

ივანე ჯავახიშვილის სახელობის თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტი

ზუსტ და საბუნებისმეტყველო მეცნიერებათა ფაკულტეტი

ქიმიის დეპარტამენტი

ანა გოგოლაშვილი

ენანტიომერული ნარეგების დაყოფის ფიზიკურ-ქიმიური
მექანიზმების კვლევა კაპილარული ელექტროფორეზის და
ბირთვულ-მაგნიტური-რეზონანსის მეთოდების გამოყენებით

ქიმიის დოქტორის აკადემიური ხარისხის მოსაპოვებლად
წარმოდგენილი დისერტაცია

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

თბილისი, საქართველო

2021

Ivane Javakhishvili Tbilisi State University

Faculty of Exact and Natural Sciences

Department of Chemistry

Ann Gogolashvili

**Mechanistic Study on Enantioseparation Mechanisms Using
Capillary Electrophoresis and Nuclear Magnetic Resonance
Spectroscopy**

Presented to obtain academic degree of Doctor of Chemistry

Scientific Supervisor: Full Member of the Georgian National Academy of Sciences,
Head of the Department of Physical and Analytical Chemistry at
Tbilisi State University
Prof. Bezhan Chankvetadze

Tbilisi, Georgia

2021

აბსტრაქტი

სადისერტაციო ნაშრომის მთავარ მიზანს წარმოადგენდა კაპილარული ელექტროფორეზის პოტენციალის მაქსიმალური გამოყენება მოლეკულათმორისი ენანტიოსელექტიური ურთიერთქმედების ნატიფი მექანიზმის შესასწავლად. ამ მიზნის მისაღწევად ქირალურ სელექტორებად ვიყენებდით ციკლოდექსტრინის ნაწარმებს, რომლებიც მაკროციკლურ ოლიგოსაქარიდებს წარმოადგენს ასევე სხვადასხვა კლასის ქირალურ ნივთიერებებს, როგორც საკვლელ ნიმუშებს. ქირალურ სელექტორებად ვიყენებდით როგორც ნატივურ ციკლოდექსტრინებს, ასევე მათ ნეიტრალურ და დამუხტულ ნაწარმებს. კაპილარულ ელექტროფორეზში ციკლოდექსტრინების გამოყენებას რამდენიმე მნიშვნელოვანი უპირატესობა გააჩნია: წყლიან ბუფერში მათი კარგი ხსნადობა და ხილულ და ულტრაიისფერ უბნებში გამჭირვალობა, ასევე მათი ბმრ სპექტროსკოპიის საშუალებით ადვილად ინტერპრეტირებადი სპექტრები, რაც თავის მხრივ საშუალებას გვაძლევს ჩვენს კვლევებში გამოვიყენოთ ბირთვულ ოვერჰაუზერის (NOE) მეთოდზე დამყარებული ისეთი მეთოდები, როგორც არის ROESY ექსპერიმენტი.

უკვე 30 წელზე მეტია, რაც კაპილარული ელექტროფორეზი წარმატებით გამოიყენება ქირალური დაყოფების მიმართულებით, მის ერთ-ერთ მთავარ უპირატესობას თეორიული თეფშების მაღალი რიცხვი და მხოლოდ ერთი ფაზის არსებობა წარმოადგენს, რაც თავის მხრივ განაპირობებს მიგრაციის რიგის შედარებით მარტივად რეგულირების საშუალებას, მაღალ სელექტივობას, მეთოდის დამუშავების მცირე დროს, ქირალური სელექტორების კომბინირების სიმარტივეს და ა.შ.. კაპილარული ელექტროფორეზის პოტენციალი ენანტიოსელექტიური მოლეკულათმორისი ურთიერთქმედებების კვლევის მიზნით ნაკლებად არის შესწავლილი, ამ მიმართულებით მის მგრძობიარობას განაპირობებს სწორედ მისი მაღალი თეორიული თეფშების რიცხვი, მაგალითად კაპილარულ ელექტროფორეზში დაყოფის მიღწევა შესაძლებელია იმ შემთხვევაშიც კი, როცა სელექტივობა 1.01-ის ტოლია, რაც სხვა მეთოდების გამოყენებისას შეუძლებელია. ასევე მნიშვნელოვანია ის ფაქტი, რომ კაპილარული

ელექტროფორეზი გვძლევს საშუალებას მარტივად შევქმნათ ის ფიზიოლოგიური გარემო ჩვენს ექსპერიმენტში, რაც შეიძლება ადამიანის ორგანიზმში იყოს, რისი გაკეთებაც ქრომატოგრაფიულ მეთოდებში საკმაოდ რთულია. სადისერტაციო ნაშრომის მთავარ მიზანს წარმოადგენდა კაპილარული ელექტროფორეზის პოტენციალის მაქსიმალური გამოყენება მოლეკულათშორისი ენანტიოსელექტიური ურთიერთქმედების ნატიფი მექანიზმის შესასწავლად. ჩვენი მიზანი იყო ეს მეთოდი წარმოგვედგინა როგორც არაკოვალენტური მოლეკულათშორისი ურთიერთქმედებების კვლევის მძლავრი საშუალება. კვლევის მეთოდოლოგია მოიცავდა არამარტო კაპილარული ელექტროფორეზს, არამედ მასთან ტანდემში ბმრ სპექტროსკოპიის და მოლეკულურ მოდელირების გამოყენებას. რადგანაც ეს მეთოდი არ იძლევა პირდაპირ ინფორმაციას კომპლექსების სტექიომეტრიის და სტრუქტურის შესახებ, ამიტომ კაპილარულ ელექტროფორეზთან ერთად ჩვენ გამოვიყენეთ ბირთვულ-მაგნიტური რეზონანსის სპექტროსკოპია, ხოლო შემდეგ ეტაპზე მოვახდინეთ მოლეკულური მოდელირების საშუალებით ენერგიების მინიმუზაციის პრინციპით მოლეკულათშორისი ურთიერთქმედების და კომპლექსის ტიპის შესწავლა და მისი შედარება ბმრ მეთოდით მიღებულ ექსპერიმენტულ შედეგებთან.

Abstract

The major goal of this thesis is to explore a potential of CE as a powerful tool for investigation of fine mechanisms of enantioselective intermolecular interactions. This is done basically by using cyclodextrins and their derivatives as one of the counterparts (a selector) and various group of chiral compounds (mostly, but not limited to, chiral drugs), as other counterpart (a selectand) of these interactions. Cyclodextrins, as chiral selectors, have following advantages: a) These are macrocyclic oligosaccharides with a medium size (molecular weight ranges from 900 to 3000 for different native and derivatized cyclodextrins) and well characterized structure; b) Cyclodextrins are transparent in UV-range that makes application of CE with UV-VIS detector easy (Most common CE instruments are equipped with UV-VIS detector). c) Most of native and single component cyclodextrin derivatives have well defined H-NMR and ¹³C-NMR spectra that makes application of various nuclear Overhauser effect (NOE) based methods feasible for elucidation of structure of cyclodextrin complexes with chiral analytes.

After 30 years since its introduction chiral CE is well established technology for analytical separation of enantiomers. To the major advantages of CE belong high plate numbers, operation in a single phase and advantages associated to this, easy adjustment of enantiomer migration order (EMO), possibility of generation of high separation selectivity from rather low thermodynamic selectivity of recognition, fast screening of chiral selectors, short method development time, easy combination of chiral selectors, etc. Until now still less recognized, and as the consequence less employed, remains high potential of this technique for sensing very weak effects in intermolecular interactions. High sensitivity of CE for detection of weak intermolecular recognition relies on high separation efficiency (theoretical plate numbers) of this technique. Thus, for instance, the thermodynamic selectivity of recognition 1.01 is sufficient for observing baseline resolved peaks in CE while this is not the case in chromatographic techniques even with the most advanced packing materials, column technologies and instrumentation. In addition to this, no immobilization of receptor/selector is required in CE and real physiological conditions can be mimicked easier compared to chromatographic techniques. The most innovative approach in the

present project is to view CE as a powerful technique for studying (enantioselective) noncovalent intermolecular interactions. Project's methodology considers combination of CE, NMR spectroscopy MM to reach the above-mentioned goal. This means in particular following: In MM there are various force fields available for minimizing energy and deriving possible structure of intermolecular complexes. These calculation methods can be applied for computing the structures and computed structures compared with experimentally derived ones based on NOE-based experiments in NMR spectroscopy.

სარჩევი

1. შესავალი.....	1
2. ლიტერატურული ნაწილი	4
2.1 ქირალური დაყოფა	4
2.1.1 ქირალობა.....	4
2.1.2 ენანტიომერების დაყოფის მეთოდები	9
2.1.3 გაზური ქრომატოგრაფია.....	13
2.1.4 ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფია	14
2.1.5 სითხური ქრომატოგრაფია.....	17
2.1.6 კაპილარული ელექტროფორეზის მეთოდი და მისი უპირატესობები დაყოფის სხვა მეთოდებთან შედარებით	21
2.1.7 ელექტროფორეტული ძვრადობა	22
2.1.8 ელექტროოსმოსური ნაკადი	25
2.1.9 ჯოჯის სითხო	29
2.1.10 საანალიზო ნივთიერებისა ურთიერთქმედება კაპილარის შიგა ზედაპირთან..	31
2.1.11 კაპილარული ელექტროფორეზის ხელსაწყო სქემა.....	35
2.1.12 კაპილარული ზონური ელექტროფორეზი.....	37
2.1.13 კაპილარული ელექტროკინეტიკური ქრომატოგრაფია.....	39
2.1.14 კაპილარული გელ ელექტროფორეზი	40
2.1.15 კაპილარული ელექტროქრომატოგრაფია.....	41
2.1.16 ქირალური სელექტორები. ციკლოდექსტრინების გამოყენება ქირალურ დაყოფებში.....	42
2.2 ბირთვულ-მაგნიტური რეზონანსის სპექტროსკოპია	50
2.2.1 ბირთვის კუთხური და მაგნიტური მომენტი	53
2.2.2 ბირთვები მუდმივ მაგნიტურ ველში	54
2.2.3 ბირთვის ენერგია მუდმივ მაგნიტურ ველში.....	56
2.2.4 ენერგეტიკული დონეების დასახლება.....	57
2.2.5 მიკროსკოპული დამაგნიტება.....	58
2.2.6 რეზონანსის პირობა.....	58
2.2.7 რელაქსაცია და რელაქსაციის დრო	60
2.2.8 დეტექტირების პრინციპი	61
2.2.9 ბირთვულ-მაგნიტური რეზონანსული სპექტროსკოპიის ექსპერიმენტი	63
2.2.10 ქიმიური წანაცვლება	66
2.2.11 სპინ-სპინური შეუღლება და სიგნალის მულტიპლეობა.....	68

2.2.12 ბირთვულ-მაგნიტური რეზონანსული სპექტროსკოპიის ექსპერიმენტი ქირალურ ანალიზში.....	70
2.2.13 ბმრ სპექტროსკოპიის უპირატესობები	71
2.2.14 ROESY-სპექტროსკოპია.....	73
3. ექსპერიმენტული ნაწილი	75
3.1 ექსპერიმენტის ზოგადი მონახაზი.....	75
3.2 ექსპერიმენტში გამოყენებული ქირალური ნივთიერებები	77
3.3. ექსპერიმენტში გამოყენებული ციკლოდექსტრინები.....	78
3.4. რეაქტივები და მასალები.....	80
3.5. გამოყენებული აპარატურა	81
3.6 კაპილარული ელექტროფორეზის ექსპერიმენტი.....	85
3.7 ბმრ ექსპერიმენტები.....	89
3.8 მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფიის ექსპერიმენტი.....	90
4. მიღებული ექსპერიმენტული შედეგები და მათი განსჯა.....	92
4.1 ენანტიომერების დაყოფა კაპილარული ელექტროფორეზის გამოყენებით... 92	
4.1.1 ანტიპისტამინური მოქმედების ზოგიერთი რაცემული ნივთიერების ენანტიომერების დაყოფის სკრინინგი კაპილარული ელექტროფორეზის მეთოდის გამოყენებით.....	92
4.1.2 კუმარინის ზოგიერთი ქირალური ნაწარმის ენანტიომერების დაყოფა კაპილარული ელექტროფორეზის მეთოდის გამოყენებით	99
4.1.3 ტეტრაჰიდროზოლინის ენანტიომერების დაყოფა კაპილარული ელექტროფორეზის მეთოდის გამოყენებით	106
4.1.4 ზოგიერთი ქირალური ჰერბიციდის ენანტიომერების დაყოფა კაპილარული ელექტროფორეზის მეთოდის გამოყენებით	110
4.1.5 ფენოპროფენის ენანტიომერების დაყოფა კაპილარული ელექტროფორეზის მეთოდის გამოყენებით	113
4.1.6 ზოგიერთი რაცემული β2 ადრენერგული რეცეპტორის აგონისტების ენანტიომერების დაყოფა კაპილარული ელექტროფორეზის მეთოდის გამოყენებით	115
4.2 ბირთვულ მაგნიტური რეზონანსის ექსპერიმენტის შედეგები და განსჯა.. 130	
4.2.1 ბირთვულ მაგნიტური რეზონანსის ექსპერიმენტის შედეგები და განსჯა ტერბუტალინის შემთხვევაში	130
4.2.2 ბრომბუტეროლის ბირთვულ მაგნიტური რეზონანსის ექსპერიმენტის შედეგები და განსჯა ბრომბუტეროლის შემთხვევაში.....	143

4.2.3 ბირთვულ მაგნიტური რეზონანსის ექსპერიმენტის შედეგები და განსჯა კლენპენტროლის შემთხვევაში.....	147
4.3 მოლეკულური მოდელირების შედეგები და განსჯა.....	159
5. დასკვნები	164
6. გამოყენებული ლიტერატურა	168

1. შესავალი

ქირალობის დიდი გავლენა ნივთიერების ფიზიოლოგიურ აქტივობაზე ჯერ კიდევ მეოცე საუკუნის დასაწყისში იყო მეცნიერებისთვის ცნობილი. ამის უამრავი მაგალითი იქნა აღწერილი, როგორც სასოფლო სამეურნეო პრაქტიკაში, ასევე საკვები დანამატების და სამკურნალწამლო საშუალებებად გამოყენებული ქირალური ნივთიერებებისთვის. ეს საკითხი განსაკუთრებით აქტუალური გახდა თალიდომიდის შემთხვევის შემდეგ, მეოცე საუკუნის სამოციან წლებში, როცა ამ სამკურნალწამლო საშუალების ერთი ენანტიომერი მუტაგენური მოქმედების აღმოჩნდა. მეცნიერებისათვის ნათელი გახდა, რომ ახალი ქირალური პრეპარატების სინთეზისას დიდი ყურადღება უნდა მიექცეს მათი ენანტიომერების დაყოფასა და თითოეული ენანტიომერის ფიზიოლოგიური მოქმედების შესწავლას, ამისათვის კი აუცილებელია მათი ფარმაკოკინეტიკისა და ფარმაკოდინამიკის შესწავლა ორგანიზმში.

ჩვენს მიერ ქირალური დაყოფისთვის გამოყენებულ იქნა კაპილარული ელექტროფორეზის მეთოდი, რომელიც ენანტიომერების დაყოფის და ქირალური გამოცნობის ნატიფი მექანიზმის სიღრმისეულად შესწავლის საშუალებას იძლევა. ჩვენი კვლევის მეთოდს წარმოადგენდა კაპილარული ელექტროკინეტიკური ქრომატოგრაფია, რომელიც თავის თავში გულისხმობს ქირალური სელექტორის გამოყენებას. ცნობილია, რომ კაპილარულ ზონურ ელექტროფორეზში (კაპილარული ელექტროფორეზის ის მეთოდი, რომელიც ფართოდ გამოიყენება) ნებისმიერი სახის დაყოფა ხორციელდება ნარევი არსებული კომპონენტების მუხტის განსხვავებული სიმკვრივის მიხედვით, ხოლო ენანტიომერებს ერთნაირი ფიზიკური და ქიმიური თვისებები გააჩნიათ, რაც თავის თავში მუხტის ერთნაირ სიმკვრივეებსაც გულისხმობს. ქირალური დაყოფის შესასრულებლად კი აუცილებელია გამოვიყენოთ ისეთი მეთოდი, რომელშიც გვექნება ქირალური სელექტორი, რომლის საშუალებითაც მოხდება ქირალური დაყოფა. ქირალური სელექტორი თავის მხრივ აუცილებლად უნდა იყოს ქირალური ნივთიერება, რადგან მხოლოდ ქირალურ ნივთიერებას შეუძლია ენანტიომერების გამოცნობა

ანუ განსხვავების „დანახვა“ ენანტიომერებს შორის. კაპილარული ელექტროფორეზის ერთ-ერთ მნიშვნელოვან უპირატესობას სხვა ანალიზურ მეთოდებთან შედარებით წარმოადგენს ის, რომ ამ მეთოდში ქირალური დაყოფის მიღწევა ზოგჯერ შეგვიძლია იმ შემთხვევაშიც კი, როცა ქირალური გამოცნობის სელექტივობა კლასიკური გაგებით ერთის ტოლია, რის საშუალებასაც სხვა ანალიზური მეთოდები არ გვაძლევს. მიუხედავად იმისა, რომ კაპილარული ელექტროფორეზი მნიშვნელოვან ინფორმაციას გვაძლევს ქირალური გამოცნობის მექანიზმზე, მისი საშუალებით შეუძლებელია სელექტორ-სელექტანდს სტრუქტურის და მათ შორის არსებული მოლეკულათშორისი ურთიერთქმედების ნატიფი მექანიზმების აღწერა. სწორედ ამიტომ ვიყენებთ დამატებით მეთოდებს.

ერთ-ერთ უმნიშვნელოვანეს მეთოდს სელექტორ-სელექტანდს შორის არსებული ურთიერთქმედების ნატიფი მექანიზმების კვლევის მიზნით წარმოადგენს ბირთვულ-მაგნიტურ რეზონანსული სპექტროსკოპია, რომელიც საშუალებას გვაძლევს დავადგინოთ არა მხოლოდ სელექტორ-სელექტანდის მიერ წარმოქმნილი კომპლექსის აღნაგობა, არამედ ავხსნათ ქირალური გამოცნობის მექანიზმის დამოკიდებულება ციკლოდექსტრინის შიგა ღრუს ზომაზე, ჩამნაცვლებელი ჯგუფების მუხტსა და სხვა ფაქტორებზე. ამ მხრივ განსაკუთრებით თვალსაჩინოა ROESY-ი (მბრუნავი ჩარჩოს ბირთვულ-ოვერჰაუზერის) ექსპერიმენტის მნიშვნელობა, რომელიც წარმოადგენს NOESY ექსპერიმენტის მსგავს მეთოდს, თუმცა იგი ძირითადად საშუალო ზომის მოლეკულების კვლევისთვის გამოიყენება. ROESY-ი ექსპერიმენტი საშუალებას გვაძლევს სელექტორ-სელექტანდს შორის არსებული კომპლექსის აგებულების შესახებ მივიღოთ ინფორმაცია. ექსპერიმენტის პროცესში შერჩევითად ხდება საკვლევი ნიმუშის და ქირალური სელექტორის ცალკეული პროტონის დასხივება, რათა გამოძახილი მოგვცეს მისგან 2-3 ანგსტრემით დაშორებულმა ყველა პროტონმა. ეს მეთოდი საშუალებას გვაძლევს წარმოადგენა შევიქმნათ, სელექტორ-სელექტანდის ნატიფ ურთიერთქმედებაზე და ასევე იმაზე, თუ რა სახის კომპლექსის წარმოქმნა შეიძლება განაპირობოს ამა თუ იმ ფაქტორმა. კაპილარული ელექტროფორეზის ექსპერიმენტში გამოყენებული პირობების სიმულაცია შეგვიძლია ბირთვულ-

მაგნიტური რეზონანსის ექსპერიმენტში, რაც უფრო მნიშვნელოვანს ხდის ამ ორი მეთოდის ტანდემს. წინამდებარე სადისერტაციო ნაშრომის მეთოდოლოგია ითვალისწინებს კაპილარული ელექტროფორეზის, ბირთვულ-მაგნიტური რეზონანსის სპექტროსკოპიის და მოლეკულური მოდელირების მეთოდების ერთდროულ გამოყენებას კვლევის ძირითადი მიზნების მისაღწევად. ენანტიომერების მიგრაციის რიგის შესასწავლად, რომელიც როგორც ზემოთ იქნა აღნიშნული, ქირალური გამოცნობის მექანიზმის ცვლილების პირდაპირი მახასიათებელია, საჭიროა სუფთა ენანტიომერების გამოყენება. რაცემული ნარევიდან მათი ფრაქციონირება და შეგროვება ხდება მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფიის გამოყენებით. იმ კომპლექსების შესწავლა, რომელთა შემთხვევაშიც კაპილარული ელექტროფორეზის გამოყენებით დაფიქსირდება ქირალური გამოცნობის მექანიზმის ცვლილება, საინტერესო ხდება უკვე ბირთვულ-მაგნიტური რეზონანსის სპექტროსკოპიის გამოყენება, ხოლო მოლეკულური მოდელირების მეთოდები ცალკეულ შემთხვევაში გამოიყენებოდა საანალიზო ნივთიერების ენანტიომერებსა და ციკლოდექსტრინებს შორის მოქმედი მოლეკულათშორის ძალების გამოთვლის მიზნით.

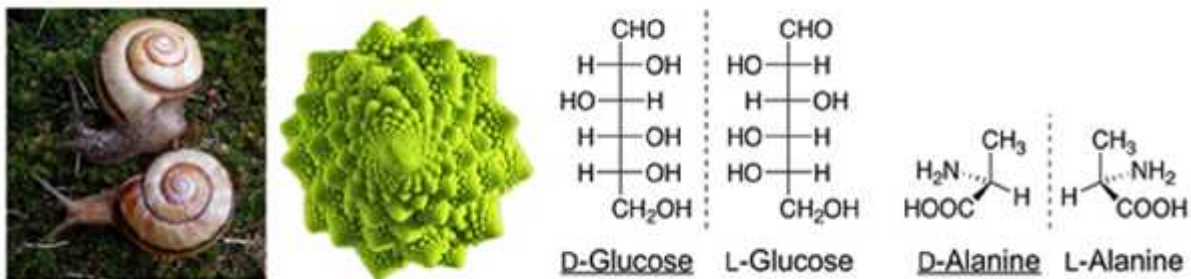
2. ლიტერატურული ნაწილი

2.1 ქირალური დაყოფა

2.1.1 ქირალობა

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

აუცილებელია აღინიშნოს, რომ ცოცხალი ორგანიზმები არის ჰომოქირალური, რაც იმას ნიშნავს, რომ ბიომოლეკულების უმეტესობა, რომლებისგანაც შედგება ცოცხალი ორგანიზმები, მაგალითად, რიბონუკლეინის მჟავა, დეოქსირიბონუკლეინის მჟავა, ამინომჟავები, ცილები და შაქრები ყველა არის ქირალური და ცოცხალ ორგანიზმებში არსებობს ერთი ენანტიომერის სახით [1]. მაგ.: მარჯვნივმბრუნავი B-დეოქსირიბონუკლეინის მჟავა, მარცხნივმბრუნავი Z-დეოქსირიბონუკლეინის მჟავა, L-ამინომჟავები და d-შაქრები (სურ. 1). ამ უმნიშვნელოვანეს ბიოლოგიურ სელექტიურობას ეწოდება ჰომოქირალობა.



სურ. 1 ქირალობის მაგალითები ცოცხალ ორგანიზმებში.

ცოცხალი ორგანიზმების ჰომოქირალობა განაპირობებს მათ განსხვავებულ რეაქციას ერთი და იმავე ქირალური საკვებდანამატის, არომატიზატორის და

სამკურნალწამლო საშუალების ორი განსხვავებული ენანტიომერის მიმართ. კარგ მაგალითად გამოდგება ასპარაგინის შემთხვევა: S-ასპარაგინს აქვს მწარე გემო, ხოლო R-ასპარაგინი ტკბილია. ცოცხალი ორგანიზმის ასეთი განსხვავებული აღქმა ერთი და იმავე ნაერთის ცალკეულ ენანტიომერის მიმართ განაპირობებს, რომელი ენანტიომერი არის უფრო მისაღები ცოცხალი ორგანიზმისთვის [2].

ქირალური ნივთიერების მიერ ბრტყლად პოლარიზებული სინათლის სხივის მობრუნების მოვლენას ოპტიკური ბრუნვა ეწოდება. სინათლის სხივის მობრუნება შესაძლებელია როგორც მარცხენა, ასევე მარჯვენა მხარეს, იმის მიხედვით, თუ რომელ სტერეოიზომერზე ხდება მისი მოქმედება ან რომელი სტერეოიზომერია დომინანტი. ქირალური ნივთიერების მიერ ბრტყლად პოლარიზებული სინათლის მობრუნების კუთხე კი პირდაპირპროპორციულ დამოკიდებულებაშია სინათლის გზის სიგრძესთან, ნიმუშში ქირალური ნივთიერების კონცენტრაციასთან, ასევე იგი დამოკიდებულია საკვლევი ნივთიერების სტრუქტურაზე და ექპერიმენტის ჩატარების პირობებზე. რადგან პოლარიზებული სინათლის მობრუნების კუთხის მნიშვნელობაზე გავლენას ბევრი სხვადასხვა პარამეტრი ახდენდა, აუცილებელი გახდა ხვედრითი ბრუნვის კუთხის $[\alpha]$ ცნების შემოტანა [3].

