

ივანე ჯავახიშვილის სახელობის თბილისის  
სახელმწიფო უნივერსიტეტი



თეკლე ერისთავი

ზოგიერთი ქირალური ნივთიერების და ციკლოდექსტრინის  
არაკოვალენტური ურთიერთქმედების ელექტროფორეტული  
კვლევა

ქიმიური ექსპერტიზა

ნაშრომი შესრულებულია ქიმიის მაგისტრის აკადემიური  
ხარისხის მოსაპოვებლად

**სამეცნიერო ხელმძღვანელი:**

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

ქიმიის აკადემიური დოქტორი : ანა გოგოლაშვილი

თბილისი

2021

## შინაარსი

ანოტაცია .....	3
Summary .....	5
<b>1. შესავალი .....</b>	<b>6</b>
<b>2. ლიტერატურული ნაწილი.....</b>	<b>9</b>
2.1. ქირალობა და ქირალური დაყოფის მეთოდები .....	9
2.2. კაპილარული ელექტროფორეზის მეთოდები, დაყოფის პრინციპი, ხელსაწყოს აგებულება .....	11
2.2.1. ელექტროფორეტული ძვრადობა.....	17
2.2.2. ელექტროსმოსი.....	18
2.2.3. კაპილარული ელექტროფორეზის ხელსაწყოს აგებულება.....	21
2.3.ციკლოდექსტრინები .....	22
2.4.ქირალური ნივთიერებების დაყოფა ციკლოდექსტრინების გამოყენებით .....	24
2.5.ბირთვულ- მაგნიტური რეზონანსის სპექტროსკოპია.....	26
2.6. ROESY ექსპერიმენტი.....	29
2.7.ბირთვულ- მაგნიტური რეზონანსის სპექტროსკოპიის უპირატესობები.....	30
<b>3. ექსპერიმენტული ნაწილი .....</b>	<b>31</b>
3.1 ექსპერიმენტის ზოგადი მიმოხილვა.....	31
3.2 გამოყენებული ხელსაწყოები .....	32
3.3 გამოყენებული რეაქტივები და მასალები .....	33
3.4 კაპილარული ელექტროფორეზის ექსპერიმენტი .....	34
3.5 ბირთვულ- მაგნიტური რეზონანსის ექსპერიმენტი.....	36
<b>4. ექსპერიმენტის შედეგები და მათი განსჯა.....</b>	<b>36</b>
4.1 კაპილარული ელექტროფორეზის ექსპერიმენტის შედეგები და განსჯა.....	36
4.2 ბირთვულ- მაგნიტური რეზონანსის სპექტროსკოპიის ექსპერიმენტის შედეგები და განსჯა.....	40
<b>5.დასკვნები .....</b>	<b>45</b>
<b>6.გამოყენებული ლიტერატურა .....</b>	<b>46</b>

## ანოტაცია

ასიმეტრული ორგანული მოლეკულების არსებობა კაცობრიობისთვის დიდი ხანია ცნობილია. დღესდღეობით, სამკურნალო ნივთიერებების 50%-მდე შეიცავს ქირალურ ცენტრს მოლეკულაში, მათი დიდი ნაწილი გამოიყენება რაცემატის სახით, რომელიც შედგება ენანტიომერების ექვიმოლური რაოდენობისგან. ენანტიომერები წარმოადგენენ მოლეკულებს, რომლებსაც ერთნაირი სტრუქტურული აგებულება, ატომების შეერთების ერთნაირი თანმიმდევრობა, მაგრამ განსხვავებული სივრცითი ორიენტაცია გააჩნიათ და აგებულებით ერთმანეთის სარკულ გამოსახულებებს წარმოადგენენ. მიუხედავად ორგანოზომილებიან სიბრტყეში მსგავსი სტრუქტურული ფორმულისა, ენანტიომერებს ქირალურ გარემოში განსხვავებული ბიოლოგიური აქტივობა: ფარმაკოკინეტიკა, ტოქსიკურობა და ფარმაკოდინამიკა ახასიათებთ. ენანტიომერები ერთმანეთისგან განსხვავდება ცილებთან, რეცეპტორებთან და ფერმენტებთან მოქმედებით, მათ ბიოლოგიურ მოქმედებას ორგანიზმთან სწორედ ეს ფაქტორები განაპირობებს. ამ მიზეზით ზოგიერთი სამკურნალო წამლო ნივთიერება იწარმოება ერთი ენანტიომერის სახით.

კაპილარული ელექტროფორეზი წარმოადგენს ნივთიერებათა დაყოფის ელექტროკინეტიკურ მეთოდს, რომელიც ფართოდ გამოიყენება ენანტიომერული ნარევის ანალიზის მიზნით. კაპილარულ ელექტროფორეზში ენანტიომერების დაყოფა ხდება ქირალური სელექტორების გამოყენებით. ქირალურ სელექტორებად კაპილარულ ელექტროფორეზში ყველაზე ხშირად გამოიყენება ციკლოდექსტრინები. ისინი ენანტიოსელექტიურად გამოიცნობენ ენანტიომერებს გარდამავალი არაკოვალენტური დიასტერეომერული კომპლექსწარმოქმნის გზით. წარმოქმნილი კომპლექსები ერთმანეთისგან განსხვავდება სივრცითი ორიენტაციით ან სპეციფიური მოლეკულთშორისი ურთიერთქმედების ძალებით. ეს მიზეზები განაპირობებს ელექტროფორეტული ძვრადობების განსხვავებას და ქირალურ დაყოფებს.

წინამდებარე ნაშრომში დამუშავებულ იქნა ზოგიერთი ქირალური ნივთიერების, კერძოდ ჰერბიციდების მეკოპროპის და დიქლოროპროპის ენანტიომერების დაყოფა კაპილარულ ელექტროფორეზში ციკლოდექსტრინების გამოყენებით. ქირალურ სელექტორებად გამოყენებულ იქნა როგორც ბუნებრივი ციკლოდექსტრინები, ისე მათი მოდიფიცირებული ნაწარმები.

დავადგინეთ ენანტიომერების მიგრაციის რიგი სხვადასხვა ციკლოდექსტრინის გამოყენებისას, ენანტიომერების მიგრაციის რიგის შეზღუდვების სტრუქტურული მექანიზმების შემგომი კვლევის მიზნით.

# Investigation of noncovalent interactions between some chiral compounds and cyclodextrins using capillary electrophoresis.

## Summary

The existence of asymmetric organic molecules has been known for humanity for a long time. Nowadays, up to 50% of pharmaceuticals in use are chiral molecules and most of them are used in the form of racemates, which consist of an equimolar mixture of enantiomers. Enantiomers are molecules which have the same structure but have a different spatial orientation of an atomic bonds. The enantiomers are mirror images to each other. Despite a similar structural formula in two-dimensional planes, enantiomers are characterized by different biological activity in the chiral environment: pharmacokinetics, toxicity and pharmacodynamics. Enantiomers differ from each other in their action on proteins, receptors, and enzymes, and their biological action on the body is determined by these factors. For this reason, some medicinal substances are produced in the form of a single enantiomer.

Capillary electrophoresis is an electrokinetic method of separation of substances that is widely used to analyze also enantiomeric mixtures. The usage of chiral selectors provides the possibility for separation of enantiomers in capillary electrophoresis. Cyclodextrins are most frequently used chiral selectors in capillary electrophoresis. They enantioselectivity interact with enantiomers by forming a temporary transient noncovalent diastereomeric complex. The created complexes differ from each other in spatial orientation and thermodynamic properties. These causes lead to electrophoretic mobility differences and chiral divisions.

In the present study, the enantiomers of some chiral substances, specifically of chiral herbicides mecoprop and dichloroprop were separated in capillary electrophoresis using cyclodextrins as chiral selectors. Both, natural cyclodextrins and their derivatives were used as chiral selectors.

Enantiomer migration order using different cyclodextrins was studied having in mind further investigation of the structural mechanisms of enantioselective binding of enantiomers with cyclodextrins.

# 1. შესავალი

დღესდღეობით ქირალობა ქიმიური კვლევის ერთ-ერთი ძირითადი ამოცანაა. ფარმაცევტულ საშუალებათა მნიშვნელოვანი ნაწილი წარმოადგენს ქირალურ ნივთიერებებს. მათი უმეტესობის სინთეზი ხდება რაციმული ნარევის სახით. ენანტიომერები ერთმანეთისგან განსხვავდება, როგორც აბსორბციის, ასევე განაწილების, პროტეინებთან შეკავშირების და რეცეპტორებთან ურთიერთქმედების უნარით. მოლეკულური ქირალობა აღმოჩენილი იქნა ლუი პასტერის მიერ 1848 წელს, რომელმაც პირველად ხელით დაჰყო ღვინის მჟავას ერთ-ერთი მარილის ენანტიომერები. დაახლოებით ერთსაუკუნეანი კვლევის შემდეგ დადგინდა იქნა ქირალობის მნიშვნელობა, კერძოდ ის თუ რა როლს თამაშობდა ის მცენარეებში, მრეწველობაში, ცოცხალ ორგანიზმებში, ფარმაცევტულ თუ სასოფლო სამეურნეო საქმიანობაში. ცილა, ფერმენტები, ამინომჟავა, ნახშირწყლები, ნუკლეოზიდები, ჰორმონები და ალკალოიდების ფართო ჯგუფი ქირალურია. ხელოვნურად მიღებული ქირალური პროდუქტებისგან განსხვავებით, ბუნებაში ქირალური ნივთიერებები გავრცელებულია მხოლოდ ერთი იზომერის სახით, მაგალითად ამინომჟავები ბუნებაში გავრცელებულია L-იზომერის სახით, ხოლო შაქრები D-იზომერის სახით. დღესდღეობით, კლინიკურ პრაქტიკაში გამოყენებული სამკურნალო საშუალებების ნახევარზე მეტი შეიცავს ქირალურ ცენტრს მოლეკულაში და მათი უმეტესობა რაციმატის სახით გამოიყენება[1].

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

- 1) მხოლოდ ერთ ენანტიომერს აქვს დადებითი ფარმაკოლოგიური ეფექტი, მეორე ენანტიომერი ან ბალასტია, ან სხვა შემთხვევაში შეიძლება ჰქონდეს უარყოფითი გვერდითი ეფექტიც. მაგალითად ნაპროქსენი და ომეპრაზოლის ერთ ენანტიომერს (S-ფორმას) აქვს სამკურნალო ეფექტი.
- 2) ერთი ენანტიომერის მოქმედება ბევრად აღემატება მეორე ენანტიომერის მოქმედებას. მაგალითად კეტოპროფენის შემთხვევაში S- ფორმას აქვს ბევრად ძლიერი მოქმედება ვიდრე R- ფორმას.

3) მესამე შემთხვევაში კი შეიძლება მხოლოდ ერთ ენანტიომერს ჰქონდეს დადებითი ეფექტი, მაგრამ ორგანიზმში ენანტიომერის მოქმედებით მეორე ენანტიომერი გარდაიქმნებოდეს აქტიურ ენანტიომერად. [1, 2]

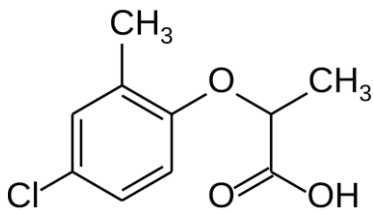
კაპილარული ელექტროფორეზის მეთოდი წარმოადგენს განსაკუთრებით საინტერესო ტექნიკას ქირალურ ანალიზში, რადგან მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფიის მეთოდთან შედარებით მაღალი ეფექტურობით და გამოყენების მცირე ხარჯებით ხასიათდება. კაპილარული ელექტროფორეზის უპირატესობაა მინიატურულობა, მაღალეფექტურობა, უნივერსალურობა, ანალიზის მოკლე დრო და მაღალი გარჩევითობა, ნიმუშის მცირე რაოდენობა და მცირე ხარჯები. კაპილარული ელექტროფორეზში ენანტიომერების დაყოფა ხდება ქირალური სელექტორის გამოყენებით, რომელიც ცალკეულ ენანტიომერს იკავშირებს განსხვავებული სიმტკიცით. მრავალი შრომა არის გამოქვეყნებული ენანტიომერების დაყოფის კუთხით თუმცა არაკოვალენტური ურთიერთქმედების მექანიზმი ნაკლებად არის შესწავლილი. ეს მეთოდი საინტერესოა როგორც ენანტიომერების დაყოფის ასევე მათი არაკოვალენტური მოლეკულათაშორისი ურთიერთქმედების კვლევის მხრივაც, რადგან თითოეული ენანტიომერი განსხვავებული მექანიზმით მოქმედებს და უკავშირდება ქირალურ სელექტორს და გააჩნიათ სხვადასხვა შეკავშირების მუდმივები. [3]

რადგან კაპილარული ელექტროფორეზის მეთოდი არ იძლევა პირდაპირ ინფორმაციას კომპლექსის სტექიომეტრიისა და სტრუქტურის შესახებ ამიტომ გამოვიყენეთ ბირთვულ-მაგნიტური რეზონანსის სპექტროსკოპია. ის წარმოადგენს ზუსტ ტექნიკას კომპლექსწარმოქმნის მექანიზმის კვლევის საქმეში. ჩვენ შევიძლია ზუსტად იმ პირობებში ჩავატაროთ ექსპერიმენტი, რა პირობებშიც ტარდებოდა კაპილარულ ელექტროფორეზში ენანტიომერების ნარევის დაყოფა.

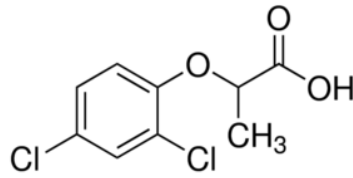
ჩვენს მიერ შესწავლილ იქნა მეკოპროპის და დიქლოროპროპის ენანტიომერების დაყოფა და ენანტიომერების მიგრაციის რიგი კაპილარული ელექტროფორეზის გამოყენებისას.

მეკოპროპი ( MCPP) ანუ RS-2-( 4-ქლორ-2-მეთილფენოქსილ) პროპიონის მჟავა ( $C_{10}H_{11}ClO_3$ ) და დიქლოროპროპი 2-(2,4-დიქლოროფენოქსი)პროპიონის მჟავა ( $C_9H_8Cl_2O_3$ ) ორივე არის ქლორფენოქსიდური ჰერბიციდები. მოლეკულური მასა მეკოპროპი-214.65, დიქლოროპროპი-

235.364. ჰერბიციდების ეს ჯგუფი არის დამხმარე ნივთიერებები და მცენარის ზრდის ჰორმონები, ძირითადად გამოიყენება ფართოფოთლოვანი სარეველა ბალახების საწინააღმდეგოდ[4]. მეკოპროპი დაბალ მდგრადობას ავლენს გარემოში და ინტოქსიკაცია ჩვეულებრივ ხდება მისი განზრახ მიღების გამო. მწვავე ტოქსიკურობის ძირითადი სიმპტომებია კანის, ლორწოვანი გარსისა და კუჭ-ნაწლავის გაღიზიანება ასევე ნერვულ - კუნთოვანი სპაზმი. MCPP-ს ანტიდოტი არ არის ნაპოვნი ამიტომ მკურნალობა სიმპტომური ხასიათისაა[5]. დიქლოროპროპს ახასიათებს კარცეროგენული მოქმედება და იწვევს კიბოს. აშშ-ს გარემოს დაცვის სააგენტომ მეკოპროპი და დიქლოროპროპი შეიყვანა ტოქსიკური ნივთიერებების მესამე კლასში- მცირედ ტოქსიკურში. ორივე ნივთიერება ძველი ჰერბიციდებია, რომელიც ბაზარზე გასაყიდად შემოტანილი იქნა 1960-იან წლებში. ისინი იყიდებოდა როგორც რაცემატები, მაგრამ ჰერბიციდული მქომედება მხოლოდ R-ენანტიომერს ახასიათებს. დღესდღეობით კი შემოტანილი პროდუქტები გამდიდრებულია R-ენანტიომერის შემცველი აქტიური ინგრედიენტებით[4].



