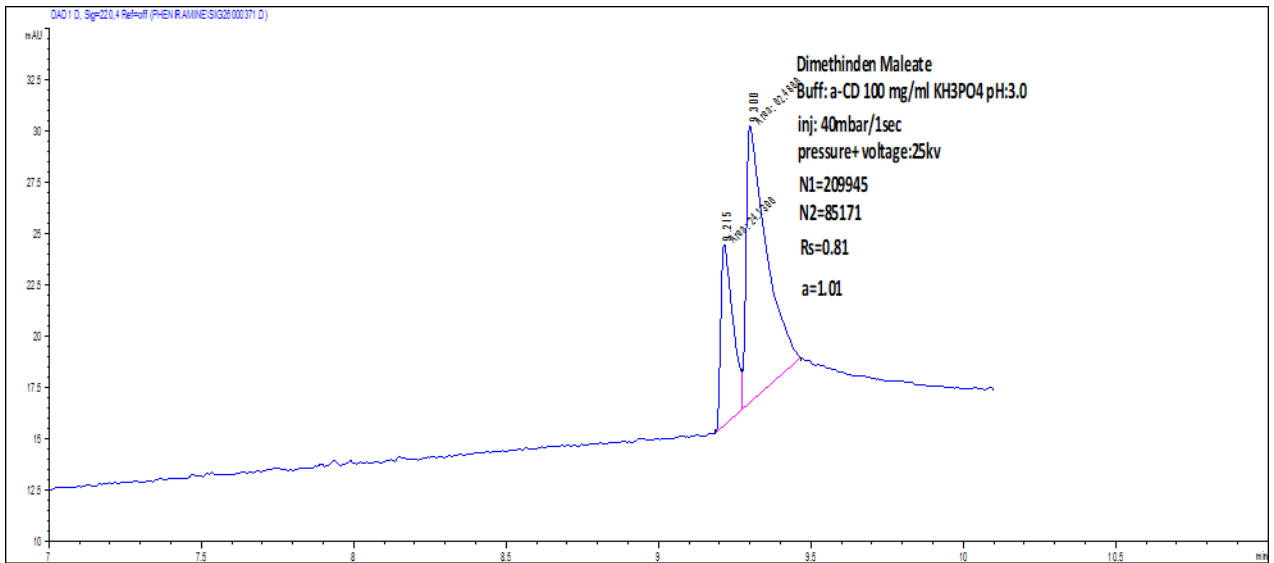
ექსპერიმენტი ჩავატარეთ შებრუნებული გატიტვრის მეთოდით, რაც გულისხმობს იმას, რომ დიმეთინდენის ხსნარს ვტიტრავდით ციკლოდექსტრინით. გატიტვრას ვახდენდით 15 მიკროლიტრი ულუფებით და გატიტვრებს შორის დაყოვნება იყო 240 წამი.

აქირალურ ბუფერად ამ ექსპერიმენტშიც ვიყენებდით კალიუმის დიჰიდროფოსფატის 50 მილიმოლურ ხსნარს .

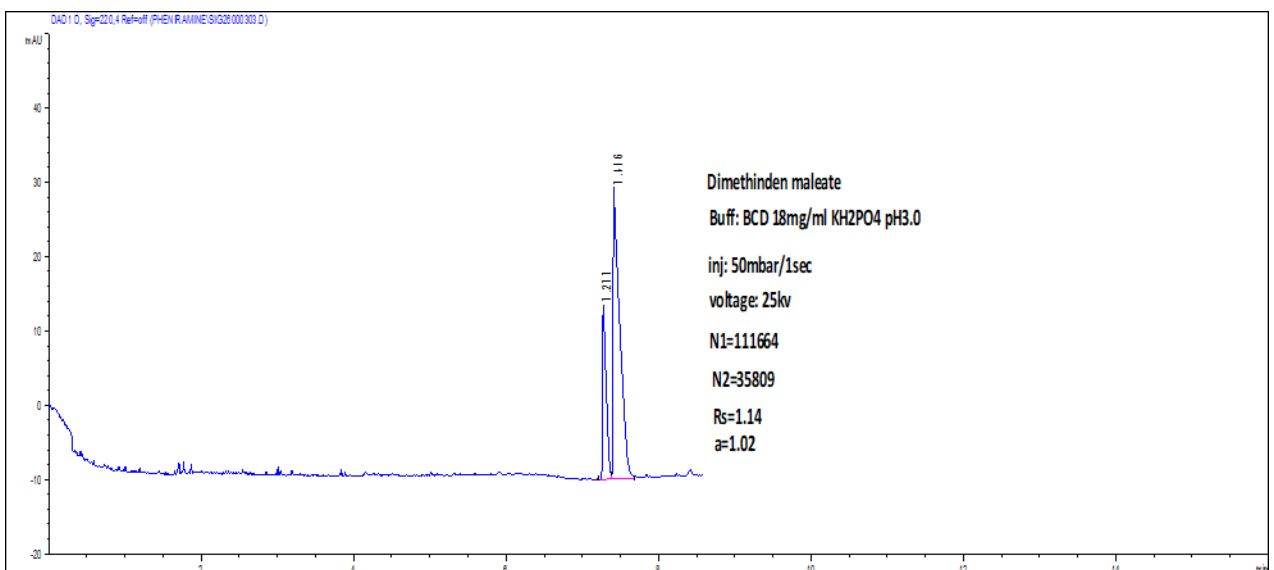
თავდაპირველად ვტიტრავდით დიმეთინდენს ციკლოდექსტრინით, ხოლო ამის შემდგომ ვატარებდით საკონტროლო ექსპერიმენტს, რა დროსაც ბუფერს ვტიტრავდით ციკლოდექსტრინით და მიღებული შედეგების გამოკლებით ვიღებდით ჩვენთვის საჭირო შედეგებს.

4. ექსპერიმენტში მიღებული შედეგები

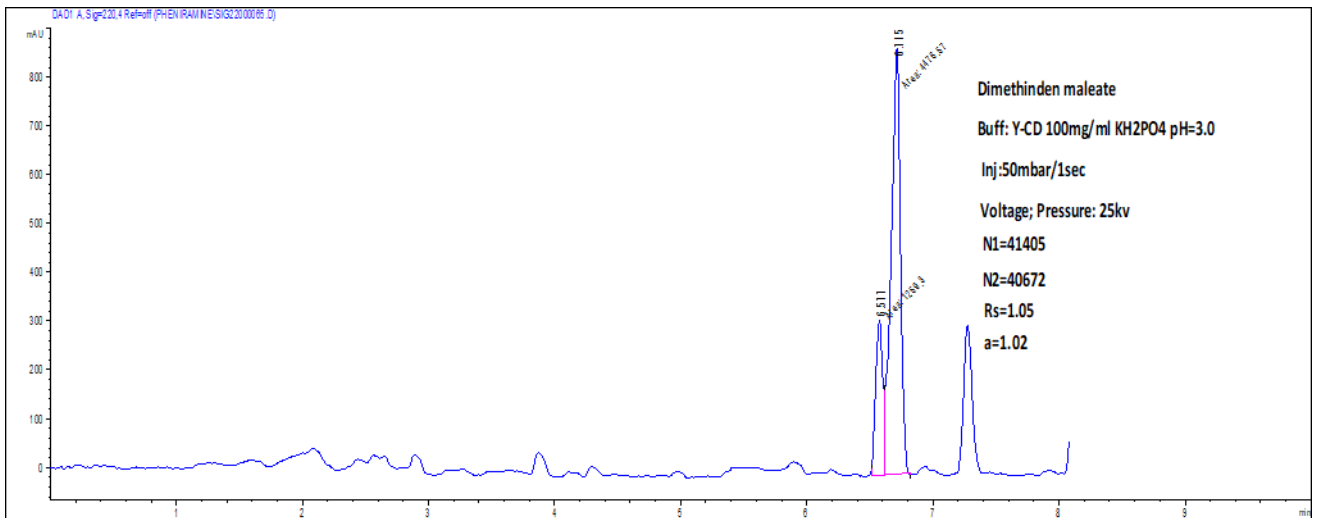
ქვემოთ მოყვანილ ელექტროფეროგრამებზე წარმოდგენილია ექსპერიმენტის შედეგები ციკლოდექსტრინების გამოყენებით ქირალურ სელექტორებად :