ენანტიომერების თანამედროვე კლასიფიკაცია შეიქმნა სამი მეცნიერის კანის, ინგოლდის და პრელოგის მიერ და ეწოდა კან-ინგოლდ-პრელოგის ნომენკლატურა, რომლის მიხედვითაც, ენანტიომერების კლასიფიკაცია ხდება ქირალური ცენტრის გარშემო არსებული ჯგუფების განლაგების მიხედვით სივრცეში. ეს კლასიფიკაცია დაფუძნებულია პრიორიტეტების წესზე, პრიორიტეტობის ბევრი წესი არსებობს, მაგალითად რიგობრივი ნომრის, ბმების ჯერადობის, და ა.შ. დალაგება, რომელიც გამოიყენება ორგანულ ქიმიაში ჩამნაცვლებელი ჯგუფების პრიორიტეტების განსაზღვრისთვის [4].

უნდა აღინიშნოს, რომ არ არსებობს პირდაპირი კორელაცია კონკრეტული ენანტიომერის აბსოლიტურ სტერეოქიმიურ კონფიგურაციასა და ბრტყლად პოლარიზებული სინათლის ბრუნვის მიმართულებას შორის. კონკრეტული

მოლეკულის თვისებებიდან გამომდინარე შეიძლება გვექონდეს R(+) ან R(-) და S(+) ან S(-). უნდა აღინიშნოს, რომ მოლეკულების აბსოლუტური სტერეოქიმიური კონფიგურაციის პირდაპირი დადგენა მხოლოდ რენტგენოსტრუქტურული ანალიზის სპეციალური მეთოდის, ანომალური დისპერსიის მეთოდის გამოყენებით არის შესაძლებელი. დღეისთვის ამ მიზნით გამოიყენება აგრეთვე რხევითი წრიული დიქროიზმი და ცალკეულ შემთხვევებში ელექტრონული წრიული დიქროიზმი მოლეკულური მოდელირების მეთოდებთან (ძირითადად სიმკვრივის ფუნაქციონალზე დამყარებული) კომბინაციაში [5]. მოლეკულის ოპტიკური აქტიურობა განისაზღვრება პოლარიმეტრის ან წრიული დიქროიზმის სპექტრომეტრის მეშვეობით, ხოლო ჩამნაცვლებელი ჯგუფების ფარდობითი სივრცული განლაგება ბირთვულ-მაგნიტურ რეზონანსული სპექტროსკოპიის და რენტგენოსტრუქტურული ანალიზის გამოყენებით. ქირალური მოლეკულებების სამგანზომილებიანი კონფიგურაცია საშუალებას გვაძლევს ავხსნათ ენანტიომერების განსხვავებული ურთიერთქმედება ცოცხალ ორგანიზმებში არსებულ რეცეპტორებთან.

როდესაც მოლეკულაში არის ერთი ან რამდენიმე ქირალური ცენტრი, ადგილი აქვს სტერეოიზომერიის მოვლენას. სტერეოიზომერები ერთმანეთისგან განსხვავდება ჩამნაცვლებლების სივრცული ორიენტაციით. ორი ქირალური ცენტრის შემთხვევაში გვექნება დიასტერეომერები. ენანტიომერები და დიასტერეომერები წარმოადგენენ სტერეოიზომერების ოჯახს. დიასტერეომერებისგან განსხვავებით, ენანტიომერებს აქვთ ერთნაირი ფიზიკური და ქიმიური თვისებები, მაგრამ შეიძლება ჰქონდეთ განსხვავებული ბიოლოგიური მოქმედება. სასურველი ფარმაკოლოგიური აქტივობის მქონე ენანტიომერს ეწოდება ეუტომერი, ხოლო ენანტიომერს რომელსაც არ გააჩნია ბიოლოგიური აქტივობა ან არასასურველი აქტივობა გააჩნია დისტომერი ეწოდება [6], .

ენანტიომერების თანაბარი რაოდენობის ნარევს ეწოდება რაცემატი ან რაცემული ნარევი და ნივთიერების დასახელებასთან წინ პრეფიქსით გამოისახება. ვინაიდან, ენანტიომერების მიერ ბრტყლად პოლარიზებული სინათლის სხივის

ბრუნვის კუთხის სიდიდე ტოლი, მაგრამ განსხვავებული ნიშნისაა, რაცემატს ოპტიკური აქტივობა არ გააჩნია [7].

დღეისათვის გამოყენებული სინთეზურ ფარმაცევტულ მოქმედ საფუძველთა უმეტესობა წარმოადგენს ქირალურ ნივთიერებებს და ხშირ შემთხვევაში რაცემული ნარევის (ორი ენანტიომერის ნარევი 50/50-ზე) სახით გამოიყენება. ენანტიომერები ერთმანეთისგან განსხვავდება ბიოლოგიური შეთვისების, განაწილების, ცილებთან შეკავშირების და რეცეპტორებთან უთიერთქმედების უნარით და ხშირ შემთხვევაში მათ განსხვავებული მეტაბოლიზმი ახასიათებთ [8].

ძირითადად ენანტიომერები სამი განსხვავებული მიმართულებით მოქმედებს ცოცხალ გარემოში:

1) მხოლოდ ერთ ენანტიომერს აქვს დადებითი ფარმაკოლოგიური ეფექტი, მეორე ენანტიომერი ან ბალასტია, ან უარეს შემთხვევაში შეიძლება ჰქონდეს უარყოფითი გვერდითი ეფექტიც. მაგალითად ნაპროქსენის და ომეპრაზოლის შემთხვევებში მხოლოდ ერთ ენანტიომერს (S ფორმა) აქვს სამკურნალო მოქმედება [9];

2) ერთი ენანტიომერის ფარმაკოლოგიური მოქმედება ბევრად აღემატება მეორე ენანტიომერისას, როგორც კეტოპროფენის შემთხვევაში, კერძოდ, კეტოპროფენის S-ენანტიომერს გააჩნია ბევრად ძლიერი ფარმაკოლოგიური მოქმედება, ვიდრე R-ენანტიომერს;

3) მესამე შემთხვევაში შეიძლება მხოლოდ ერთ ენანტიომერს ჰქონდეს დადებითი ფარმაკოლოგიური ეფექტი, მაგრამ ორგანიზმში ენზიმების მოქმედების შედეგად მეორე ფარმაკოლოგიურად არააქტიური ენანტიომერი ასევე გარდაიქმნებოდეს აქტიურ ენანტიომერად, ანუ ადგილი ჰქონდეს რაცემიზაციის მოვლენას [10]. ამის მაგალითად გამოდგება იბუპროფენის შემთხვევა, რომლის (R-ფორმა)- ს არ აქვს დადებითი ფარმაკოლოგიური მოქმედება, მაგრამ ცოცხალ ორგანიზმში მეტაბოლიზმის შედეგად გარდაიქმნება R-CoA-თიოეთერად,

რომელიც შემდეგ განიცდის ეპიმერიზაციას S-CoA-თიოეთერად და საბოლოოდ გარდაიქმნება S-იზუპროფენად, რომელსაც გააჩნია დადებითი ფარმაკოლოგიური მოქმედება

2.1.2 ენანტიომერების დაყოფის მეთოდები

1849 წელს ლუი პასტერმა პირველმა დაჰყო ღვინის ფერმენტაციის და დაძველების დროს კრისტალების სახით გამოყოფილი ნატრიუმ-ამონიუმის ტარტრატის რაცემული ნარევი ენანტიომერებად და შეისწავლა მათი ოპტიკური აქტივობა. მიკროსკოპით შესწავლისას ლუი პასტერმა აღმოაჩინა, რომ რაცემის მჟავა (ღვინის მჟავას ძველი სახელწოდება), შედგებოდა ორი განსხვავებული ფორმის კრისტალებისგან, რომლებიც ფორმით ერთმანეთის სარკულ გამოსახულებს წარმოადგენდა. პასტერმა დიდი ძალისხმევის შედეგად მექანიკურად შეძლო განსხვავებული კრისტალების ერთმანეთისგან გამოცალკავება [11]. კრისტალების შესწავლის შედეგად ლუი პასტერმა დაადგინა, რომ გასხვავებულ კრისტალებს იდენტური ფიზიკური და ქიმიური თვისებები გააჩნდა, გარდა მათი ხსნარების მიერ პოლარიზებული სინათლის შემობრუნების კუთხის ნიშნისა.

ენანტიომერული ნარევების დაყოფა თანამედროვე ქიმიის ერთ-ერთ აქტუალურ ამოცანას განეკუთვნება როგორც თეორიული, ისე პრაქტიკული თვალსაზრისით. ამ პრობლემის აქტუალურობა პრაქტიკული თვალსაზრისით განპირობებულია იმ ფაქტით, რომ ბიოლოგიურად აქტიურ ქირალურ ნივთიერებათა (როგორცაა სამკურნალწამლო საშუალებები, საკვების დანამატები, სასოფლო სამეურნეო დანიშნულების შხამქიმიკატები და ა.შ.) ენანტიომერები როგორც წესი ერთმანეთისაგან განსხვავდება მათი სასურველი (დანიშნულების შესაბამისი) ბიოლოგიური აქტივობით, ტოქსიურობით, მეტაბოლიზმის უნარით და ა.შ. [12] დღესდღეობით გამოყენებული სამკურნალწამლო საშუალებების დაახლოებით 40% წარმოადგენს ქირალურ ნივთიერებებს და მათგან მხოლოდ 25% გამოიყენება სუფთა ენანტიომერის სახით. ენანტიომერები ერთმანეთისაგან განსხვავდება რეცეპტორებისადმი განსხვავებული აფინობის უნარით. ადამიანის ორგანიზმი შეიცავს დიდი რაოდენობით ჰომოქირალურ ნაერთებს, რის გამოც იგი წარმოადგენს მძლავრ ქირალურ სელექტორს, რომელიც არამარტო განსხვავებულად რეაგირებს სხვადასხვა ენანტიომერზე, არამედ ახდენს რაცემატის ცალკეული ენანტიომერის გამოცნობას, რის შედეგადაც თითოეული მათგანი

განიცდის განსხვავებულ მეტაბოლიზმს, ეს კი საბოლოოდ იწვევს ენანტიომერების განსხვავებულ ფარმაკოლოგიურ მოქმედებას [13]. ამდენად, ერთ ენანტიომერს შესაძლოა გააჩნდეს დადებითი თერაპიული და ფარმაკოლოგიური მოქმედება, მაშინ როდესაც მეორე ენანტიომერი შეიძლება წარმოადგენდეს ბალასტს ან გააჩნდეს ტოქსიკური მოქმედება. ამერიკის შეერთებულ შტატების საკვებისა და ფარმაცევტული საშუალებების რეგისტრაციის სააგენტო (FDA), ევროპის სამედიცინო სააგენტო (EMA), იაპონიის და მთელი რიგი სხვა ქვეყნების შესაბამისი უწყებები მოითხოვს ახალი ქირალური სამკურნალწამლო საშუალების რეგისტრაციამდე ჩატარდეს თითოელი ენანტიომერის აქტივობის შესწავლა და მხოლოდ ის ენანტიომერი იქნას გამოყენებული ენანტიომერულად სუფთა სახით, როგორც სამკურნალო საშუალება, რომელი ენანტიომერიც გამოავლენს დადებით თერაპიულ ეფექტს [114].

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

იმისათვის, რომ ქირალური დაყოფა მოხდეს, ყველა ზემოთ ნახსენებ მეთოდში აუცილებელია ქირალური სელექტორების გამოყენება, რომლებიც თავად წარმოადგენენ ქირალურ ნივთიერებებს და შესაბამისად, განსხვავებულად ურთიერთქმედებს თითოეულ ენანტიომერთან. ეს განსხვავებული

ურთიერთქმედება შეიძლება გამოიხატოს, როგორც განსხვავებულ ადსორბცია-დესორბციაში, ასევე განსხვავებული სტრუქტურის კომპლექსის წარმოქმნაში. დღეითვის ქირალური სელექტორების საკმაოდ ფართო სპექტრი არსებობს, რომელთაგან ოპტიმალურის ამორჩევა ხდება ემპირიულად გამოყენებული მეთოდისა და ექსპერიმენტის მიზნებიდან გამომდინარე.

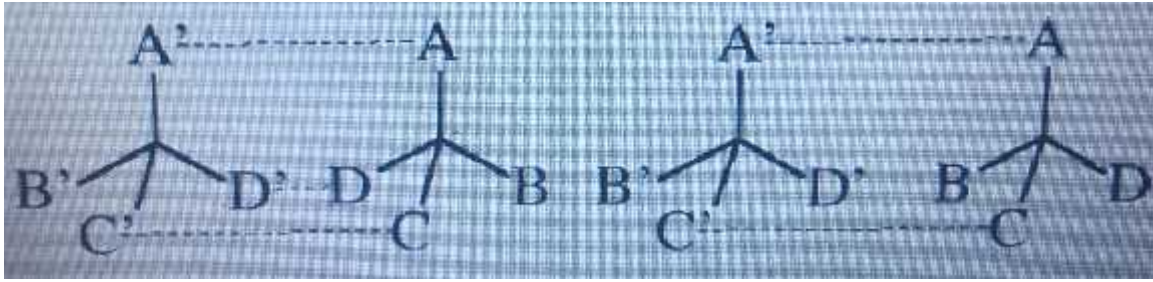
არსებობს ენანტიომერების დაყოფის არაპირდაპირი და პირდაპირი მეთოდები, კერძოდ:

1) ენანტიომერების დაყოფის არაპირდაპირი მეთოდია მათი გადაყვანა დიასტერეომერულ ფორმაში და მიღებული პროდუქტების შემდგომი დაყოფა კრისტალიზაციის და ქრომატოგრაფიის გამოყენებით. ამ მეთოდის ნაკლს წარმოადგენს ის, რომ მისი გამოყენება შესაძლებელია მხოლოდ შეზღუდული რაოდენობის ნივთიერებებისთვის.

2) პირდაპირი დაყოფის მეთოდად შესაძლებელია გამოყენებული იქნას ენანტიომერების ფერმენტული დაყოფა, კერძოდ, ბიოლოგიური უჯრედის ან ფერმენტის საშუალებით ხდება ერთ-ერთი ენანტიომერის გარდაქმნა და გამოყოფა რაცემული ნარევიდან.

თუმცა ქირალური სელექტორი ყოველთვის არის საჭირო ენანტიომერების ე.წ. პირდაპირი დაყოფის მეთოდებში.

ქირალური გამოცნობის მექანიზმის აღსაწერად ხშირად გამოიყენება სამწერტილოვანი ურთიერთქმედების მოდელი, რომელიც დალგლიემის მიერ იქნა შემუშავებული. ზემოთხსენებული მოდელი გულისხმობს, რომ ქირალური გამოცნობისათვის აუცილებელია მოცემული სამი სახის ურთიერთქმედებიდან ერთ-ერთი მაინც იყოს სტერეოსელექტიური (სურ. 2).



სურ. 2 სამწერტილიანი ურთიერთქმედების მოდელის დიაგრამა.

ასევე მნიშვნელოვანია ლიპკოვიცის მიერ მოცემული მოდელი, რომელიც საკვლევი ნივთიერებისა და ქირალური სელექტორის ურთიერთქმედებას აღწერს ატომურ დონეზე. ამ მოდელის საფუძველზე ქირალური დაყოფის ძირითად მოლეკულათშორის ძალებს წარმოადგენს შემდეგი სახის ურთიერთქმედებები:

- 1) წყალბადური ბმა
- 2) π - π ურთიერთქმედება
- 3) იონური ურთიერთქმედება [1].

ქირალური დაყოფის ინსტრუმენტული მეთოდებიდან განსაკუთრებით საინტერესო და მნიშვნელოვანი მეთოდებია სითხური და გაზური ქრომატოგრაფია, ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფია და ჩვენს მიერ კვლევებში გამოყენებული კაპილარული ელექტროფორეზი. ყველა მათგანის შემვევაში აუცილებელია ქირალური სელექტორის გამოყენება, რომლის საშუალებითაც მოხდება ენანტიომერების დაყოფა.

2.1.3 გაზური ქრომატოგრაფია

პირველად ინსტრუმენტული მეთოდებიდან ენანტიომერების დასაყოფად გაზური ქრომატოგრაფია გამოიყენეს 1966 წელს, გილ-ავის ჯგუფში.

გაზურ ქრომატოგრაფიაში ქირალური დაყოფა დაფუძნებულია ქირალური სტაციონარული ფაზის გამოყენებაზე.

დღეისათვის, გაზური ქრომატოგრაფიის მეთოდის გამოყენებით ენანტიომერების დასაყოფად ორი მიდგომა გამოიყენება, კერძოდ:

- 1) პირდაპირი მეთოდის დროს ენანტიომერების დაყოფა ხდება ქირალური სტაციონარული ფაზების გამოყენებით.
- 2) არაპირდაპირი მეთოდის დროს ხდება საანალიზო ენანტიომერების ნარევის დერივატიზაცია ენანტიომერულად სუფთა ქირალური დანამატით და შემდეგ ხდება მიღებული დიასტერეომერების დაყოფა სტანდარტული არაქირალური სტაციონარული ფაზების გამოყენებით.

გაზური ქრომატოგრაფიის მაღალი ეფექტურობა საშუალებას იძლევა ერთ ანალიზში მოხდეს როგორც ქირალური, ასევე აქირალური დაყოფა, რას ნიშნავს, რომ გარდა ენანტიომერული დაყოფისა ამავედროულად მოხდეს ქიმიური დაყოფაც.

გაზური ქრომატოგრაფიის უპირატესობას წარმოადგენს გამოყენებული სვეტების მაღალი ეფექტურობა, ანალიზის სისწრაფე, სვეტის გაწონასწორების მცირე დრო, ასევე შესაძლებელია გაზური ქრომატოგრაფის შეუღლება მას-სპექტრომეტრულ დეტექტორთან. ეს უკანასკნელი დეტექტორი კი გამოირჩევა განსაკუთრებით მგრძნობიარობით [15].

გაზური ქრომატოგრაფია წარმატებით გამოიყენება დაბალმოლეკულური აქროლადი ნივთიერებების საანალიზოდ, ხოლო მაღალმოლეკულური არააქროლადი ნივთიერებებისთვის მისი გამოყენება შეზღუდულია, თუმცა ზოგჯერ შესაძლებელია საკვლევი ნივთიერების დერივატიზაცია და აქროლად ფორმაში გადაყვანა.

2.1.4 ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფია

ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფიის განვითარება დაიწყო 1960-იანი წლებიდან და იგი მოიაზრებოდა როგორც გაზური ქრომატოგრაფიის, ან მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფიის ჩამნაცვლებელი, თუმცა დღესდღეობით წარმოადგენს დამოუკიდებელ მეთოდს და აერთიანებს როგორც გაზური, ისე სითხური ქრომატოგრაფიის უპირატესობებს.

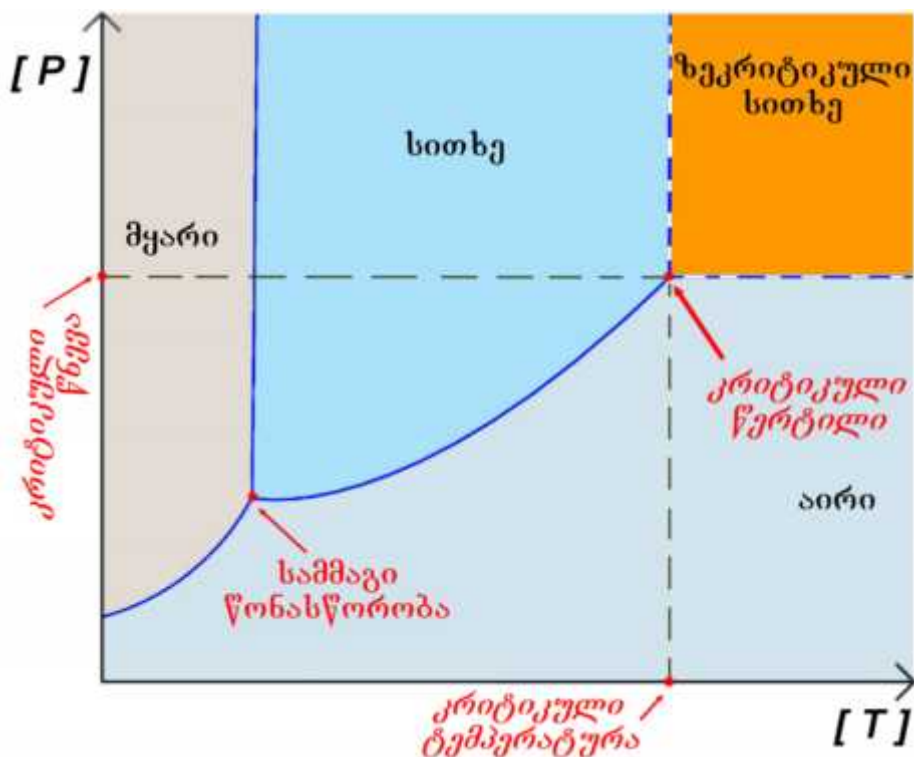
1980-იანი წლებიდან განვითარდა მეთოდები, რომლებიც იყენებდა კაპილარულ სვეტებს და დეტექტორებს, რომლებიც გადმოღებული იყო გაზური ქრომატოგრაფიიდან, ხოლო ინჟექტორების და მოძრავი ფაზის მიწოდების სისტემებს სითხური ქრომატოგრაფიიდან. განსაკუთრებული გამოყენება ამ მეთოდმა მოიპოვა დაბალი პოლარობის მქონე ნივთიერებების ანალიზში (როგორებიცაა ნახშირწყალბადური და სილოქსანური პოლიმერები, ნავთობპროდუქტები, ცხიმები და ზეთები) ამ ნივთიერებების გაზ-ქრომატოგრაფიული დაყოფა გართულებული იყო, რადგანაც საჭირო აქროლადობის მისაღწევად ძალზე მაღალი ტემპერატურები იყო საჭირო. თუმცა ამავდროულად კაპილარული ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფია არ იყო მისაღები პოლარული ნივთიერებების ანალიზისთვის [16].

1990-იანი წლებიდან განვითარდა ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფია შევსებული სვეტებისთვის (ანალოგიური სითხურ ქრომატოგრაფიაში გამოყენებული სვეტებისა) პოლარული ნივთიერებების დასაყოფად. ამ მეთოდის განვითარებას ხელი შეუწყო აპარატურის დახვეწამ და მისმა გადანაცვლებამ გაზური ქრომატოგრაფიის მსგავსი ხელსაწყოებიდან სითხური ქრომატოგრაფიისკენ [17]. დღესდღეობით ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფიაში შესაძლოა გამოყენებული იქნას სტანდარტული მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფები ერთი დამატებითი მოდულით და მცირე მოდიფიკაციებით, სპექტრომეტრულ დეტექტორებში დაიწყეს მაღალი წნევის კიუვეტების გამოყენება, გაუმჯობესდა სვეტის შემავსებელი მასალები, შესაძლებელი გახდა ზეკრიტიკულ სითხეში ორგანული მოდიფიკატორების

მაღალი სიზუსტით შერევა, რამაც თავის მხრივ შესაძლებელი გახადა სელექტიურობის კონტროლი მოძრავი ფაზის შემადგენლობის, და არა მარტო სიმკვრივის მიხედვით.

ზეკრიტიკული სითხე, ეს არის ელემენტი, ან ნივთიერება მის კრიტიკულ ტემპერატურაზე მაღლა, როდესაც ამავდროულად ის შეკუმშულია მის კრიტიკულ წნევაზე მაღლა. კრიტიკული ტემპერატურის გამო სითხე უნდა გადავიდეს აირში, თუმცა კრიტიკული წნევის გამო ეს არ ხდება, მიიღება მდგომარეობა, როდესაც შეუძლებელია მოხდეს ფაზათა გაყოფა სითხესა და აირს შორის, ამიტომ ეს არ არის ნივთიერების ახალი აგრეგატული მდგომარეობა [18].

ზეკრიტიკული სითხე შესაძლოა გამოვსახოთ ფაზათა დიაგრამაზე (სურ. 3), კრიტიკული წნევისა და ტემპერატურის მაღლა გვექნება ზეკრიტიკული სითხის რეგიონი:



სურ. 3 ფაზათა დიაგრამა ზეკრიტიკული სითხეებისათვის.