მეკოპროპი



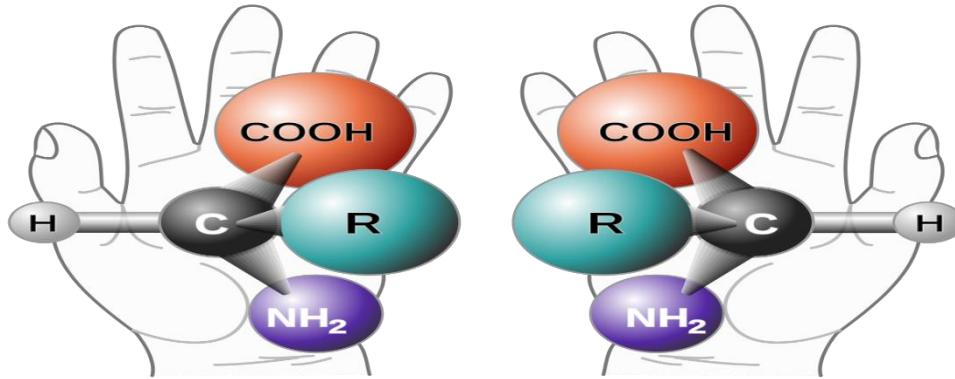
დიქლოროპროპი



## 2. ლიტერატურული ნაწილი

### 2.1. ქირალობა და ქირალური დაყოფის მეთოდები

“ქირალობა“ ძველბერძნული სიტყვაა და ხელს ნიშნავს. ქირალობა აღნიშნავს, რომ ნებისმიერი ორი საგანი ერთმანეთის მიმართ ისეთ შესაბამისობაშია, როგორც მარჯვენა და მარცხენა ხელი, ან საგანი და მისი სარკული გამოსახულება (ნახ. 1) . ქირალური შეიძლება იყოს ნივთიერება, რომლის მოლეკულაში არის ოთხი განსხვავებული ჩამნაცვლებლის მქონე ნახშირბადატომი, თუმცა არსებობს სხვა ატომებით (აზოტი, გოგირდი და ფოსფორი) ან ქირალობის სხვა ელემენტებით (დერმი, სიბრტყე) განპირობებული ქირალობის შემთხვევებიც. ენანტიომერებს ერთნაირი ფიზიკური და ქიმიური თვისებები გააჩნიათ თუმცა ისინი ბრტყლად პლანარულად სინათლეს სხვადასხვა მხარეს აბრუნებენ. აუცილებელია აღინიშნოს რომ ცოცხალი ორგანიზმები არის ჰომოქირალური, რაც იმას ნიშნავს რომ მოლეკულები, რომლებიცგანაც შედგება ცოცხალი ორგანიზმები, ე.წ. რნმ, დნმ, ამინომჟავები, პროტეინები და შაქრები ყველა არის ქირალური, ცოცხალ ორგანიზმებში ისინი მხოლოდ ერთი ენანტიომერის სახით არსებობს, მაგ: მარჯვნივბრუნავი B-დნმ, მარცხნივმბრუნავი Z-დნმ, ამინომჟავები და d- შაქრები. ამ უმნიშვნელოვანეს ბიოლოგიურ სელექტიურობას ეწოდება ჰომოქირალობა. ცოცხალ ორგანიზმში ჰომოქირალობა განაპირობებს მათ განსხვავებულ დამოკიდებულებას ერთი და იმავე საკვებდანამატის, არომატიზატორის და სამკურნალწამლო საშუალების ორი განსხვავებული ენანტიომერის მიმართ [1]. მაგალითად ასპარაგიმის შემთხვევაში S-ასპარაგინი არის მწარე გემოსი ხოლო R-ასპარაგინი ტკბილია. ცოცხალი ორგანიზმისთვის განსხვავებულად აღიქმება ის ენანტიომერები რომელი ენანტიომერიც მისთვის უფრო მისაღებია [3, 6].



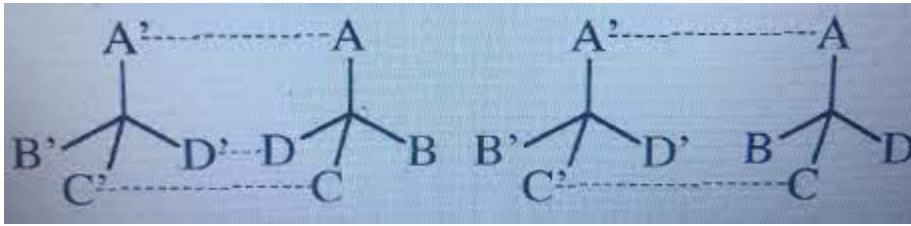
ნახ. 1 ქირალური ნივთიერება [8]

ქირალური ნივთიერებების სიმრავლემ და ფართო გამოყენებამ სამკურნალწამლო საშუალებებში, სოფლის მეურნეობასა თუ სხვა სფეროებში ქირალური დაყოფა განსაკუთრებით აქტუალური გახადა. ქირალური დაყოფის განსაკუთრებით მძლავრ და პოპულარულ მეთოდებს კაპილარული ელექტროფორეზი და ქრომატოგრაფიული მეთოდები წარმოადგენს. ამ მეთოდების უპირატესობას წამოადგენს ის, რომ მათი საშუალებით შესაძლებელია, როგორც ქირალური დაყოფის განხორციელება, ასევე ენანტიომერული სისუფთავის კონტროლი სინთეზის სხვადასხვა ეტაპზე, რაცემიზაციის პროცესის კონტროლი და პარალელურად მოვახდინოთ ხარისხის კონტროლიც. შედარებით ახალ, მაგრამ საკმაოდ მძლავრ მეთოდს ქირალურ დაყოფებში წარმოადგენს კაპილარული ელექტროქრომატოგრაფია, რომელიც აერთიანებს, როგორც კაპილარული ელექტროფორეზს, ასევე ქრომატოგრაფიის უპირატესობებს[1].

იმისთვის რომ ქირალური დაყოფა მოხდეს, აუცილებელია ქირალური სელექტორების გამოყენება, რომლებიც თავად წარმოადგენენ ქირალურ ნივთიერებებს და შესაბამისად განსხვავებულად ურთიერთქმედებენ თითოეულ ენანტიომერთან. ეს განსხვავებული ურთიერთქმედება შეიძლება გამოიხატოს, როგორც განსხვავებული სტრუქტურის კომპლექსის წარმოქმნაში. დღეისთვის ქირალური სელექტორების საკმაოდ ფართო სპექტრი არსებობს, რომელთაგან ოპტიმალურის ამორჩევა ხდება გამოყენებული მეთოდისა და ექსპერიმენტის მიზნებიდან გამომდინარე.

ქირალური გამოცნობის მექანიზმის აღსაწერად ხშირად გამოიყენება სამ წერტილოვანი

ურთიერთქმედების მეთოდი, რომელიც დაღვლიემის მიერ იქნა მოწოდებული 1950-იან წლებში (ნახ. 2). ეს მეთოდი სამი სახის ურთიერთქმედებას აღწერს ატომურ დონეზე.



ნახ.2 სამწერტილოვანი ურთიერთქმედების მოდელის დიაგრამა [1, 3].

ლიპკოვიცის მიერ მოცემულ მოდელში ქირალური დაყოფის ძირითად მოლეკულათაშორის ძალებს წარმოადგენს შემდეგი სახის ურთიერთქმედებები:

- 1) წყალბადური ბმა
- 2)  $\pi$ - $\pi$  ურთიერთქმედება
- 3) იონური ურთიერთქმედება (მართალია იონური ურთიერთქმედებას ქირალურ დაყოფაში იმხელა მნიშვნელობა არ აქვს, როგორც ზემოთ ჩამოთვლილ ურთიერთქმედებებს, მაგრამ იგი შეიძლება ქირალური დაყოფის დამხმარე ფაქტორად იყოს წარმოდგენილი)[1, 3].

## 2.2 კაპილარული ელექტროფორეზის მეთოდი, დაყოფის პრინციპი, ხელსაწყოთა აგებულება

კაპილარული ელექტროფორეზი ნივთიერებათა დაყოფის ელექტროკინეტიკურ მეთოდს წარმოადგენს. კაპილარული ელექტროფორეზის სისტემა პირველად შექმნა 1965 წელს ჰერტენმა ცილების, ნუკლეინის მჟავებისა და არაორგანული იონების დასაყოფად. მაღალეფექტური დაყოფების პირველად გამოქვეყნების შემდეგ, 1980 წლიდან წინა პლანზე წამოიწია კაპილარული ელექტროფორეზის მეთოდის პოტენციალი, რასაც ხელი შეუწყო ჯორჯენსონის და ლუკასის კვლევებმა. წინა საუკუნის 80-იანი წლებიდან ეს მეთოდი აქტიურად გამოიყენება ფარმაცევტულ მრეწველობაში. მეთოდის საშუალებით შესაძლებელი იყო ნუკლეინის მჟავების და

ცილების ანალიზი, ამავე დროს ამ მეთოდს ფართო გამოყენება აქვს დაწყებული ნივთიერებათა დიდი კლასით, მცირე ზომის ორგანული და არაორგანული ნივთიერებებით და დამთავრებული შედარებით დიდი ზომის მოლეკულების კვლევაში.

კაპილარულმა ელექტროფორეზმა ზოგიერთ ანალიზში ჩაანაცვლა ტრადიციული გელ-ელექტროფორეზი და ქრომატოგრაფიული მეთოდები. ეს მეთოდი განსაკუთრებით წარმატებით გამოიყენება მცირე ზომის ქირალური მოლეკულებისთვის, მეტალების იონების განსაზღვრისთვის, აქირალური მინარევების განსაზღვრისთვის წამლებში და ა.შ.. კაპილარული ელექტროფორეზის სახეები საშუალებას იძლევა კაპილარული ელექტროფორეზი გამოვიყენოთ სხვადასხვა ტიპის ნივთიერებების საანალიზოდ.

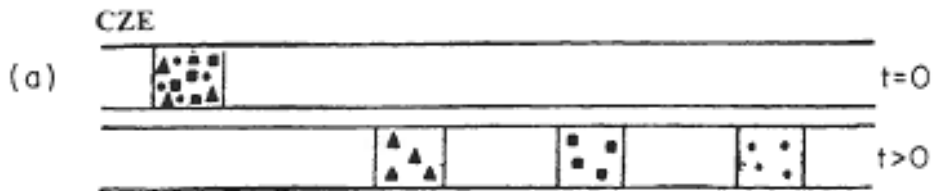
კაპილარულ ელექტროფორეზში დაყოფის მექანიზმის მიხედვით გამოყოფენ 5 ძირითად მეთოდს:

1. კაპილარული ზონური ელექტროფორეზი- capillary zone electrophoresis-CZE
2. კაპილარული ელექტროკინეტიკური ქრომატოგრაფია-Capillary electrokinetic chromatography- CEKC
3. კაპილარული გელ ელექტროფორეზი -Capillary gel electrophoresis-CGE
4. კაპილარული იზოელექტრული ფოკუსირება- Capillary isoelectric focusing-CIEF
5. იზო-ტახო-ელექტროფორეზი- Capillary isotachopheresis- CITP

### **კაპილარული ზონური ელექტროფორეზი**

ყველაზე პოპულარული მეთოდია ელექტროფორეზის ექსპერიმენტში, ამ მეთოდში ნივთიერებები იყოფა მათი განსხვავებული ელექტროფორეტული ძვრადობების გამო. ეს განსხვავება გამოწვეულია მათი განსხვავებული მუხტით მასითა და სტრუქტურით. ნიმუშში სტრუქტურის ეფექტზე უფრო მნიშვნელოვანია მასა და მუხტი. ამ მეთოდში ნივთიერებათა დაყოფა დამოკიდებულია საკვლევი ნივთიერების კომპონენტთა განსხვავებულ ძვრადობაზე ელექტრული ველის გავლენით, რაც იწვევს საკვლევ ნიმუშში ელექტროფორეტულ ძვრადობას, ხოლო კაპილარში ქმნის ელექტროოსმოტურ ნაკადს. კაპილარულ ზონურ ელექტროფორეზში ქირალური ნივთიერებების დაყოფა შესაძლებელია მხოლოდ ქირალური სელექტორების

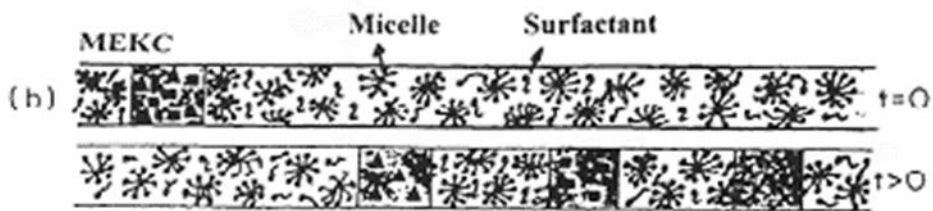
გამოყენებით. ამ მეთოდით ასევე ხდება დამუხტული ნაწილაკების დაყოფა, მაგრამ არ იყოფა ნეიტრალური ნივთიერებები, რადგან მათი ელექტროფორეტული ძვრადობები ნულის ტოლია და კაპილარში გადაადგილდებიან მხოლოდ ელექტროოსმოსის ძალით. მცირე განსხვავებაც კი საკმარისია CZE-ში დაყოფის განსახორციელებლად (ნახ.3).



ნახ.3 დაყოფის პრინციპი კაპილარულ ზონურ ელექტროფორეზში

**კაპილარული ელექტროკინეტიკური ქრომატოგრაფია**

არის მეორე რიგით ყველაზე გავრცელებული მეთოდი, ეს მეთოდი პირველად გამოიყენა ტერაბემ 1984 წელს. ეს მეთოდი ენანტიომერების დაყოფისთვის საუკეთესოა. ის ეფუძნება ელექტროფორეტულ ძვრადობას და დაყოფის ქრომატოგრაფიულ პრინციპს, ე.ი. დაყოფა ეფუძნება კომპონენტების განაწილების განსხვავებულ უნარს ბუფერსა და ფსევდოფაზას შორის(ნახ. 4). ყველაზე გამოყენებადი ფსევდოფაზებია სინთეზური და ზედაპირულად აქტიური ნივთიერებები და მიკროემულსიები, პეპტიდები, ცილები, დამუხტული მაკრომოლეკულები, დამუხტული სწორხაზოვანი ციკლური ოლიგოსაქარიდები და სხვა.

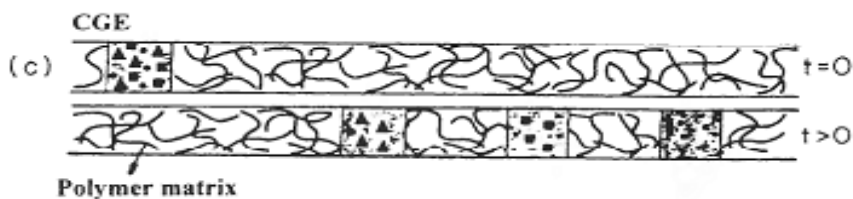


ნახ. 4 დაყოფის პრინციპი კაპილარულ ელექტროკინეტიკურ ქრომატოგრაფიაში.