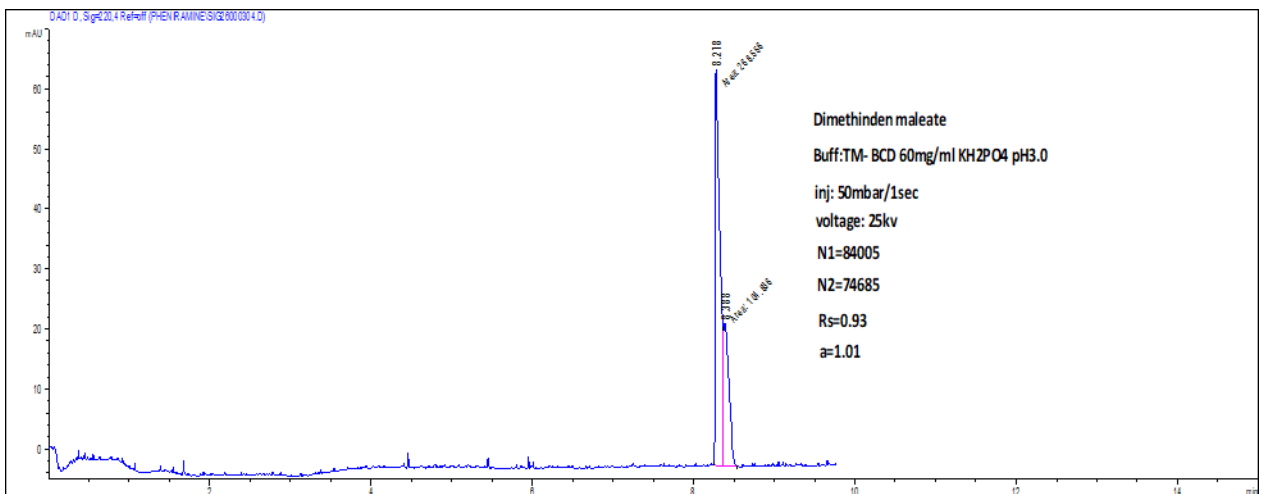
ნახ. 14 დიმეთინდენის ენანტიომერების დაყოფა, ბუფერი : 100 მგ ალფა ციკლოდექსტრინი + 50 მილიმოლური კალიუმის დიჰიდროფოსფატი. pH=3.0, ძაბვა 25 კვ.



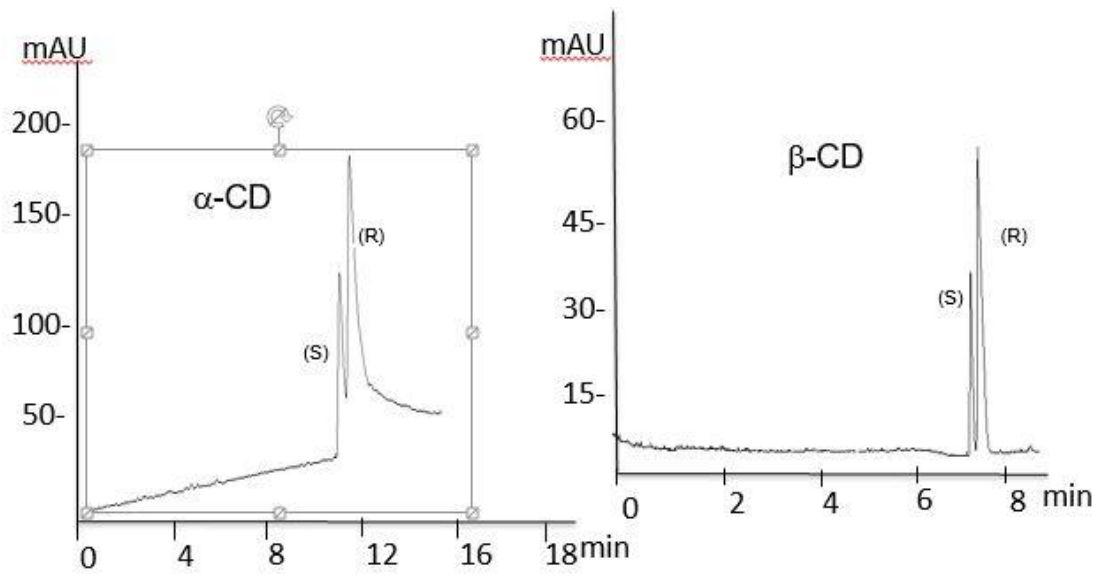
ნახ.15 დიმეთინდენის ენანტიომერების დაყოფა, ბუფერი ბეტა ციკლოდექსტრინი 18 მგ + კალიუმის დიჰიდროფოსფატი 50 მილიმოლური, pH=3.0, ძაბვა 25 კვ.



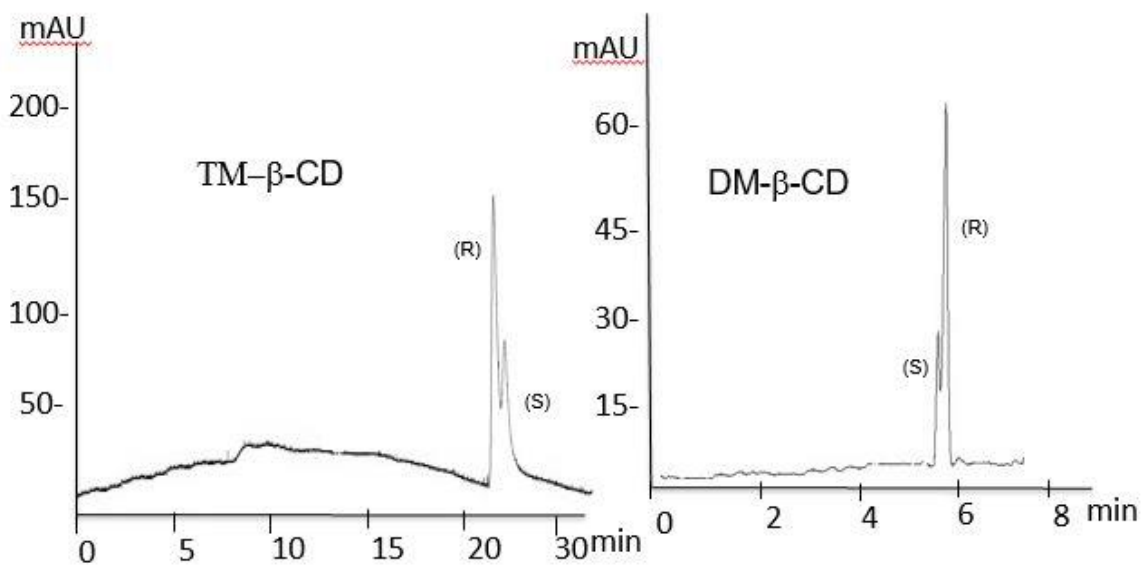
ნახ. 16 დიმეთინდენის ენანტიომერების დაყოფა, ბუფერი გამა ციკლოდექსტრინი (100 მგ/მლ) + კალიუმის დიჰიდროფოსფატი 50 მილიმოლური, pH=3.0, ძაბვა 25 კვ.



ნახ. 17 დიმეთინდენის ენანტიომერების დაყოფა, ბუფერი 60 მგ/მლ ტრიმეთილ ბეტა ციკლოდექსტრინი + კალიუმის დიჰიდროფოსფატი 50 მილიმოლური, pH=3.0, ძაბვა 25 კვ.