ფლუიდი (ინგლისურად - fluid) ნიშნავს ნივთიერების ისეთ მდგომარეობას, როდესაც მისი მოლეკულები თავისუფლად გადაადგილდებიან, სითხეში (liquid)

მოლეკულები თავისუფლად გადაადგილდებიან, თუმცა შეზღუდულები არიან მოცულობით, რადგან სითხის მოცულობა მუდმივია, ან თითქმის მუდმივი, ხოლო აირში (gas) მოლეკულები გადაადგილდებიან თავისუფლად, ამავდროულად არ აქვთ შეზღუდული მოცულობა - ამიტომაც აირი ყოველთვის ავსებს ჭურჭელს, რომელშიც ის მოთავსებულია, ანუ აირი და სითხე არის ფლუიდის ზღვრული შემთხვევები [19].

აირადი თუ თხევადი ფაზიდან ზეკრიტიკულ ფაზაში გადასვლა უფრო რბილია და მას თან არ ახლავს ისეთი რადიკალური ცვლილებები, რომლებიც როგორც წესი თან სდევს ფაზურ გადასვლას (აგრეგატული მდგომარეობის ცვლილებას). ზეკრიტიკული სითხის ფიზიკური თვისებები, როგორებიცაა სიმკვრივე, სიბლანტე, დიფუზიის უნარი და ა.შ. ადვილად იცვლება კრიტიკული წერტილის ზემოთ წნევის ან/და ტემპერატურის ცვლილებით. ზეკრიტიკული სითხე შესაძლოა იქცეოდეს როგორც სითხე, ან აირი, თუკი პირობები ახლოსაა ზღვართან [20] (წყვეტილი ხაზები სურათი 5-ზე კრიტიკული წერტილის მაღლა და მარჯვნივ). ზეკრიტიკული სითხის მახასიათებლები იცვლება ზეკრიტიკულ რეგიონში კოორდინატებზე (ტემპერატურა-T, წნევა-P) დამოკიდებულებით.

ნახშირორჟანგის ზეკრიტიკული სითხისთვის პრაქტიკულად შესაძლებელია სიმკვრივის დიდი ზღვარის-0.1-დან 1.0-მდე მიღება შედარებით „რბილ“ პირობებში, რაც ნიშნავს ზეკრიტიკული სითხის თვისებების ფართო ვარიაციებს და შესაბამისად CO₂ არის პრაქტიკულად შეუცვლელი მოძრავი ფაზა ზეკრიტიკული სითხის ქრომატოგრაფიაში. ამასთან, ის იაფია, ეკოლოგიურად სუფთა, არატოქსიკური და ინერტული.

ზეკრიტიკული სითხის სასურველი თვისებებია: დაბალი კრიტიკული მუდმივები (T და P- რბილი პირობები), დაბალი ქიმიური აქტივობა (მაღალი ინერტულობა), დაბალი ტოქსიკურობა და აალებადობა, მისაღები ფასი მაღალი სისუფთავისას, თავსებადობა გაზურ და სითხურ ქრომატოგრაფიაში გამოყენებულ აპარატურასთან. ჩამოთვლის პირობებს საუკეთესოდ შეესაბამება ნახშირორჟანგი.

2.1.5 სითხური ქრომატოგრაფია

ქრომატოგრაფია წარმოადგენს ნარევების ცალკეულ კომპონენტებად დაყოფის მეთოდს, რომელიც დაფუძნებულია კომპონენტების განსხვავებულ განაწილებაზე ორ ერთმანეთთან შეურევად ფაზას შორის. ერთ-ერთი ამ ფაზებიდან უძრავია, ხოლო მეორე მოძრავი. უძრავ ფაზას უწოდებენ სტაციონარულ ფაზას. ნიმუშის კომპონენტები მოძრაობენ ქრომატოგრაფიულ სისტემაში მხოლოდ მაშინ, როდესაც ისინი არიან მოძრავ ფაზაში. მოძრაობის სწორხაზოვანი სიჩქარე წარმოადგენს ორ ფაზაში ამ წონასწორული განაწილების ფუნქციას. კომპონენტები, რომლებიც ძირითადად განაწილებულნი არიან სტაციონარულ ფაზაში, მოძრაობენ უფრო ნელა, ვიდრე კომპონენტები, რომლებიც ძირითადად განაწილებულნი არიან მოძრავ ფაზაში. ამგვარად დაყოფა გამოწვეულია მათი მოძრაობის სწორხაზოვან სიჩქარეებს შორის სხვაობით, რაც გამოწვეულია მათ წონასწორულ განაწილებათა შორის სხვაობით [21].

მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფია (მესქ) გამოიყენება ორგანული და არაორგანული ნივთიერებების დაყოფისა და რაოდენობრივი განსაზღვრისათვის სხვადასხვა ნარევებში. რაოდენობრივი გაანგარიშებისათვის გამოიყენება, როგორც შინაგანი, ასევე გარეგანი სტანდარტები. მესქ-ს გამოყენება ძირითადად შემდეგი ტიპის ანალიზებისთვის:

1. ფარმაცევტულ საშუალებებში მოქმედი ნივთიერების და მინარევების განსაზღვრა;
2. ენანტიომერების დაყოფა;
3. კვების პროდუქტებში, ჩამდინარე და სასმელ წყლებში პესტიციდების რაოდენობრივი განსაზღვრა;
4. ამინომჟავების განსაზღვრა;
5. კვების პროდუქტებში ნარჩენი ანტიბიოტიკების, აფლატოქსინების და სხვა ტოქსიური ნივთიერებების განსაზღვრა;
6. კვების პროდუქტებში სტაბილიზატორების, არომატიზატორების, ემულგატორების, ვიტამინების და ა.შ. სხვა საკვებდანამატების რაოდენობრივი განსაზღვრა;

7. ბიოლოგიურ მატრიცებში სამკურნალო საშუალებების და მათი მეტაბოლიტების, ნარკოტიკული საშუალებების და მათი მეტაბოლიტების, ტოქსიური ნივთიერებების და მათი მეტაბოლიტების განსაზღვრა [22].

მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფის ხელსაწყო შემდეგი ძირითადი ბლოკებისაგან შედგება:

1. გამხსნელების შემრჩევი სისტემა;
2. დეგაზატორი;
3. ტუმბო;
4. ნიმუშების ინჟექტორი (ავტომატური ან მანუალური);
5. სვეტების თერმოსტატი;
6. დეტექტორი;
7. მონაცემთა დამუშავები მოწყობილობა (კომპიუტერი).



სურ. 4 მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფი.

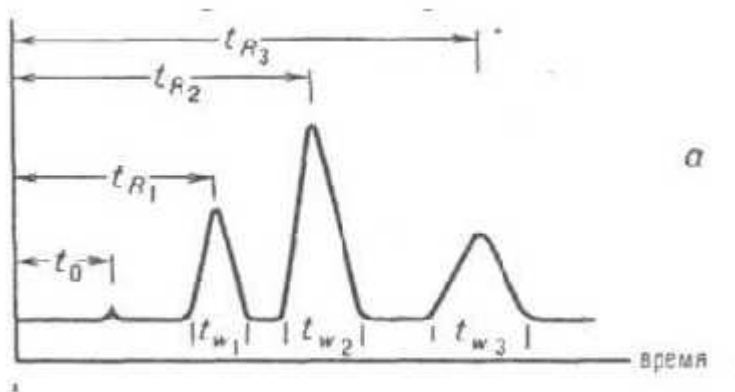
ქრომატოგრაფიული დაყოფის მახასიათებელი პარამეტრები არის:

-) შეკავების ფაქტორი
-) სელექტიურობა
-) ეფექტურობა
-) გარჩევითობა
-) პიკის სიმეტრია

შეკავების ფაქტორი k გამოითვლება ფორმულით:

$$k_A \times \frac{t_R}{t_M} \quad (1)$$

t_R და t_M იზომება ქრომატოგრამიდან. t_R არის შეკავების დრო მოცემული ნივთიერებისათვის, ხოლო t_M „მკვდარი მოცულობის“ შეკავების დრო, ანუ დრო, როდესაც ნიმუში ელუირდება ელუენტთან ერთად.



სელექტიურობა (r), არის დაყოფის ხარისხის რაოდენობრივი მახასიათებელი და წარმოადგენს ორი ნიმუშის შეკავების ფაქტორთა ფარდობას:

$$r \times \frac{k_2}{k_1} \quad (2)$$

r დამოკიდებულია მხოლოდ საანალიზო კომპონენტების ბუნებაზე, ელუენტის ტიპზე, მის შემადგენლობაზე, ტემპერატურაზე და ადსორბენტის ბუნებაზე, მისი ზედაპირის ქიმიაზე.

სვეტის ეფექტურობა ხასიათდება თეორიული თევზების რიცხვით N

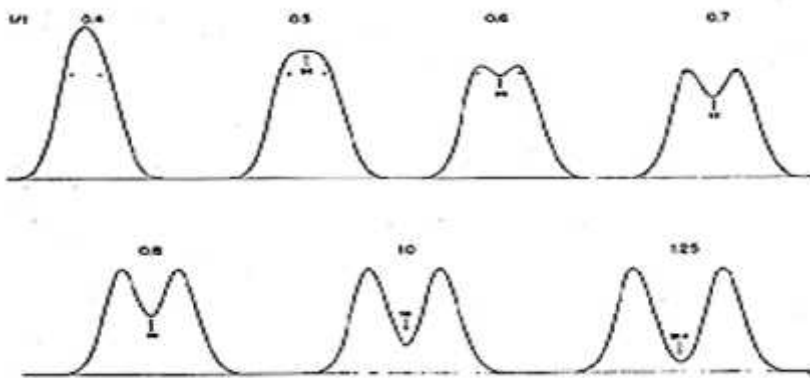
$$N \times 16 \left(\frac{t_R}{W} \right)^2 \quad (3)$$

t_R მოცემული ნიმუშის შეკავების დროა, ხოლო W - პიკის სიგანე.

გარჩევითობა (R) წარმოადგენს ტევადობის ფაქტორის, სელექტიურობის და სვეტის ეფექტურობის გაერთიანებულ გამოსახულებას

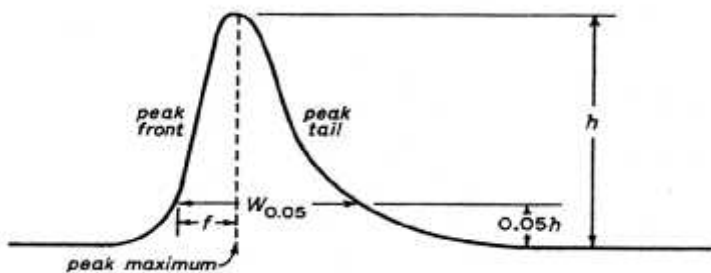
$$R_s \propto \frac{(t_2 - t_1)}{0.5(W_1 + W_2)} \quad (4)$$

t_1 და t_2 - პირველი და მეორე ნიმუშის შეკავების დროებია, ხოლო W_1 და W_2 პირველი და მეორე ნიმუშის პიკის სიგანეები.



პიკის სიმეტრია:

$$A_s = W_{0.05} / 2f \quad (5)$$



როგორც ზემოთ აღნიშნულიდან ჩანს, ქრომატოგრაფიული ანალიზის მეთოდის დამუშავების პროცესში აუცილებელია სელექტიურობის და ეფექტურობის გაზრდის გზით გარჩევითობის მაქსიმალურად მაღალი (ცალკეულ შემთხვევაში ოპტიმალური) მნიშვნელობის მიღწევა [23].

2.1.6 კაპილარული ელექტროფორეზის მეთოდი და მისი უპირატესობები დაყოფის სხვა მეთოდებთან შედარებით

კაპილარული ელექტროფორეზის სისტემა პირველად შეიქმნა ცილების, ნუკლეინის მჟავებისა და არაორგანული იონების დასაყოფად 1965 წელს. ამ მეთოდის უდიდესი პოტენციალი მას შემდეგ გამოჩნდა, რაც ჯორგენსონმა და ლუკასმა 1980 წელს პირველად გამოაქვეყნეს მაღალეფექტური დაყოფები [23].

კაპილარული ელექტროფორეზის მეთოდი ფარმაცევტულ ანალიზში მე-20 საუკუნის ბოლოდან გამოიყენება. კაპილარული ელექტროფორეზის მთავარ უპირატესობას ინსტრუმენტული ანალიზის სხვა მეთოდებთან შედარებით წარმოადგენს ის, რომ ამ მეთოდის გამოყენებით შესაძლოა გაანალიზდეს ნივთიერებათა ფართო კლასი დაწყებული მცირე ზომის ორგანულ და არაორგანული ნივთიერებებით და დამთავრებული დიდი ზომის მოლეკულებით [25, 26].

კაპილარულმა ელექტროფორეზმა ზოგიერთ ანალიზში ჩაანაცვლა ტრადიციული გელ-ელექტროფორეზი და ქრომატოგრაფიული ანალიზის მეთოდები. აღნიშნული მეთოდი განსაკუთრებით წარმატებით გამოიყენება მცირე ზომის ქირალური მოლეკულებისათვის, აქირალური მინარევების განსაზღვრისათვის სამკურნალო საშუალებებში, მეტალების იონებისა განსაზღვრისათვის და ა.შ..

კაპილარული ელექტროფორეზი წარმოადგენს ნივთიერებათა დაყოფის მეთოდს, რომელიც დაფუძნებულია ნარევის შემადგენელი კომპონენტების განსხვავებულ ძვრადობაზე ელექტრულ ველში. ელექტროფორეტული ძვრადობა აღიმკვრება საკვლევი ნიმუშის თითოეულ დამუხტულ კომპონენტში და იწვევს მათ გადაადგილებას ელექტრულ ველში. მუხტის სიმკვრივე კომპონენტების pK სიდიდეზეა დამოკიდებული, შესაბამისად საჭიროა ისეთი pH-ის შერჩევა, რომელზეც საკვლევი ნიმუშის ყველა კომპონენტს მუხტის განსხვავებული სიმკვრივე ექნებათ [27].

2.1.7 ელექტროფორეტული ძვრადობა

ელექტროფორეტული ძვრადობის უკეთ გასაგებად, რომელიც ერთ-ერთი უმნიშვნელოვანესი ფაქტორია კაპილარულ ელექტროფორეზში, საჭიროა იმის გარკვევა, თუ რა ხდება კაპილარში, როცა (E) ველის ძალის მქონე მუდმივ ელექტულ ველს ვიყენებთ

$$E = \frac{V}{L} \quad (6)$$

სადაც,

V-მუდმივი ველის ძაბვაა, რომელიც მოდებულია კაპილარის ბოლოებზე,

L-კაპილარის სიგრძე.

ამ დროს დამუხტულ ნაწილაკზე მოქმედებს ელექტროსტატიკური ძალა- F_e , რომელიც ელექტრული ველის ძალიას და იონის მუხტის პროპორციულია:

$$F_e = q \quad (7)$$

სწორედ ეს ელექტროსტატიკური ძალა იწვევს იონის გადაადგილებას საწინააღმდეგოდ დამუხტული ელექტროდისაკენ. ამ დროს დიდი მნიშვნელობა ენიჭება იმ ბუფერის სიბლანტეს, რომელსაც ანალიზის დროს ვიყენებთ, რადგან გარემოს სიბლანტის გაზრდასთან ერთად იმატებს იმ ხახუნის ძალა, რომელიც ხდება გარემოსა და საკვლევი ნიმუშის ნაწილაკებს შორის, რაც თავის მხრივ აფერხებს მათ გადაადგილებას საწინააღმდეგოდ მუხტის მქონე ელექტროდისაკენ და ამცირებს ნაწილაკების სიჩქარეს. სტოუკის (სტოქსის) თანახმად, სფერულ ნაწილაკებზე მოქმედი ხახუნის ძალა შემდეგნაირად შეიძლება გამოისახოს:

$$F_f = 6\pi \quad (8)$$

სადაც

η -არის გარემოს სიბლანტე.

r- ნაწილაკის ან იონის რადიუსი;

v-გადაადგილების სიჩქარე.

დამუხტული ნაწილაკების გადაადგილება იწყება მაშინვე, როგორც კი, კაპილარის ბოლოებზე ხდება ელექტრული ველის მოდება. იმ იონების სიჩქარე კი,

რომლებიც ძლიერი ელექტრული ველის გავლენით კაპილარში გადაადგილდება შემდეგნაირად გამოისახება (v) :

$$v = \mu_e E \quad (9)$$

სადაც

μ - ელექტროფორეტულ ძვრადობას, ხოლო

E -ელექტრული ველის ძალასწარმოადგენს.

ამ რამდენიმე განტოლების გაერთიანებით და ყველა აღნიშნული პარამეტრის გათვალისწინებით ელექტროფორეტული ძვრადობის (μ_e) შეგვიძლია შემდეგი ფორმულით გამოვთვალოთ:

$$\mu_e(c - 2V - 1s - 1) = \frac{q}{\pi} = \frac{E}{E} \quad (10)$$

ელექტროფორეტული ძვრადობა წარმოადგენს იონის მახასიათებელ სიდიდეს მოცემულ პირობებში.

ფორმულიდან ჩანს, რომ μ_e დამოკიდებულია არა მარტო იონის მუხტზე, არამედ დისოციაციის ხარისხზეც და მათი გაზრდა იწვევს ამ სიდიდის გაზრდას. q მუხტის იონისთვის, რაც უფრო მეტია იონის მასა მით უფრო ნაკლებია მისი გადაადგილების სიჩქარე მუდმივ ელექტრულ ველში.

ნაწილაკზე მოდებული ელექტრული ძალა იწვევს მის აჩქარებას ელექტრულ ველში, ხოლო ხახუნის ძალა მის შენელებას. რადგანაც ხახუნის ძალა სიჩქარის გაზრდის მიხედვით იზრდება, სიჩქარის რაღაც მნიშვნელობაზე ის გაუტოლდება ნაწილაკზე მოდებული ელექტრული ველის ძალას. რადგანაც ეს ორი ძალა ურთიერთსაწინააღმდეგოდ არის მიმართული (ერთი აჩქარებს ნაწილაკს და მეორე ანელებს მას), როდესაც ეს ძალები ერთმანეთს გაუტოლდება, ამ დროს ნაწილაკზე მოქმედი ძალა იქნება ნულის ტოლი. ნიუტონის მეორე კანონის მიხედვით ეს ნიშნავს, რომ ნაწილაკის აჩქარება გახდება ნულის ტოლი, ანუ ის იმოდრავებს მუდმივი სიჩქარით. ეს მუდმივი სიჩქარე არის ნაწილაკის ელექტროფორეტული ძვრადობა μ_e , თუ გავითვალისწინებთ მოცემულ მსჯელობას ელექტროფორეტული

ძვრადობის ექსპერიმენტულად გამოსაანგარიშებელ ფორმულა შემდეგნაირად გამოსახება

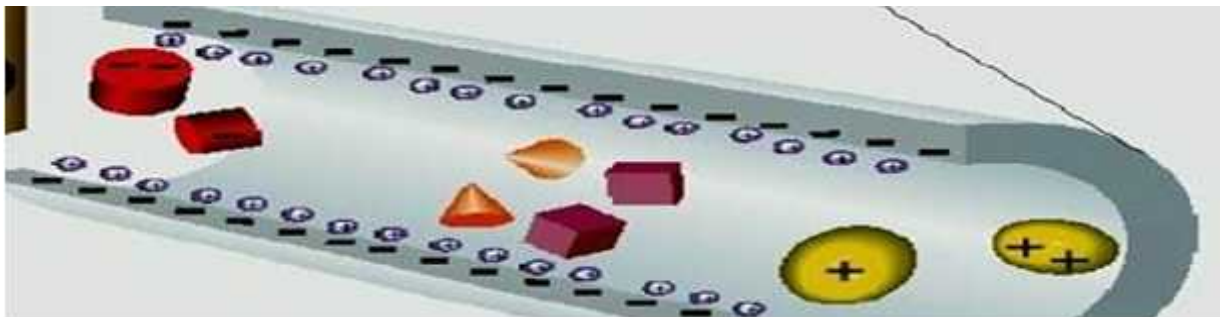
$$\mu e = \frac{Il}{Vt} \quad (11)$$

ხოლო V თავის მხრივ გამოსახება შემდეგი ფორმულით:

$$V = \frac{l}{t} \quad (12)$$

სადაც მრიცხველოში არის კაპილარის ეფექტური სიგრძე, ხოლო მნიშვნელში მოცემული ნივთიერების მიგრაციის დრო.

ნეიტრალურ ნივთიერებებს არ გააჩნიათ ელექტროფორეტიული ძვრადობა, რადგან მათი მუხტი ნულის ტოლია ($q=0$). ნეიტრალური ნივთიერებების გადაადგილება კაპილარულ ელექტროფორეზში მთლიანად დამოკიდებულია ელექტროსმოტურ ნაკადზე, რომელიც თავის მხრივ კაპილარისა და ანალიზის პირობების მიხედვით შეიძლება შეიცვალოს [1].



სურ. 5 ელექტროფორეტიული ძვრადობის სქემატური გამოსახულება.

2.1.8 ელექტროსტატიკური ნაკადი

ელექტროსტატიკური ნაკადი კაპილარული ელექტროფორეზის ექსპერიმენტის ერთ-ერთი მნიშვნელოვანი შემადგენელი კომპონენტია, რადგან სწორედ ელექტროსტატიკური ნაკადის გავლენით გადაადგილდება კაპილარში ნეიტრალური ნივთიერებები. ელექტროსტატიკური ნაკადი აღიძვრება კაპილარის ზედაპირზე არსებული სხვადასხვა ჯგუფების იონიზაციის შედეგად (სურ. 6) 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 სილანოლური ჯგუფების იონიზაცია, რის შედეგადაც კაპილარის ზედაპირზე ხდება უარყოფითი მუხტის დაგროვება [28], ხოლო ბუფერულ ხსნარში არსებული დადებითად დამუხტული ნაწილაკების აკუმულირება სწორედ კაპილარის ზედაპირზე არსებული უარყოფითი მუხტის გასწვრივ ხდება. აღნიშნული მუხტის გადანაწილება თავის მხრივ წარმოქმნის ორმაგ ელექტრულ შრეს [29].

როდესაც კაპილარის ბოლოებზე მაღალი ძაბვის მოდება ხდება, ხსნარში არსებული იონები იწყებს გადაადგილებას საწინააღმდეგოდ დამუხტული ელექტროდის მიმართულებით. რადგანაც ხშირ შემთხვევაში ეს იონები ჰიდრატირებულია (ზოგადად სოლვატირებულია) იონებთა ერთად გადაადგილება სითხეც. სწორედ სითხის ამ გადაადგილებას ეწოდება ელექტროსტატიკური, ხოლო ელექტროსტატიკური ძვრადობა აღიწერება შემდეგი გამოსახულებით:

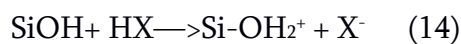
$$\mu E = \frac{E}{4\eta} \quad (13)$$

ეს გამოსახულება აღწერს ელექტროსტატიკურ ნაკადს, როგორც ფუნქციას რომელიც, პირდაპირპროპორციულია ხსნარის დიელექტრული მუდმივის (ϵ), მოდებული ელექტრული ველის ძალის (E) და ზეტა პოტენციალის (ζ), ხოლო უკუპროპორციულია ხსნარის სიბლანტის (η).

ბუფერული ხსნარის ძვრადობას კაპილარში აღწერს შტერნის ორმაგი შრის მოდელი. თითქმის ყველა მყარი ზედაპირი იძენს გარკვეულ ელექტრულ მუხტს

საკუთარ ზედაპირზე. ამას შესაძლოა რამდენიმე სხვადასხვა მიზეზი ჰქონდეს, მაგალითად: ზედაპირის იონიზაცია, ელექტროლიტების იონების ადსორბცია მყარ ზედაპირზე, და ა.შ.