ამ მეთოდის მეშვეობით შესაძლებელია ნეიტრალურ ნივთიერებათა წარევის დაყოფა, რაც შეუძლებელია კაპილარულ ზონურ ელექტროფორეზში. ამის მიზეზია ის რომ ნეიტრალურ ნივთიერებებს არ აქვთ საკუთარი ელექტროფორეტული ძვრადობები, ამიტომ ერთადერთი ძალა რაც მათ გადაადგილების საშუალებას აძლევს ბუფერში არის ელექტროოსმოსური ძვრადობა, რომელიც ყველა ნეიტრალური მოლეკულებისათვის ერთი და იგივეა, შესაბამისად ისინი ერთნაირი სიჩქარით გადაადგილდებიან, მაგრამ როდესაც ვიყენებთ ფსევდო ფაზას, ეს ნეიტრალური ნივთიერებები განსხვავებულად გადანაწილდებიან მასში- ანუ მათ აქვთ განსხვავებული სწრაფვა ფსევდოფაზისადმი და ეს განაპირობებს დაყოფას.

### კაპილარული გელ-ელექტროფორეზი

მეთოდი ეფუძნება საანალიზო ნივთიერების განსხვავებულ გადანაწილებას გელში გატარებულ ელექტროლიტში, რომელიც დამოკიდებულია მათ მუხტსა და ზომებზე, ამ ელექტროლიტში არის დამატებული გელის წარმომქმნელი ნივთიერება(ნახ.5). ეს მექანიზმი ძირითადად გამოიყენება იმ საანალიზო ნივთიერებებისთვის, რომელიც ხასიათდება დიდი მოლეკულური მასებით და მნიშვნელოვანი არიან ბიოლოგიური თვალსაზრისით როგორებიცაა ცილები, ნუკლეოტიდები და სხვა.



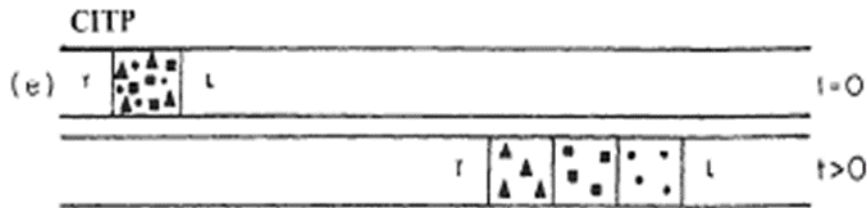
ნახ.5 კაპილარული გელ-ელექტროფორეზის დაყოფის პრინციპი.

კაპილარული გელ-ელექტროფორეზი მექანიზმის მიხედვით ახლოს არის გელ-ქრომატოგრაფიასთან. კაპილარის გამოყენებას ბევრი უპირატესობა აქვს: პირველ რიგში ის რომ შეგვიძლია გამოვიყენოთ მაღალი ძაბვა, რომელიც აუმჯობესებს გარჩევითობას და ამცირებს ანალიზის დროს. პოლიაკრილამიდი არის ერთ-ერთი

ყველაზე ფართოდ გამოყენებადი გელი ამ მეთოდში, ასევე შეიძლება გამოვიყენოთ აგაროზა, ცელულოზა და სხვა.

### კაპილარული იზოტახოფორეზი

ამ მეთოდში გამოიყენება ორი ბუფერის კომბინაცია, რომ შეიქმნას გარემო სადაც დაყოფილი ზონები გადაადგილდება ერთნაირი სიჩქარით. იზო ნიშნავს - ერთნაირს, ტახო-სიჩქარეს. ზონები ინარჩუნებენ ე.წ. სენდვიჩურ მდგომარეობას, ანუ დაყოფილი ზონები მოძრაობს ერთი და იმავე სიჩქარით, ზონები რჩება წამყვან და ბოლო ელექტროლიტებს შორის.



ნახ. 6 კაპილარული იზოტახოფორეზის დაყოფის პრინციპი

იზოტახოფორეზის შემთხვევაში ნიმუში შეჰყავთ ორ ელექტროლიტს შორის, რომლებიც ერთმანეთისაგან განსხვავდებიან იონების ძვრადობით. ელექტროლიტები შერჩეულია ისე, რომ მათ შეზღუდონ ნიმუშის კომპონენტების მოძრაობა.

ამ მეთოდით კათიონებისა და ანიონების ერთდროული გაანალიზების საშუალება არ გვაქვს.

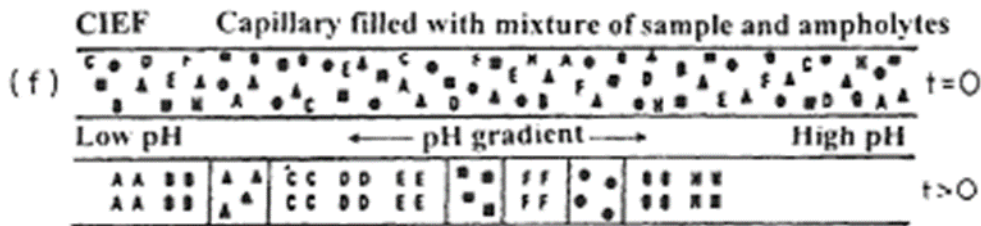
CITP უპირატესად გამოიყენება არაორგანული იონების და ორგანული კარბომჟავების დაყოფისთვის. დეტექტირების პრობლემის გამო, რომელიც დაკავშირებულია შესაბამის ელექტროლიტის მოძიების სიმძნელებთან, უცნობი შედგენილობის ნიმუშებისთვის CITP არ გამოიყენება.

კაპილარული იზო ტახოფორეზი იყო პირველი მეთოდი, სადაც ციკლოდექსტრინები გამოიყენეს როგორც ქირალური სელექტორები. ამჟამად ეს მეთოდი აღარ გამოიყენება

ქირალური დაყოფისთვის და ის სრულად შეცვალა კაპილარული ელექტროკინეტიკური ქრომატოგრაფიის მეთოდმა-(CEKC).

**კაპილარული იზოელექტრული ფოკუსირება**

ეს მეთოდი კლასიკურ ელექტროფორეზში წარმოადგენს ერთ-ერთ მაღალეფექტურ მეთოდს. ძირითადად ის გამოიყენება ამფოტერული ნაერთებისთვის როგორც არის ცილები და პეპტიდები, რომლებიც ერთმანეთისგან განსხვავდებიან იზოელექტრული წერტილებით. იზოელექტრული წერტილი წარმოადგენს სპეციფიკურ სიდიდეს ამფოტერული ნივთიერებებისთვის და აჩვენებს pH- ის რა მიშვნელობისთვის წყვეტს ნივთიერება მოძრაობას ელექტრული ველის გავლენით და გარეგნულად ჩანს როგორც ელექტრონეიტრალური. ამიტომ CIEF-ს გამოყენება შეიძლება აგრეთვე ცილებისა და სხვა ამფოტერული ნივთიერებებისთვის იზოელექტრული წერტილების განსაზღვრისთვის.



ნახ.7 კაპილარული იზოელექტრული ფოკუსირების მეთოდის დაყოფის პრინციპი.

დაყოფის პრინციპი არის მოლეკულების გადანაწილება განსხვავებული pH ზონებში. pH გრადიენტი იქმნება კაპილარში ისეთი ხსნარის გატარებით რომელიც შეიცავს როგორც მჟავურ ასევე ფუძე თვისებების მატარებელ ნაერთს და მისი pK მაჩვენებელი უნდა იყოს 3 დან 9-მდე. თავიდან აუცილებელია ამფოლიტების მეშვეობით შეიქმნას pH გრადიენტი. ამფოლიტებად იყენებენ პოლიამინო-პოლიკარბომჟავების ნაერთებს, რომლებიც ერთმანეთისგან განსხვავდებიან თავიანთი pH-ის მნიშვნელობებით. კაპილარული იზოელექტრული ფოკუსირებისას ელექტროოსმოსური ძვრადობა აუცილებლად უნდა ჩაიხშოს, რათა შესაძლებელი იყოს pH-ის გრადიენტის წარმოქმნა, კაპილარული იზოელექტრული ფოკუსირება შეიძლება გამოვიყენოთ იმუნოგლობულინების და ჰემოგლობინების დასაყოფად, ასევე ცილების pK



მაჩვენებლის გასაზომად, თუმცა ეს მეთოდი არ არის მოსახერხებელი ქირალური დაყოფისთვის[1, 2, 3].

## 2.2.1 ელექტროფორეტული ძვრადობა

კაპილარული ელექტროფორეზი წარმოადგენს ნივთიერებათა დაყოფის ელექტროკინეტიკურ მეთოდს, რომელიც დაფუძნებულია დამუხტული ნაწილაკების გადანაწილებაზე ბუფერულ ხსნარში ნაწილაკების ელექტროფორეტული ძვრადობების მიხედვით, ეს გადანაწილება კაპილარულ ელექტროფორეზში მიიღწევა ელექტრული ველის მოქმედებით კაპილარის ბოლოებზე. აღნიშნულიდან გამომდინარე, ელექტროფორეტული ძვრადობა ძირითად როლს თამაშობს ნაწილაკთა დაყოფაში. ელექტროფორეტული ძვრადობა ახასიათებს დამუხტულ ნივთიერებებს და აღიძვრება ელექტროლიტის გარემოში. ელექტროლიტის ხსნარების თვისებები როგორცაა pH, იონური ძალა, იონების ტიპი, დიდ გავლენას ახდენს ნივთიერებების დაყოფაზე. მუდმივი ელექტრული ველის გამოყენებისას ველის ძალა ( $E$ ),  $E=V/L$ .  $V$ - წარმოადგენს მუდმივ ძაბვას რომელიც მოდებულია კაპილარის ბოლოებზე,  $L$ - მთლიანი კაპილარის სიგრძე.

დამუხტული ნაწილაკები განიცდიან ელექტროსტატიკურ ძალას -  $F_e$ , რომელიც პროპორციულია ელექტრული ველის ძალისა და იონის მუხტის:

$$F_e = qE \quad (1)$$

სწორედ ეს ძალა აჩქარებს იონის გადაადგილებას საწინააღმდეგო დამუხტული ელექტროდისკენ. ამ დროს დიდი მნიშვნელობა აქვს გარემოს სიბლანტეს, რადგან ესა თუ ის ანალიზი ტარდება ბლანტ გარემოში, ხახუნის ძალის გამო ფერხდება ნაწილაკების გადაადგილება და ამიტომ ისინი ნელა გადაადგილდებიან ელექტროდისაკენ. სტოკის მიხედვით, სფერული ნაწილაკებისთვის ხახუნის ძალა ტოლია:

$$F_f = 6\pi\eta r v \quad (2)$$

სადაც-  $\eta$  არის სითხის სიმკვრივე,  $r$ -ნაწილაკის ან იონის რადიუსი,  $v$ - მიგრაციის სიჩქარე. დამუხტული სტატიკური გადაადგილება იწყება იმ მომენტიდან როდესაც კაპილარის ბოლოებზე ხდება ელექტრული ველის მოდება. სწორედ იონის მუდმივი სიჩქარე, რომლებიც გადაადგილდებიან კაპილარში გამოისახება, როგორც ნამრავლი ელექტროფორეტული ძვრადობისა  $-\mu$  და ელექტრული ველისა  $E$ :

$$v = \mu_e E \quad (3)$$

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

$$\mu_e = q / \pi \eta z = v / E \quad (4)$$

ელექტროფორეტული ძვრადობა წარმოადგენს იონის მახასიათებელ სიდიდეს მოცემულ პირობებში.

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

ნეიტრალურ ნივთიერებებს არ გააჩნიათ ელექტროფორეტული ძვრადობა  $q=0$ . ისინი გადაადგილდებიან ელექტროოსმოსის მეშვეობით რომელიც კაპილარულ ელექტროფორეზში მნიშვნელოვან წამყვან ძალას წარმოადგენს.[1, 2, 3]

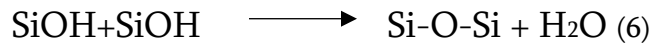
## 2.2.2. ელექტროოსმოსი

პირველი კვლევები ელექტროოსმოსის ფენომენთან დაკავშირებით ჩატარებულ იქნა ჰელმჰოლცის მიერ, რომელმაც თავდაპირველად ჰორიზონტალურ მდგომარეობაში მყოფი წყლიანი ფაზით შევსებულ კვარცის კაპილარს, რომელიც შეიცავდა დამუხტულ ნაწილაკებს, ბოლოებზე მოსდო ძაბვა. კაპილარის შიდა კედელი ძაბვის მოდების შემდეგ დაიმუხტა უარყოფითად, ხოლო გამხსნელის ფენამ, რომელიც იმყოფებოდა კედელთან და მასში არსებულმა ნაწილაკებმა შეიძინეს საპირისპირო მუხტი. სითხემ, რომელიც იმყოფებოდა კედელთან ამ პროცესის შედეგად დაიწყო მიგრაცია საწინააღმდეგოდ დამუხტული

ელექტროდის მიმართულებით, სწორედ ამ პროცესს ეწოდა ელექტროოსმოსი, ხოლო ხსნარის ელექტროოსმოტური ძვრადობა აღიწერება შემდეგი გამოსახულებით:

$$\mu_{EOF} = E\zeta\epsilon/4\eta\pi \quad (5)$$

გამოსახულება აღწერს ელექტროოსმოტურ ძვრადობას, როგორც ფუნქციას რომელიც პირდაპირპროპორციულია ხსნარის დიელექტრიკული მუდმივისა, ზეტა პოტენციალისა და მოდებული ელექტრულის ველის, ხოლო უკუპროპორციულია ხსნარის სიბლანტის. ბუფერული ხსნარის ძვრადობას კაპილარში აღწერს შტერნის ორმაგი შრის მოდელი. თითქმის ყველა მყარი ზედაპირი იძენს ელექტრულ მუხტს ზედაპირზე. მუხტის წარმომავლობა შეიძლება იყოს მყარი ზედაპირის იონიზაცია ან ელექტროლიტების იონების ადსორბაცია მყარ ზედაპირზე. ელექტროფორეზისთვის გამოიყენება კვარცის კაპილარები დაუმუშავებელი ზედაპირით, კაპილარების გამოდნობა ხდება 1100<sup>o</sup> C-სა და უფრო მაღალ ტემპერატურაზე ამ დროს კვარცის სილანოლური ჯგუფები კონდენსირდება:



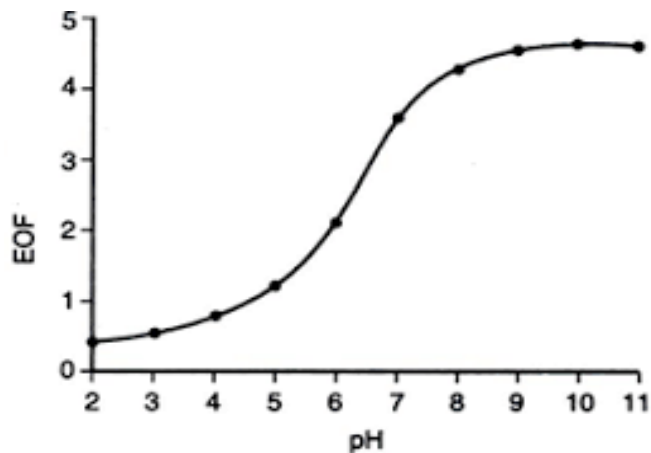
ამ დროს წარმოიქმნება დაჭიმული სილოქსანური ბმები. მას შემდეგ რაც კვარცის კაპილარში გაატარებენ წყლიან ფაზას, ხსნარის კაპილარის კედლებთან კონტაქტისას სილოქსანური ბმები აღდგება კვლავ სილანოლურ ჯგუფებად ჰიდროლიზის საშუალებით, რომლებიც შემდგომ განიცდიან იონიზაციას. ელექტროლიტურ გარემოში pH- ზე დამოკიდებულებით სილანოლური ჯგუფები შესაძლოა იყოს დადებითად დამუხტული, როგორც SiOH<sup>+</sup>



როდესაც pH < 2, მაშინ სილანოლური ჯგუფების დისოციაცია ძალიან არის შემცირებული. იმ შემთხვევაში როდესაც pH > 2-ზე ხდება სილანოლური ჯგუფების დეპროტონირება:

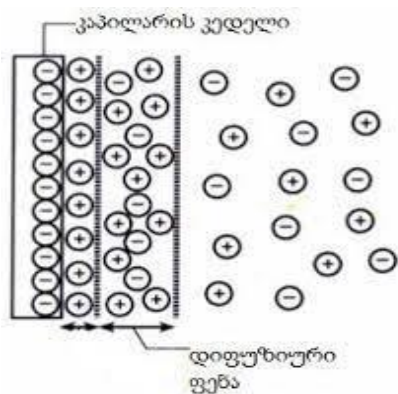


ხსნარის pH სიდიდის გაზრდით იზრდება სილანოლური ჯგუფების დისოციაციის ხარისხი. ელექტროოსმოტური ნაკადის ძალა მაქსიმალურ სიდიდეს აღწევს, როდესაც ხსნარის pH=8.0, (ნახ.8) ხოლო pH-ის შემდგომი ზრდით ელექტროოსმოსის ნაკადის ძალა რჩება მუდმივი.