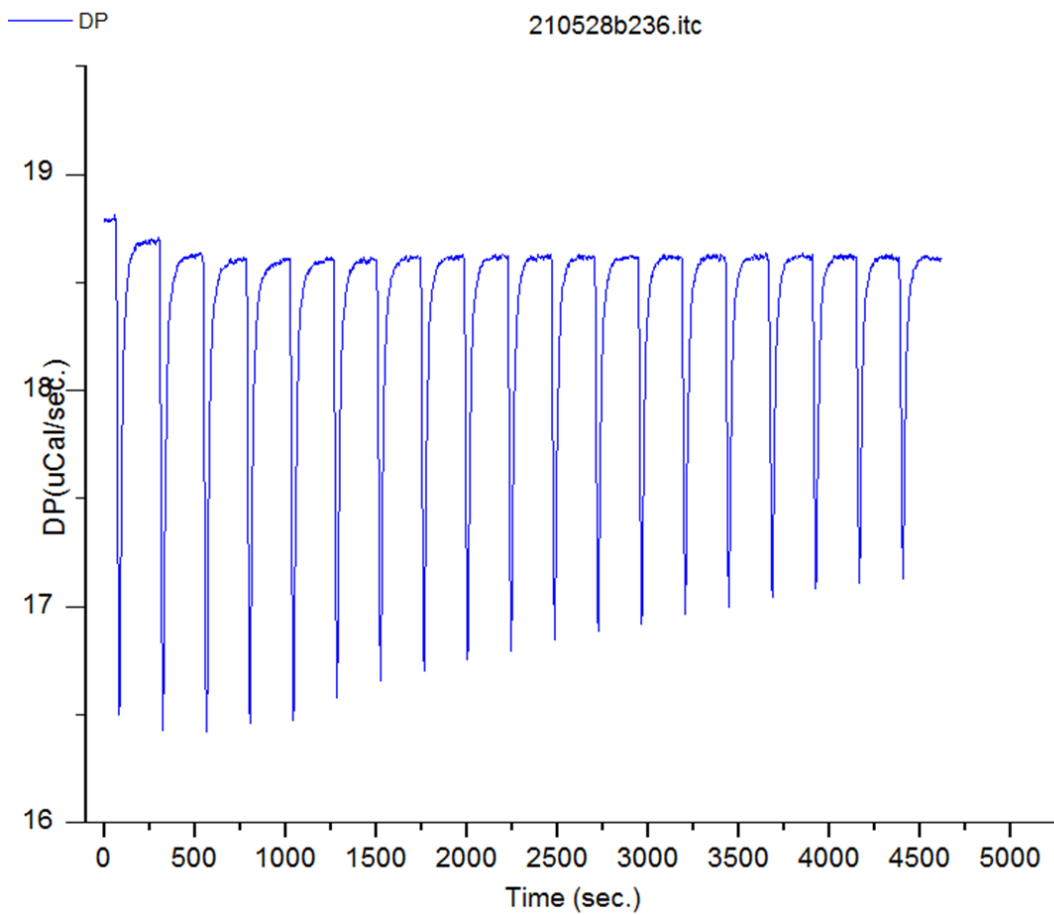


ნახ. 18 დიმეთინდენის ენანტიომერების დაყოფა ალფა და ბეტა ციკლოდექსტრინებით

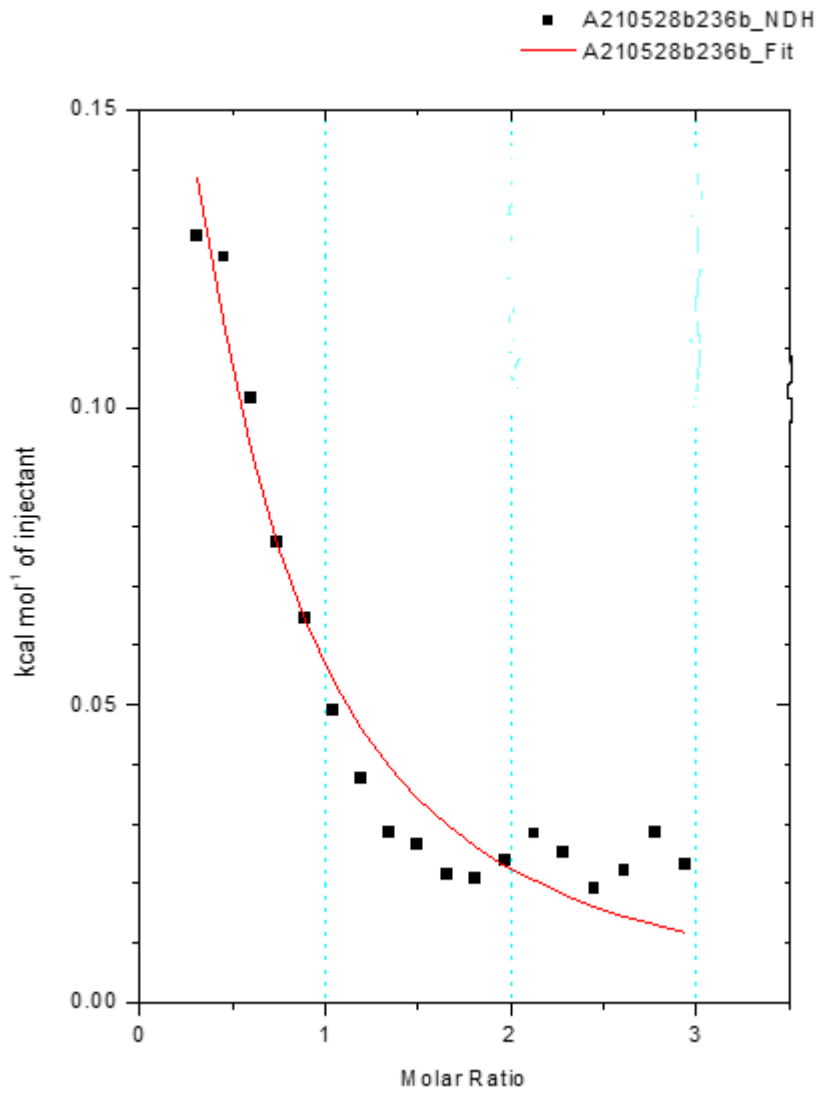


ნახ. 19 დიმეთინდენის ენანტიომერების დაყოფა ტრიმეთილ და დიმეთილ ბეტა ციკლოდექსტრინებით.

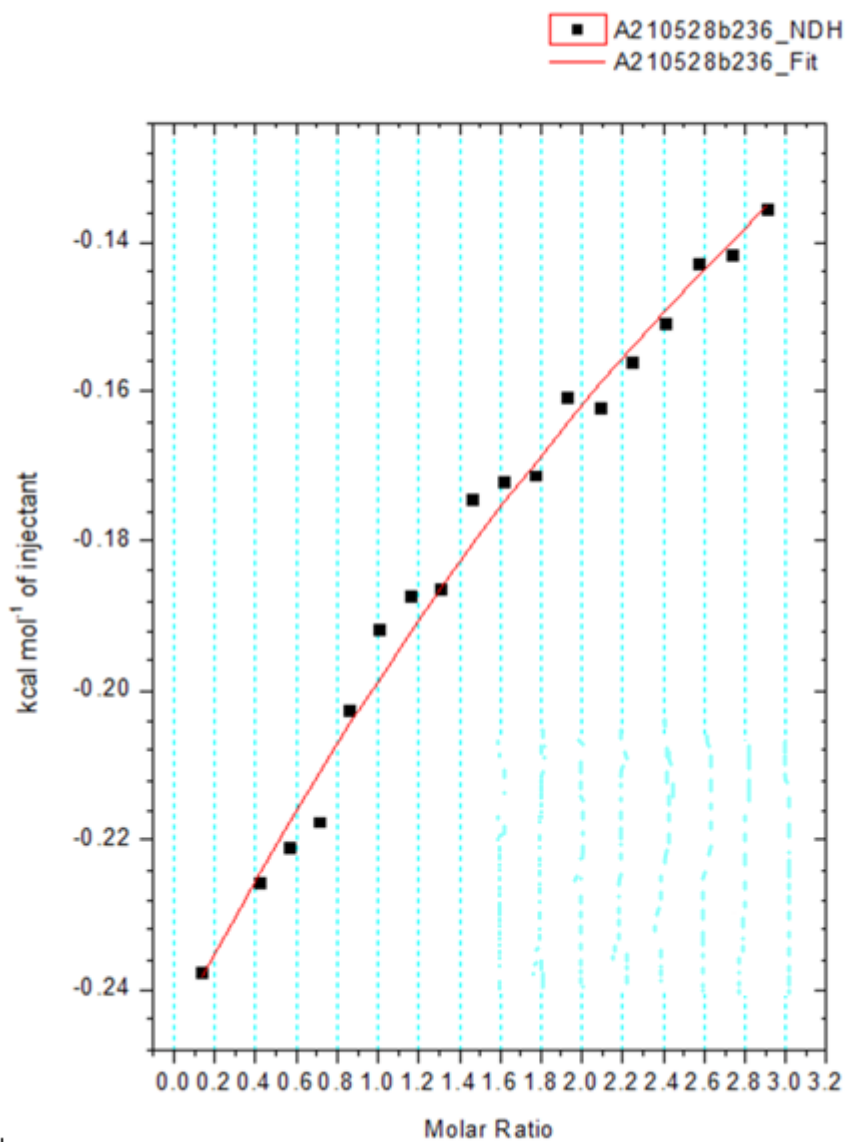
ქვემოთ მოყვანილია ტიტრაციული კალორიმეტრის ექსპერიმენტის შედეგები:

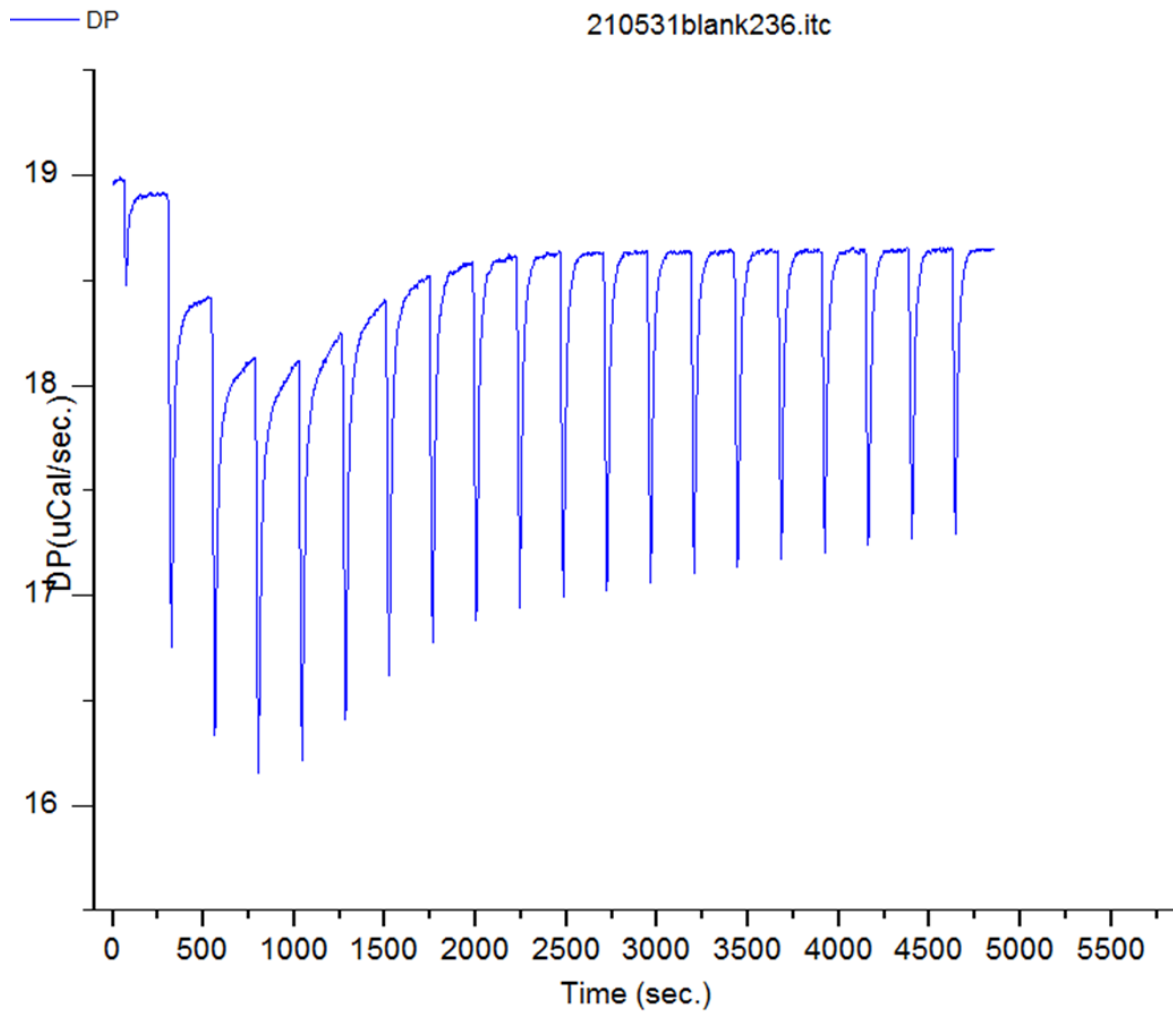


ნახ. 20 დიმეთინდენის რაცემატის გატიტვრა ტრიმეთილ ბეტა ციკლოდექსტრინით
ბუფერი 20 მილიმოლური ტრიმეთილ ბეტა ციკლოდექსტრინი, დიმეთინდენი 1,5 მილიმოლური.
ტემპერატურა 25°C.

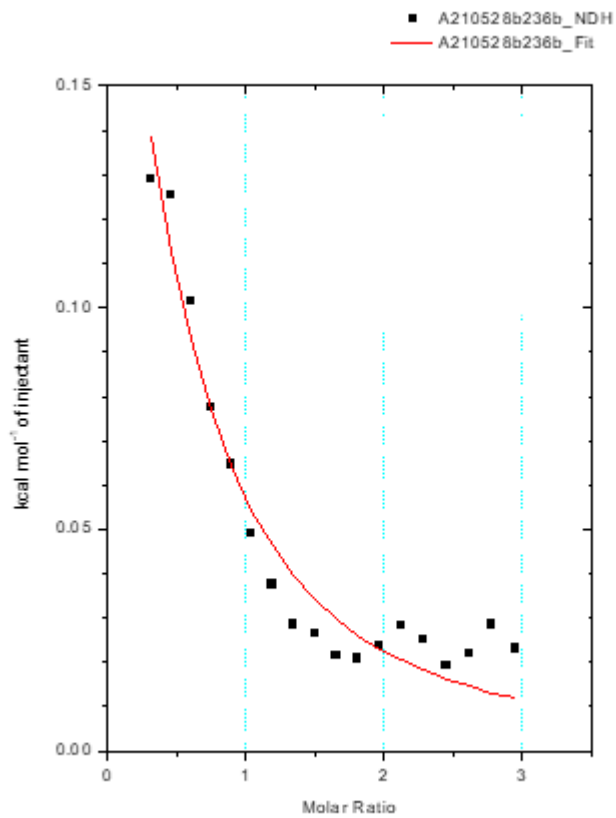


ნახ. 21 ინიცირების მრუდი და შედეგები. დიმეთინდენი 1 მილიმოლი, ტრიმეთილ ბეტა ციკლიდდექსტრინი 15 მილიმოლი, 25 °C.