იქიდან გამომდინარე, რომ ელექტროფორეზისთვის ხშირად გამოიყენება კვარცის კაპილარები დაუმუშავებელი ზედაპირით, შტერნის მოდელს შეუძლია აღწეროს კვარცის კაპილარის შიდა ზედაპირის იონიზაცია. კაპილარების გამოდნობა ხდება 1100°C -ზე ან უფრო მაღალ ტემპერატურაზე, ამ დროს კვარცის სილანოლური ჯგუფები კონდენსირდება და წარმოიქმნება სილოქსანური ბმები (სურათი 6), ხოლო კვარცის კაპილარში წყლიანი ფაზის გატარების შედეგად ხდება ხსნარის კონტაქტი კაპილარის კედლებთან, რის შედეგადაც ადგილი აქვს ჰიდროლიზს და სილოქსანური ბმებიდან ისევ სილანოლური ჯგუფების წარმოქმნას, რომლებიც შემდგომ განიცდიან იონიზაციას. ელექტროლიტის pH-ზე დამოკიდებულებით ძალიან მყავა გარემოში სილანოლური ჯგუფები შესაძლოა იყოს დადებითად დამუხტული, როგორც SiOH^+ :



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

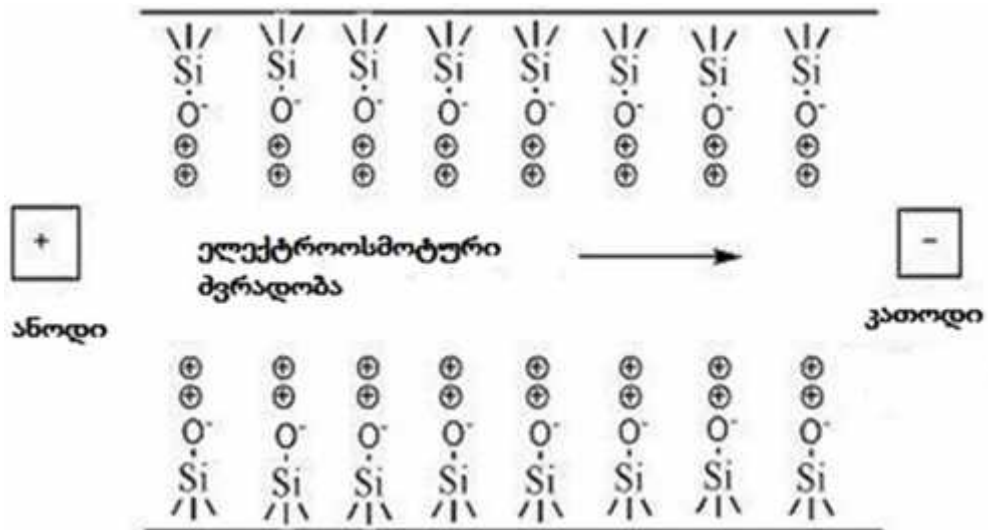


ელექტროოსმოსური ძვრადობის როლი კაპილარულ ელექტროფორეზში ძალიან დიდია. ელექტროოსმოსური ძვრადობა რამდენიმე პარამეტრის ცვლილებით შეგვიძლია ვარეგულიროთ, პირველი და ყველაზე მნიშვნელოვანი ბუფერული ხსნარი pH-ია, რაც უფრო მაღალია იგი, მით უფრო მეტი სილანური ჯგუფების იონიზაცია ხდება კაპილარში და შესაბამისად უფრო მაღალია ელექტროოსმოსური ნაკადის მნიშვნელობაც. აუცილებელია აღინიშნოს, რომ იმის მიხედვით თუ რომელ კაპილარს ვიყენებთ, ელექტროოსმოსური ნაკადის მნიშვნელობა მნიშვნელოვნად იცვლება (სურათი 7). ელექტროოსმოსური ნაკადის ცვლილების გამო მნიშვნელოვანია ბუფერული ხსნარის pH-ის ანალიზის

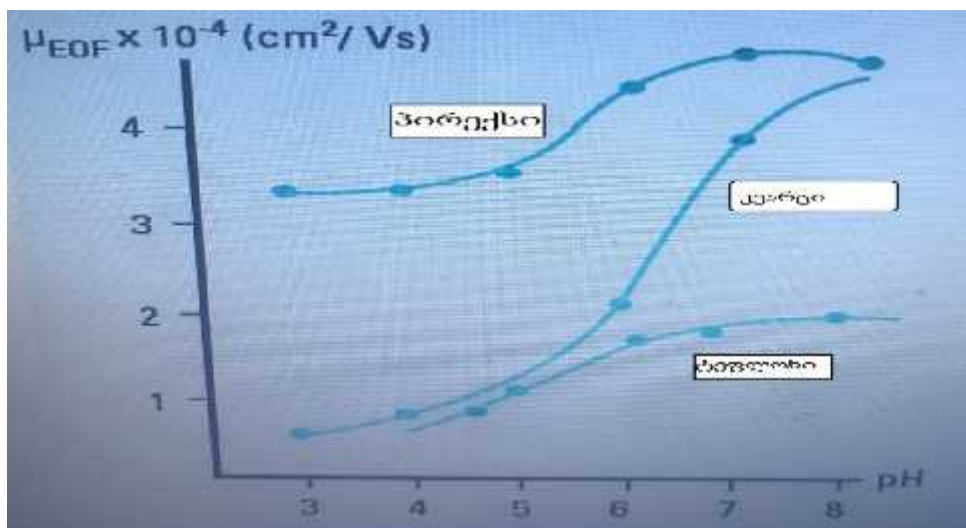
მიზნებიდან გამომდინარე ცვლილება, რადგან ისეთი pH-ის შერჩევას, როდესაც ელექტროოსმოსური ნაკადი ძალიან მცირე სიდიდეა, შესაძლებელია მოხდეს უარყოფითად დამუხტული ნაწილაკების ადსორბირება კაპილარის ზედაპირზე, რაც დიდ პრობლემას წარმოადგენს ცილების ანალიზში. ანალიზის ისეთი მეთოდებისთვის, როგორც წარმოადგენს იზოელექტრული ფოკუსირება, იზოტახოფორეზი და კაპილარული გელ-ელექტროფორეზი, საჭიროა ელექტროოსმოსური ნაკადის მინიმუმამდე დაყვანა ამ მთლიანად მოსპობა [30] [31].

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



სურ. 6 ელექტროსმოტური ძვრადობის სქემატური გამოსახულება.



სურ. 7 ელექტროსმოტური ძვრადობის pH-ზე დამოკიდებულების გრაფიკი სხვადასხვა სახის კაპილარისთვის.

კაპილარულ ელექტროფორეზში რამდენიმე პარამეტრი ახდენს გავლენას დაყოფის ეფექტურობაზე. ეს პარამეტრებია: ელექტროდისპერსია, ჯოული სითბო, ნივთიერებისა და კაპილარის კედლის ურთიერთქმედება, ბუფერის კონცენტრაცია და pH, ტემპერატურა, გამოყენებული ძაბვის სიდიდე და ა.შ.

2.1.9 ჯოულის სითბო

ნივთიერების ელექტროკინეტიკური გადატანა დაკავშირებულია თერმულ ეფექტებთან. ელექტროლიტის ხსნარში ელექტრული დენის გატარებას თან ახლავს სითბური ეფექტი (სითბოს გამოყოფა). საკვლევი ნივთიერების მოძრავი იონები და ბუფერის მოლეკულები ერთ გარემოში არიან. შესაბამისად, მათ შორის ხდება გარკვეული ურთიერთქმედება ხახუნის სახით. კაპილარული ელექტროფორეზის ექსპერიმენტში ძლიერი ელექტრული ველია გამოყენებული. ამიტომ ჯოულის სითბოს მნიშვნელობა საკმაოდ მაღალია. როდესაც სითბოს წარმოქმნის სიჩქარე გადააჭარბებს სითბოს გაცემის სიჩქარეს, ამ შემთხვევაში ტემპერატურა ანალიზის პროცესში იზრდება [32,33]. ჯოულის სითბოს უარყოფითი გავლენა აქვს ანალიზების მიმდინარეობაზე. კერძოდ მის გამო კაპილარში ხსნარი გარკვეულ წერტილებში იწყებს დუღილს, რაც თავის მხრივ იწვევს ჰაერის ბუშტების წარმოქმნას. ამის გამო ხდება ელექტროლიტის გამტარიანობის შემცირება, შესაბამისად, რაც ხელს უშლის ძაბვის მოდებას კაპილარზე. ჯოულის სითბო დამოკიდებულია ბუფერის გამტარობასა და მოდებული ველის ძალზე. კერძოდ, მაღალი ძაბვა და მაღალი იონური ძალის ბუფერი, მიუხედავად იმისა, რომ უკეთესია მაღალი გარჩევითობის პიკების მისაღებად, მეორე მხრივ ხელს უწყობს ჯოულის სითბოს წარმოქმნას [34].

რაც შეეხება ზონის გაფართოებას, ტემპერატურის ზრდა პრობლემას ქმნის რადიალური ტემპერატურული გრადიენტის გამო კაპილარში. მოუხედავად იმისა რომ თანაბარი სითბო წარმოიქმნება რადიალურ უბნებში, სითბო კაპილარის კედლებიდან გარემოს უფრო ადვილად გადაეცემა, ვიდრე კაპილარის ცენტრიდან. შესაბამისად, ამ ზონებს შორის ჩნდება ტემპერატურის განსხვავება. სითბოს ზრდა ელექტროლიტის ხსნარის სიბლანტის შემცირებას იწვევს და ძვრადობას ზრდის. შედეგად, ელექტროოსმოსური ნაკადი გადაიქცევა ლამინალურ დინებად, რაც შესამჩნევად ამცირებს პიკების ეფექტურობას. გარდა ამისა, ტემპერატურას შეუძლია გავლენა მოახდინოს ელექტროლიტის ხსნარის მჟავიანობაზეც [35].

ჯოული სითბოს შესამცირებლად და მისი არასასურველი ეფექტების გავლენის თავიდან ასარიდებლად საჭიროა:

1. ტემპერატურის კონტროლი
2. კაპილარის შიდა დიამეტრის შემცირება, რადგან კაპილარის დიამეტრის ჯერადად გაზრდით ჯოული სითბო კვადრატულად იზრდება.
3. ბუფერის იონური ძალის შემცირება
4. ძაბვის შემცირება

2.1.10 საანალიზო ნივთიერებისა ურთიერთქმედება კაპილარის შიგა ზედაპირთან

როგორც აღვნიშნეთ კაპილარის შიდა კედლები ხსნარის pH-ზე ($\text{pH} > 2$) დამოკიდებულებით იძენს უარყოფით მუხტს. კაპილარის კედლების უარყოფითი მუხტი კი იზიდავს დადებითად დამუხტულ ნივთიერებებს და ამცირებს დაყოფის ეფექტურობას. ბევრმა კვლევამ აჩვენა, რომ სულ მცირე ურთიერთქმედებისასაც კი კაპილარის კედლებთან გარჩევითობა მკვეთრად მცირდება პიკების გაგანიერების ხარჯზე. ეს გავლენა საკმაოდ მკაფიოა დიდი ზომის ბიომოლეკულებისათვის. ამ ეფექტის შემცირების მიზნით საკმაოდ ეფექტურად გამოიყენება კაპილარების დაფენის ტექნიკა. ამ შემთხვევაში შესაძლოა გამოყენებულ იქნეს როგორც მუდმივი, ასევე დროებითი დაფენა სხვადასხვა პოლიმერის საშუალებით.

ბოლო ორი ათწლეულია კაპილარულმა ელექტროფორეზმა ქირალურ დაყოფაში საკმაოდ 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. 9). კაპილარული ელექტროფორეზის ზემოთ ნახსენები უპირატესობები გამოწვეულია ხელსაწყოს სიმარტივით, რომელიც მოიცავს ბუფერით შევსებულ რეზერვუარებს, რომელშიც კაპილარის ბოლოებია ჩადირული, რათა მოხდეს ელექტრული წრედის შეკვრა, რაც გამოიწვევს კაპილარში ელექტროოსმოტური ნაკადის, ხოლო საანალიზო ნიმუშში ელექტროფორეტული ძვრადობის გაჩენას. დეტექტირება, როგორც ზემოთ იყო აღნიშნული, ინიცირების მსგავსად თავად კაპილარში ხდება, რომლის გარე ზედაპირი, 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.

როდესაც კაპილარის კედელი დამუხტულია უარყოფითად, ის კვლავ იზიდავს დადებითად დამუხტულ ჰიდროქსონიუმის იონებს ელექტროსტატიკური ურთიერთქმედების საშუალებით. ამ პროცესის შედეგად ბალანსირდება ზედაპირის უარყოფითი მუხტი. შტერნის მოდელის მიხედვით ორმაგი შრე, ადსორბირებული იონებით, წონასწორობაშია გარეთა დიფუზიურ ფენასთან. ელექტრული პოტენციალი იკლებს წრფივად დისტანციის გაზრდასთან ერთად კედლიდან დიფუზიურ ფენაში. დიფუზიური ორმაგი შრის პოტენციალს ეწოდება ზეტა პოტენციალი. წარმოსახვითი საზღვარი მკაცრად განსაზღვრულ ფენასა და დიფუზიურ ფენას შორის ცნობილია, როგორც გამყოფი ზედაპირი. დიფუზიურ ფენაში ყოველთვის სჭარბობს დადებითი მუხტი და ელექტრული ველის მოდების შემდეგ დადებითად დამუხტული იონები იწყებენ გადაადგილებას კათოდისკენ.

კედელთან არსებული ხსნარის ნაწილის ხახუნის გამო ნაკადის სიჩქარე კედელთან მცირეა, კედლიდან მანძილის გაზრდით მისი სიჩქარე იზრდება ორმაგი შრის რეგიონში და აღწევს მაქსიმუმს კედლიდან გარკვეულ მანძილზე, თუმცა ძალიან ახლოს.

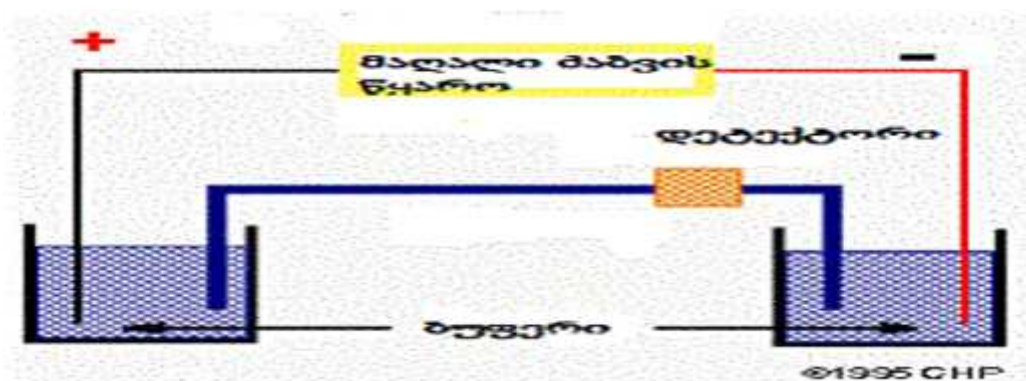
ასევე მნიშვნელოვანია წაკვეთილი კონუსის ფორმის ნაკადი კაპილარულ ელექტროფორეზში, რაც გამოწვეულია ელექტროოსმოსური ნაკადის გავლენით წარმოქმნილი ორმაგი ელექტრული შრის შედეგად, იმის გამო რომ ხსნარში არსებული დადებითი მუხტის ლოკალიზება კაპილარის კედლებთან ხდება, ერთი შეხედვით ხსნარის ამ ნაწილის ელექტროფორეტული ძვრადობა კათოდის მიმართულებით 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, ეს საშუალებას გვაძლევს კაპილარულ ელექტროფორეზში მივიღოთ ბევრად უფრო ვიწრო პიკები, ვიდრე სითხურ ქრომატოგრაფიაში (სურ. 8).



სურ. 8 ელექტროოსმოსური ნაკადისა და ლამინარული ნაკადის შედარება.

კაპილარულ ელექტროფორეზის მეთოდის ერთ-ერთ ძირითად უპირატესობას ასევე წარმოადგენს ის, რომ მიიღწევა თეორიული თევშების ძალიან მაღალი რიცხვი (უმეტესად მეტი 100000-ზე), რაც გამოწვეულია იმით, რომ ვან დეემტერის განტოლებაში არ გვაქვს A (გრიგალისებურიდიფუზია) და C (მასის გადატანის წინააღმდეგობა) კოეფიციენტი, რადგან დაყოფა ხდება ერთი, თხევადი ფაზით შევსებულ კაპილარსა და ერთ ფაზაში.

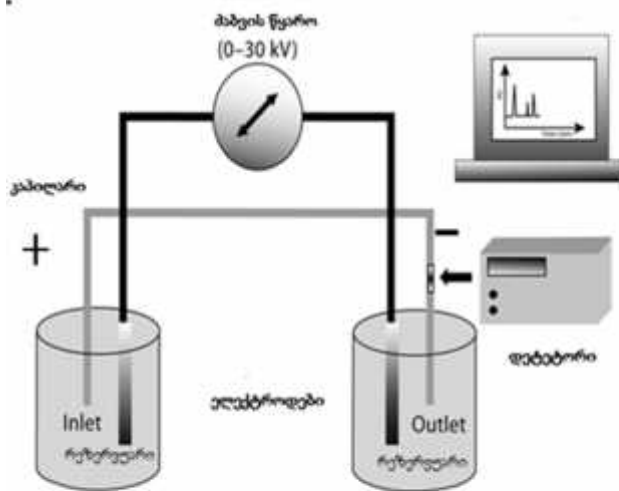


სურ. 9 კაპილარული ელექტროფორეზის ხელსაწყოების სქემა.

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 დაყოფისთვის 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 საკვლევი ნიმუშის ურთიერთქმედების ხარჯზე. ფსევდოფაზებად საკმაოდ აქტუალურია ციკლოდექსტრინების გამოყენება, ციკლოდექსტრინები ამ მიზნით პირველად გამოიყენა სმოლკოვა-კეულემანცოვას, კარგერის და ფანალის ჯგუფებმა 1987-1988 წლებში.

2.1.11 კაპილარული ელექტროფორეზის ხელსაწყოების სქემა



სურ. 10 კაპილარული ელექტროფორეზის ხელსაწყოების სქემა.

სურათზე მოცემულია კაპილარული ელექტროფორეზის ზოგადი სქემა, რომელიც შედგება :

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

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

მოქნილობის გასაზრდელად. დაახლოებით 9სმ სიგრძეზე outlet ბოთლის მხრიდან დეტექტორების არხამდე კაპილარს უკეთდება ფანჯარა დაახლოებით 4-5 მმ სიგრძის პოლიიმიდის მოწვის ხარჯზე. სწორედ დეტექტორების ფანჯარაში ხდება ნივთიერებათა დეტექტირება ყველაზე ხშიდარ გამოყენებული ულტრაისფერი გამოსხივებით, რომლის ნათურაც დაყენებულია დეტექტორების ფანჯრის პირდაპირ და მისი გამოსხივება უმზერს დეტექტორების ფანჯარაში გამავალ ნივთიერებებს. მიღებული სიგნალები ელექტრონულად ჩაიწერება და გამოსახება პიკების სახით.[36]

2.1.12 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 ნივთიერებების განსხვავებული მასით, მუხტით, ან სტრუქტურით. ნივთიერების სტრუქტურას არ აქვს ცხადი გავლენა ნაწილაკის ძვრადობაზე, თუმცა ნაწილაკი ეფექტური მუხტი, ბუფერთან სოლვატაცია და დენის ნაკადისადმი მდგრადობა დამოკიდებულია ნივთიერების სტრუქტურაზე. აღნიშნულ მეთოდში ნივთიერებათა დაყოფა დამოკიდებულია საკვლევი ნიმუშის კომპონენტთა განსხვავებულ ძვრადობაზე ელექტრული ველის გავლენით, რაც იწვევს საკვლევ ნიმუშში ელექტროფორეტულ ძვრადობას, ხოლო კაპილარში ქმნის ელექტროოსმოსურ ნაკადს [37]. თუმცა არც ერთი ზემოაღნიშნული ფაქტორი არ გვაძლევს იმის საშუალებას ერთმანეთისაგან ქირალური ნივთიერების ენანტიომერები გავარჩიოთ. როგორც ცნობილია ენანტიომერები ერთმანეთისაგან არ განსხვავდებიან ფიზიკურ-ქიმიური თვისებებით აქირალურ გარემოში, რაც თავის მხრივ ნიშნავს იმას, აქირალურ გარემოში ორივე ენანტიომერს მსგავსი ელექტროფორეტული ძვრადობა გააჩნიათ, შესაბამისად მათი სიჩქარეები, რომლითაც ისინი საპირისპიროდ დამუხტული ელექტროდისკენ მოძრაობენ ერთნაირია. ქირალური ნივთიერების ენანტიომერული დაყოფა შესაძლებელია მხოლოდ ქირალური სელექტორების გამოყენებით, რომლებიც თავის მხრივ ქირალურ ნივთიერებებს წარმოადგენენ და ისინი იწვევენ განსხვავებულ ეფექტურ ძვრადობებს თითოეული ენანტიომერისათვის. კაპილარულ ზონურ ელექტროფორეზში შესაძლოა ერთმანეთისგან დაიყოს როგორც დადებითად დამუხტული ნივთიერებები, ასევე ნეიტრალური და ანიონური ნაწილაკები ერთსა და იმავე პირობებში. თუმცა, უნდა აღინიშნოს, რომ ამ მეთოდის საშუალებით ვერ მოხდება ნეიტრალური ნივთიერებების ერთმანეთისაგან დაყოფა, რადგან მათი ელექტროფორეტული ძვრადობები ნულის ტოლია და კაპილარში გადაადგილდებიან მხოლოდ ელექტროოსმოსის საშუალებით. ელექტროოსმოსური ნაკადის ძალა კი ყველა

ნეიტრალური ნივთიერებისთვის ერთი და იგივეა მოცემულ პირობებში, სწორედ ამიტომ ყველა ნეიტრალური ნივთიერების სიჩქარე ერთნაირი იქნება, შესაბამისად ყველა მათგანის დეტექტირება ერთდროულად მოხდება [38].

2.1.13 კაპილარული ელექტროკინეტიკური ქრომატოგრაფია

კაპილარული ელექტროკინეტიკური ქრომატოგრაფია მეორე ყველაზე გავრცელებული მეთოდია ზონური ელექტროფორეზის შემდეგ. აღნიშნული მეთოდი პრაქტიკაში შემოიტანა ტერაბეს ჯგუფმა 1984 წელს [39]. კაპილარული ელექტროკინეტიკური ქრომატოგრაფია დაფუძნებულია ნივთიერებების გადაადგილების ელექტროფორეტულ ძვრადობასა და დაყოფის ქრომატოგრაფიული პრინციპზე. ეს უკანასკნელი კი ნიშნავს, იმას რომ დაყოფა ხდება საკვლევი ნიმუშის კომპონენტების განსხვავებული გადანაწილებით ორ ფსევდოფაზას შორის. კაპილარულ ელექტროკინეტიკურ ქრომატოგრაფიაში ყველაზე გავრცელებული ფსევდოფაზებს წარმოადგენენ სინთეზური და ბუნებრივი მიცელები, მიკროემულსიები, პეპტიდები, პროტეინები, ნეიტრალური და დამუხტული მაკრომოლეკულები, ხაზოვანი და ციკლური ოლიგოსაქარიდები. ნივთიერების განაწილებისას ფსევდოფაზაში მოქმედებს ჰიდროფობური ძალები, ასევე აღსანიშნავია სხვა სპეციფიური ძალები მაგ. წყალბადური ბმა, დიპოლ-დიპოლური ურთიერთქმედება და ა.შ., რომლებიც ზოგადად ქირალურ დაყოფაში ერთ-ერთი ყველაზე მნიშვნელოვანი ძალებია [40].

ამ მეთოდის განსაკუთრებულ მახასიათებელს წარმოადგენს ის ფაქტი რომ, მისი საშუალებით შესაძლებელია ნეიტრალური მოლეკულების დაყოფა, რაც კაპილარული ზონური ელექტროფორეზით შეუძლებელია. მიზეზი ნეიტრალურ ნივთიერებებში ელექტროფორეტული ძვრადობის არ ქონაა და მათი მამოძრავებელ ძალას კაპილარში მხოლოდ ელექტროოსმოტური ნაკადი წარმოადგენს, რომელიც არა ნივთიერების, არამედ სისტემის და ანალიზის პირობების ერთ-ერთი მახასიათებელია. როდესაც ნეიტრალური მოლეკულები განსხვავებულად ნაწილდება ფსევდოფაზაში, ნაწილაკები იძენენ განსხვავებულ ეფექტურ ძვრადობას, რადგან ფსევდოფაზას განსხვავებული ძვრადობა გააჩნია [41]. აქედან გამომდინარე, ნეიტრალური ნივთიერებების დაყოფა შესაძლებელი ხდება, რადგან მათ დროის გარკვეულ მომენტში ელექტროფორეტული ნაკადისგან განსხვავებული სიძქარე გააჩნიათ [42].

2.1.14 კაპილარული გელ ელექტროფორეზი

კაპილარული გელ ელექტროფორეზი დაფუძნებულია გელის ფორებში ნივთიერებათა მოლეკულების განაწილებაზე მათი მუხტისა, მასის და ზომის მიხედვით. ეს მეთოდი ძირითადად გამოიყენება დიდი ზომის მოლეკულებისათვის მაგ. ცილებისა და ნუკლეინის მჟავებისათვის. გელის არე იქცევა როგორც მოლეკულური საცრები. გაცრის პროცესი მნიშვნელოვანია მაკრომოლეკულების დასაყოფად. მაგალითად დნმ-ის მოლეკულას მიმატებული ნუკლეოტიდის მიუხედავად, აქვს ეკვივალენტური მასა და მუხტი, ამის გამო ელექტროფორეტული ძვრადობა იგივე რჩება და ასეთი მოლეკულების დაყოფა შეუძლებელი ხდება ელექტროფორეტული ძვრადობების მიხედვით [43]. გელ-ელექტროფორეზში გაცრის პროცესი ხელს უწყობს ასეთი მოლეკულების დაყოფას, რადგან აქ დაყოფა მოლეკულის ზომაზეა დაფუძნებული. ამ მეთოდში მოლეკულურ საცრებად ძირითადად გამოიყენება შეკერილი პოლიაკრილამიდი. მცირე ზომის ფორები ძირითადად გამოიყენება ცილების დასაყოფად, ხოლო დიდი ზომის ფორები დნმ-ის ანალიზისათვის. გარდა მოლეკულური საცრების როლის შესრულებისა, ასეთ პოლიმერებს აქვთ მეორე ფუნქცია, მათ აქვთ ანტიკონვექციური მოქმედება. რაც შეეხება ხაზოვან პოლიმერებს, ასევე შესაძლებელია მათი გამოყენებაც მაგ. ხაზოვანი პოლიაკრილამიდი, პოლივინილის სპირტი და ა.შ. [44]

კაპილარულ მეთოდებს მიეკუთვნება ასევე კაპილარული იზოელექტრული ფოკუსირება და კაპილარული იზოტახოფორეზი, თუმცა ეს უკანასკნელი ძირითადად ნიმუშის მომზადების ეტაპზე, მის დასაკონცენტრირებად გამოიყენება.