ნახ. 8 ელექტროოსმოსის ნაკადის ძალის დამოკიდებულება ხსნარის pH-ზე [1]

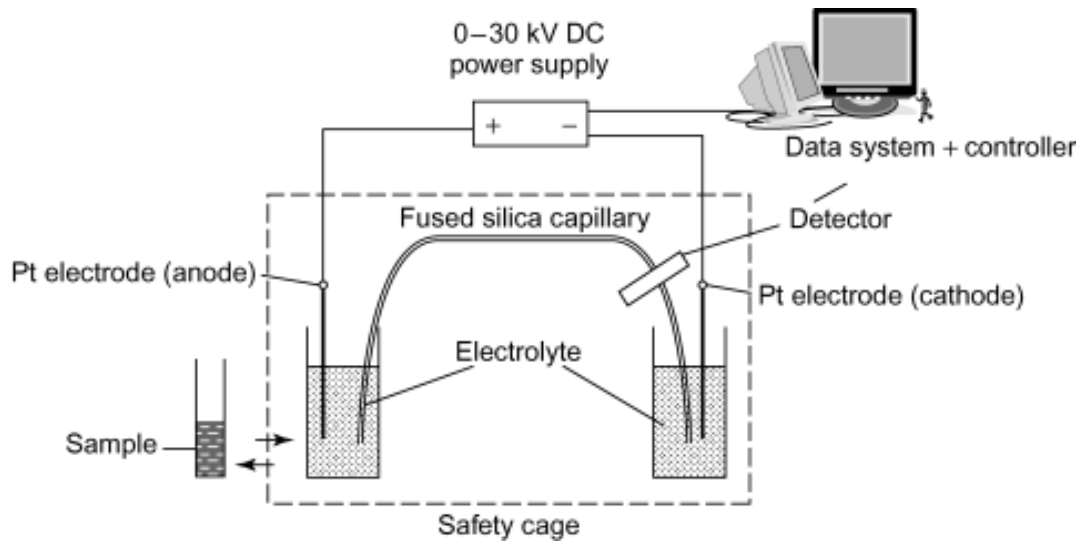
შტერნის მოდელის მიხედვით ორმაგი შრე, ადსორბირებული იონით წონასწორობაშია გარეთა დიფუზურ ფენასთან. ელექტრული პოტენციალი იკლებს წრფივად კედლიდან მანძილის გაზრდასთან ერთად დიფუზურ ფენაში. დიფუზური ორმაგი შრის პოტენციალს ეწოდება ზედა პოტენციალი. წარმოსახვითი საზღვარი მკაცრად განსაზღვრულ ფენასა და დიფუზურ ფენას შორის ცნობილია როგორც გამყოფი ზედაპირი. დიფუზურ ფენაში ყოველთვის ჭარბობს დადებითი მუხტი და ელექტრული ველის მოდების შემდეგ დადებითად დამუხტული იონები იწყებენ გადაადგილებას კათოდისკენ. კედელთან არსებული ხსნარის ნაწილის ხახუნის გამო ნაკადის სიჩქარე კედელთან ნულის ტოლია, მანძილის გაზრდით მისი სიჩქარე იზრდება ორმაგი შრის რეგიონში და აღწევს მაქსიმუმს კედლიდან გარკვეულ მანძილზე, თუმცა ძალიან ახლოს. ხსნარის ეს ნაწილი ამის გამო მიგრირდება მაქსიმალური სიჩქარით [1,2].



ნახ. 9 შტერნის ორმაგი შრის მოდელი [1]

## 2.2.3 კაპილარული ელექტროფორეზის ხელსაწყოთა აგებულება

დიაგრამაზე მოცემულია კაპილარული ელექტროფორეზის ხელსაწყოთა ზოგადი სქემა რომელიც შედგება:



ნახ. 10 კაპილარული ელექტროფორეზის ხელსაწყოთა სქემა [11]

1. ვიწრო დიამეტრის მქონე კაპილარისგან სადაც ხდება ნივთიერებების დაყოფა ერთ ფაზაში.
2. მაღალი ძაბვის წყაროსგან;
3. პლატინის ელექტროდებისაგან;
4. Inlet და outlet რეზერვუარებისგან, რომლებშიც ბუფერული ან ქირალურ სელექტორებიანი ბუფერული ხსნარებია მოთავსებული.
5. დეტექტორისგან;

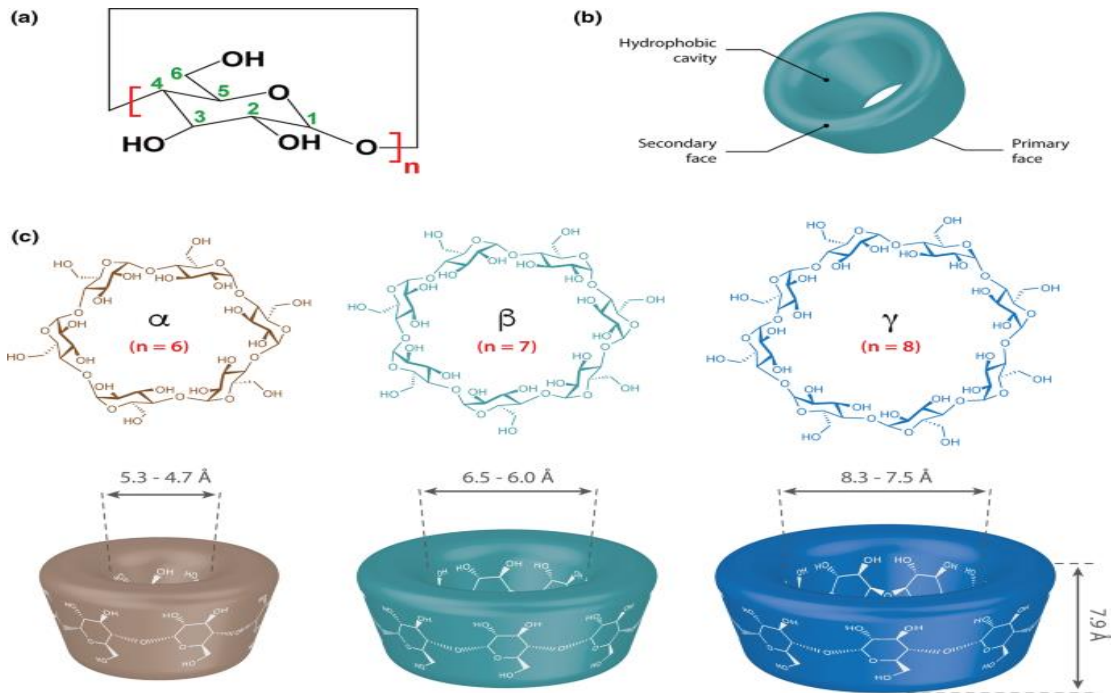
მაღალი ძაბვის წყარო, რომელიც საშუალებას იძლევა 30 კვ-მდე ძაბვის ქვეშ ჩატარდეს ანალიზები, დაკავშირებულია ორი პლატინის ელექტროდთან, რომლებიც ჩაშვებულია ბუფერის ხსნარში. კაპილარის ბოლოები ჩაშვებულია აგრეთვე ორ ბუფერულ ხსნარში (inlet და outlet ბოთლებში) პლატინის ელექტროდების გავლით. კაპილარულ ელექტროფორეზში გამოყენებული კაპილარები გარედან დაფარულია პოლიიმიდის ფენით მოქნილობის გასაზრდელად. დაახლოებით 9სმ-სიგრძეზე (outlet) ბოთლის მხრიდან, დეტექტორების არხამდე კაპილარს უკეთდება ფანჯარა დაახლოებით 4-5 მმ

სიგრძის პოლიიმიდის მოწვის ხარჯზე. სწორედ დეტექტორების ფანჯარაში ხდება ნივთიერებათა დეტექტირება ულტრაიისფერი გამოსხივებით, რომლის ნათურაც დაყენებულია დეტექტორების ფანჯრის პირდაპირ და მისი გამოსხივება უმზერს დეტექტორების ფანჯარაში გამავალ ნივთიერებებს. მიღებული სიგნალები ელექტრონულად ჩაიწერება პიკების სახით [3, 9].

## 2.3 ციკლოდექსტრინები

ციკლოდექსტრინები აღმოაჩინა ფრანგმა მეცნიერმა ვილიერმა, რომელმაც ციკლოდექსტრინები მიიღო კარტოფილის სახამებლისგან. მოგვიანებით კი მეცნიერებმა შესძლეს და სუფთა სახით გამოეყვს  $\alpha$  და  $\beta$  ციკლოდექსტრინები, ასევე გამოეყვს კრისტალური დექსტრინები, რომელსაც  $\gamma$ - დექსტრინი უწოდეს. მოგვიანებით გამოთქმული იქნა ვარაუდი იმის შესახებ რომ  $\alpha$ ,  $\beta$  და  $\gamma$  დექსტრინები უნდა ყოფილიყვნენ ციკლური სტრუქტურის. ეს მოსაზრება მოგვიანებით იქნა ექსპერიმენტულად შესწავლილი. ციკლოდექსტრინები წარმოადგენენ ციკლურ ოლიგოსაქარიდებს, რომლებიც შეიცავს D-(+) გლუკოპირანოზას მონომერებს, რომლებიც ერთმანეთთან დაკავშირებულნი არიან  $\alpha(1,4)$  გლიკოზიდური ბმით.

ციკლოდექსტრინებს გააჩნიათ კალათის ფორმა, რომლის შიგა ღრუ ჰიდროფობულია ხოლო გარე ზედაპირი ჰიდროფილური. (ნახ.11) შიგა შრის ჰიდროფობულობა უწყობს ხელს საკვლევ ნიმუშსა და ციკლოდექსტრინს შორის ჩართული კომპლექსის წარმოქმნას. ციკლოდექსტრინები შეიცავენ, როგორც პირველად ასევე მეორეულ ჰიდროქსილის ჯგუფებს და ისინი განლაგებულნი არიან გარე შრეზე. პირველადი ჰიდროქსილის ჯგუფები მდებარეობენ 6C მდგომარეობაში ციკლოდექსტრინის ღრუს ვიწრო მხარეს ხოლო მეორეული ჰიდროქსილის 2C და 3C მდგომარეობაში ღრუს განიერ მხარეს[3].



ნახ. 11 ბუნებრივი ციკლოდექსტრინების ქიმიური სტრუქტურა და შიგა ღრუს დიამეტრი [10].

ჰიდროქსილის ჯგუფები ციკლოდექსტრინის მოდიფიცირების საშუალებას იძლევიან. შესაძლოა რომელიმე ჰიდროქსილის ჯგუფის ჩანაცვლება რომელიმე ფუნქციონალური ჯგუფით ან ციკლოდექსტრინების მოლეკულების მიზმა სილიკაგელზე ქრომატოგრაფიული ანალიზისთვის.

ცხრილი 1. ბუნებრივი ციკლოდექსტრინების ფიზიკურ- ქიმიური მახასიათებლები [3]

ციკლოდექსტრინის ტიპი	α	β	γ
გლუკოპირანოზის ნაშთების რაოდენობა	6	7	8
ჰიდროქსილის ჯგუფების რაოდენობა	18	21	24
პირველადი ჰიდროქსილის ჯგუფების რაოდენობა	6	7	8
მეორეული ჰიდროქსილის ჯგუფების რაოდენობა	12	14	16
მოლეკულური მასა	972	1135	1297

ციკლოდექსტრინის ღრუს დიამეტრი (ნმ)	0.57	0.78	0.95
ციკლოდექსტრინის ციკლის დიამეტრი(ნმ)	1.46	1.54	1.75
ღრუს მოცულობა (ნმ <sup>3</sup> )	0.176	0.346	0.510
წყალში ხსნადობა 25°C(გ/100მლ)	14.50	1.82	23.20
ჰიდროქსილის ჯგუფების pKa	12.1-12.6	12.1-12.6	12.1-12.6
სტერეოგენული ცენტრების რაოდენობა	30	35	40

C2 ნახშირბადატომთან მყოფ ჰიდროქსილის ჯგუფებს შეუძლიათ წყალბადური ბმებით დაამყარონ კავშირი მეზობლად მყოფი გლუკოპირანოზის ნაშთის C3 მდგომარეობაში მყოფ ჰიდროქსილის ჯგუფებთან. ისინი ქმნიან მეორეული ჰიდროქსილის ჯგუფებისგან წარმოქმნილ წყალბადურ ბმების სარტყელს. სწორედ ასეთი სრული სარტყლის არსებობა გავლენას ახდენს იმაზე რომ β- ციკლოდექსტრინის მხოლოდ 18მგ იხსნება 1 მლ წყალში ან წყლიან ბუფერში. ცნობილია რომ არასელექტიურად ჩანაცვლებული ციკლოდექსტრინები ხასიათდებიან მაღალი ხსნადობით წყალში, ვიდრე ბუნებრივი ციკლოდექსტრინები. მსგავსი ნარევის წყალში ხსნადობა ბევრად მეტია ვიდრე ჩვეულებრივი ციკლოდექსტრინების[3].