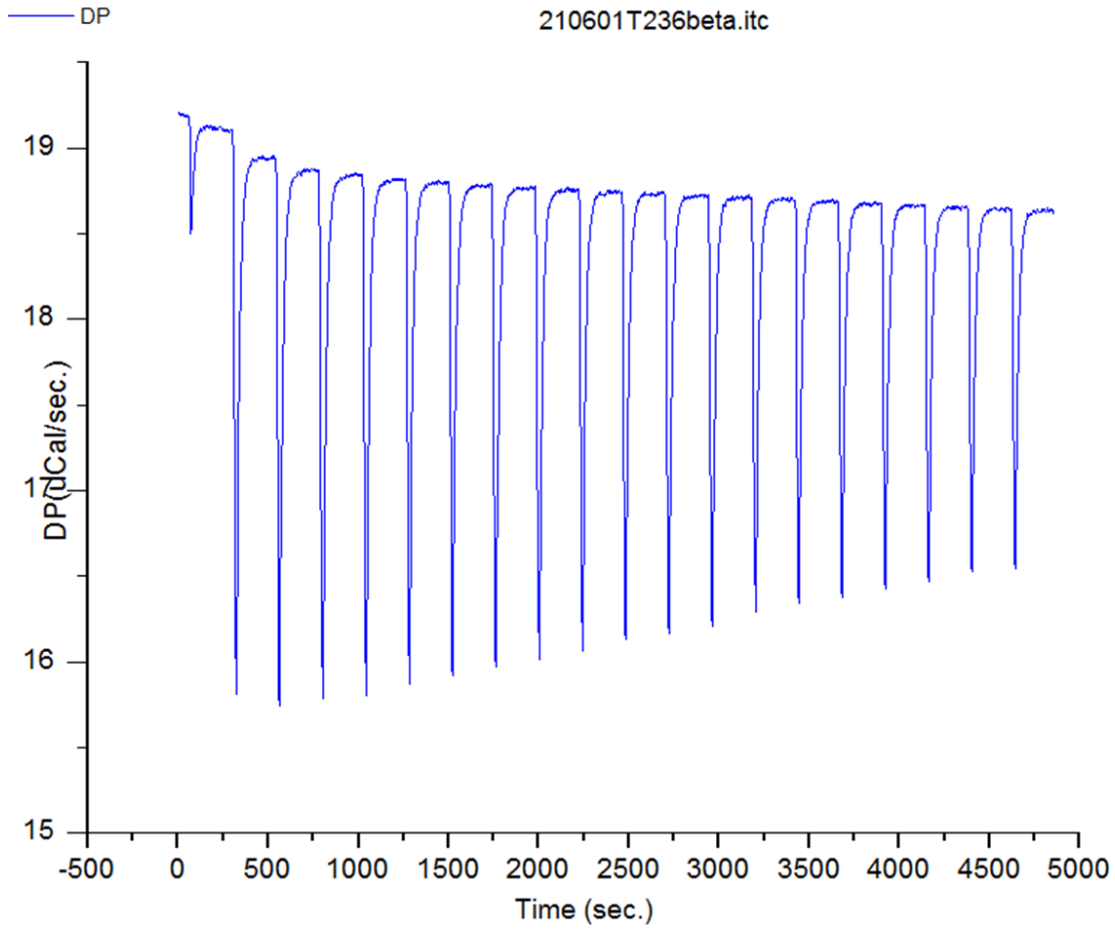




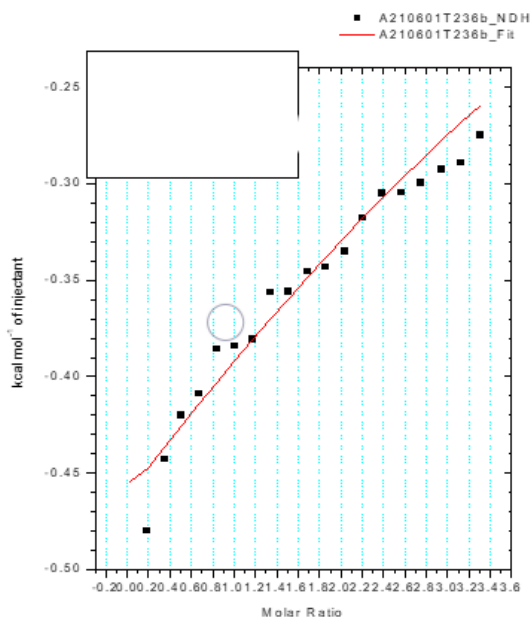
ნახ. 22 საკონტროლო გატიტვრა, კალიუმის დიჰიდროფოსფატის გატიტვრა ტრიმეთილ ბეტა ციკლოდექსტრინით



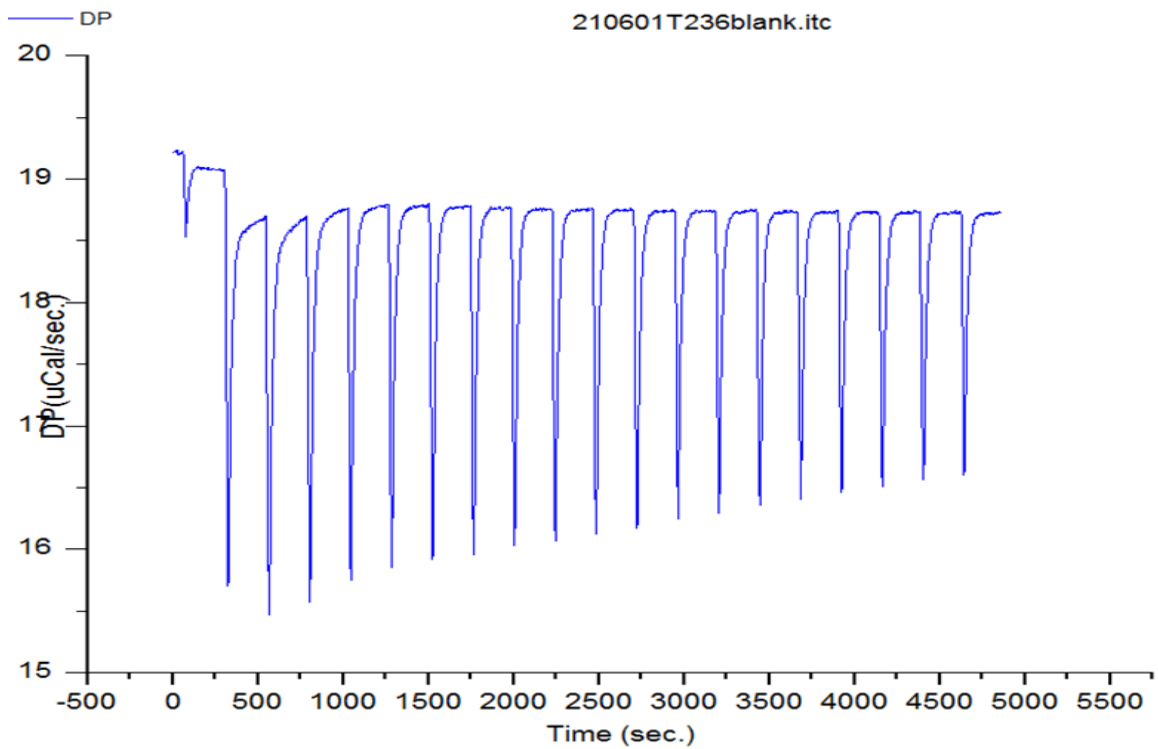
ნახ. 22 ინტეგრაციის მრუდი საკონტროლო გატიტვის შემდეგ .



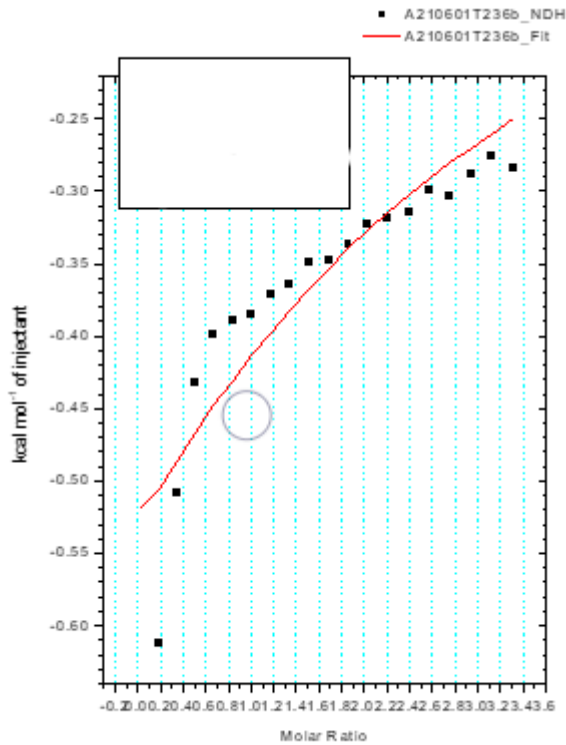
ნახ. 22 დიმეთინდენის (1მილიმოლი) გატიტვრა ტრიმეთილ ბეტა ციკლოდექსტრინით (15მილიმოლი 35°C ტემპერატურაზე.



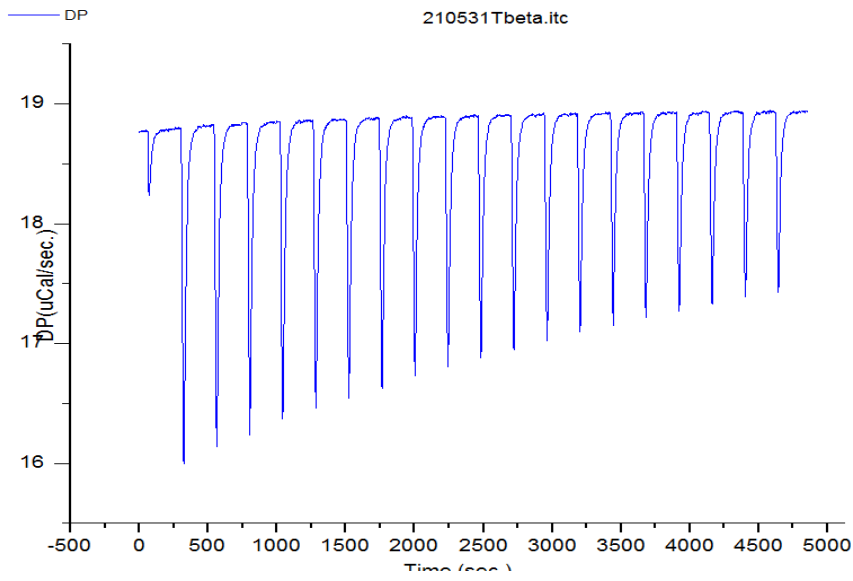
ნახ. 23 ინტეგრაციის მრუდი. დიმეთინდენი 1 მილიმოლი, ბეტა ციკლოდექსტრინი 15 მილიმოლი