2.1.15 კაპილარული ელექტროქრომატოგრაფია

კაპილარული ელექტროქრომატოგრაფია წარმოადგენს მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფიისა და კაპილარული ელექტროფორეზის ნაზავს და მასში ფაქტიურად ამ ორივე მეთოდის უპირატესობებია გაერთიანებული [45]. აღნიშნული მეთოდი დაფუძნებულია ნივთიერებათა განაწილებაზე უძრავ და მოძრავ ფაზებს შორის.

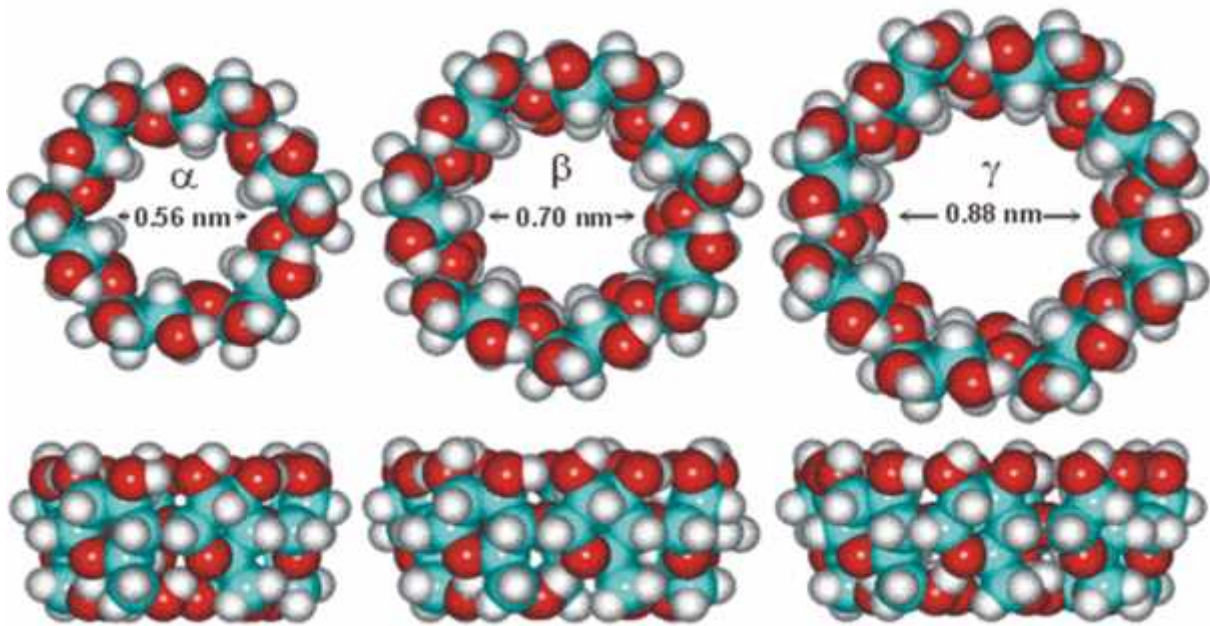
კაპილარული ელექტროქრომატოგრაფიაში გარდა სტაციონარული ფაზით შევსებული კაპილარებისა, გამოიყენება ასევე დაფენილი კაპილარები. კაპილარული ელექტროქრომატოგრაფიის დროს ელექტროკინეტიკური ნაკადის მთავარი უპირატესობა არის ნაკადის არსებობა ნაწილაკების ფორებში, ნივთიერების პერფუზიური გადაადგილება ადსორბენტის ფორებში, მაშინ როდესაც მხოლოდ წნევის გამოყენებისას ნივთიერების გადაადგილება ფორებში ხდება მხოლოდ დიფუზიით და ეს არის ნელი პროცესი, რაციწვევს სიგნალის გაფართოებას [46].

ელექტროოსმოტური მამოძრავებელი ძალა არ არის დამოკიდებული ნაწილაკების ფორმასა და ზომაზე, რაც იმის საშუალებას გვაძლევს რომ კაპილარები შეივსოს მცირე დამეტრის მკონე ნაწილაკებით. ეს კი დაყოფის მაღალ ეფექტურობას განაპირობებს სითხულ ქრომატოგრაფიასთან შედარებით. მასის გადატანა მოძრავ ფაზასა და სტაციონარულ ფაზას შორის სწრაფად ხდება, რომელიც ასევე უპირატესობას წარმოადგენს მაღალეფექტურ სითხურ ქრომატოგრაფიასთან შედარებით [47]. პიკების ეფექტურობა კაპილარულ ელექტროქრომატოგრაფიაში უფრო დაბალია ვიდრე ზონურ ელექტროფორეზსა და კაპილარულ ელექტროკინეტიკურ ქრომატოგრაფიაში, მაგრამ უფრო მაღალია ვიდრე გაზურ და სითხურ ქრომატოგრაფიაში.

2.1.16 ქირალური სელექტორები. ციკლოდექსტრინების გამოყენება

ქირალურ დაყოფებში

ციკლოდექსტრინები წარმოადგენენ ციკლურ ოლიგოსაქარიდებს, რომლებიც შეიცავს D-(+)-გლუკოპირანოზას მონომერებს, რომლებიც ერთმანეთთან დაკავშირებულია $\alpha(1,4)$ -გლიკოზიდური ბმით (სურ. 11)



სურ. 11 ბუნებრივი ციკლოდექსტრინები.

ციკლოდექსტრინებს გააჩნიათ კალათის ფორმა, რომლის შიგა ღრუ ჰიდროფობურია, ხოლო გარე ზედაპირი ჰიდროფილური. სწორედ შიგა შრის ჰიდროფობურობა უწყობს ხელს საკვლევ ნიმუშსა და ციკლოდექტრინს შორის ჩართული კომპლექსის წარმოქმნას [48]. ციკლოდექსტრინები შეიცავს როგორც პირველად, ასევე მეორეულ ჰიდროქსილის ჯგუფებს და ისინი განლაგებული არიან გარე შრეზე. პირველადი ჰიდროქსილის ჯგუფები მდებარეობენ 6C-მდგომარეობაში ციკლოდექსტრინის ღრუს ვიწრო მხარეს, ხოლო მეორეული ჰიდროქსილის ჯგუფები 2C და 3C მდგომარეობაში ღრუს განიერ მხარეს [49]. ცენტრალური ღრუ წარმოგვიდგება ნახშირბადული ჯაჭვის სახითა და ეთერული ჟანგბადის სახით გლუკოზის ნაშთებში, რაც წარმოადგენს ციკლოდექსტრინის ღრუს ჰიდროფობურობის მიზეზს. გლიკოზიდური ჟანგბადის ბმის არწარმომქმნელი (არაკოვალენტური, შუკავშირებელი) ელექტრონები, რომლებიც

ორიენტირებული არიან ციკლოდექსტრინის ღრუს ცენტრისკენ, ღრუს ანიჭებენ ლუისის ფუძის თვისებას [50].

ჰიდროქსილის ჯგუფები ციკლოდექსტრინების მოდიფიცირების საშუალებას იძლევა. შესაძლოა რომელიმე ჰიდროქსილის ჯგუფის ჩანაცვლება რომელიმე ფუნქციონალური ჯგუფით ან ციკლოდექსტრინების მოლეკულების მიბმა სილიკაგელზე ქრომატოგრაფიული ანალიზებისათვის.

ცხრილი 1. ციკლოდექსტრინების ფიზიკურ-ქიმიური მახასიათებლები.

ციკლოდექსტრინების 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 (nm)	0.57	0.78	0.95
ციკლოდექსტრინის ციკლის დიამეტრი (nm)	1.46	1.54	1.75
ღრუს მოცულობა (nm ³)	0.176	0.346	0.510
წყალში ხსნადობა 25°C (g/100 mL)	14.50	1.82	23.20
ჰიდროქსილის ჯგუფების pKa	12.1-12.6	12.1-12.6	12.1-12.6
სტერეოგენური ცენტრების რაოდენობა	30	35	40

C2 ნახშირბადატომთან მყოფ ჰიდროქსილის ჯგუფებს შეუძლიათ წყალბადური ბმით დაამყარონ კავშირი მეზობლად მყოფი გლუკოპირანოზის ნაშთის C3-მდგომარეობაში მყოფ ჰიდროქსილის ჯგუფებთან. ისინი ქმნიან მეორეული ჰიდროქსილის ჯგუფებისგან წარმოქმნილ წყალბადური ბმების სარტყელს. სწორედ ასეთი სრული სარტყელის არსებობა გავლენას ახდენს იმაზე, რომ β -ციკლოდექსტრინის მხოლოდ 18 მგ იხსნება 1 მლ წყალში ან წყლიან ბუფერში. α - და γ -ციკლოდექსტრინების შემთხვევაში ეს სარტყელი არასრულია, რაც გამოწვეულია კუთხური დამაბულობით და მოლეკულის მოქნილობით. შემდეგი მნიშვნელოვანი ფაქტორი, რომელიც გავლენას ახდენს ხსნადობაზე, არის ციკლოდექსტრინის კრისტალური მესრის სტრუქტურა და ენერგია [51].

ცნობილია, რომ არასელექტიურად ჩანაცვლებული ციკლოდექსტრინები ხასიათდებიან მაღალი ხსნადობით წყალში ვიდრე ბუნებრივი ციკლოდექსტრინები [52]. ამის მიზეზი არის ის, რომ ასეთი ტიპის ციკლოდექსტრინები იშვიათად გვხვდება სუფთა ნივთიერების სახით. ისინი წარმოადგენენ ჰომოლოგებისა და იზომერების ნარევის, რის გამოც ასეთ ნარევაში კრისტალიზაცია შედარებით რთულად ხდება [53]. მსგავსი ნარევის წყალში ხსნადობა აღემატება სუფთა ერთკომპონენტის ციკლოდექსტრინის ხსნადობას [54].

ნივთიერებათა დაყოფისათვის მნიშვნელოვანია, თუ რამდენად ერგება მოლეკულის ზომა ციკლოდექსტრინის ღრუს ზომას.

α -ციკლოდექსტრინის ღრუში შესაძლოა განთავსდეს 6-წევრიანი არომატული ბირთვის ზომის მოლეკულა, β -ციკლოდექსტრინში-ნაფტალინის ზომის მოლეკულები, ხოლო γ -ციკლოდექტრიში ზომით სამი არომატული ბირთვის შემცველი მოლეკულები მაგ. ფენანტრენი, ანტრაცენი და ა.შ. [55]

γ -ციკლოდექსტრინი ყველაზე მოქნილი და ადვილად ჰიდროლიზებადი ციკლოდექსტრინია α -ამილზას მიერ, მაშინ როცა α -ციკლოდექსტრინი ყველაზე მდგრადი და ნაკლებად ჰიდროლიზებადია [56]. ჰიდროქსილის ჯგუფების დერივატიზაციის შედეგად შესაძლოა შეიცვალოს მათი სპეციფიურობა, ფიზიკური

და ქიმიური თვისებები. აღსანიშნავია ის ფაქტი, რომ 6-მდგომარეობაში მყოფი (პირველადი) ჰიდროქსილის ჯგუფიდ დერივატიზაცია ყველაზე მარტივია [57].

არსებობს სხვა ბუნებრივი ციკლოდექსტრინებიც მეტი გლუკოპირანოზის მონომერების შემცველობით, მაგ. δ -ციკლოდექსტრინი. მათ ღრუს სიდიდის გაზრდასთან ერთად მცირდება მათი მდგრადობა და ციკლი ხდება დაგრეხილი [58], რაც ამცირებს ნივთიერებათა შეკავშირების უნარს და ისინი ხდებიან უფრო მარტივად ჰიდროლიზებადი [59].

ორ ენანტიომერსა ციკლოდექტრინს შორის წარმოქმნილ კომპლექსს ხშირად გააჩნია ერთმანეთისგან განსხვავებული ძვრადობა და კომპლექსის მდგრადობის პერიოდი, სწორედ ეს ფაქტი განაპირობებს ციკლოდექსტრინების მიერ ენანტიომერების გამოცნობის უნარს [60]. საანალიზო ნივთიერებების მიერ ციკლოდექსტრინებთან წარმოქმნილი კომპლექსები უმთავრესად არის ჩართული კომპლექსები, თუმცა ხშირად ხდება, განსაკუთრებით მოდიფიცირებულ ციკლოდექსტრინებში, გარე შრით ურთიერთქმედებაც, რომელიც მოიცავს წყალბადურ ბმებს და დიპოლ-დიპოლურ ურთიერთქმედებას [61].

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

თეორიულად ენანტიომერების დაყოფა შესაძლებელია მაშინაც, როდესაც შეკავშირების მუდმივები ორივე ენანტიომერსა და ქირალურ სელექტორს შორის არის ერთი და იგივე [1].

ენანტიომერების ელექტროფორეტულ ძვრადობებს შორის სხვაობა აღიძვრება გარდამავალი დიასტერეომერული კომპლექსების წარმოქმნის ხარჯზე. დიასტერეომერებს თოთქოს უნდა გააჩნდეთ ერთი და იგივე მუხტის სიმკვრივეები, აქედან გამომდინარე არ უნდა ხდებოდეს მათი დაყოფა, თუმცა,

დიასტერეომერების განსხვავებული ძვრადობა გამოწვეულია მათი ეფექტური მუხტის განსხვავებული სიმკვრივეებით, რომლის მიზეზიც არის მათი განსხვავებული ორიენტაცია სივრცეში და სპეციფიური ურთიერთქმედება დიასტერეომერულ კომპლექსებში. დიასტერეომერების სივრცეში სხვადასხვა ორიენტაციას შეუძლია გამოიწვიოს დენის ნაკადის მიმართ განსხვავებული წინაღობა და განსხვავებული ეფექტური ძვრადობები. ეს მცირე განსხვავებები ზოგჯერ საკმარისია იმისათვის რომ მივიღოთ დიასტერეომერების ფუძისეული დაყოფები [1].

დრო, რომელსაც ნივთიერება კაპილარში ატარებს გარდამავალი კომპლექსის სახით, დამოკიდებულია შეკავშირების მუდმივებზე. ასევე გარე პარამეტრებზე როგორცაა, ქირალური სელექტორის კონცენტრაცია, ტემპერატურა, ხსნარის pH, შესაბამისად თითოეული ამ პარამეტრის ცვლილებით შესაძლებელია კომპლექსწარმოქმნის წონასწორობა ძლიერ გადაიხაროს კომპლექსწარმოქმნის მიმართულებით, თუ მაგალითად გავზრდით ქირალური სელექტორის კონცენტრაციას.

იმისათვის რომ ენანტიომერების დაყოფას მივაღწიოთ არ არის აუცილებელი შეკავშირების მუდმივები განსხვავებული იყოს ერთმანეთისაგან თუ არ ჩავთვლით გამონაკლის შემთხვევებს. თეორიულად შესაძლებელია ენანტიომერების ერთმანეთისგან დაყოფა, როდესაც მათ გააჩნიათ ერთნაირი შეკავშირების მუდმივები, მაგრამ შესაბამის დიასტერეომერულ კომპლექსებს განსხვავებული ძვრადობა აქვთ.

$$\Delta\mu = \mu_1 - \mu_2 = \mu_f + \frac{\mu_{L1}K_1[C]}{1} + K_1[C] - \mu_f + \frac{\mu_{L2}K_2[C]}{1} + K_2[C] \quad (16)$$

μ_1 და μ_2 არის პირველი და მეორე ენანტიომერების ძვრადობები. K_1 და K_2 არის პირველი და მეორე ენანტიომერის შეკავშირების მუდმივები ქირალურ სელექტორთან. μ_f და μ_c თავისუფალი და კომპლექსირებული ნივთიერების ძვრადობები, $[C]$ - ქირალური სელექტორის კონცენტრაცია.

$$K_1 = K_2 = K \quad (17)$$

მაშინ გამოსახულება იღებს შემდეგ სახეს:

$$\Delta\mu = \mu_1 - \mu_2 = \frac{K[C](\mu_{C1} - \mu_{C2})}{1} + K[C] \quad (18)$$

$$\mu_{C1} \neq \mu_{C2} \quad (19)$$

ფორმულიდან გამომდინარე შესაძლებელია დაიყოს დიასტერეომერული კომპლექსები მათი ელექტროფორეტული ძვრადობების განსხვავებული მნიშვნელობის გამო. თუმცა აღსანიშნავია ის ფაქტი, რომ ძალიან რთულია რეალურ სისტემებში მივიღოთ ასეთი დაყოფა, რადგან ძალიან მცირეა განსხვავება კომპლექსების გეომეტრიასა და ეფექტურ მუხტის სიმკვრივეებს შორის [1]. ეს კი ყოველთვის არ არის საკმარისი დაყოფის მისაღწევად. ასევე ენანტიომერების დასაყოფად მეორე მხრივ, შეკავშირების მუდმივების განსხვავებული მნიშვნელობა ქირალურ სელექტორთან (ქირალური გამოცნობა) ყოველთვის არ ნიშნავს, რომ ენანტიომერების დაყოფას ყოველთვის მივაღწევთ. მაგალითად, იმ შემთხვევაში თუ საქმე გვაქვს ნეიტრალურ ნივთიერებასა და ნეიტრალურ ციკლოდექსტრინთან, ასეთ პირობებში ვერ ხერხდება ენანტიომერების დაყოფა მიუხედავად ციკლოდექსტრინის ქირალური გამოცნობის უნარისა. ამის მიზეზი ის არის რომ, საკვლევი ნივთიერებისა და ციკლოდექსტრინის კომპლექსი და თავისუფალ მდგომარეობაში მყოფი ნივთიერება მოძრაობენ ერთი და იმავე სიჩქარით, შესაბამისად არ ხდება ენანტიომერების ძვრადობებს შორის განსხვავება და არ მიიღწევა დაყოფა. აღნიშნულიდან გამომდინარე ნეიტრალური ნივთიერებების დაყოფა ნეიტრალური ციკლოდექსტრინებით არ ხერხდება.

შეკავშირების მუდმივები ახასიათებს წონასწორობას სელექტორ-სელექტანდის კომპლექსსა და თავისუფალ ნივთიერებას შორის. შეკავშირების მუდმივას მაღალი მნიშვნელობა ნიშნავს კომპლექსწარმოქმნის მაღალ ხარისხს. მიუხედავად იმისა, რომ ქირალური გამოცნობა ხდება წარმოქმნილ კომპლექსში, კომპლექსწარმოქმნა აუცილებელია ენანტიომერების გარჩევისათვის, თუმცა კომპლექს წარმოქმნის მაღალი ხარისხი თავისთავად არ გულისხმობს აუცილებლად უკეთეს ქირალურ გამოცნობას.

კომპლექსწარმოქმნის წარმართვის ძალები არაკოვალენტური ხასიათისაა. ძირითადი მოლეკულათაშორისი ძალებია ჰიდროფობური, ელექტროსტატიკური (კულონური, დიპოლ-დიპოლური), ვან დერ ვალსური და ვხვდებით ასევე სპეციფიურ ურთიერთქმედებას წყალბადური ბმის სახით.

კომპლექსების უმეტესობა წარმოიქმნება ციკლოდექსტრინის მეორეული-განიერი მხრიდან, თუმცა იშვიათ შემთხვევებში ვხვდებით კომპლექსებს წარმოქმნილს ციკლოდექსტრინის პირველადი-ვიწრო მხრიდან [61].

ციკლოდექსტრინებთან ნივთიერებების კომპლექსების უმეტესობა წარმოადგენილია 1:1 სტექიომეტრიის სახით. ასევე გვხვდება 1:2 და 2:2 სტექიომეტრია, თუმცა იშვიათად. სელექტორ-სელექტანდის კომპლექსის სტექიომეტრია გვადლევს ინფორმაციას კომპლექსის შესახებ და მნიშვნელოვანია შეკავშირების მუდმივებისა სანდო და აკურატული განსაზღვრებისათვის [62].

სელექტორ სელექტანდის კომპლექსის სტაბილურობა შესაძლოა დავახასიათოთ თერმოდინამიკური პარამეტრით-გიბსის თავისუფალი ენერჯით და კომპლექსწარმოქმნის მუდმივებით.

ქირალური მოლეკულებისათვის შეკავშირების მუდმივების ფარდობა ორი ენანტიომერისათვის წარმოადგენს შეკავშირების თერმოდინამიკურ ენანტიოსელექტიურობას:

$$\alpha \frac{R}{S} = \frac{KR}{K} \quad (20)$$

უნდა აღინიშნოს, რომ დაყოფის სელექტივობა ყოველთვის არ ემთხვევა შეკავშირების თერმოდინამიკურ სელექტივობას.

ქირალური კვლევებისათვის დაყოფისა და სპექტრალური მეთოდების ტანდემის გამოყენება იდეალური არჩევანია. მაგალითად შეგვიძლია მოვიყვანოთ კაპილარული ელექტროფორეზი, რომლის გამოყენებითაც შესრულებული იქნა ჩვენი ექსპერიმენტული სამუშაო. ქირალური დაყოფის ექსპერიმენტი ტარდებოდა ჰომოგენურ გამხსნელსა და მონოფაზაში, რაც საშუალებას გვაძლევდა ამ პირობების სიმულაცია მოგვეხდინა ბირთვულ-მაგნიტური რეზონანსის

ექსპერიმენტში. ამ ორი მეთოდის ერთობლიობა საშუალებას გვაძლევს მივიღოთ ინფორმაცია არამარტო მოლეკულათშორისი ურთიერთქმედების შესახებ, არამედ შევისწავლოთ ქირალური გამოცნობის მექანიზმი მოლეკულურ დონეზე. ბოლო 25 წლის განმავლობაში ბირთვულ-მაგნიტური რეზონანსის ექსპერიმენტი ფართოდ გამოიყენება ქირალურ ანალიზში კომპლექსების სტექიომეტრიის, შეკავშირების მუდმივას და სელექტორ-სელექტანდის მიერ წარმოქმნილი კომპლექსის სტრუქტურის დასადგენად, რათა სიღრმისეულად მოხდეს კაპილარულ ელექტროფორეზში მიღებული ენანტიომერების დაყოფის ფაქტორების და ქირალური გამოცნობის მექანიზმების კვლევა. თუმცა ამ მხრივ ჯერ კიდევ მნიშვნელოვანი სამუშაოა ჩასატარებელი, რათა საშუალება გვქონდეს განვსაზღვროთ ქირალურ გამოცნობაზე მოქმედი ფაქტორები და ვიწინასწარმეტყველოთ ქირალური ანალიზის შედეგები ქირალური სელექტორის, სელექტანდის ბუნებისა და სტრუქტურის გათვალისწინებით და ანალიზის პირობებზე დაყრდნობით [63].

2.2 ბირთვულ-მაგნიტური რეზონანსის სპექტროსკოპია

ბირთვულ მაგნიტური რეზონანსის სპექტროსკოპიას საფუძვლად უდევს ზეემანის ეფექტი, რომელიც ჰოლანდიელმა მეცნიერმა პიტერ ზეემანმა აღმოაჩინა მეცხრამეტე საუკუნის ბოლოს (1896 წელი) და იგი მდგომარეობს შემდეგში: ძლიერი მაგნიტური ველის გავლენით ატომებში ხდება სპინების ორიენტაცია ან მაგნიტური ველის მიმართულებით ან მის საწინააღმდეგოდ, რას თავისთავად იწვევს ენერგეტიკული დონეების დაქვანტავს. ასევე რაც უფრო მაღალია მაგნიტური ველი, მით უფრო დიდია განსხვავება მოცემულ ენერგეტიკულ დონეებს შორის [64].