## 2.4. ქირალური ნივთიერებების დაყოფა ციკლოდექსტრინების გამოყენებით

ციკლოდექსტრინებით ნივთიერებათა დაყოფისთვის მნიშვნელოვანია, თუ რამდენად ერგება მოლეკულის ზომა ციკლოდექსტრინის ღრუს ზომას. ქირალურ ნივთიერებასა და ციკლოდექსტრინს შორის წამოქმნილ კომპლექსს ხშირად გააჩნიათ ერთმანეთისაგან განსხვავებული ძვრადობა და კომპლექსის მდგრადობის დრო. ეს ფაქტი განაპირობებს ზუსტად ციკლოდექსტრინების მიერ ენანტიომერების გამოცნობის უნარს. კაპილარულ ელექტროფორეზში გამოიყენება როგორც ბუნებრივი, ასევე მათი მოდიფიცირებით



მიღებული ციკლოდექსტრინები. რადგან წყლიან ბუფერში ციკლოდექსტრინები კარგად იხსნებიან და ხილულ და ულტრასფერ უბანში ამჟღავნებენ გამჭირვალობას, ამიტომაც ისინი ფართოდ გამოიყენებიან ქირალურ დაყოფებში. ენანტიომერების დაყოფა შესაძლებელია მაშინაც, როდესაც შეკავშირების მუდმივები ორივე ენანტიომერსა და ქირალურ სელექტორს შორის არის ერთნაირი.

ენანტიომერების დაყოფისთვის არ არის აუცილებელი შეკავშირების მუდმივების განსხვავებულობა. თეორიულად შესაძლებელია ენანტიომერების ერთმანეთისგან დაყოფა, როდესაც მათ გააჩნიათ ერთნაირი შეკავშირების მუდმივები, მაგრამ შესაბამის დიასტერეომეტრულ კომპლექსებს განსხვავებული ძვრადობა აქვთ.

$$\Delta\mu = \mu_1 - \mu_2 = \mu_f + \mu C_1 K_1 [C] / 1 + K_1 [C] - \mu_f + \mu C_2 K_2 [C] / 1 + K_2 [C] \quad (9)$$

$\mu_1$  და  $\mu_2$  არის პირველი და მეორე ენანტიომერების ძვრადობები.  $K_1$  და  $K_2$  არის პირველი და მეორე ენანტიომერის შეკავშირების მუდმივები ქირალურ სელექტორთან.  $\mu_f$  და  $\mu C$  თავისუფალი და კომპლექსირებული ნივთიერების ძვრადობები,  $[C]$  - ქირალური სელექტორის კონცენტრაცია .

$$K_1 = K_2 = K$$

$$\text{მაშინ: } \Delta\mu = \mu_1 - \mu_2 = K[C](\mu C_1 - \mu C_2) / 1 + K[C] \quad (10)$$

$$\mu C_1 \neq \mu C_2$$

კომპლექსწარმოქმნისთვის საჭირო ძალები არაკოვალენტურია. ძირითადი მოლეკულათაშორისი ძალებია ჰიდროფობური, ელექტროსტატიკური და ვან დერ ვაალსური. კომპლექსების უმეტესობა წარმოიქმნება ციკლოდექსტრინის განიერი მხრიდან, თუმცა არის შემთხვევები როდესაც კომპლექსი წარმოიქმნება ციკლოდექსტრინის პირველადი ვიწრო მხრიდან.

დროს, რომელსაც ნივთიერება კაპილარში ატარებს გარდამავალი კომპლექსის სახით დამოკიდებულია შეკავშირების მუდმივებზე. ასევე გარე პარამეტრებზე როგორცაა, ქირალური სელექტორის კონცენტრაცია, ტემპერატურა, ხსნარის pH. კომპლექსწარმოქმნის წონასწორობა ამ პროცესში შეიძლება ძლიერ იქნას გადახრილი კომპლექსწარმოქმნის

მიმართულებით, მაგრამ ეს მოითხოვს ქირალური სელექტორის მაღალ კონცენტრაციას ან განსხვავებულ კომპლექსაციის უნარს [2, 3].

## 2.5. ბირთვულ-მაგნიტური რეზონანსის სპექტროსკოპია

1896 წელს ჰოლანდიელი მეცნიერის პიტერ ზეემანის აღმოჩენა ბირთვულ-მაგნიტური სპექტროსკოპიის მოვლენას საფუძვლად დაედო. სპინების ორიენტაციის ცვლილება მაგნიტური ველის მიმართულებით ან მის საწინააღმდეგოდ ძლიერი მაგნიტური ველის გავლენით ხდება, რაც იწვევს ენერგეტიკული დონეების დაქვანტვას. რაც უფრო მაღალია მაგნიტური ველი მით უფრო დიდია განსხვავება მოცემულ ენერგეტიკულ დონეებს შორის.

ბირთვულ მაგნიტური რეზონანსის ექსპერიმენტში ბირთვების ენერგეტიკულ დონეებზე გადასვლა ხორციელდება ბირთვულ სისტემაში დამატებით მაგნიტური ველის მოდებით, კერძოდ, ისეთი მაგნიტური ტალღის ზემოქმედებით, რომლის ენერგია და სიხშირე სპეციფიურად არის შერჩეული. დაბალი ენერგეტიკული დონიდან მაღალი ენერგეტიკულ დონეზე გადასვლისას ხდება ენერგიის აბსორბცია, ხოლო საპირისპირო მიმართულებით გადასვლის დროს ადგილი აქვს ენერგიის ემისიას. ყოველი გადასვლა დაკავშირებულია ბირთვის სპინის ორიენტაციის ცვლილებასთან.

რეზონანსის პირობა ჩაიწერება შემდეგი სახით :

$$v = (\gamma/2\pi) B_0 \quad (11)$$

თუ ენერგეტიკულ დონეზე დასახლებები ერთმანეთის ტოლია, მაშინ აბსორბციას და ემისიას ერთნაირი მნიშვნელობები ექნებათ და სიგნალი არ გვექნება.

კვანტური მექანიკის მიხედვით დასაშვებია მხოლოდ ის გადასვლები, რომლის დროსაც მაგნიტური კვანტური რიცხვი მხოლოდ ერთი ერთეულით იცვლება, ანუ გადასვლა ხდება მხოლოდ მეზობელ ენერგეტიკულ დონეებს შორის.

რეზონანსის სიგნალის მდებარეობა ქიმიური წანაცვლების სკალაზე დამოკიდებულია ატომბირთვის მონაწილეობაზე ქიმიური ბმების წარმოქმნაში და მის გარემოცვაზე, ხოლო რეზონანსული სიგნალის ფართობი, ატომბირთვების იმ რაოდენობაზე, რომლებიც

მონაწილეობს რეზონანსული სიგნალის წარმოქმნაში. რეზონანსული სიგნალის წარმოქმნაში პასუხისმეგებელმა ატომების მეზობელმა ბირთვებმა შეიძლება გამოიწვიოს ამ სიგნალის გახლეჩა.

ორგანულ მოლეკულებში ატომბირთვების შესახებ ძირითად ინფორმაციას იძლევა სიგნალის ფართობი და მულტიპლეტობა.

ბმრ ექსპერიმენტში მონაწილე ბირთვებს აუცილებლად უნდა გააჩნდეთ მუდმივი მაგნიტური მომენტი. ასეთი მომენტი განპირობებულია ბირთვული სპინით, ანუ ატომბირთვის ბრუნვით თავისი ღერძის გარშემო.

ატომბირთვების დიდი ნაწილი ფლობს ბირთვულ ანუ შინაგან კუთხურ მომენტს P. ატომბირთვი წარმოადგენს სფერულ ნაწილაკს, რომელიც ბრუნავს საკუთარი ღერძის გარშემო. ატომბირთვის დამახასიათებელი ბევრი სხვა სიდიდეების მსგავსად ბირთვის კუთხური მომენტიც დაქვანტულია.

$$P = \sqrt{I(I + 1)} * \hbar \quad (12)$$

$$\hbar = h/2\pi$$

სადაც, h -პლანკის მუდმივაა ( $6,6256 * 10^{-34}$  ჯ.წმ), I- არის კუთხური მომენტის კვანტური რიცხვი, რომელსაც ბირთვის სპინს უწოდებენ. კუთხური მომენტი მჭიდრო კავშირშია მაგნიტურ მომენტთან -  $\mu$ . ეს სიდიდეები ვექტორულეზია და ერთმანეთის პროპორციულეზი არიან.

$$\vec{\mu} = \gamma P \quad (13)$$

$\gamma$  -პროპორციულობის კოეფიციენტია და წარმოადგენს გირომაგნიტურ მუდმივას. ბირთვის მგრძნობიარობა ბმრ ექსპერიმენტის მიმართ დამოკიდებულია  $\gamma$  სიდიდეზე. ბირთვები რომლებიც ხასიათდებიან  $\gamma$  სიდიდის მაღალი მნიშვნელობით მგრძნობიარენი არიან ბმრ სპექტროსკოპიის მიმართ.

( 12) და (13) გამოსახულების გაერთიანებით მაგნიტური მომენტი გამოსახება შემდეგნაირად

$$\mu = \gamma \sqrt{I(I + 1)} * \hbar \quad (14)$$

ბირთვებს, რომელთა სპინი ნულის ტოლია მაგნიტური მომენტი არ გააჩნიათ. ასეთი ბირთვების ჯგუფს მიეკუთვნება <sup>12</sup>C იზოტოპი და <sup>16</sup>O იზოტოპი. ეს ფაქტორი მიუთითებს იმას რომ ორგანული ნაეთების შემადგენელი ძირითადი ნაწილების ანალიზი ბმრ სპექტროსკოპიით შეუძლებელია.

ბმრ სპექტროსკოპია ფართოდ გამოიყენება პროტინების, პოლინუკლეოტიდების, ოლიგოსაქარიდების და პოლისაქარიდების ანალიზებში.

უკანასკნელი სამი ათწლეულის მანძილზე შემუშავდა ბმრ- მეთოდები, რომელთა საშუალებით შესაძლებელი გახდა ბმრ სპექტროსკოპიის გამოყენება სამედიცინო სფეროში.

1973 წლიდან ლაუტერბარმა წამოიწყო დიდი ზომის ობიექტების ბმრ - გამოსახულებების გენერირება. პირველი კვლევები განხორციელდა წყლის განაწილების შესასწავლის მიზნით ორგანიზმში. გაცილებით მიმზიდველი გახდა მაგნიტურ რეზონანსული ტომოგრაფია მას შემდეგ, რაც გაირკვა რომ წყლის პროტონების რელაქსაციის T<sub>1</sub> და T<sub>2</sub> დროების თავისებურება დამოკიდებულია იმაზე, თუ როგორ არის შეკავშირებული წყალი ორგანულ ქსოვილებში. აღმოჩნდა რომ წყლის პროტონების T<sub>1</sub> და T<sub>2</sub> დროების ვარიაციების დამხერა მოხდა არა მხოლოდ განსხვავებულ ორგანულ ქსოვილებში, არამედ დაავადებულ და ჯანსაღ ქსოვილებშიც. ამ ფაქტმა შესაძლებელი გახდა ისეთი გამოსახულებების მიღება, რომელთა საშუალებითაც ზუსტად შეიძლება განისაზღვროს სიმსივნური წარმონაქმნების ადგილმდებარეობა[11].

ბოლო 25 წლის განმავლობაში ბირთვულ მაგნიტური ექსპერიმენტი ფართოდ გამოიყენება ქირალური ანალიზში სტექიომეტრიის, შეუღლების მუდმივასა და სელექტორ -სელექტანდის მიერ წარმოქმნისი კომპლექსის სტრუქტურის დადგენისთვის, რაც ახსნიდა კაპილარულ ელექტროფორეზში მიღებული ენანტიომერების დაყოფის ფაქტორებსა და ქირალური გამოცნობის მექანიზმებს. [3, 11]

## 2.6. ROESY- სპექტროსკოპია

ატომბირთვებს შორის შეიძლება მოხდეს სივრცული შეუღლება, რომელსაც დიპოლურ დიპოლური შეუღლება ეწოდება. ეს მოვლენა ცნობილია ბირთვული ოვერჰაუზერის ეფექტის (NOE) სახელით. შესაბამის ექსპერიმენტებს კი ეწოდება NOESY და ROESY. დიპოლ-დიპოლური შეუღლება ხორციელდება ერთმანეთთან სივრცულად დაახლოებულ ბირთვებს შორის. დიპოლ-დიპოლური ურთიერთქმედება, რომელიც პასუხისმგებელია ლონგიტუდინალურ რელაქსაციაზე, პროპორციულია  $1/r^6$  სიდიდის, სადაც  $r$ - არის მანძილი ბირთვებს შორის. NOE-ს მაქსიმალური ინტენსივობა და მისი წარმოქმნის სიჩქარე დამოკიდებულია მოლეკულის კორელაციის დროზე, მასასა და პროტონებს შორის მანძილზე.

დიდი მოლეკულებისთვის NOE წარმოიქმნება სწრაფად, ხოლო მცირე მოლეკულებისთვის ნელა. პროტონებისთვის, რომელთა შორის მანძილი მცირეა NOE სწრაფად წარმოიქმნება, ამიტომ საჭიროა მოკლე შერევის დრო. დიდ მოლეკულებისთვისაც საჭიროა მოკლე შერევის დრო, ამიტომ ექსპერიმენტის სწორად წარმართვასა და შეცდომების თავიდან არიდების მიზნით საჭიროა შერევის დროის სწორად მითითება. 1) პატარა მოლეკულებისთვის - 0.5-1წმ. 2) საშალო მოლეკულებისთვის 0,1-0,5 წმ. ხოლო 3) დიდი მოლეკულებისთვის 0,05-0,2 წმ.

ROESY ექსპერიმენტი ძირითადად გამოიყენება საშუალო ზომის მოლეკულების კვლევისთვის. სტანდარტულ ბირთვულ- მაგნიტურ ექსპერიმენტში ჯვარედინი რელაქსაცია დაიმზირება  $z$ - დამაგნიტების საწყისი მდგომარეობიდან. ROESY ექსპერიმენტში წონასწორული მდგომარეობა ბრუნდება  $x$ - ღერძზე, ხოლო შემდეგ სპინის ბლოკირება ხდება შიგა მაგნიტური ველით ისე, რომ მას შეუძლია პროცესირება. ეს მეთოდი გამოიყენება მოლეკულების კვლევისათვის რომელთა მასა დაახლოებით 1000 დალტონის ტოლია. ROESY ექსპერიმენტი დიდი ინფორმაციას გვაძლევს სელექტორ- სელექტანდს შორის წარმოქმნილი კომპლექსის აგებულების შესახებ. ამ დროს ნიმუშთან ერთად ხდება ქირალური სელექტორის პროტონის დასხივება, რათა მივიღოთ მისგან 3-5 ანგსტრემით დაშორებული ყველა პროტონის სიგნალი [3, 11].

## 2.7. ბირთვულ- მაგნიტური რეზონანსის სპექტროსკოპიის უპირატესობები

ბმრ სპექტროსკოპია ფართოდ გამოიყენება სელექტორსა და სელექტანდს შორის მოლეკულათაშორისი არაკოვალენტური კავშირების დასახასიათებლად.