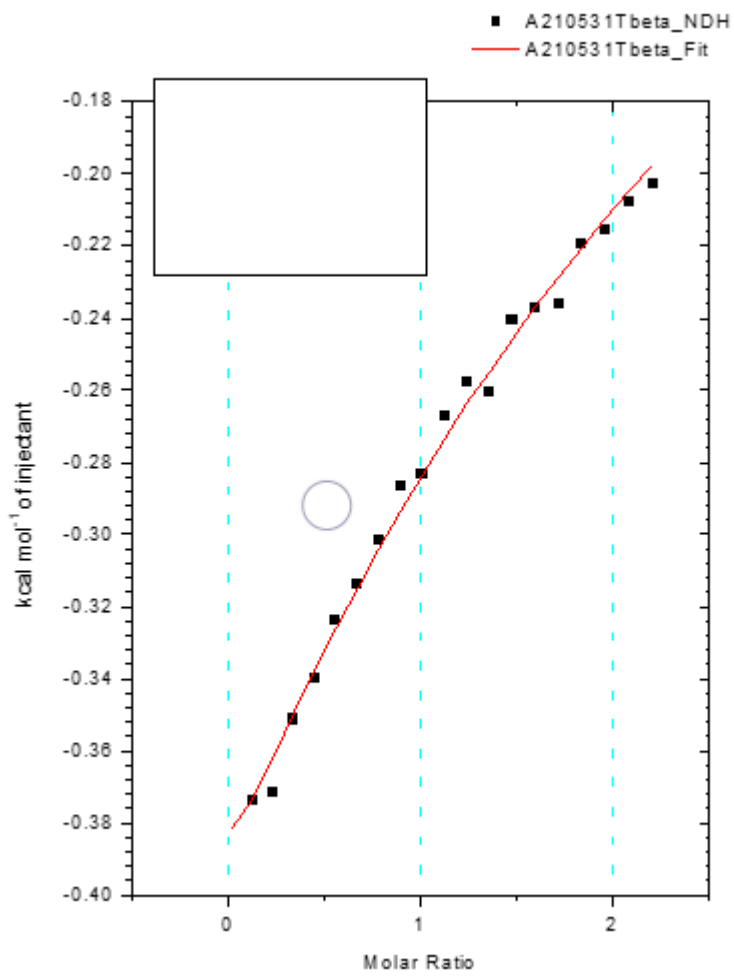
ნახ. 23 საკონტროლო გატიტვრა, კალიუმის დიჰიდროფოსფატის გატიტვრა ტრიმეთილ ბეტა ციკლოდექსტრინით



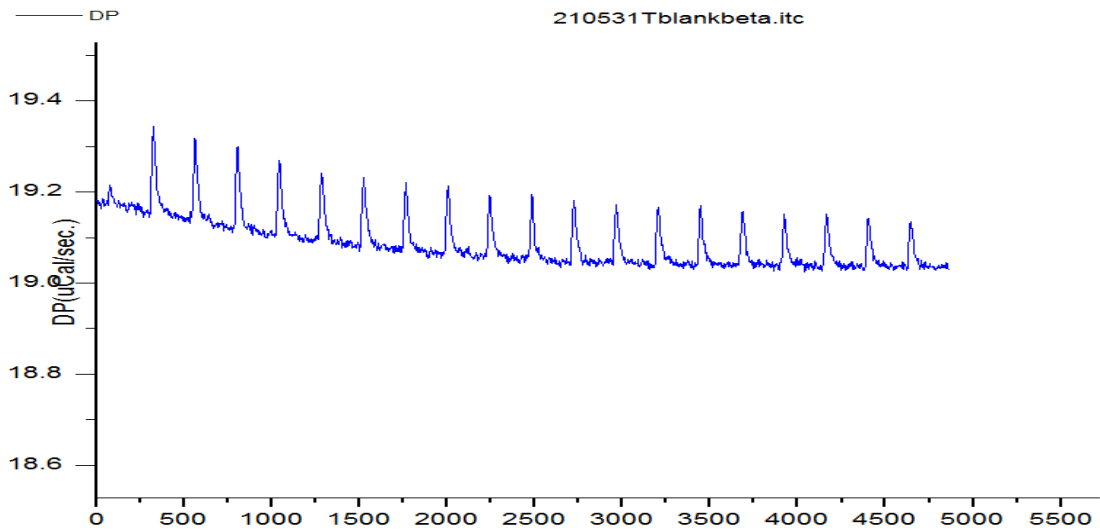
ნახ.24 ინტეგრაციის მრუდი საკონტროლო გატიტვრის შემდეგ



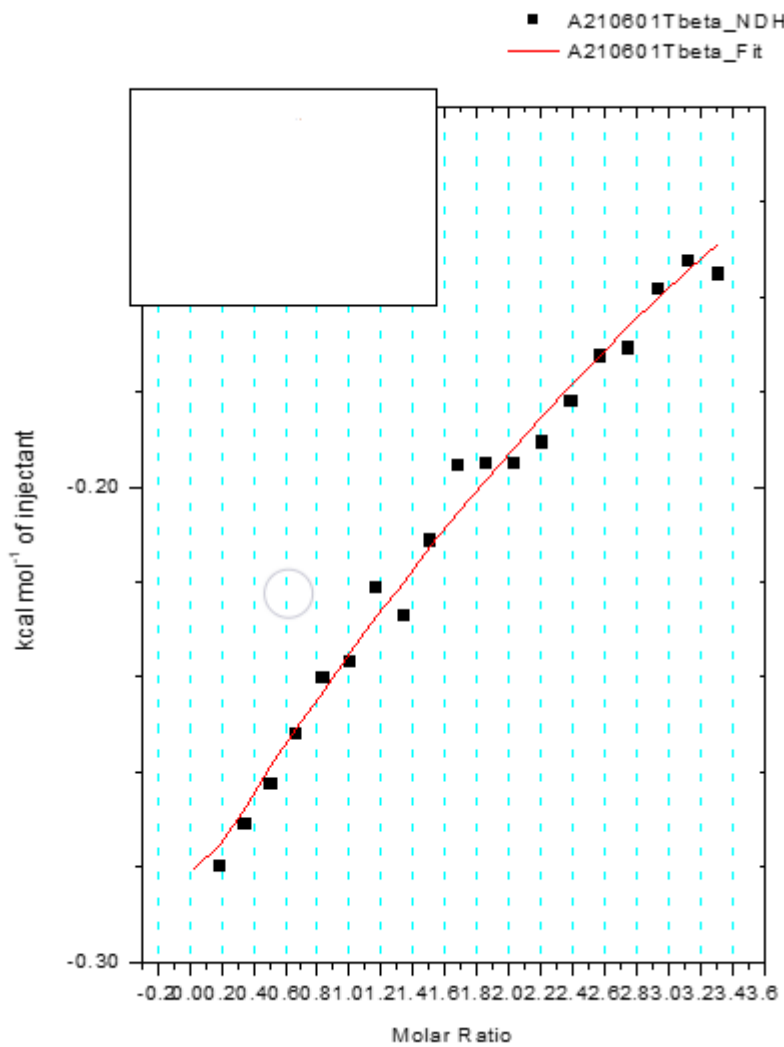
ნახ. 25 დიმეთონდენის (1 მილიმოლი) გატიტვრა ბეტა ციკლოდექსტრინით (1.5 მილიმოლი) 35 გრადუსზე.



ნახ. 26 ინტეგრაციის მრუდი. დიმეთონდენი 1 მილიმოლი, ბეტ ციკლოდექსტრინი 15 მილიმოლი, ტემპერატურა 35°C



ნახ. 27 კალიუმისდიჰიდროფოსფატის საკონტროლო გატიტვრა ბეტა ციკლოდექსტრინით



ნახ. 28 ინტეგრაციის მრუდი საკონტროლო გატიტვრის შედეგების გამოკლების შემდეგ.

მიღებული შედეგების განსჯა

კაპილარული ელექტროფორეზის ექსპერიმენტში ჩვენთვის სასურველი შედეგების მისაღწევად, ძაბვას ვცვლიდით 25-30კვ მდე, რათა მიგვეღწია მაღალეფექტური დაყოფისათვის. შევარჩიეთ თითოეული ციკლოდექსტრინის კონცენტრაციაზე ოპტიმალური ძაბვის მნიშვნელობები.