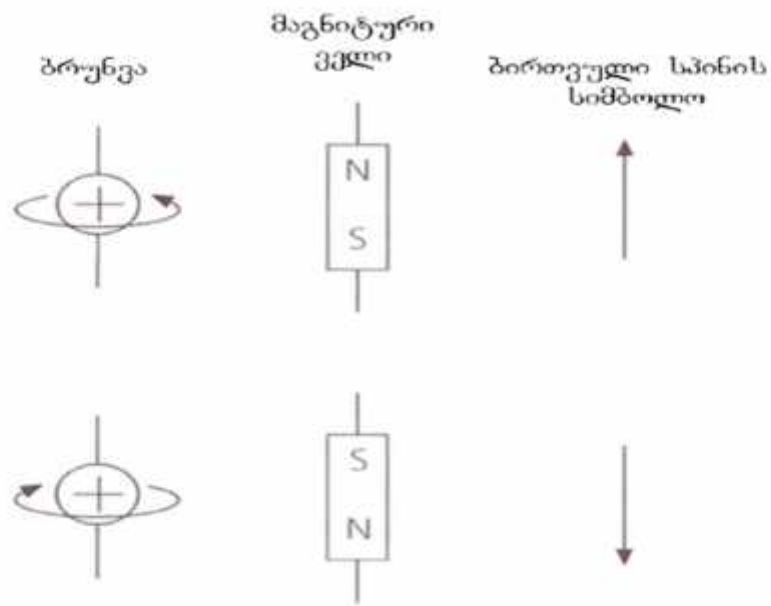
მოლეკულაში შემავალი წყალბადატომების ბირთვების მაგნიტურ მომენტებს მუდმივ მაგნიტურ ველში შეტანისას შეუძლიათ მიიღონ მხოლოდ ორი შესაძლო ორიენტაციიდან ერთ-ერთი, რომლებიც ერთმანეთისაგან ენერგიებით განსხვავდებიან. ენერგიის გარედან მიწოდების შედეგად ბირთვები ენერგიით უფრო დაბალი ორიენტაციიდან შეიძლება გადავიდნენ ენერგიით უფრო მაღალ ორიენტაციაში და მოგვიანებით ამ ენერგიის გაცემის გამო ისევ დაუბრუნდნენ საწყის ორიენტაციას. მაღალ ენერგეტიკულ დონეზე გადასვლისათვის საჭირო ენერგიის მიწოდება ხდება რადიოტალღების საშუალებით, ამიტომ ამ მეთოდს ხშირად რადიოსპექტროსკოპიულ მეთოდსაც უწოდებენ. ატომბირთვების ენერგიები მუდმივ მაგნიტურ ველში დაქვანტულია. აქედან გამომდინარე, ატომბირთვების დაბალიდან მაღალ ენერგეტიკულ დონეზე გადასვლისათვის, მოლეკულას შეუძლია მიწოდებული ენერგიის მხოლოდ გარკვეული ქვანტი შთანთქოს, რომელსაც რადიოტალღების კონკრეტული ტალღის სიგრძე (სიხშირე) შეესაბამება. ბმრ ექსპერიმენტის დროს ხდება შთანთქმული ენერგიის რეგისტრაცია და მისი გადაზომვა როგორც გარეშე მაგნიტური ველის ძალის ფუნქცია.

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

რაოდენობაზე, რომლებიც მონაწილეობს რეზონანსული სიგნალის წარმოქმნაში. რეზონანსში მონაწილე ატომბირთვის მეზობლად არსებულმა ბირთვებმა შეიძლება გამოიწვიოს რეზონანსული სიგნალის გახლეჩა. ეს მოვლენა ხდება ე.წ. სპინ-სპინური შეუღლების შედეგად.

სიგნალის ფართობი და მისი მულტიპლეტობა (ქვესიგნალების რაოდენობა სიგნალში) იძლევა ძირითად ინფორმაციას ატომბირთვების შესახებ ორგანულ მოლეკულებში.

ბმრ ექსპერიმენტში მონაწილე ბირთვს აუცილებლად უნდა გააჩნდეს მუდმივი მაგნიტური მომენტი. ასეთი მაგნიტური მომენტი განპირობებულია ბირთვული სპინით, ანუ ატომბირთვის ბრუნვით თავისი საკუთარი ღერძის ირგვლივ. როგორც ცნობილია, პროტონს გააჩნია ელექტრული მუხტი. დამუხტული ნაწილაკის მოძრაობას თან ახლავს მაგნიტური ველის აღძვრა. ასეთი მაგნიტური ველი შეიძლება წარმოვიდგინოთ დამაგნიტებული ჯოხის სახით, რომელსაც გააჩნია პოლუსები. მაგნიტური ველის მიმართულება დამოკიდებული იქნება ატომბირთვის ბრუნვის მიმართულებაზე. ბირთვული სპინის, და შესაბამისად მაგნიტური ველის მიმართულება, აღინიშნება ისრებით (სურ. 12). თუ ორი ატომბირთვის სპინებს ერთნაირი მიმართულება გააჩნიათ, მას პარალელურს უწოდებენ, ხოლო ურთიერთსაწინააღმდეგოს, ანტიპარალელურს [65].



სურ. 12 ბირთვის სპინების ორიენტაციამუდმივ მაგნიტურ ველში

გარდა პროტონისა, ბირთვული სპინი გააჩნია შემდეგ ატომბირთვებს: ^{13}C , ^{15}N , ^{17}O , ^{19}F , ^{29}Si , ^{31}P , შესაბამისად ამ ბირთვების შესწავლა შესაძლებელია ბმრ მეთოდით. ატომბირთვების სპინი და შესაბამისად მაგნიტური მომენტის არსებობა დამოკიდებულია მათ აღნაგობაზე. ატომბირთვის ჯამური სპინი წარმოადგენს მისი შემადგენელი პროტონებისა და ნეიტრონების სპინების ჯამს. ატომბირთვებს რომლებსაც ერთდროულად ლუწი რიგობრივი ნომერი და მასური რიცხვი გააჩნიათ სპინი არ გააჩნიათ, ხოლო ისეთ ატომბირთვებს, რომელთაც კენტი რიგობრივი ნომერი ან მასური რიცხვი ან ორივე ერთდროულად გააჩნიათ, მათ აქვთ ბირთვული სპინი და შესაბამისად, მაგნიტური მომენტი [65].

2.2.1 ბირთვის კუთხური და მაგნიტური მომენტი

ატომბირთვი წარმოადგენს სფერულ ნაწილაკს, რომელიც ბრუნავს წარმოსახვითი ღერძის გაშემო, ბირთვების დიდი ნაწილი ფლობს კუთხურ მომენტს, რომელიც კვანტური მექანიკის მიხედვით, ისევე როგორც ბირთვის სხვა მახასიათებლები დაქვანტულია:

$$P = \sqrt{I(I + 1)}\hbar \quad (21)$$

$$\hbar = h/2\pi \quad (22)$$

სადაც h პლანკის მუდმივაა ($6.62607004 \times 10^{-34}$ ჯ/წმ)

I - წარმოადგენს კუთხური მომენტის კვანტურ რიცხვს, რომელსაც ბირთვის სპინსაც უწოდებენ, ბირთვის სპინს შეუძლია მნიშვნელობები მიიღოს ნულიდან ექვსამდე.

თავის მხრივ კუთხური მომენტი მაგნიტური მომენტის პროპორციულია (μ), ასევე აღსანიშნავია, რომ ორივე მათგანი ვექტორულ სიდიდეებს წარმოადგენს.

$$\vec{\mu} = \gamma P \quad (23)$$

γ წარმოადგენს გირომაგნიტურ მუდმივას, რომელიც თითოეული ბირთვისთვის ინდივიდუალური სიდიდეა და სწორედ მასზეა დამოკიდებული კონკრეტული ბირთვის მგრძობიარობა ბმრ ექსპერიმენტის მიმართ.

(22) და (23) გამოსახულებების გაერთიანებით მივიღებთ შემდეგ მაგნიტური მომენტის გამოსახვის შემდეგ ფორმულას

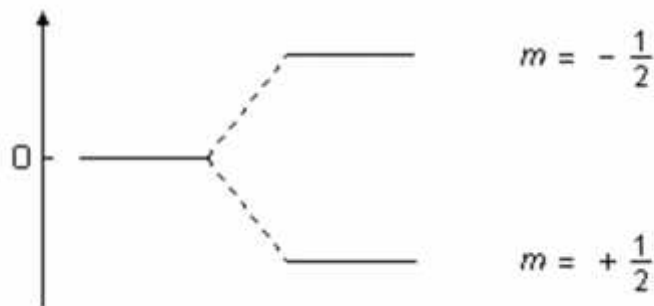
$$\vec{\mu} = \gamma \sqrt{I(I + 1)} \hbar \quad (24)$$

ისეთ ბირთვებს რომელთა სპინი ნულის ტოლია არ გააჩნიათ მაგნიტური მომენტი (^{12}C , ^{16}O) შესაბამისად მათი შესწავლა ბირთვულ-მაგნიტური რეზონანსის სპეტროსკოპიით შეუძლებელია [64].

2.2.2 ბირთვები მუდმივ მაგნიტურ ველში

ის ბირთვები, რომლებიც ფლობენ კუთხურ და მაგნიტურ მომენტებს, მაგნიტურ მომენტში მოხვედრისას იკავებენ გარკვეულ ორიენტაციას მაგნიტური ველის მიმართ, რომლის გამოსახვა შესაძლებელია შემდეგნაირად

$$P = m \hbar \quad (25)$$



სურ. 13 ორიენტაციული კვანტური რიცხვის მნიშვნელობები

m წარმოადგენს მაგნიტურ ანუ ორიენტაციულ კვანტურ რიცხვს, რომელიც იღებს მნიშვნელობებს I და $-I$ მდე, მისთვის არსებობს $(2I+1)$ რაოდენობის განსხვავებული მნიშვნელობა, რაც თავისმხრივ ნიშნავს იმას, რომ კუთხური და მაგნიტური მომენტის ვექტორებს შესაძლოა ჰქონდეს ამდენივე შესაძლო ორიენტაცია მაგნიტურ ველში. ბირთვის ასეთ ქცევას მაგნიტურ ველში მიმართულების დაქვანტვა ეწოდება.

იმ ბირთვებს, რომელთა სპინი $1/2$ ია შეესაბამება მაგნიტური კვანტური რიცხვის ორი მნიშვნელობა $1/2$ და $-1/2$. ასეთ ბირთვებს წარმოადგენენ ^{13}C და ^1H , ხოლო თუ სპინი ერთის ტოლია, ასეთი ბირთვებისთვის მაგნიტური კვანტური რიცხვი მიიღებს $1, 0, -1$ მნიშვნელობებს.

$$\mu_z = \gamma m \hbar. \quad (26)$$

კლასიკური წარმოდგენით ბირთვის დიპოლი პრეცესირებს (ბრუნავს) z ღერძის გარშემო, რომელიც თავის მხრივ წარმოადგენს მაგნიტური ველის

მიმართულებას, პრეცესიის სიხშირე, რომელსაც ლარმორის სიხშირე ეწოდება, მაგნიტური ველის პროპორციულია და გამოითვლება შემდეგი ფორმულით:

$$v = (\gamma 2\pi) B_0 \quad (27)$$

B_0 წარმოადგენს მაგნიტური ველის ინდუქციას.

ბირთვის დიპოლის პრეცესია z ღერძის მიმართ დასაშვებია მხოლოდ გარკვეული კუთხით, რადგან ხდება მიმართულების დაქვანტვა, მაგ. პროტონისთვის ეს კუთხე შეადგენს 54.44 გრადუსს.

2.2.3 ბირთვის ენერგია მუდმივ მაგნიტურ ველში

ბირთვის ენერგია მუდმივ მაგნიტურ ველში გამოისახება შემდეგნაირად:

$$E = -\mu_z B_0 \quad (28)$$

$$E = \gamma m \hbar B_0 \quad (29)$$

ბირთვებისთვის, რომელთა ორიენტაციის რაოდენობა $2I+1$ -ია, ასევე არსებობს $(2I+1)$ ენერგეტიკული დონე, რომელსაც ზეემანის დონეებს უწოდებენ.

იმ ბირთვებისთვის, რომელთა სპინი $1/2$ ია, მაგნიტურ ველში არსებობს ორი ენერგეტიკული დონე, თითოეულ მათგანს შეესაბამება მაგნიტური კვანტური რიცხვის ერთი მნიშვნელობა, მაგალითად $1/2$ და $-1/2$ თუ $m=+1/2$, მაშინ μ_z ველის მიმართულების პარალელურია, რაც ენერგეტიკული თვალსაზრისით უპირატეს ორიენტაციას წარმოადგენს.

თუ $m=-1/2$ მაშინ μ_z გააჩნია ველის საპირისპირო მიმართულება.

კვანტურ მექანიკაში $m=+1/2$ მდგომარეობა აღიწერება α სპინური ფუნქციით, ხოლო $m=-1/2$ β სპინური ფუნქციით.

ორ მეზობელ ენერგეტიკულ დონეს შორის სხვაობა გამოისახება შემდეგი ფორმულით:

$$\Delta E = \gamma \hbar B_0 \quad (30)$$

2.2.4 ენერგეტიკული დონეების დასახლება

ძლიერ მუდმივ B0 მაგნიტურ ველში მოთავსებული ნიმუშის პროტონების მიერ დაბალი ენერგიის მქონე ლარმორის დონეზე არსებობს დასახების გარკვეული სიჭარბე (მასზე უფრო მეტი პროტონია), ვიდრე მაღალი ენერგეტიკულ დონეზე. ამ მიზეზის გამო თუ შევკრებთ ორივე დონეზე მოთავსებული ყველა ბირთვის მაგნიტურ მომენტებს, მივიღებთ ჯამურ ვექტორს, რომელსაც ექნება გარეშე B0 მაგნიტური ველის პარალელური მიმართულება, სწორედ ასეთი მიმართულება გააჩნია დაბალ ენერგეტიკულ დონეზე არსებული ბირთვების მაგნიტურ მომენტებს. ამ მოვლენას ლონგიტუდინალური (გრძივი) დამაგნიტება ეწოდება [66].

ლარმორის დონეების დასახლებებს შორის სხვაობა შეიძლება ბოლცმანის ფორმულით გამოითვალოს.

თუ $I = \frac{1}{2}$ სპინის მქონე ბირთვების იმ რაოდენობას, რომლებიც იკავებენ მაღალ ენერგეტიკულ დონეს ავლნიშნავთ N β -თი, ხოლო ბირთვების იმ რაოდენობას, რომლებიც იკავებენ დაბალ ენერგეტიკულ დონეს N α მაშინ:

$$N\beta/N\alpha = e^{-\hbar\gamma} \quad (31)$$

ფორმულიდან გამომდინარე შეიძლება გამოვთვალოთ, რომ ოთახის ტემპერატურაზე B0=1,4 ტესლა დამაბულობის მქონე მაგნიტურ ველში მოთავსებისას ყოველი 2 მილიონი პროტონიდან ნახევარზე მხოლოდ ათით მეტი არის განლაგებული ენერგიით უფრო ღარიბ ლარმორის დონეზე. ყოველი 2 მილიონი პროტონიდან მხოლოდ ეს 10 პროტონი არის პასუხმგებელი ბირთვულ მაგნიტური რეზონანსის მოვლენაზე [67].

2.2.5 მიკროსკოპული დამაგნიტება

ის ბირთვები, რომელთა სპინი 1/2-ია პრეცესირებენ z ღერძის გარშემო მაგნიტური ველის მიმართულებით, ეს მოძრაობა სრულდება ორმაგი კონუსის ზედაპირზე. თუ შევაჯამებთ ყველა ბირთვის მაგნიტური მომენტის კომპონენტებს z ღერძზე მივიღებთ მიკროსკოპულ დამაგნიტებას, რომლის მიმართულებას ემთხვევა მაგნიტური ველის მიმართულებას.

2.2.6 რეზონანსის პირობა

ბმრ ექსპერიმენტის დროს მაგნიტურ ველში მოთავსებულ ბირთვებზე ხდება დამატებითი B_1 ველის მოდება, რომლის ენერგია და სიხშირე, ექსპერიმენტის მიზნებიდან გამომდინარეა შერჩეული რაც იწვევს ბირთვების ენერგეტიკულ დონეებზე გადასვლას. ამ დროს გამოსხივება ურთიერქმედებს ბირთვის დიპოლთან. როდესაც სისტემა შთანთქავს ენერგიას (ენერგიის აბსორბცია) ამ დროს ხდება გადასვლა დაბალი ენერგეტიკული დონიდან მაღალ ენერგეტიკულ დონეზე, ხოლო როდესაც საპირისპირო მიმართულებით ხდება გადასვლა ადგილი აქვს ენერგიის ემისიას (გამოსხივება), ბირთვების გადასვლა ერთნაირად სააღბათოა ორივე მიმართულებით და თითოეული გადასვლა დაკავშირებულია ბირთვის სპინის ორიენტაციის ცვლილებასთან. იმის გამო, რომ დაბალ ენერგეტიკულ დონეზე არსებობს დასახლების სიჭარბე, დომინანტურ პროცესს ენერგიის აბსორბცია წარმოადგენს. ეს უკანასკნელა წარმოადგენს სიგნალს, რომლის ინტენსივობას ენერგეტიკულ დონეებზე დასახლებების სხვაობის პროპორციულია და ასევე პროპორციულია ნიმუშში სპინების საერთო რიცხვის, რაც თავის თავში გულისხმობს კონცენტრაციასაც [67].

რეზონანსის პირობა ჩაიწერება შემდეგი სახით:

$$V_1 = (\gamma 2\pi) B_0 \quad (32)$$

ტერმინი რეზონანსის გამოყენება გამართლებულია, რადგან ენერგეტიკულ დონეებს შორის გადასვლა ხდება მხოლოდ მაშინ, როცა ელექტრომაგნიტური გამოსხივების სიხშირე შეესაბამება ლარმორის პრეცესიის სიხშირეს

თუ ენერგეტიკულ დონეებზე დასახლებები ერთმანეთის ტოლია, მაშინ აბსორბცია და ემისია ერთმანეთის ტოლი სიდიდეებია და სიგნალი არ გვექნება, ამ შემთხვევაში ადგილი აქვს გაჯერებას.

ბირთვებისთვის, რომელთა $I \geq 1$ -ზე მეტია გადანაწილება ხდება სამ ან მეტ ენერგეტიკულ დონეზე, კვანტური მექანიკის მიხედვით დასაშვებია მხოლოდ ის გადასვლები, რომლის დროსაც მაგნიტური კვანტური რიცხვი მხოლოდ ერთი ერთეულით იცვლება, ანუ გადასვლა მხოლოდ მეზობელ ენერგეტიკულ დონეებს შორის არის შესაძლებელი, შეუღლებულ სისტემებში კი ორი ან მეტი სპინის ორიენტაციის ერთდროული ცვლილება აკრძალულია.

2.2.7 რელაქსაცია და რელაქსაციის დრო

თუ ბირთვული რეზონანსის ექსპერიმენტში ბირთვების დასხივება ხდება მაღალი ინტენსივობისა და რეზონანსული სიხშირის მქონე რადიოტალღებით, შეიძლება მიღწეული იქნას ლარმორის დონეების ხანგრძლივი თანაბარი დასახლება. ამ დროის განმავლობაში ადგილი აღარ ექნება ენერჯის შთანთქმას და შესაბამისად, ვეღარ მოხდება რეზონანსული სიგნალების გაზომვა. რეალურ ექსპერიმენტში, აგზნებული ბირთვები აგზნებიდან მოკლე დროის გასვლის შემდეგ ისევ გასცემენ მინიჭებულ ენერჯიას და ისევ ენერგეტიკულად დაბალ ლარმორის დონეებს უბრუნდებიან, რაც იწვევს დასახლებებს შორის განსხვავების კვლავ გაჩენას და შესაბამისად, შესაძლებელი ხდება ბმრ ექსპერიმენტის ჩატარება.

ატომბირთვების მიერ ენერჯიის გაცემის პროცესს რელაქსაცია ეწოდება. არსებობს რელაქსაციის ორი სახე:

ა) სპინ-მესრული რელაქსაცია, რომლის დროსაც ენერჯია გადაეცემა ბირთვების გარემოცვას (მაგალითად გამხსნელს).

ბ) სპინ-სპინური რელაქსაციის დროს აგზნებული ბირთვების ენერჯია გადაეცემა იგივე ნიმუშის მეზობელ ბირთვებს. სპინ-სპინური რელაქსაციის თავისებურება არის ის, რომ ამ დროს მცირდება ყველა სპინური მდგომარეობის სიცოცხლის ხანგრძლივობა, მაგრამ არ იცვლება ლარმორის დონეების დასახლება.

სპინ-მესრული და სპინ-სპინური რელაქსაციები ხასიათდება შესაბამისად T1 და T2 რელაქსაციის დროებით. ხანგრძლივი T1 ნიშნავს გაჯერებული მდგომარეობის გახანგრძლივებას და შესაბამისად სიგნალის ინტენსივობის შემცირებას. მოკლე T1 ნიშნავს სიგნალის გაფართოებას. გრძელი T2 სიგნალის გაფართოებას იწვევს.

2.2.8 დეტექტირების პრინციპი

ენერგეტიკულ დონეებს შორის გადასვლა ხდება მხოლოდ მაშინ, როდესაც სრულდება რეზონანსის პირობა:

$$V_1 = (\gamma / 2\pi) B_0 \quad (33)$$

ამ დროს სპექტრომეტრის მიმღებში ხდება შესაბამისი სიგნალის აღძვრა. ექსპერიმენტის დროს შესაძლებელია მუდმივი მაგნიტური ველის ინდუქციის (B_0) ვარირება მუდმივი ელექტრომაგნიტური გამოსხივების (V_1) პირობებში, ან ელექტრომაგნიტური გამოსხივების მაჩვენებლის ცვლა მუდმივი მაგნიტური ველის პირობებში. ორივე შემთხვევაში ჩამწერი სისტემა კავშირშია ცვლად პარამეტრთან, ანალიზის ასეთ მიმდინარეობას უწყვეტი ტალღის მეთოდი ეწოდება, რადგან მასში უწყვეტი რადიოსიხშირის გამოსხივება გამოიყენება, ეს მეთოდი ძირითადად წყალბადის, ფტორის და ფოსფორის შესაბამისი იზოტოპების ანალიზისთვის გამოიყენება, ეს ბირთვები ფლობენ მაღალი მნიშვნელობის მაგნიტურ მომენტს და მათი ბუნებაში გავრცელებაც მაღალია. არამგრძობიარე და ბუნებაში მცირედ გავრცელებული იზოტოპებისთვის კი ასეთი ტიპის ექსპერიმენტისაგან ინფორმაციის მიღება გართულებულია.

ბმრ სპექტროსკოპიაში მნიშვნელოვანი გარდატეხა მოახდინა კრიოგენულმა მაგნიტებმა, რომელთა საშუალებითაც ბევრად ძლიერი მაგნიტური ველის შექმნა შესაძლებელი, რაც თავის მხრივ მაღალ მგრძობიარობასაც გულისხმობს, ხოლო 1960 წელს ერნსტისა და ანდერსონის მიერ პირველად მოხდა ფურიე-ტრანსფორმაციის სპექტროსკოპიის გამოყენება, რაც კიდევ ერთი წინ გადადგმული ნაბიჯი იყო ამ მეთოდის განვითარებისთვის.

დღეისათვის უწყვეტი ტალღის მეთოდი მთლიანად იმპულსურმა მეთოდმა ჩაანაცვლა. იმპულსის საშუალებით ნიმუშში ხდება ერთი სახის ბირთვების ერთდროული აღზნება. რადიოსიხშირის გენერატორი ერთ კონკრეტულ V_1 სიხშირეს წარმოქმნის, თუმცა თუ ის გარკვეული დროის ინტერვალში მოქმედებს, ეს დროს ბმრ ექსპერიმენტში ძირითადად მიკროწამის

ხანგრძლივობისაა, მაშინ იმპულსი შეიცავს არამართო V_1 სიხშირეს, არამედ მის სიმეტრიულად განლაგებულ სხვა სიხშირეებსაც.

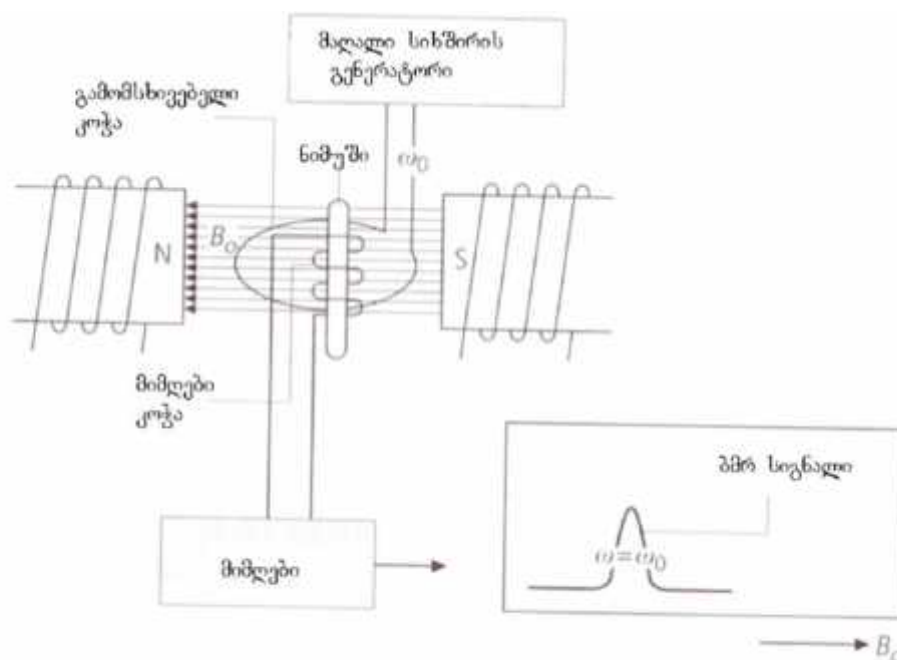
სიხშირის შერჩევა ხორციელდება მაგნიტური ველისა და სკვლევი ბირტვების ტიპის მიხედვით, მაგ. პროტონების ანალიზისთვის თუ $B_0=4.7$ ტესლას, საჭიროა 200 მეგაჰერცი, ხოლო ნახშირბადისთვის 50,32.