1. ბმრ სპექტროსკოპია გვაძლევს მნიშვნელოვან ინფორმაციას სელექტორ- სელექტანდის მიერ წარმოქმნილი კომპლექსის სტრუქტურისა და მისი მოლეკულური დინამიკის შესახებ.
2. ეს მეთოდი საშუალებას გვაძლევს განვსაზღვროთ სელექტორ-სელექტანტის მიერ წარმოქმნილი კომპლექსის თერმოდინამიკური პარამეტრები: სტექიომეტრია, შეკავშირების მუდმივა, გიბსის თავისუფალი ენერგია, ენთალპია და ენტროპია.
3. NOE-დან მიღებული ინფორმაცია მარტივად ინტერპრედირებადი და პირდაპირია, ამით განსხვავდება სხვა ტექნიკებისგან.
4. ბმრ სპექტროსკოპიაში მიღებული სიგნალების საფუძველზე შესაძლებელია შევაროვოთ ინფორმაცია, თუ რატომ იცვლება კაპილარულ ელექტროფორეზში საკვლევი ნივთიერების ენანტიომერების მიგრაციის რიგი სხვადასხვა ქირალურ სელექტორთან კომპლექსწარმოქმნის დროს.

### 3. ექსპერიმენტული ნაწილი

#### 3.1 ექსპერიმენტის ზოგადი მიმოხილვა

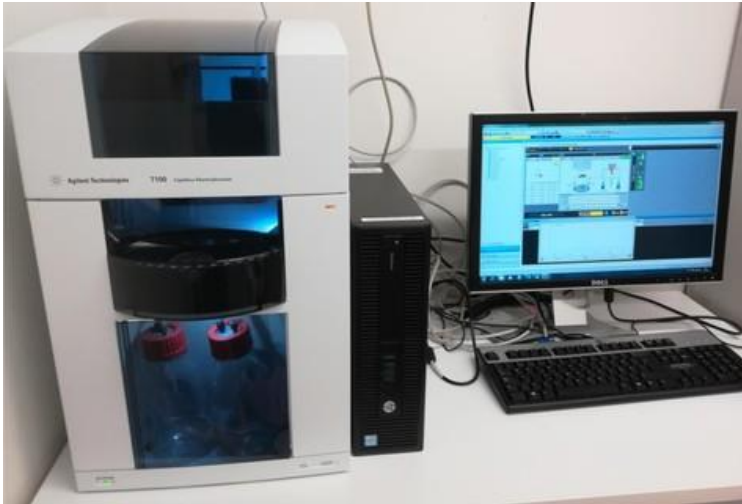
ექსპერიმენტის მიზანი იყო კაპილარული ელექტროფორეზის საშუალებით დაგვედგინა ზოგიერთი ქირალური ნივთიერების და ციკლოდექსტრინების არაკოვალენტური ურთიერთქმედების მექანიზმი და მიგრაციის რიგის ცვლილება ქირალური ნივთიერების ურთიერთქმედების დროს სხვადასხვა სახის ციკლოდექსტრინებთან. ასევე ბმრ სპექტროსკოპიით შეგვესწავლა სელექტორ-სელექტანტის მიერ წარმოქმნილი კომპლექსის სტრუქტურა და არაკოვალენტური ურთიერთქმედების მექანიზმი.

1. განხორციელდა სხვადასხვა სტრუქტურის მქონე ქირალური ნივთიერებების ენანტიომერების, კერძოდ კი ჰერბიციდების მეკოპროპის და დიქლოროპროპის ენანტიომერების დაყოფა კაპილარული ელექტროფორეზის მეთოდით. ქირალურ სელექტორებად გამოყენებული იყო როგორც ბუნებრივი ისე:  $\beta$ - ციკლოდექსტრინის მოდიფიცირებული ნაწარმები კერძოდ, DM- $\beta$  და TM- $\beta$  ციკლოდექსტრინები.
2. კაპილარული ელექტროფორეზის გამოყენებით დადგენილ იქნა ზემოთნახსენები ნივთიერებების ენანტიომერების მიგრაციის რიგი სხვადასხვა ქირალური სელექტორების გამოყენებით. მეკოპროპის ენანტიომერების დაყოფა მოხდა  $\beta$ -, ასევე DM- $\beta$  და TM- $\beta$  ციკლოდექსტრინების გამოყენებით, ხოლო დიქლოროპროპის ენანტიომერები დავყავით  $\beta$ - და TM- $\beta$  ციკლოდექსტრინების გამოყენებით.
3. ბირთვულ მაგნიტური რეზონანსის სპექტროსკოპიის გამოყენებით მოვახდინეთ რეზონანსული სიგნალების მიკუთვნება როგორც ციკლოდექსტრინის, ისე დიქლოროპროპისათვის . დავადგინეთ სელექტორ-სელექტანტის წარმოქმნილი კომპლექსის სავარაუდო სტრუქტურა.

### 3.2. გამოყენებული ხელსაწყოები

ექსპერიმენტში გამოყენებული იქნა შემდეგი ხელსაწყოები:

- 1) Agilent Technologies 7100 მოდელის კაპილარული ელექტროფორეზის აპარატი



ნახ. 12 კაპილარული ელექტროფორეზის ხელსაწყო [12].

ხელსაწყოს აგებულება ასეთია:

- 1) მაღალი ძაბვის წყარო
- 2) პლატინის ელექტროდები
- 3) Inlet და outlet რეზერვუარები რომლებშიც ბუფერული ან ქირალური სელექტორიანი ბუფერული ხსნარებია მოთავსებული.
- 4) დიოდური ულტრასფერი დეტექტორი
- 5) ავტოსემპლერი
- 6) კაპილარი

2) ნიმუშის წონაკის აწონვა ხდებოდა ნახევრადმიკრო სასწორზე მოდელი Kern ABJ-NM-ის გამოყენებით (Kern, გერმანია)

3) კვარცის კაპილარები მოწოდებული იქნა Polymicro Technologies (ფოენიქსი, არიზონას შტატი, აშშ) მიერ.

ასევე ექსპერიმენტის ჩატარების დროს გამოვიყენეთ pH მეტრი და ულტრაბგერითი აბაზანა.



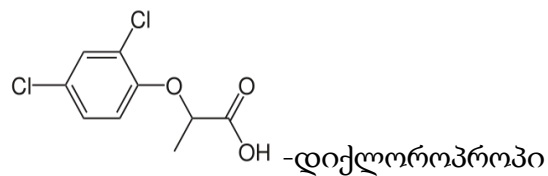
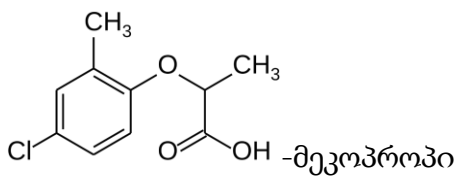
- 4) ბირთვულ- მაგნიტური რეზონანსის ექსპერიმენტში გამოყენებული იყო Brucker 400 მეგაჰერციანი ბირთვულ-მაგნიტური რეზონანსის ხელსაწყო.



ნახ.13 ბირთვულ-მაგნიტური რეზონანსის სპექტროსკოპიის ხელსაწყო

### 3.3.ექსპერიმენტში გამოყენებული რეაქტივები და მასალები

ექსპერიმენტის ჩატარების დროს გამოვიყენებულ იქნა რაცემული :



ქირალურ სელექტორებად გამოვიყენეთ როგორც ბუნებრივი ისე მოდიფიცირებული ციკლოდექსტრინები:

- β-ციკლოდექსტრინი
- დი-მეთილ- β- ციკლოდექსტრინი-- ჰეპტაკის(2,6-დი-O-მეთილ)-β-CD (DM-β-CD)

- ტრი-მეთილ-β- ციკლოდექსტრინი --ჰეპტაკის(2,3,6-ტრი-0-მეთილ)-β-CD (TM-β-CD)

აქირალურ ბუფერად გამოვიყენეთ კალიუმის დიჰიდროფოსფატის 50 მილიმოლური ხსნარი, ზმრ ექსპერიმენტში გამოყენებული იყო დეიტერირებული წყალი D<sub>2</sub>O და დეიტერირებული მეთანოლი.

ანალიზის დაწყების წინ კაპილარული ელექტროფორეზის ხელსაწყო ირეცხებოდა წყლის, ნატრიუმის ტუტისა NaOH და მეთანოლის გამოყენებით.

გამოყენებული ხსნარები იფილტრებოდა მემბრანულ ფილტრში (0.2მკმ)

### 3.4. კაპილარული ელექტროფორეზის ექსპერიმენტი

კაპილარული ელექტროფორეზის ხელსაწყო გამოყენებით ჩვენს მიერ დაყოფილ იქნა მეკოპროპის, დიქლოროპროპის, ენანტიომერები ციკლოდექსტრინების გამოყენებით. ანალიზი ჩატარდა როგორც ბუნებრივ β-ციკლოდექსტრინზე, ასევე მოდიფიცირებულ დიმეთილ-β და ტრიმეთილ-β-ციკლოდექსტრინებზე.

მეკოპროპის მომზადების დროს 1მგ მეკოპროპის რაცემატს დავუმატეთ 1მგ მეკოპროპის სუფთა ენანტიომერი და გავხსენით 850 მკლ მეთანოლში, სრულად გახსნის შემდეგ დავუმატეთ 150 მკლ 50 მილიმოლური კალიუმის დიჰიდროფოსფატის ბუფერი. pH-2.51. აქირალური ბუფერის დამატება ნიმუშში აუცილებელია, რადგან არ მოხდეს ინიცირებისას ძაბვის დავარდნა. როგორც ვიცით მეთანოლი არ ატარებს დენს და თუ მხოლოდ ნიმუში მეთანოლში იქნებოდა გახსნილი არ გაატარებდა დენს და ძაბვა დავარდებოდა.

კაპილარულ ელექტროფორეზში ანალიზს ვატარებდით შემდეგი თანმიმდევრობით: პირველ რიგში ყოველი ინიცირების წინ კაპილარი ირეცხებოდა მეთანოლით(200, 500წმ), წყლით(30წმ) და 1M NaOH-ის (300წმ) გამოყენებით. კაპილარის რეცხვის ციკლი ტარდებოდა დაახლოებით 1 ბარი წნევის ქვეშ.

თავდაპირველად ანალიზს ვატარებდით აქირალურ ბუფერში, მართალია აქ ენანტიომერების დაყოფა არ ხდება, მაგრამ ვაკვირდებოდით გამოსული პიკის ზომას ფორმას და ნივთიერების ძვრადობას, ასევე მიახლოებით ვხვდებოდით რა დროში შეიძლება დაყოფილიყო ენანტიომერები.

ამის შემდეგ კაპილარი ავავსეთ ქირალური ბუფერით და ჩავატარეთ ანალიზები შემდეგი თანმიმდევრობით:

- 1) წნევა 100 მილიბარი,
- 2) წნევა 50 მილიბარი და ძაბვა-30კვ,
- 3) წნევა 25 მილიბარი და ძაბვა-30კვ,
- 4) წნევა 10 მილიბარი და ძაბვა-30კვ,
- 5) მხოლოდ ძაბვა 25კვ.

წნევით ჩატარებულ ანალიზებში არ ხდება ენანტიომერების დაყოფა, ამ დროს შეგვიძლია დავაკვირდეთ პიკის ფორმას და ფართობს. რადგან ქირალურ სელექტორებად გამოყენებული იყო სხვადასხვა კონცენტრაციის ციკლოდექსტრინები ნივთიერების ინიცირების დროს მოცულობას და წნევას ვცვლიდით, რადგან მაქსიმალურად მაღალეფექტური დაყოფები მიგველო, ასევე იცვლებოდა ექსპერიმენტის ჩატარების პირობები.

მეკოპროპის ენანტიომერების დაყოფის შემთხვევაში ძაბვა იყო 30კვ, დიქლოროპროპის შემთხვევაში 25კვ, კაპილარის შიგა დიამეტრი -50მკმ, კაპილარის ეფექტური სიგრძე-60სმ, კაპილარის სიგრძე ფანჯრიდან 9სმ.

გამოყენებული ბუფერი -50 მილიმოლური კალიუმის დიჰიდროფოსფატი, pH=2.51

ნიმუშის ინიცირება ხდებოდა 30მილიბარი წნევით 1 წამის განმავლობაში.

ექსპერიმენტი ტარდებოდა 20° C მუდმივი ტემპერატურის პირობებში. დეტექტირება ხდებოდა 200 -220ნმ. ტალღის სიგრძეზე.

### 3.5. ბირთვულ-მაგნიტური რეზონანსის სპექტროსკოპიის

#### ექსპერიმენტი

დიქლოროპროპისა და ბეტა-ციკლოდექსტრინის შემთხვევაში გამხსნებად გამოყენებული იყო დეიტერირებული წყალი. ციკლოდექსტრინის კონცენტრაცია იყო

0,036გ/მლ, ხოლო დიქლოროპროპის 0,018გ/მლ. ანალიზი ჩატარდა 25<sup>0</sup> C ტემპერატურის პირობებში. ნიმუში მომზადდა 5 მმ დიამეტრის და 15 სმ სიგრძის ცილინდრული ფორმის მინის მილაკებში.

ბმრ-ში ჩატარდა შემდეგი სახის ექსპერიმენტები:

- 1) პროტონულ-მაგნიტური რეზონანსის ექსპერიმენტი;
- 2) COSY-რომელიც გვიჩვენებს პროტონულ-პროტონულ კორელაციას.
- 3) HSQC- რომელიც გვიჩვენებს <sup>13</sup>C-პროტონების კორელაციას.

მიღებული შედეგები დავამუშავეთ სპეციალური „MestRenova“ პროგრამის საშუალებით

## 4. ექსპერიმენტის შედეგები და მათი განსჯა

### 4.1. კაპილარული ელექტროფორეზის ექსპერიმენტის შედეგები და მათი განსჯა

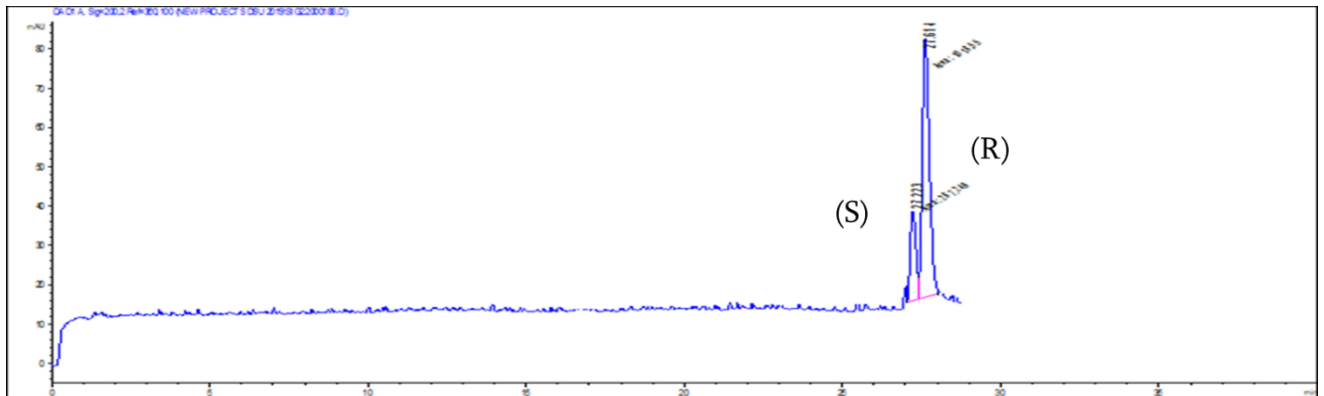
ჩვენი სამუშაოს ძირითად მიზანს წარმოადგენდა ციკლოდექსტრინების მიერ მეკოპროპის და დიქლოროპროპის ენანტიომერების ქირალური გამოცნობის და არაკოვალენტური ურთიერთქმედების მექანიზმის კვლევა. ამ მიზნით ცალკეული ციკლოდექსტრინებით დამუშავებულ იქნა ენანტიომერების დაყოფის მეთოდები კაპილარულ ელექტროფორეზში.