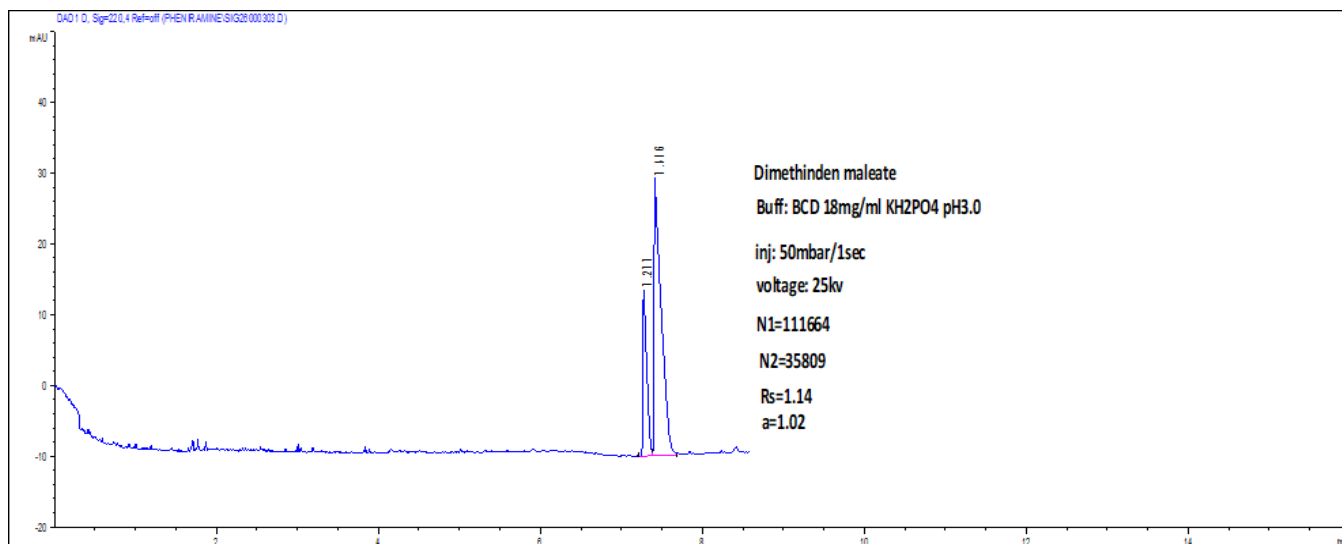
აღმოჩნდა რომ ჩვენს ექსპერიმენტში გამოყენებული ციკლოდექსტრინების უმრავლესობისთვის ძაბვის ოპტიმალური მნიშვნელობა იყო 25 კვ.

ქირალურ სელექტორებად გამოვიყენეთ როგორც ნატივური ალფა, ბეტა და გამა, ასევე მოდიფიცირებული დიმეტილ- და ტრიმეტილ- ბეტა ციკლოდექსტრინები სხვადასხვა კონცენტრაციებით. მიღებული შედეგები წარმოდგენილია ცხრილში (ცხრილი 1)

ცხრილი 1 დიმეტილდინის ენანტიომერების დაყოფის სელექტივობა და ენანტიომერების მიგრაციის რიგი სხვადასხვა ციკლოდექსტრინების თანაობისას

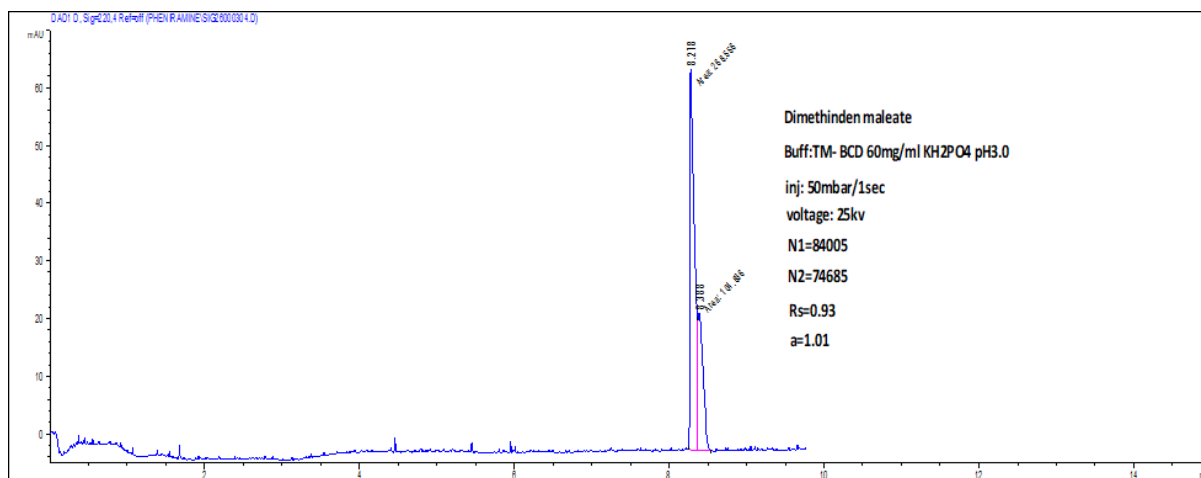
ქირალური სელექტორი	კონცენტრაცია, მგ/მლ	t ₁ , წთ	t ₂ , წთ	α	მიგრაციის რიგი
α-CD	100	9.2	9.5	1.01	(-) (+)
β-CD	18	7.3	7.8	1.02	(-) (+)
γ-CD	100	6.5	6.8	1.02	(-) (+)
TM- β-CD	60	8.2	8.5	1.01	(+) (-)
DM-β-CD	50	2.0	2.1	1.01	(-) (+)

ჩვენს მიერ ჩატარებულ ექსპერიმენტში დიმეთინდენის ენანტიომერები დაიყო ყველა ნატივური ციკლოდექსტრინით, თუმცა ყველაზე ოპტიმალური დაყოფა მივიღეთ ბეტა ციკლოდექსტრინის (18 მგ/მლ) გამოყენებისას.



ნახ .29 დიმეთინდენის ენანტიომერების დაყოფა ბეტა ციკლოდექსტრინით.

ხოლო მოდიფიცირებული დიმეთილ და ტრიმეთილ- ბეტა ციკლოდექსტრინის გამოყენებისას, დიმეთინდენის ენანტიომერების დაყოფა ამ შემთხვევაში ორივე ქირალური სელექტორით შევძელით, თუმცა ამ შემთხვევაში, ენანტიომერების მიგრაციის რიგის შებრუნება მოხდა ტრიმეთილ ბეტა ციკლოდექსტრინის (60 მგ/მლ) გამოყენებისას.

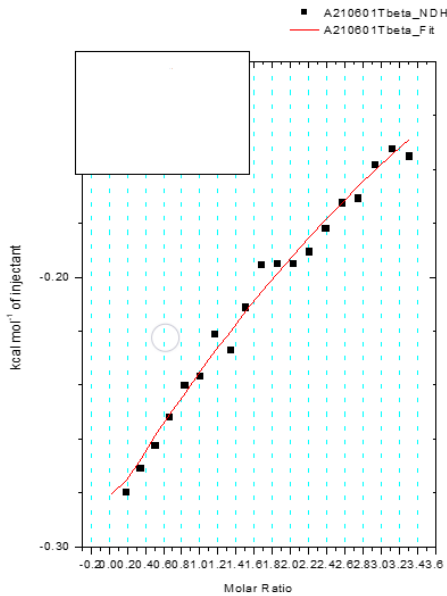


ნახ. 30 დიმეთინდენის ენანტიომერების დაყოფა ტრიმეთილ ბეტა ციკლოდექსტრინით.

ჩვენი ვარაუდით დიმეთინდენის ენანტიომერების ფუძისეული დაყოფა ბეტა ციკლოდექსტრინით, განპირობებულია სავარაუდოდ ბეტა ციკლოდექსტრინში არსებული 7 გლუკოპირანოზას მონომერით შექმნილი სივრცული კალათის შიგა ღრუში დიმეთინდენის მოლეკულის ნაწილის მოთავსებით და ჩართული კომპლექსის წარმოქმნით.