ექსპერიმენტის დროს უპირატესობა ენიჭება ხისტ ანუ მაღალი სიმძლავრის იმპულსს, სწორედ ამის საშუალებით შესაძლებელია ექსპერიმენტის დროს ყველა ბირთვი თანაბრად დასხვიდეს [65]

2.2.9 ბირთვულ-მაგნიტური რეზონანსული სპექტროსკოპიის ექსპერიმენტი

ბმრ ექსპერიმენტის დროს ნიმუშის მოთავსება ხდება მაგნიტურ ველში. ბირთვულ-მაგნიტური რეზონანსის ხელსაწყოს ძირითადი დეტალებია: ძლიერი მუდმივი მაგნიტი - რათა მოიხსნას ენერგეტიკული გადაგვარება და მიღწეული იქნას ზეემანის ეფექტი, მაღალი სიხშირის რადიოტალღების წყარო - ნიმუშის დასხივებისათვის, რათა მოხდეს დაბალიდან მაღალ ენერგეტიკულ დონეებზე გადასვლა და გამზომი მოწყობილობა, რომელიც ბირთვების მიერ შთანთქმულ და კვლავ გამოსხივებულ ენერგიას ზომავს და წარმოადგენს ბმრ სპექტრის სახით.

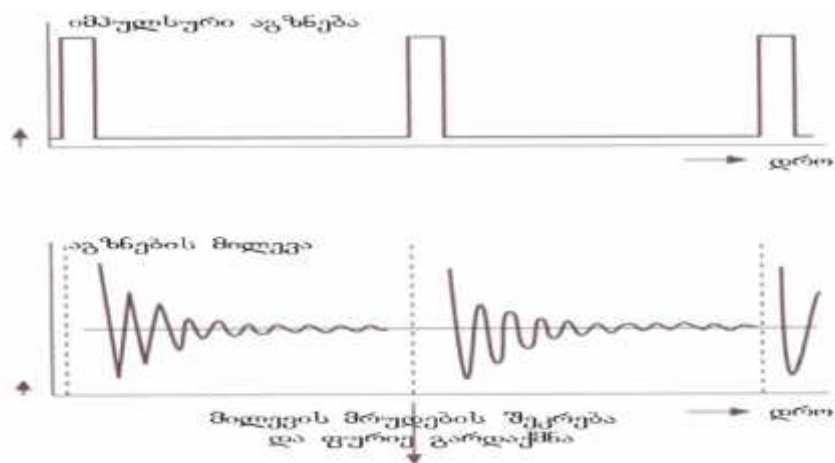
საკვლევი ნიმუშის ხსნარი მოთავსებულია 5 მმ დიამეტრის და 10-15 სმ სიგრძის ცილინდრული ფორმის მინის მილაკში, რომელიც თავსდება ძლიერ მაგნიტურ ველში და საჭიროების შემთხვევაში შეუძლია თავისი ღერძის გარშემო ბრუნვა ველის არაჰომოგენურობის თავიდან ასაცილებლად, ხოლო მაგნიტური კოჭის საშუალებით მოდებულია მაღალი სიხშირის ცვლადი ველი. ნიმუში ბრუნავს სივრცეში, რომელიც შემოსაზღვრულია მიმღები კოჭით. ეს კოჭა მოთავსებულია B_0 ველის და ცვლადი ველის კოჭის მართობულად, ხოლო მიმღები კოჭა დაკავშირებულია სიგნალების რეგისტრატორთან.



სურ.14 ბირთვულ-მაგნიტური სპექტროსკოპიის ხელსაწყოთა სქემა

ძირითადად გამოიყენება ბმრ სპექტრის გადაღების 2 მეთოდი: უწყვეტი ტალღის მეთოდი და იმპულსური მეთოდი ფურიე გარდაქმნასთან კომბინაციაში. უწყვეტი ტალღის მეთოდი საკმაოდ მოძველებულია და თანამედროვე ხელსაწყოებში თითქმის აღარ გამოიყენება. ეს მეთოდი შეიძლება განხორციელდეს ორი ვარიაციის სახით: პირველი არის B_0 ველის დამაბულობის მუდმივად შენარჩუნება და რადიოტალღების სიხშირის ცვლილება რეზონანსის მისაღწევად, ხოლო მეორე კი პირიქით, რადიოტალღების მუდმივი სიხშირის დროს B_0 ველის დამაბულობის ცვლილება რეზონანსის მიღწევის მიზნით. ანა, არ ვიცი ინდექსებს არ იყენებ და საბოლოო ტექსტშიც არ იქნება, თუ ეს მხოლოდ ჩემ ვერსიაში გამოიყურება ასე.

ბმრ გაზომვები უწყვეტი ტალღის მეთოდით დაბალი მგრძნობიარობით ხასიათდება. ამიტომ თანამედროვე ხელსაწყოები ძირითადად დამყარებულია იმპულსურ მეთოდზე. ამ მეთოდში ხდება ერთი ფართო რადიოტალღური იმპულსით ყველა ბირთვის ერთდროული აგზნება. ამას ძალიან მცირე დრო სჭირდება. ამიტომ დროის მოკლე მონაკვეთში შესაძლებელია მრავალჯერადი აგზნება, რაც შეეხება სპექტრების რეგისტრაციას და შეკრებას, ეს პროცესი მოიცავს შემდეგ ძირითად ეტაპებს: ბირთვების აგზნება, გამოძახილის მრუდების შეკრება და დამახსოვრება, ამ მრუდების ბმრ სპექტრებად ტრანსფორმაცია ფურიე გარდაქმნის საშუალებით, დაკალიბრება და ზუსტი განთავსება ქიმიურ წანაცვლებათა სკალაზე [65].



სურ.15 იმპულსური მეთოდი

ბმრ სპექტრის გადაღება ტრადიციულად ხდება თხევადი ნიმუშებისათვის, თუმცა შესაძლებელია აგრეთვე მყარი ნიმუშების სპექტრების გადაღებაც. თხევადი ნიმუშების სპექტრები შეიძლება გადავიღოთ როგორც სუფთა ნივთიერებისათვის, ასევე მათი ხსნარების გამოყენებით. გამხსნელებად გამოიყენება ისეთი გამხსნელები, რომელთაც არ გააჩნიათ წყალბადატომები (მაგალითად ოთხ-ქლორნახშირბადი) და შესაბამისად არ იძლევიან სიგნალებს პმრ სპექტრში. ასეთი გამხსნელებია აგრეთვე დეიტერირებული გამხსნელები (დეიტერიუმის ოქსიდი/D₂O, დეიტერირებული ქლოროფორმი/CDCl₃, დეიტერირებული დიმეთილსულფოქსიდი/(CD₃)₂SO და ა.შ.). პმრ სპექტრის გაზომვისათვის საჭირო ნივთიერების რაოდენობა ხელსაწყოს ტიპის მიხედვით მერყეობს 1-30 მილიგრამის ფარგლებში [65].

2.2.10 ქიმიური წანაცვლება

ლარმორის ფორმულიდან გამომდინარე:

$$\omega = \Upsilon B_0 \quad (34)$$

ყველა პროტონს (მიუხედავად იმისა, თუ რა ნაერთის ან ჯგუფის შედგენილობაში შედის ის) გარეშე B_0 ველის მოცემულ დამაბულობაზე (ძალაზე) ერთი და იგივე რეზონანსული სიხშირე უნდა ახასიათებდეს. ეს გამომდინარეობს იმ ფაქტიდან, რომ გირომაგნიტური მუდმივა არის ბირთვის დამახასიათებელი სიდიდე და დამოკიდებული არ არის ამ ბირთვის გარემოცვაზე. სინამდვილეში სხვადასხვა ჯგუფებში და ქიმიურ ბმებში შეკავშირებულ წყალბადატომებს განსხვავებული რეზონანსული სიხშირეები გააჩნიათ შემდეგი მიზეზის გამო: წყალბადატომების მონაწილეობა სხვადასხვა ჯგუფებისა და ქიმიურ ბმების წარმოქმნაში განაპირობებს მათ ირგვლივ განსხვავებული ელექტრონული სიმკვრივის არსებობას. ეს ელექტრონული ღრუბელი ახდენს მოცემული პროტონების ეკრანირებას მოდებული გარეშე ველისაგან, ანუ რეალური ველი, რომელიც მოქმედებს კონკრეტულ პროტონზე არის არა B_0 , არამედ $B_0 + B_1$, სადაც B_1 წარმოადგენს ეკრანირებით გამოწვეულ ველის დამაბულობის ცვლილებას. ისეთ წყალბადატომებს, რომელთაც რეზონანსის მოვლენა გარეშე მაგნიტური ველის ერთსა და იგივე სიხშირეზე გააჩნიათ, მაგნიტურად ექვივალენტური ეწოდებათ. უნდა გავითვალისწინოთ, რომ ქიმიურად ერთნაირად შეკავშირებული (ქიმიურად ექვივალენტური) წყალბადატომები, ყოველთვის არ არის მაგნიტურად ექვივალენტური [65].

სხვადასხვა ბმრ სპექტრომეტრები შეიძლება გარეშე მაგნიტური ველის სხვადასხვა სიხშირეს იყენებდნენ. იმისათვის, რომ თავიდან ავიცილოთ ერთი და იგივე ტიპის ბირთვებისათვის რეზონანსული სიგნალების სხვადასხვა მნიშვნელობა გამოყენებული ხელსაწყოს მიხედვით, აუცილებელია შინაგანი სტანდარტის შემოტანა. ამ დროს გამოითვლება ქიმიური წანაცვლება სტანდარტის რეზონანსული სიგნალიდან და ის დამოკიდებული აღარ არის გარეშე მაგნიტური ველის დამაბულობაზე. ასეთ სტანდარტად გამოიყენება ტეტრამეთილსილანის,

Si(CH₃)₄, თორმეტი მაგნიტურად ექვივალენტური პროტონის სიგნალი, რომელიც მიღებულია ნულის ტოლად. ეს ნივთიერება დაახლოებით 1%-ის რაოდენობით ემატება საკვლევ ნიმუშს. ქიმიური წანაცვლება იზომება მილიონურ წილებში (მილიონურ ნაწილებში) და შემდეგნაირად გამოითვლება:

$$\delta[\text{ppm}] = \frac{\omega_0 (\text{ნიმუში}) - \omega_0 (\text{TMS})}{\omega_0 (\text{TMS})} \quad (35)$$

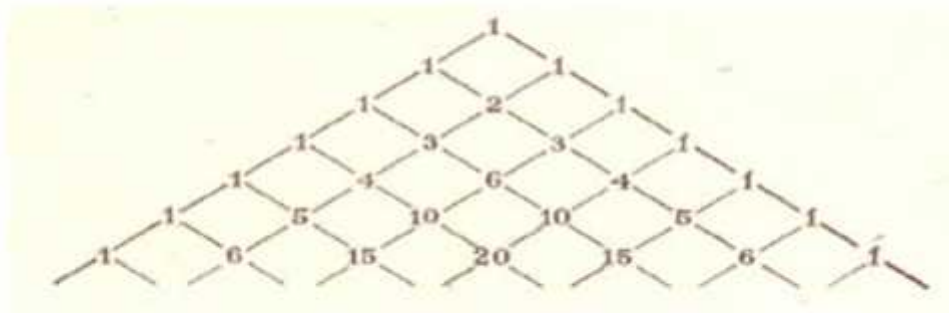
Group	δ ppm	Group	δ ppm	Group	δ ppm
CH ₃ -C	0.9	R-CH ₂ -C	1.4	CH-C	1.5
CH ₃ -C-O	1.3	R-CH ₂ -C-N	1.4	CH-C-O	2.0
CH ₃ -C=C	1.6	R-CH ₂ -C-O	1.9	CH-CO-N	2.4
CH ₃ -CO	2.0	R-CH ₂ -CO-N	2.2	CH-CO	2.7
CH ₃ -CO-N	2.0	R-CH ₂ -C=C	2.3	CH-N	2.8
CH ₃ -N	2.4	R-CH ₂ -CO	2.4	CH-Ar	3.3
CH ₃ -Ar	2.3	R-CH ₂ -N	2.5	CH-O	3.9
CH ₃ -O	3.3	R-CH ₂ -Ar	2.9	CH-N-CO	4.0
CH ₃ N ⁺ (R) ₃	3.3	R-CH ₂ -O	3.6	CH-Cl	4.2
CH ₃ -O-CO	3.7	R-CH ₂ -O-CO	4.1	R-CH=C	4.5-6.0

სურ.16 სხვადასხვა ქიმიური ჯგუფების წანაცვლება ბმრ სპექტროსკოპიაში.







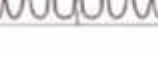
2.2.11 სპინ-სპინური შეუღლება და სიგნალის მულტიპლეობა

ზოგიერთი პირ სიგნალი მხოლოდ ერთი ქვესიგნალისაგან შედგება, ხოლო ზოგიერთი მრავალისაგან. ქვესიგნალების რაოდენობა პირ სპექტრში ცნობილია სიგნალის მულტიპლეტობის სახელწოდებით და გვიჩვენებს, თუ როგორი არის მოცემული პროტონის გარემოცვა სხვა პროტონებით. სიგნალების მულტიპლეტური გახლეჩის ფიზიკური მიზეზი შეიძლება იყოს მოცემულ პროტონზე მოქმედი ეფექტური ველი, რომელიც წარმოადგენს გარეშე B0 ველისა და B1 ველის ჯამს, სადაც B1 შესწორება გამოწვეულია პროტონის ეკრანირებით გარეშე ველის მოქმედებისაგან მისი (ძირითადად ელექტრონული) გარემოცვით. მოცემულ პროტონზე მოქმედი ეფექტური ველი დამოკიდებულია არა მარტო მის ეკრანირებაზე ელექტრონული გარემოცვით B0 ველის მოქმედებისგან, არამედ აგრეთვე ველის იმ ცვლილებით (დამატებითი ეკრანირებით), რომელიც გამოწვეულია მოცემული პროტონის მეზობელ ნახშირბადატომთან არსებული პროტონების ორიენტაციით.

ზოგადად, თუ მოცემული პროტონის მეზობელ ნახშირბადატომებთან გვაქვს n რაოდენობის მაგნიტურად ექვივალენტური პროტონი, მაშინ მოცემული პროტონის სიგნალი გაიხლიჩება $n+1$ ხაზად. სიგნალების ინტენსივობის განაწილება მულტიპლეტში ემორჩილება ნიუტონის ბინომს ანუ გრაფიკულად შეიძლება პასკალის სამკუთხედის სახით წარმოვიდგინოთ (ნახ.). თუ მოცემული წყალბადატომის მეზობელ 2 ნახშირბადატომთან ჩანაცვლებულია ერთმანეთის მაგნიტურად არაექვივალენტური HA და HB წყალბადატომები ამ შემთხვევაში ხაზების რიცხვი მულტიპლეტში გამოითვლება ფორმულით $(nA+1)(nB+1)$ [64] [65].



სურ. 17 პასკალის სამკუთხედი.

	1	სინგლეტი (s)	0	1
	2	დუბლეტი (d)	1	1:1
	3	ტრიპლეტი (t)	2	1:2:1
	4	კვარუპლეტი (q)	3	1:3:3:1
	5	კვინტეტი (quint)	4	1:4:6:4:1
	6	სექსტეტი (sext)	5	1:5:10:10:5:1
	7	სეპტეტი (sept)	6	1:6:15:20:15:6:1

სურ.18 პმრ სიგნალის მულტიპლეტობა პირველი რიგის სპინ-სპინური შეუღლების შედეგად.

2.2.12 ბირთვულ-მაგნიტური რეზონანსული სპექტროსკოპიის

ექსპერიმენტი ქირალურ ანალიზში

ბოლო 25 წლის განმავლობაში ბირთვულ-მაგნიტური რეზონანსის ექსპერიმენტი ფართოდ გამოიყენება ქირალურ ანალიზში სტექიომეტრიის, შეკავშირების მუდმივების და სელექტორ-სელექტანდის მიერ წარმოქმნილი კომპლექსის სტრუქტურის დასადგენად, რათა სიღრმისეულად მოხდეს კაპილარულ ელექტროფორეზში მიღებული ენანტიომერების დაყოფის ფაქტორების და ქირალური გამოცნობის მექანიზმების კვლევა. განსაკუთრებით საინტერესო მეთოდს ამ მხრივ წარმოადგენ ბირთვულ-ოვერჰაუზენის ეფექტზე დაფუძნებული ROESY ექსპერიმენტი. ROESY არის NOESY ექსპერიმენტის მსგავსი [69], თუმცა იგი ძირითადად საშუალო ზომის მოლეკულების კვლევისთვის გამოიყენება. იმის ნაცვლად, რომ დამზერილ იქნას ჯვარედინი რელაქსაცია z-დამაგნიტების საწყისი მდგომარეობიდან, როგორც სტანდარტულ ბირთვულ-მაგნიტურ ექსპერიმენტში ხდება, ამ შემთხვევაშიწონასწორული მდგომარეობა ბრუნდება x ლეძზე (ღერძის მიმართ), ხოლო შემდეგ სპინის ბლოკირება ხდება შიგა მაგნიტური ველით ისე, რომ მას შეუძლია პრეცესირება. ეს მეთოდი შესაძლებელია გამოყენებული იქნას იმ მოლეკულებისათვის, რომელთა ბრუნვის კორელაციის დრო არის იმ დიაპაზონში, რომელშიც ბირთვული ოვერჰაუზენის ეფექტი არის ძალიან მცირე საიმისოდ, რომ შესაძლებელი იყოს მისი დამზერა. განსაკუთრებით ეს არის მოლეკულები, რომელთა მოლეკულური მასა არის დაახლოებით 1000 დალტონი. ROESY-ი ექსპერიმენტი ინფორმაციას გვამღებს სელექტორ-სელექტანდს შორის არსებული კომპლექსის აგებულების შესახებ. ამ დროს ხდება როგორც საკვლევი ნიმუშის, ასევე ქირალური სელექტორის თითოეული პროტონის დასხივება, რათა გამოძახილი მოგვცეს მისგან 2-3 ანგსტრემით დაშორებულმა ყველა პროტონმა [66].

2.2.13 ბმრ სპექტროსკოპიის უპირატესობები

ბმრ სპექტროსკოპია ფართოდ გამოიყენება მოლეკულათაშორისი არაკოვალენტური კავშირების დასახასიათებლად სელექტორსა და სელექტანდს შორის. მისი უპირატესობები მდგომარეობს შემდეგში:

1. ბმრ სპექტროსკოპიის ექსპერიმენტით მიღებული შედეგი იძლევა მნიშვნელოვან ინფორმაციას ინდივიდუალური ატომების გარემოცვისა და მოლეკულათაშორისი კავშირების შესახებ. აქედან გამომდინარე გვაძლევს ინფორმაციას კომპლექსის სტრუქტურისა და მისი მოლეკულური დინამიკის შესახებ. ეს ინფორმაცია ძალიან ღირებულია იმისათვის, რომ შევაფასოთ კომპლექსი ერთგვაროვანია თუ წარმოადგენს ორი ან მეტი ტიპის კომპლექსისგან შემდგარ სისტემას[78].
2. ბმრ-სპექტროსკოპია იძლევა მკაფიო განსვავებას ჩართულ და სხვა ტიპის გარეგანი კომპლექსების შესახებ. ეს მეთოდი სხვა გავრცელებულ მეთოდებთან ხასიათდება ამ უპირატესობით, რადგან ისინი ვერ იძლევიან მსგავს ინფორმაციას [79].
3. ბმრ სპექტრში შესაძლოა გამოვარჩიოთ ენანტიოტოპური სიგნალები ქირალურ გარემოში. ეს კი გვაძლევს საშუალებას გამოვიყენოთ რაცემული ნარევი, რათა შევისწავლოთ ენანტიოსელექტიური პარამეტრები მაგ. შეკავშირების მუდმივები, სტექიომეტრია, გიბსის თავისუფალი ენერგია, ენთალპია და ენტროპია[80].
4. ბმრ სპექტროსკოპია გვაძლევს ინფორმაციას კომპლექსის სტრუქტურის შესახებ ბირთვულ ოვერჰაუზერის ეფექტის საფუძველზე და ასევე გვაძლევს ინფორმაციას კომპლექსის დინამიკის შესახებ სხვადასხვა სპინ-მატრიცული ეფექტის შესწავლის საფუძველზე [81].
5. NOE-დან მიღებული ინფორმაცია არის შედარებით მარტივად ინტერპრეტირებადი და პირდაპირი. აქედან გამომდინარე, NOE-დან მოღებული ინფორმაცია უნიკალურია სხვა ტექნიკებთან შედარებით [82].
6. ბმრ სპექტროსკოპიაში მიღებული სიგნალების საფუძველზე შესაძლოა მივიღოთ ინფორმაცია ქირალური გამოცნობის შესახებ ისეთი სელექტორ-

სელექტანდური წყვილებისთვისაც კი, რომელთა დაყოფაც არ იყო წარმატებული კაპილარული ელექტროფორეზის ექსპერიმენტში [67][83].

2.2.14 ROESY-სპექტროსკოპია

პროტონის გაჯერებით შესაბამისი სიხშირის რადიოტალღით დასხივებით, სივრცულად ახლოს მყოფი არაკოვალენტურად დაკავშირებული პროტონები განიცდიან გავლენას და შედეგად ხდება მათი რეზონანსული შთანთქმის ინტენსივობის გაზრდა [68]. ამ მოვლენას ბირთვულ ოვერჰაუზერის ეფექტი (NOE) ეწოდება. NOE-ზე დაფუძნებული მეთოდები უნიკალურია ბმრ სპექტროსკოპიის სხვა მეთოდებთან შედარებით, რადგან ის არ არის დამოკიდებული ატომებს შორის ქიმიური ბმის არსებობაზე, არამედ დამოკიდებულია პროტონების სივრცულ სიახლოვეზე [69]. NOE-ს ინტენსივობა დამოკიდებულია პროტონებს შორის მანძილზე, რაც უფრო ახლოს არიან პროტონები, მით ინტენსიურია NOE სიგნალი. მცირე ზომის მოლეკულებსათვის NOE-ს დამზერა ხერხდება პროტონებს შორის 4Å მანძილზე, ხოლო დიდი მოლეკულებისათვის NOE-ს დამზერა ხერხდება 5Å-ის სიშორეზე. NOE მოიცავს რამდენიმე სახის ექსპერიმენტს, როგორც 1D ასევე 2D ექსპერიმენტებს [70].

NOE დამოკიდებულია მოლეკულის მოძრაობის კორელაციურ დროზე, რომელიც განისაზღვრება მოლეკულის მასითა და გამხსნელის სიბლანტით. მაღალი მოლეკულური მასები და მაღალი სიბლანტე იწვევს მაღალ კორელაციურ დროს [84] [85]. NOE დადებით ფაზაში ჩანს პატარა მოლეკულებისათვის ($MW < 600$), NOE-ს ინტენსივობა ნულს უტოლდება საშუალო ზომის მოლეკულებისათვის (MW 700-1200) და ხდება უარყოფითი დიდი ზომის მოლეკულებისათვის ($MW > 1200$). საშუალო ზომის მოლეკულებისათვის NOE შესაძლოა თეორიულად იყოს ნული. საშუალო ზომის მოლეკულების ანალიზისთვის გამოიყენება ROESY ექსპერიმენტი და მისი ფაზა ყოველთვის დადებითია [71][86].

NOE ეფექტზე დაფუძნებულ მეთოდებს წარმოადგენს ROESY და NOESY ექსპერიმენტები. აღნიშნულ ექსპერიმენტებში NOE წარმოიქმნება და შემდეგ ისევ მიიღევა რელაქსაციის გამო შერევის დროის განმავლობაში. NOE- მაქსიმალური ინტენსივობა და მისი წარმოქმნის სიჩქარე დამოკიდებულია მოლეკულის კორელაციურ დროზე, მოლეკულურ მასაზე და პროტონებს შორის მანძილზე.

ზოგადად, დიდი მოლეკულებისათვის NOE წარმოიქმნება სწრაფად, ხოლო მცირე ზომის მოლეკულების შემთხვევაში ნელა. დიდი მოლეკულებისათვის საჭიროა მოკლე შერევის დრო [72]. ასევე პროტონები რომლებიც ახლოს იმყოფებიან ერთმანეთთან სწრაფად წარმოქმნიან NOE-ს, ამიტომ აქაც საჭიროა მოკლე შერევის დრო, ამის გამო საჭიროა სწორად მიეთითოს შერევის დრო ექსპერიმენტის დაწყების წინ, რათა მივიღოთ სასურველი სიგნალები და თავიდან ავიცილოთ შეცდომა, მაგალითად სპინური დიფუზიის შედეგად მიღებული სიგნალები: [73], [74].