მეკოპროპისა ნიმუშის ანალიზი მოხდა β-; DM-β და TM-β ციკლოდექსტრინების გამოყენებით, ხოლო დიქლოროპროპის ენანტიომერები დაყავით ქირალურ სელექტორებად β- და TM-β ციკლოდექსტრინების გამოყენებით. წინა წლებში ჩატარებული კვლევების მიხედვით ვიცოდით რომ α- და γ- ციკლოდექსტრინებზე არ ხდებოდა მეკოპროპის ენანტიომერების დაყოფა.[3](ცხრილი 2)

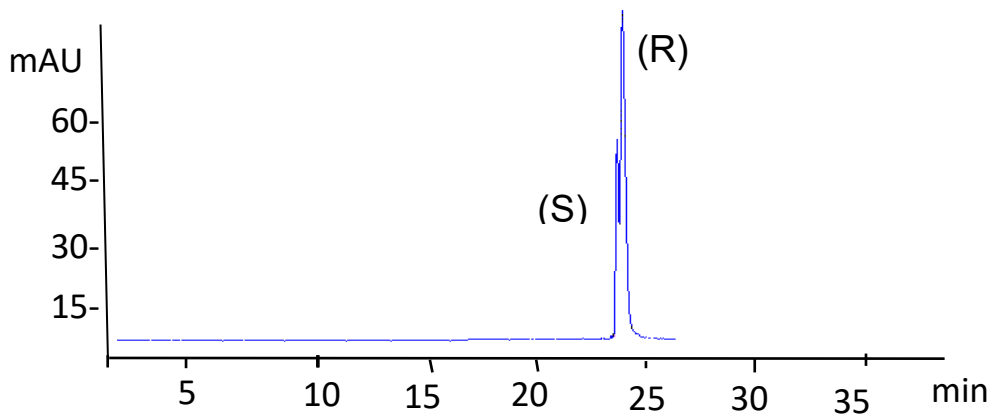
ქირალური სელექტორები	კონცენტრაცია მგ/მლ	t <sub>1</sub> წუთი	t <sub>2</sub> წუთი	a	მიგრაციის რიგი
B-CD	18 მგ/მლ	27.223	27.611	1.01	(-) (+)
DM β-CD	60მგ/მლ	24.643	24.953	1.01	(-) (+)
TM β-CD	60მგ/მლ	25.394	25.944	1.02	(+) (-)

ცხრილი 2. კაპილარულ ელექტროფორეზში მეკოპროპის ენანტიომერების დაყოფისას მიღებული შედეგები

**მეკოპროპის და დიქლოროპროპის ენანტიომერების დაყოფა β ციკლოდექსტრინის გამოყენებით**



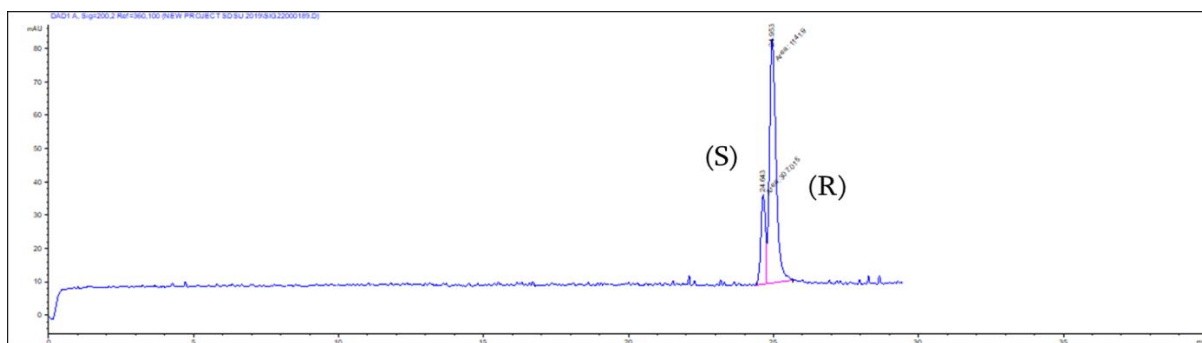
ნახ.14 მეკოპროპის ენანტიომერების დაყოფა ბუფერი:18მილიმოლური β-ციკლოდექსტრინი და 50 მილიმოლური KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> , pH=2.51 ძაბვა-30კვ.



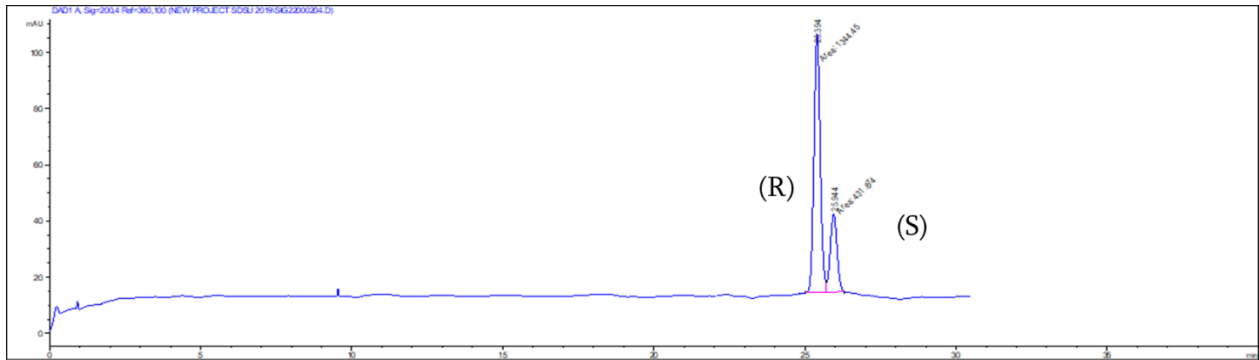
ნახ. 15 დიქლოროპროპის ენანტიომერების დაყოფა ქირალურ სელექტორად  $\beta$ - ციკლოდექსტრინის გამოყენებით: ანალიზის პირობები ბუფერი 50 მილიმოლური  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  ,  $\text{pH}=2.51$  ძაბვა-25კვ. [15]

### მეკოპროპის და დიქლოროპროპის ენანტიომერების დაყოფა $\beta$ -ციკლოდექსტრინის მეთილირებული ნაწარმებით

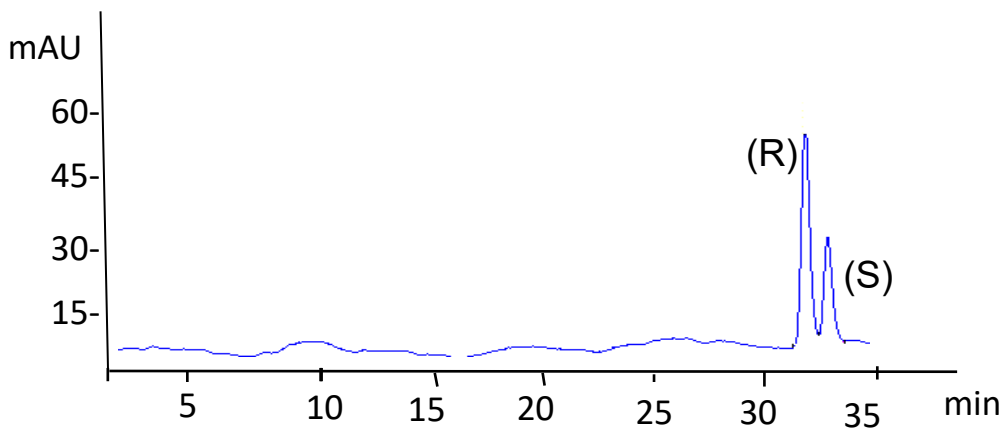
ციკლოდექსტრინების გარე ზედაპირზე გლუკოპირანოზულ 2, 3 და 6 მდგომარეობაში მყოფი ჰიდროქსილის ჯგუფის მეთილირებით შესაძლებელია მიღებული იყოს ციკლოდექსტრინის სხვადასხვა მეთილირებული ნაწარმები. ციკლოდექსტრინის მეთილირებამ შეიძლება გამოიწვიოს ქირალური ნაერთების აფინობის შებრუნება. მეთილის ჯგუფების შეყვანა იწვევს ციკლოდექსტრინის ჰიდროფობული ღრუს სიმაღლის გაზრდას და ამავდროულად იზრდება დაყოფის სელექტიურობა. ამ ეფექტის შესასწავლად გამოვიყენეთ მეკოპროპის და დიქლოროპროპის ენანტიომერების დაყოფა ჰეპტაკის(2-6 დიმეთილ)- $\beta$ -ციკლოდექსტრინისა (DM  $\beta$ -CD) და ჰეპტაკის(2-3-6-ტრიმეთილ)- $\beta$ - ციკლოდექსტრინის (TM  $\beta$ -CD) დახმარებით.



ნახ.16 მეკოპროპის ენანტიომერების დაყოფა DM - $\beta$  ციკლოდექსტრინის დახმარებით. ბუფერი: 60 მგ/მლ DM-  $\beta$ -ციკლოდექსტრინი და 50 მილიმოლური  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  ,  $\text{pH}=2.51$  ძაბვა-30კვ.



ნახ.17 მეკოპროპის ენანტიომერების დაყოფა TM-β ციკლოდექსტრინის გამოყენებით. ბუფერი:60მგ/მლ TM-β-ციკლოდექსტრინი და 50 მილიმოლური KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> , pH=2.51 ძაბვა-30კვ.



ნახ. 18 დიქლოროპროპის ენანტიომერების დაყოფა TM-β ციკლოდექსტრინის გამოყენებით. ანალიზის პირობები : ბუფერი 50 მილიმოლური KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> , pH=2.51 ძაბვა-25კვ. [15]

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

ციკლოდექსტრინების გარე შრის მოდიფიცირების შემდეგ მიღებული ციკლოდექსტრინები და ჩამნაცვლებელი ჯგუფები გავლენას ახდენენ, როგორც ენანტიომერულ დაყოფაზე ,ასევე მიგრაციის რიგზე.

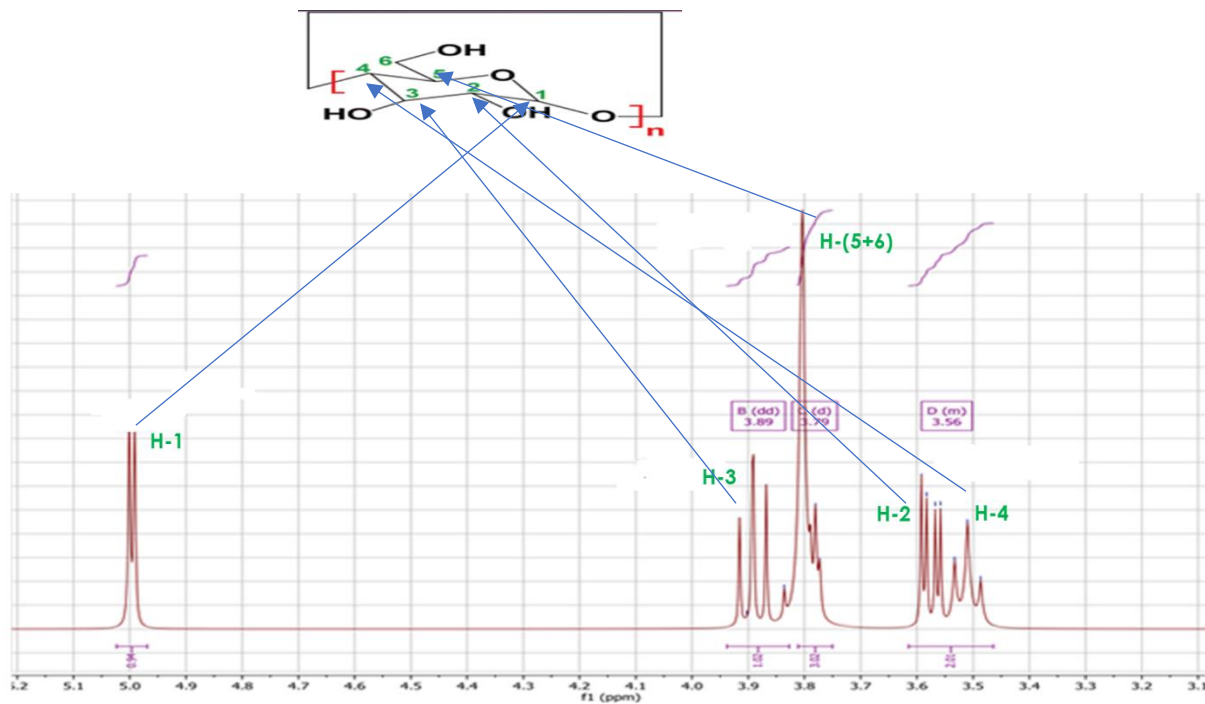
## 4.2. ბირთვულ-მაგნიტური რეზონანსის ექსპერიმენტის შედეგები და მათი განსჯა

კაპილარულ ელექტროფორეზში დიქლოროპროპის ენანტიომერების მიგრაციის რიგი შეიცვალა სხვადასხვა ციკლოდექსტრინთან, ამრიგად საჭირო გახდა კომპლექსწარმოქმნის მექანიზმის შესწავლა, რათა დაგვეხასიათებინა სელექტორ-სელექტანდის შეკავშირების მუდმივები.

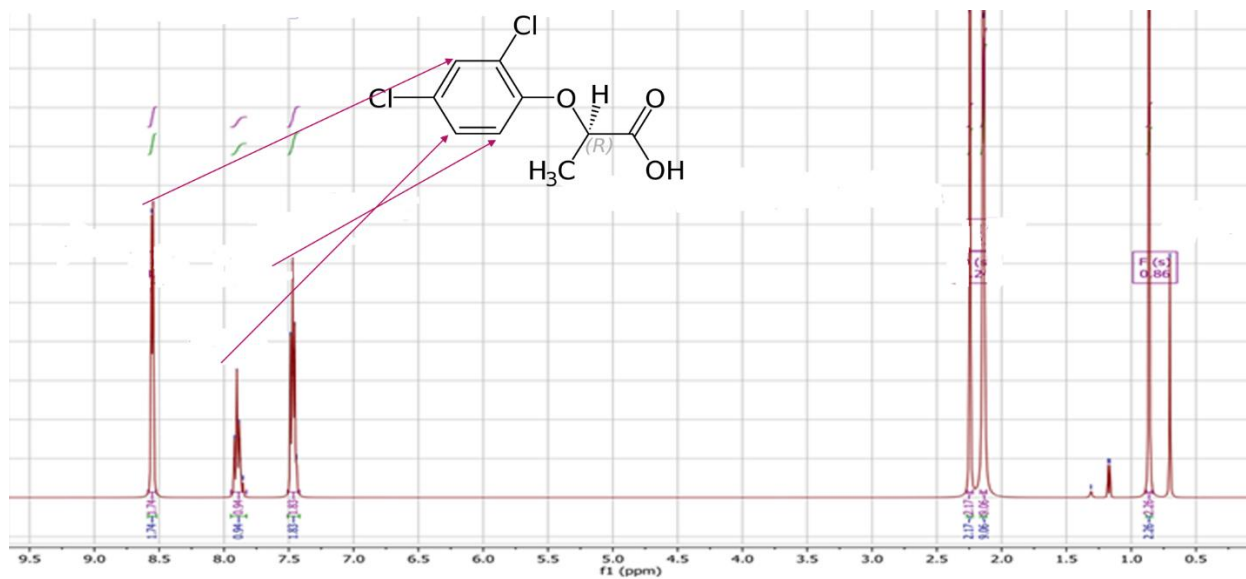
ბირთვულ-მაგნიტური ექსპერიმენტი ჩატარდა ბეტა ციკლოდექსტრინისა და დიქლოროპროპის წარმოქმნილი კომპლექსისთვის. პირველად ჩატარდა პროტონულ - მაგნიტური რეზონანსის ექსპერიმენტი და დაფიქსირდა ქირალური გამოცნობისთვის დამახასიათებელი პროტონების გახლეჩა და წანაცვლება. პროტონულ-მაგნიტური ექსპერიმენტის გარდა ჩატარდა ასევე როგორც ჰომო- ისე ჰეტერობირთვული კორელაციური ექსპერიმენტები (HSQC, COSY). ექსპერიმენტის მიხედვით მივაკუთვნეთ პროტონების და  $^{13}\text{C}$ -ის სიგნალი დიქლოროპროპს და ბეტა -ციკლოდექსტრინს. ასევე მოხდა მოხდა ბეტა ციკლოდექსტრინის და დიქლოროპროპის ყველა პროტონის დასხივება და მის ირგვლილ 3-5 ანქსტრემის დაშორებით მდებარე ყველა პროტონის სიგნალის დაფიქსირება.