ციკლოდექსტრინის ზომების გარდა, ენანტიომერების დაყოფაზე და მიგრაციის რიგზე მნიშვნელოვან გავლენას ახდენს ჩამნაცვლებელი ჯგუფები. ჩვენს ექსპერიმენტში გამოყენებულ ციკლოდექსტრინებში, კერძოდ ბეტა ციკლოდექსტრინში 2 და 6 (დიმეთილ ბეტა ციკლოდექსტრინი) ან 2,3,6 პოზიციაში (ტრიმეთილ ბეტა ციკლოდექსტრინი) წყალბადატომები ჩანაცვლებულია მეთილის რადიკალებით. ექსპერიმენტმა გვაჩვენა რომ, ტრიმეთილ ბეტა ციკლოდექსტრინის გამოყენებით დიმეთინდენის ენანტიომერები დაიყო და ასევე ბეტა ციკლოდექსტრინთან შედარებით მოხდა მიგრაციის რიგის შებრუნება, რაც თავის მხრივ ნიშნავს რომ, სვარაუდოდ მოხდა დიმეთინდენსა და ტრიმეთილ ბეტა ციკლოდექსტრინს შორის განსხვავებული ტიპის კომპლექსის წარმოქმნა.

იზოთერმული ტიტრაციული კალორიმეტრის ექსპერიმენტში ჩვენთვის მნიშვნელოვანი იყო მიგველო ოპტიმალური თერმოდინამიკური პარამეტრების მნიშვნელობები და ამ მნიშვნელობების გამოყენებით დაგვედგინა, თუ რა ტიპის ძალების მოქმედებით ხდება კომპლექსწარმოქმნა დიმეთინდენსა და ციკლოდექსტრინებს შორის. ასევე, მნიშვნელოვანია დაგვედგინა რა კონცენტრაციასა და ტემპერატურაზე მიიღწევა ყველაზე მეტად მდგრადი კომპლექსები დიმეთინდენსა და ბეტა, ასევე ტრიმეთილ ბეტა ციკლოდექსტრინს შორის.

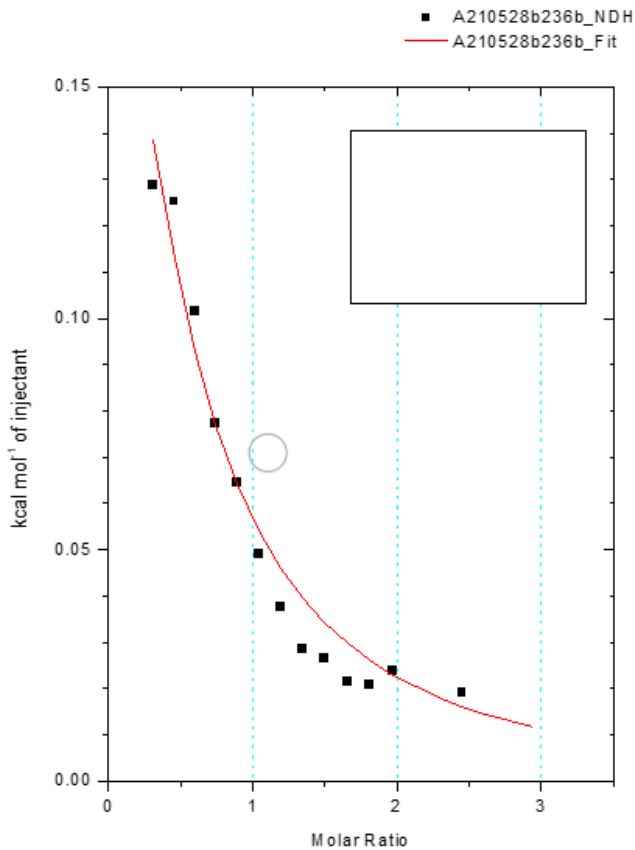


ბეტა ციკლოდექსტრინით დიმეთინდენის გატიტვისას 35°C მივიღეთ შედეგები:

ენტალპიის მნიშვნელობა $\Delta H = -2966$ კალ

ენტროპიის მნიშვნელობა კი $\Delta S = 3.33$ კალ/მოლ/გრადუსი

იმისათვის რომ, დავასკვნათ პროცესი რა ტიპის ძალებით მიმდინარეობს ენთალპიისა და ენტროპიის მნიშვნელობების შედარებაა საჭირო. მოცემულ შემთხვევაში ენთალპიის მნიშვნელობა 2966 უნდა შევადაროთ ენტროპიის ნამრავლს აბსოლუტურ ტემპერატურაზე, რომელიც ჩვენს შემთხვევაში შეადგენს 308,15. ვინაიდან ენტროპიული წევრის მნიშვნელობა 1016,9 კალორია გამოვიდა, ეს იმას ნიშნავს, რომ ენთალპიის როლი კომპლექსწარმოქმნაში უმთავრესია, თუმცა ენტროპიაც დადებით როლს ასრულებს.



ტრიმეთილ ბეტა ციკლოდექსტრინით დიმეთინდენის გატიტვორით მიღებული შედეგები. ექსპერიმენტი ჩავატარეთ 25^o C ტემპერატურაზე, დიმეთინდენის კონცენტრაცია 1,5 მილიმოლი, ტრიმეთილ ბეტა ციკლოდექსტრინის კონცენტრაცია 20 მილიმოლი:

ენტალპიის მნიშვნელობა $\Delta H=722.1$ კალ.

ენტროპიის მნიშვნელობა $\Delta S=15.9$ კალ/მოლ/გრადუსი

დადებითი ენთალპია ხელს უშლის პროცესს, უარყოფითი ხელს უწყობს მას. აქედან გამომდინარე, ზემოთ განხილული პროცესი ცალსახად ენტროპიულ კონტროლს ემორჩილება და მასში გაცილებით მეტად უნდა მონაწილეობდეს ჰიდროფობური ძალები.

5.დასკვნები:

კაპილარული ელექტროფორეზის ექსპერიმენტიდან შეგვიძლია გამოვიტანოთ შემდეგი დასკვნები :

- 1) დიმეთინდენის ენანტიომერების დასაყოფად კაპილარულ ელექტროფორეზში ნატივური ციკლოდექსტრინებიდან ყველაზე უკეთესი ქირალური სელექტორი არის ბეტა ციკლოდექსტრინი. ეს შეიძლება განპირობებული იყოს ციკლოდექსტრინის ოპტიმალური ზომის გამო.
- 2) მოდიფიცირებული ციკლოდექსტრინებიდან ენანტიომერების დაყოფა და ენანტიომერების მიგრაციის რიგის შებრუნება მოხდა ტრიმეთილ ბეტა ციკლოდექსტრინით ბეტა ციკლოდექსტრინთან შედარებით
- 3) იზოთერმული ტიტრირების ექსპერიმენტით შეიძლება განვსაზღვროთ დიმეთინდენის ენანტიომერებსა და ციკლოდექსტრინებს შორის კომპლექსწარმოქმნის პროცესების ენთალპია და ენტროპია, რაც საშუალებას გვაძლევს გარკვეული წარმოდგენა შევიქმნათ ამ პროცესებში ვანდერვალსის და ჰიდროფობური ურთიერთქმედების როლის შესახებ.
- 4) ჩვენს მიერ მიღებული შედეგები მიუთითებს რომ დიმეთინდენის კომპლექსწარმოქმნა ბეტა ციკლოდექსტრინის შემთხვევაში ძირითადად ემყარება ვანდერვალსის ტიპის ძალებს, თუმცა ჰიდროფობურ ძალებსაც შეაქვთ გარკვეული დადებითი წვლილი ამ პროცესში.
- 5) ბეტა ციკლოდექსტრინისგან განსხვავებით, დიმეთინდენის კომპლექსწარმოქმნა ტრიმეთილ ბეტა ციკლოდექსტრინთან ემყარება უპირატესად ჰიდროფობური ტიპის ურთიერთქმედებას

6 გამოყენებული ლიტერატურა

1. B. Chankvetadze, Capillary Electrophoresis in Chiral Analysis, John Wiley & Sons, Chichester, UK, 1997, 555 pp.
2. A. Gogolashvili, E. Tatumashvili, L. Chankvetadze, T. Sohadja, J. Szeman, A. Salgado, B. Chankvetadze, Separation of enilconazole enantiomers in capillary electrophoresis with cyclodextrin-type chiral selectors and investigation of structure of selector-selectand complexes by using nuclear magnetic resonance spectroscopy, *Electrophoresis*, 38(2017) 1851-1859.
3. B. A. Ingelse, (1997). Chiral separations using capillary electrophoresis Eindhoven: Technische Universiteit, Eindhoven DOI: 10.6100/IR492451.
4. M.A.A. O'Neill, Simon Gaisfordb, Application and use of isothermal calorimetry in pharmaceutical development, *Int. J. Pharm.* 417 (2011) 83-93.
5. K. Bouchemal, S. Mazzaferro, How to conduct and interpret ITC experiments accurately for cyclodextrin-guest interactions *Drug Discovery Today*, 17 (2012) 623-629.