- 1) პირველად გადავიღეთ ბეტა-ციკლოდექსტრინისა და დიქლოროპროპის პროტონულ - მაგნიტური რეზონანსის სპექტრი თითოეული ნივთიერებისთვის . ბეტა-ციკლოდექსტრინი (0.036გ/მლ), დიქლოროპროპი (0,018გ/მლ). შემდეგ გადავიღეთ ამ ნივთიერებათა ნარევი იგივე პირობებში რაც კაპილარულ ელექტროფორეზში გვექონდა.

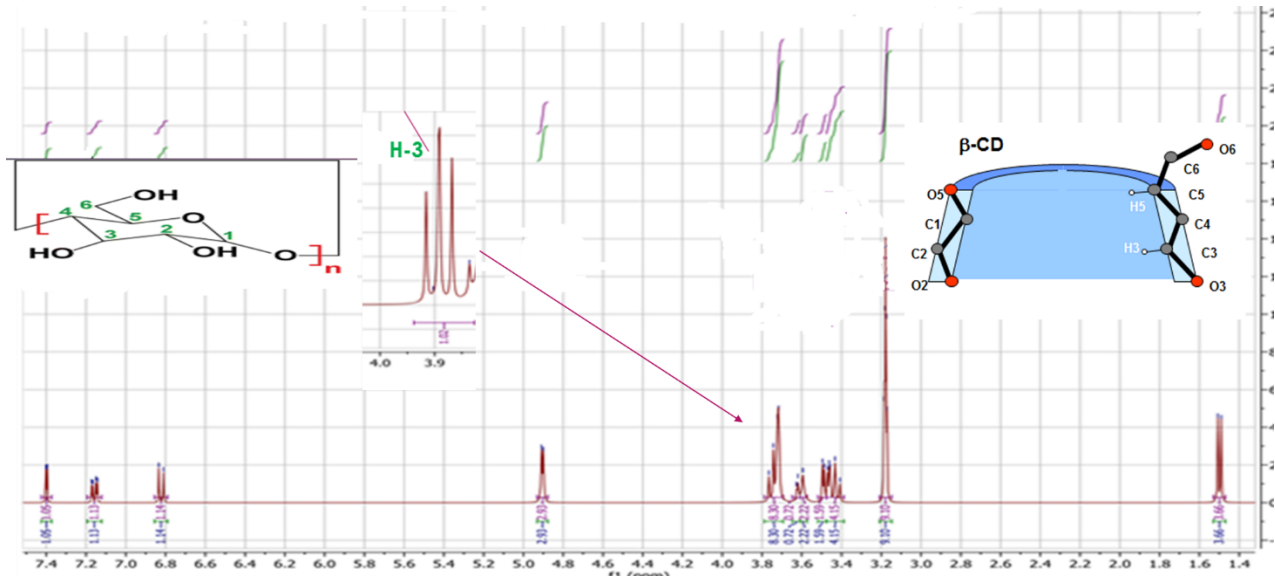




ნახ. 19. ბეტა-ციკლოდექსტრინის პროტონულ მაგნიტური რეზონანსის სპექტრი D<sub>2</sub>O-ში



ნახ. 20 დიქლოროპროპის პროტონულ -მაგნიტური რეზონანსის სპექტრი MeOD- ში



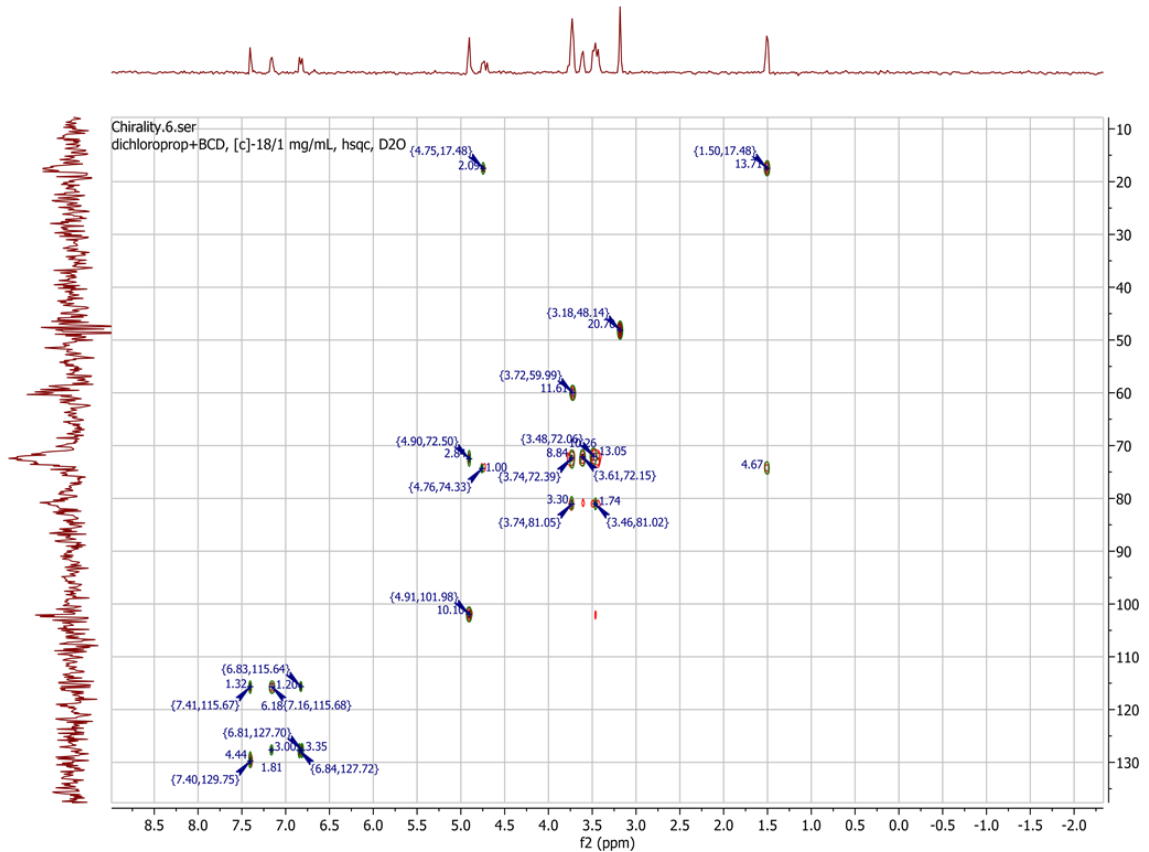
ნახ. 21 დიქლოროპროპი & ბეტა ციკლოდექსტრინი ნარევის პროტონულ- მაგნიტური რეზონანსის სპექტრი D<sub>2</sub>O-ში

- მეორე ეტაპზე გადავიღეთ დიქლოროპროპი და ბეტა-ციკლოდექსტრინის ნარევის კომბირებული COSY, ამით საშუალება მოგვეცა პროტონულ-მაგნიტურ ექსპერიმენტში მიღებული პიკები მიგვეკუთვნებინა ციკლოდექსტრინისა და დიქლოროპროპის პროტონებისთვის.



ნახ. 22 ბეტა-ციკლოდექსტრინის COSY სპექტრი.

- მესამე ეტაპზე გადავიღეთ ჰეტერობირთვული კოზი ( HSQC), რომლის საშუალებითაც მოვახდინეთ პროტონების და  $^{13}\text{C}$  ნახიზბადატომების სიგნალების მიკუთვნებას ბეტა-ციკლოდექსტრინის და დიქლოროპროპის სტრუქტურაში.



ნახ. 23 ბეტა-ციკლოდექსტრინის და დიქლოროპროპის HSQC სპექტრი.

- დიქლოროპროპისა და ბეტა ციკლოდექსტრინს შორის წარმოქმნილი კომპლექსის შესასწავლად გადამწყვეტი როლი ROESY ექსპერიმენტს ეკისრება, რადგან სწორედ ის გვაძლევს ინფორმაციას სელექტორსა და სელექტანტს შორის თუ გვაქვს რაიმე სახის არაკოვალენტური ურთიერთქმედება.

ბირთვულ-მაგნიტური სპექტროსკოპიის საშუალებით კიდევ უფრო ნათელი გახდა მიგრაციის რიგის ცვლილების მიზეზები. ექსპერიმენტმა გვიჩვენა დიქლოროპროპთან

კომპლექსწარმოქმნის შედეგად ბეტა ციკლოდექსტრინის შიგა ღრუში არსებული H-3 პროტონების სიგნალი მნიშვნელოვნად წანაცვლება ძლიერ ველეებში, რაც მიუთითებს რომ დიქლოროპროპი ბეტა ციკლოდექსტრინთან წარმოქმნის ჩართულ კომპლექსს დიქლოროპროპის მოლეკულის არომატული ბირთვის ჩართვით ციკლოდექსტრინში მისი მეორადი, განიერი მხრიდან. ტრიმეთილ-ბეტა-ციკლოდექსტრინისა და დიქლოროპროპის კომპლექსწარმოქმნის მექანიზმიჯერჯერობით არ შეგვისწავლია ბირთვულ-მაგნიტური რეზონანსის საშუალებით, ვვარაუდობთ რომ ტრიმეთილ -ბეტა ციკლოდექსტრინის შემთხვევაში დიქლოროპროპი დაუკავშირდა მას ღრუს გარეთა ნაწილში და განსხვავებულმა კომპლექსწარმოქმნის მექანიზმმა მოგვცა კაპილარულ ელექტროფორეზში მიგრაციის რიგის ცვლილება. მაგრამ ეს მხოლოდ ვარაუდია და მის დასამტკიცებლად საჭიროა დეტალური ROESY ექსპერიმენტების ჩატარება ორივე კომპლექსზე.

## 5. დასკვნები

- 1. შესწავლილი იქნა ჰერბიციდული მოქმედების ნივთიერების მეკოპროპის და დიქლოროპროპის ენანტიომერების დაყოფა და ენანტიომერების მიგრაციის რიგი კაპილარული ელექტროფორეზის მეშვეობით.
- 2. წინა წლებში ჩატარებული ექსპერიმენტებიდან ვიცოდით რომ  $\alpha$ - და  $\gamma$ -ციკლოდექსტრინების შემთხვევაში მეკოპროპის და დიქლოროპროპის ენანტიომერები არ იყოფოდა, ამიტომ ექსპერიმენტი ჩავატარეთ მხოლოდ  $\beta$ -ციკლოდექსტრინის გამოყენებით ენანტიომერების მიგრაციის რიგის დასადგენად.
- 3. მეთილის ჯგუფების შეყვანამ ციკლოდექსტრინის გარე შრე გახადა უფრო ჰიდროფობული, რამაც გამოიწვია სელექტიურობის გაზრდა და გამოცნობის მექანიზმის ცვლილება. TM- $\beta$  ციკლოდექსტრინის შემთხვევაში ენანტიომერების მიგრაციის რიგი შეიცვალა, რაც არ მოხდა DM- $\beta$  ციკლოდექსტრინის შემთხვევაში. ამგვარი ცვლილება შეიძლება გამოწვეული იყოს ორივე შემთხვევაში მეკოპროპთან და დიქლოროპროპთან განსხვავებული კომპლექსწარმოქმნის გამო.
- 4. ბმრ სპექტროსკოპიის გამოყენებით დადგინდა რომ, დიქლოროპროპთან კომპლექსწარმოქმნის შედეგად ბეტა ციკლოდექსტრინის შიგა ღრუში არსებული H-3 პროტონების სიგნალი მნიშვნელოვნად წანაცვლდება ძლიერ ველებში, რაც მიუთითებს რომ დიქლოროპროპი ბეტა ციკლოდექსტრინთან წარმოქმნის ჩართულ კომპლექსს (ამ ეტაპზე სავარაუდოდ) დიქლოროპროპის მოლეკულის არომატული ბირთვის ჩართვით ციკლოდექსტრინში მისი მეორადი, განიერი მხრიდან.

## 6. გამოყენებული ლიტერატურა:

1. Capillary Electrophoresis in Chiral Analysis, B. Chankvetadze, John Wiley & Sons, Chchester, UK, 1997, 555 pp.;
2. ნათია ცერცვაძე-ქლორფერინამინის ენანტიომერების დაყოფა კაპილარულ ელექტროფორეზში ციკლოდექსტრინების გამოყენებით ქირალურ სელექტორებად. 2019 თბილისი
3. ანა გოგოლაშვილი- ენანტიომერული ნარევის დაყოფის ფიზიკურ ქიმიური მექანიზმების კვლევა კაპილარული ელექტროფორეზის და ბირთვულ- მაგნიტური- რეზონანსის მეთოდის გამოყენებით. 2021 თბილისი
4. Biological Significance – Pharmacology, Phamaceutical Agrochemical S. Wendeborn, ... H. Smits, in Comprehensive Chirality, 2012
5. Mecoprop - P. Gómez-Ramírez, A.J. García-Fernández, in Encyclopedia of Toxicology (Third Edition), 2014
6. Gal, The discovery of stereoselectivity at biological receptors: and the taste of the asparagine enantiomers--history and analysis on the 125th anniversary, 2012 Dec;24(12):959-76
7. <http://www.prior-scientific.co.uk/a-look-at-enantiomers-and-their-role-in-drugs-and-perfumes/> - A LOOK AT ENANTIOMERS AND THEIR ROLE IN DRUGS AND PERFUMES by Sierra
8. Ann Gogolashvili, Elene Tatunashvili, Lali Chankvetadze, Tamas Sohajda, Julianna Szeman, Antonio Salgado, Bezhan 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;
9. <https://www.mdpi.com/1420-3049/25/18/4048> - Noncovalent Complexes of Cyclodextrin with Small Organic Molecules: Applications and Insights into Host–Guest Interactions in the Gas Phase and Condensed Phase -Academic Editors: Estrella Núñez Delicado and José Antonio Gabaldón Hernández *Molecules* 2020, 25(18), 4048
10. ქეთევან ლომსაძე, ბირთვულ მაგნიტური რეზონანსის სპექტროსკოპია, სალექციო კურსი

11. <https://infrabooking.aalto.fi/onlinekalenteri/chem/guest.php?kt=tila&laji=Chromatography&sijainti=CE>