- 1) პატარა მოლეკულებისათვის 0.5-1 წმ.
- 2) საშუალო ზომის მოლეკულებისათვის 0.1-0.5 წმ.
- 3) დიდი მოლეკულებისათვის 0.05 - 0.2 წმ.

ROESY სპექტროსკოპია წარმოადგენს ექსპერიმენტს, სადაც ჰომობირთვული NOE ეფექტები იზომება სპინის ბლოკირების პირობებში. ROESY განსაკუთრებით ეთავსება მოლეკულებს, რომელთა მოძრაობის კორელაციური დრო (τ_c), $\tau_c \ll \tau_R$, სადაც τ_R კუთხური სიხშირეა $\omega = \gamma B$. ამ შემთხვევებში ლაბორატორიული-ჩარჩოების NOE თითქმის ნულის ტოლია, თუმცა მბრუნავი-ჩარჩოების NOE ყოველთვის დადებითი და იზრდება მონოტონურად τ_c -ის ზრდის პროპორციულად [75]; [76]. ROESY მეთოდში შერევის დრო არის სპინის ბლოკირების პერიოდი. ამ დროის განმავლობაში მიმდინარეობს დაბლოკილი სპინების მაგნეტიზაციის კომპონენტების მიმოცვლა სხვა ბირთვებთან [77].

3. ექსპერიმენტული ნაწილი

3.1 ექსპერიმენტის ზოგადი მონახაზი

ექსპერიმენტის მიზანი იყო კაპილარული ელექტროფორეზის პოტენციალის გამოვლენა ენანტიოსელექტიური მოლეკულათშორისი ურთიერთქმედების მექანიზმების შესწავლის მიზნით.

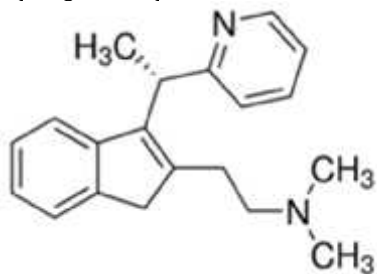
დასახული ამოცანის გადაჭრის მიზნით:

- ❖ განხორციელდა სხვადასხვა კლასის და მოლეკულური სტრუქტურის მქონე ქირალური ნივთიერებების ენანტიომერების დაყოფა კაპილარული ელექტროფორეზის მეთოდით. ქირალურ სელექტორებად გამოყენებული იყო როგორც ნატივური α , β და γ ციკლოდექსტრინები, ასევე ერთკომპონენტიანი მოდიფიცირებული ციკლოდექსტრინები;
- ❖ შემდეგ ეტაპზე განხორციელდა ქირალური გამოცნობის მექანიზმების კვლევის მიზნით შერჩეული რაცემული ნარევების ენანტიომერების დაყოფა და ცალკეული სუფთა ენანტიომერის შეგროვება სითხური ქრომატოგრაფიის გამოყენებით;
- ❖ ექსპერიმენტის მესამე ეტაპზე კაპილარული ელექტროფორეზის გამოყენებით შესწავლილ იქნა მონიშნული ენანტიომერული ნარევების ენანტიომერების მიგრაციის რიგი ქირალურ სელექტორებად როგორც α , β და γ ციკლოდექსტრინების, ასევე მოდიფიცირებული ციკლოდექსტრინების გამოყენებით;
- ❖ მეოთხე ეტაპზე ბირთვულ მაგნიტური რეზონანსის სპექტროსკოპიის სხვადასხვა მეთოდების გამოყენებით განხორციელდა რეზონანსული სიგნალების მიკუთვნება შესაბამის პროტონებისთვის როგორც ციკლოდექსტრინის, ასევე საანალიზო ნივთიერების მოლეკულაში და ბირთვული ოვერჰაუზერის ეფექტის გამოყენებით დადგინდა სელექტორ-სელექტანდის კომპლექსების სტრუქტურები.

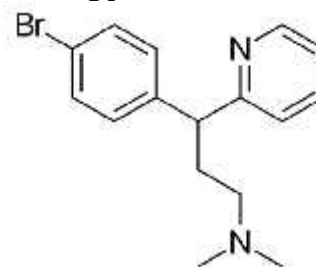
- ❖ მეხუთე ეტაპზე მოლეკულური მოდელირების მეთოდით შესწავლილი იქნა მხოლოდ კლენპენტეროლის შემთხვევა. კერძოდ კი, მოლეკულური მექანიკის მეთოდების გამოყენებით ენერჯის მინიმიზაციის საფუძველზე დადგენილი იქნა კლენპენტეროლის ენანტიომერების კომპლექსების სტრუქტურა ბეტა ციკლოდექსტრინთან და ჰეპტაკის-(2,3-დიაცეტილ) ბეტა ციკლოდექსტრინთან. გარდა ამისა, მოხდა მოლეკულათშორისი ძალების გამოთვლა ოთხივე კომპლექსში და ახსნილი იქნა კაპილარული ელექტროფორეზის ექსპერიმენტში დადგენილი ენანტიომერების ელუირების რიგი.

3.2 ექსპერიმენტში გამოყენებული ქირალური ნივთიერებები

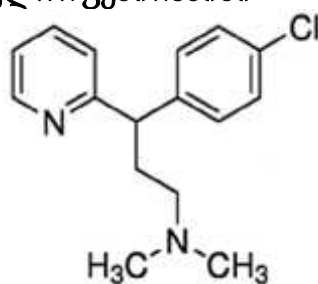
1. დიმეთონდინი



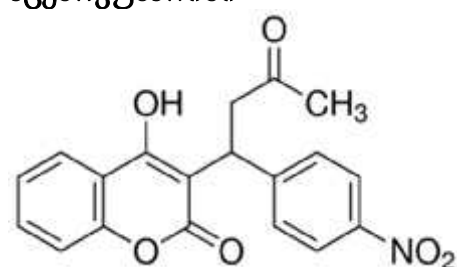
2. ბრომფენირამინი



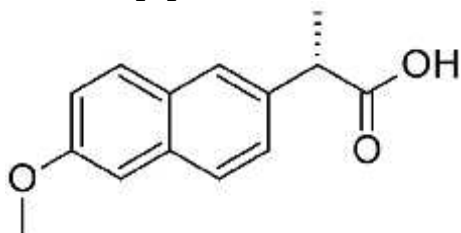
3. ქლორფენირამინი



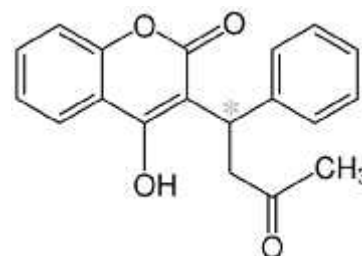
4. აცნოკუმარინი



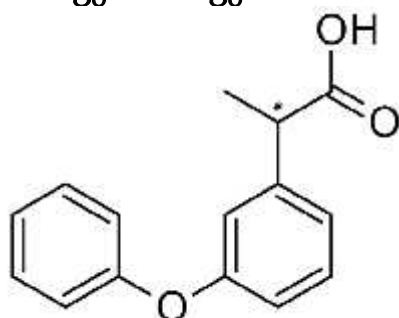
5. ნაპროქსენი



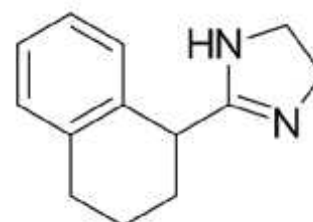
6. ვარფარინი



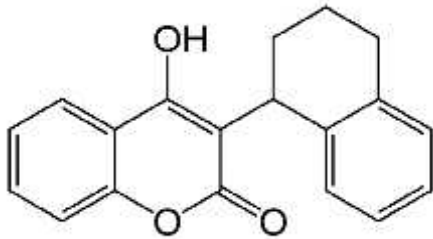
7. ფენოპროფენი



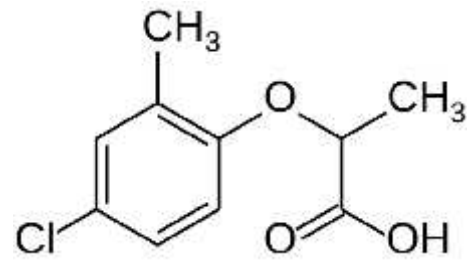
8. ტეტრაჰიდროზოლინი



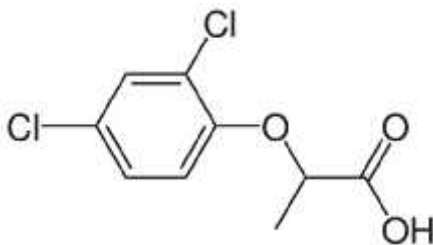
9. კუმატეტრალინი



10. მეკოპროპი



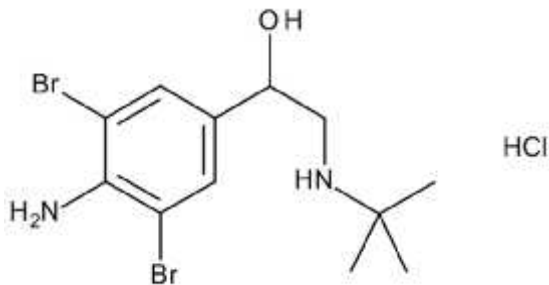
11. დიქლოროპროპი



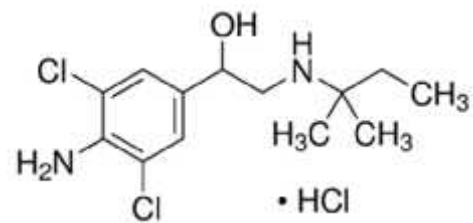
12. ტერბუტალინი



13. ბრომბუტეროლი

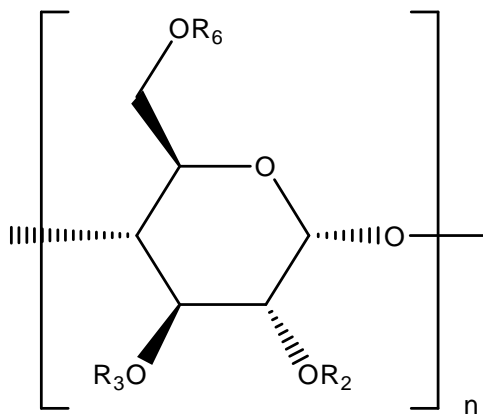


14. კლენპენტეროლი



3.3. ექსპერიმენტში გამოყენებული ციკლოდექსტრინები

ექსპერიმენტში გამოყენებული იყო ნატივური ციკლოდექსტრინები α , β და γ ციკლოდექსტრინები და β ციკლოდექსტრინის ნეიტრალური და დამუხტული ნაწარმები, დეტალური დახასიათება იხ. ცხრილი 2-ში.



ცხრილი 2. ექსპერიმენტში გამოყენებული ციკლოდექსტრინები.

ციკლოდექსტრინი

	n	R ₂	R ₃	R ₆
r-CD	6	H	H	H
s-CD	7	H	H	H
α-CD	8	H	H	H
DM-S-CD	7	Me	H	Me
TM-S-CD	7	Me	Me	Me
HDA-S-CD	7	Ac	Ac	H
HS-S-CD	7	H	H	SO ₃ H
HDMS-S-CD	7	Me	Me	SO ₃ H
HDAS-S-CD	7	Ac	Ac	SO ₃ H
HMDS-S-CD	7	Me	SO ₃ H	SO ₃ H

3.4. რექტივები და მასალები

ექსპერიმენტში გამოყენებული რაცემული ნივთიერებები, დეიტერიუმის ოქსიდი (D_2O), ნატრიუმის დეიტეროქსიდი, ($NaOD$, 40% მოლი/მოლი დეიტერიუმის ოქსიდში), ფოსფორმჟავა (85%), 85% დეიტერირებული ფოსფორმჟავა დეიტერიუმის ოქსიდში D_2O , α -CD, β -CD, γ -CD, ჰეპტაკის(2,6-დი-*O*-მეთილ)- β -CD (DM- β -CD) და ჰეპტაკის(2,3,6-ტრი-*O*-მეთილ)- β -CD (TM- β -CD), სულფატირებული- β -CD (HS- β -CD) და ჰეპტაკის(2,3-დიაცეტილ) β -CD (DA- β -CD) შეძენილ იქნა კომპანიისგან Sigma-Aldrich (სანტ ლუისი, მისური, აშშ). ჰეპტაკის(2-*O*-მეთილ-3,6-დი-*O*-სულფო)- β -CD (HMDS- β -CD), ჰეპტაკის(2,3-di-*O*-მეთილ-6-*O*-სულფო)- β -CD, (HDMS- β -CD), ჰეპტაკის(2,3-დი-*O*-აცეტილ-6-*O*-სულფო)- β -CD, HDAS- β -CD უსასყიდლოდ გადმოგვეცა კომპანია Cyclolab-ის (ბუდაპეშტი, უნგრეთი) მიერ. კალიუმის დიჰიდროფოსფატი, ქრომატოგრაფიული სისუფთავის გამხსნელები: მეთანოლი, ეთნოლი, ჰექსანი, იზოპროპანოლი, აცეტონიტრილი, ასევე ანალიზური სისუფთავის ტრიეთანოლამინი, დიეთილამინი და ჭიანჭველმჟავა შეძენელია კომპანიისაგან Carl Roth GmbH (კარლსრუე, გერმანია).

ექსპერიმენტში გამოყენებული იყო შემდეგი ქირალური ქრომატოგრაფიული სვეტები:

1. Lux Cellulose-4 (4.6 მმ × 250 მმ, 5 მკმ ნაწილაკების ზომა, ფენომენექსი, ტორანსი, კალიფორნია, აშშ). ამ სვეტში ქირალურ სელექტორს წარმოადგენს ცელულოზა ტრის(4-ქლორ-3-მეთილფენილკარბამატი).
2. Lux Cellulose-3 (4.6 მმ × 250 მმ, 5 მკმ ნაწილაკების ზომა, ფენომენექსი, ტორანსი, კალიფორნია, აშშ). ამ სვეტში ქირალურ სელექტორს წარმოადგენს ცელულოზა ტრის(4-მეთილფენილბენზოატი).

წყალი გამოვიყენეთ Milli-Q ხარისხის (მილიპორი, ბედფორდი, მასაჩუსეტსი, აშშ).

3.5. გამოყენებული აპარატურა

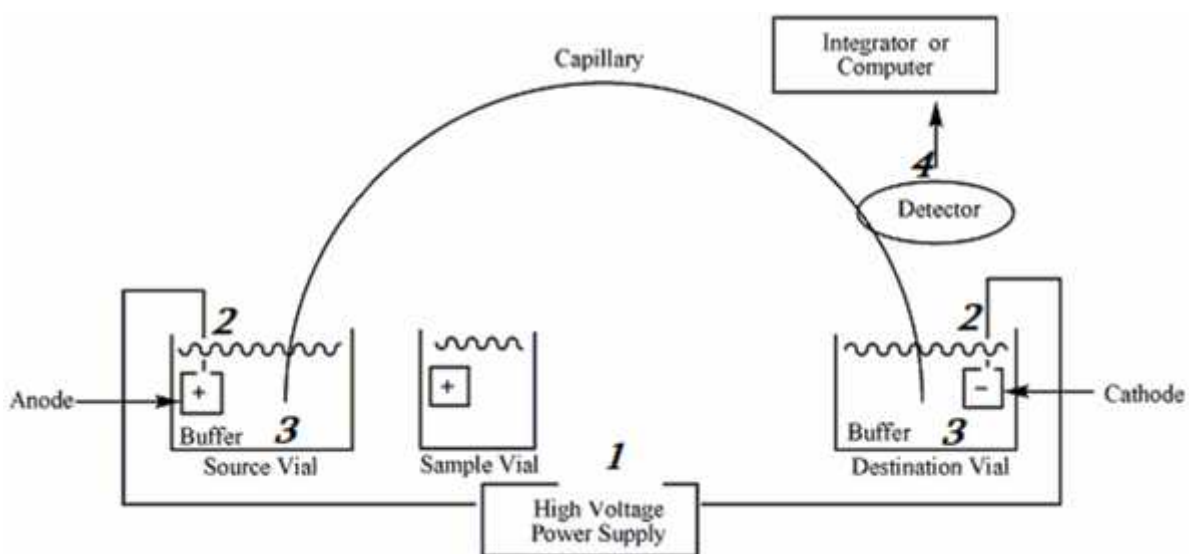
ექსპერიმენტში გამოყენებული იყო შემდეგი ხელსაწყოები:

- 1) Agilent Technologies 7100 მოდელის კაპილარული ელექტროფორეზის ხელსაწყო



სურ. 19 კაპილარული ელექტროფორეზის ხელსაწყო

ხელსაწყო შედგება შემდეგი ბლოკებისგან:



სურ. 20 კაპილარული ელექტროფორეზის ხელსაწყო სქემა

1. მაღალი ძაბვის წყარო;
2. პლატინის ელექტროდები;
3. Inlet და outlet რეზერვუარებისაგან, რომლებშიც ბუფერული ან ქირალური სელექტორიანი ბუფერული ხსნარებია მოთავსებული;
4. დიოდური ულტრაიისფერი დეტექტორი;

5. ავტოსემპლერი

6. კაპილარი

კაპილარული ელექტროფორეზის ხელსაწყოს მაღალი ძაბვის წყარო საშუალებას იძლევა 30 kv-მდე ძაბვის ქვეშ ჩატარდეს ანალიზები. მაღალი ძაბვის წყარო დაკავშირებულია ორ პლატინის ელექტროდთან, რომლებიც ჩაშვებულია ბუფერულ ხსნარში. კაპილარის ბოლოები (შიდა დიამეტრით 20-100 მკმ) ჩაშვებულია აგრეთვე ორ ბუფერულ ხსნარში, კერძოდ შემავალ და გამომავალ ბოთლებში, პლატინის ელექტროდების გავლით. კაპილარულ ელექტროფორეზში გამოყენებული კვარცის კაპილარები გარედან დაფარულია პოლიიმიდის ფენით მსხვრევადობის შესამცირებლად. დაახლოებით 9 სმ სიგრძეზე გამომავალ ბოლოდან კაპილარს უკეთდება დაახლოებით 4-5 მმ სიგრძის დეტექტირების ფანჯარა პოლიიმიდის მოწვის ხარჯზე. სწორედ დეტექტირების ფანჯარაში ხდება ნივთიერებათა დეტექტირება, ჩვენს შემთხვევაში დეტექტირება ხდებოდა დიოდური ულტრაიისფერი დეტექტორის გამოყენებით. მიღებული სიგნალები ელექტრონულად ჩაიწერება და გამოისახება პიკების სახით.

2) Agilent 1260 მოდელის სითხური ქრომატოგრაფი



სურ. 21 Agilent 1200 სერიის მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფი

გამოყენებული სითხური ქრომატოგრაფი შედგებოდა შემდეგი მოდულებისგან:

1. G1312A ბინარული ტუმბო;
2. G1367B ნიმუშების ავტომატური მიმწოდებელი ავტომატური ინიცირების სისტემით;
3. G1316B სვეტების თერმოსტატი;
4. G1314D ცვლად ტალღიანი დეტექტორი, რომელიც ერთი ანალიზის მსვლელობისას მხოლოდ ერთი ტალღის სიგრძის ჩაწერის შესაძლებლობას იძლევა;
5. ხელსაწყოს მართვა და მონაცემთა დამუშავება ხდებოდა პროგრამა Agilent Chemstation-ის გამოყენებით.

ტუმბოს მაქსიმალური წნევა იყო 400 ბარი, ხოლო დეტექტორის ტალღის სიგრძის დიაპაზონი 110-900 ნმ, დეტექტორის სიხშირე 20 ჰერცი.

3) Varian 400 MHz NMR ბირთვულ-მაგნიტური რეზონანსის სპექტრომეტრი



სურ. 22 Varian 400 MHz NMR ბირთვულ-მაგნიტური რეზონანსის სპექტრომეტრი

ხელსაწყო მოიცავს:

400 MHz მაგნიტს

HP Z420 კომპიუტერს

პროგრამული უზრუნველყოფა: Red Hat Linux 6.3, VNMRJ 4.2

ხელსაწყო შესაძლებლობას იძლევა ჩატარდეს შემდეგი ექსპერიმენტები:

1) 1D ¹H, ¹³C, ¹⁹F, ³¹P

2) 1D NOE

3) 1D ცვლადი ტემპერატურით

4) 2D ექსპერიმენტები COSY, TOCSY, HSQC, HMBC

5) 1D/2D ROESY/NOESY ექსპერიმენტები

3.6 კაპილარული ელექტროფორეზის ექსპერიმენტი

კაპილარულ ელექტროფორეზში ანალიზებს ვატარებით შემდეგი თანმიმდევრობით: ყოველი ინიცირების წინ კაპილარი ირეცხებოდა 1 M NaOH -ის ხსნარით 2 წთ., ბუფერით 2 წთ. და ბოლოს 2 წთ. ქირალური სელექტორის შემცველი ბუფერით. მუშაობის დასრულების შემდეგ კაპილარი ირეცხებოდა 30 წთ. 0.1 M NaOH, 30 წთ. ბუფერით და 15 წთ. წყლით. კაპილარის რეცხვის ციკლი ტარდებოდა დაახლოებით 1 ბარი წნევის ქვეშ.

ანალიზებს თავდაპირველად ვატარებდით აქირალურ ბუფერში: მხოლოდ წნევით, წნევით და ძაბვით ერთდროულად და მხოლოდ ძაბვით. აქირალურ ბუფერში ენანტიომერების დაყოფა არ ხდება, ეს ექსპერიმენტები საჭირო იყო იმისათვის, რომ დაგვეჩვენა როგორი იყო საანალიზო ნივთიერების ძვრადობა, პიკის ფორმა, ზომა და ხომ არ შეიცავდა აქირალურ მინარევს.

ამის შემდეგ კაპილარს ვავსებდით ქირალური ბუფერით და ვატარებდით ანალიზებს შემდეგი თანმიმდევრობით:

1. წნევა 100 მილიბარი;
2. წნევა 50 მილიბარი და ძაბვა +25კვ.,
3. წნევა 25 მილიბარი+ძაბვა 25კვ.,
4. წნევა 10მილიბარი+ძაბვა 25 კვ
5. მხოლოდ ძაბვა 25კვ.

მხოლოდ წნევით ჩატარებულ ანალიზებში არ ხდება ენანტიომერული დაყოფა, ამ დროს ვაკვირდებით პიკის ფორმას და ფართობს. ენანტიომერების დაყოფების გასაუმჯობესებლად ჩვენს ექსპერიმენტებში ძაბვას ვცვლიდით 10კვ.-დან 30კვ.-მდე. რადგან ქირალურ სელექტორებად სხვადასხვა კონცენტრაციის ციკლოდექსტრინების გამოყენებისას ძაბვის განსხვავებული მნიშვნელობები სხვადასხვა ფორმის პიკებს იძლევა, ჩვენთვის კი მნიშვნელოვანი იყო მიგვეღწია მაღალეფექტური დაყოფებისთვის ასევე მაღალი სელექტივობით ექსპერიმენტის შედეგებზე დაყრდნობით შევარჩიეთ ანალიზის ჩასატარებელი ძაბვის ოპტიმალური მნიშვნელობა თითოეული ციკლოდექსტრინის კონკრეტული

კონცენტრაციის გათვალისწინებით, კონკრეტული საკვლევი ნივთიერების ენანტიომერების დასაყოფად.

რადგან ჩვენს მიერ შესწავლილი იყო განსხვავებული სტრუქტურის და ქიმიური ბუნების მქონე ქირალური ნივთიერების ენანტიომერების დაყოფა ექსპერიმენტის პირობები შერჩეული იყო მათი მუხტის და ქიმიური ბუნების გათვალისწინებით.

ექსპერიმენტი 1: დიმეთინდინის, ბრომფენირამინისა და ქლორფენირამინის ენანტიომერების დაყოფა გამოყენებული ბუფერი: 50 მილიმოლური კალიუმის დიჰიდროფოსფატის ბუფერი, pH 3.0, pH მიყვანილ იქნა 100 მილიმოლური ფოსფორმჟავის დამატებით.

გამოყენებული კაპილარები: 50 მკმ შიგა დიამეტრის და 375 მკმ გარე დიამეტრის მქონე არამოდულიცირებული კვარცის კაპილარი, ევექტური სიგრძე 50 სმ, ხოლო მთლიანი სიგრძე 60 სმ.

ნიმუშის ინიცირება: ნიმუშების ინიცირება ხდებოდა 50 მილიბარი წნევით 1 წამის განმავლობაში.

ექსპერიმენტები ტარდებოდა მუდმივი ძაბვით 20 კვ.-დან 30კვ.-მდე.

ექსპერიმენტი ტარდებოდა 20°C მუდმივი ტემპერატურის პირობებში.

დეტექტირება ხდებოდა 200 და 220 ნმ ტალღის სიგრძეებზე.

ექსპერიმენტი 2: ბრომბუტეროლის, კლენპენტეროლის და ტერბუტალინის ენანტიომერების დაყოფა

გამოყენებული ბუფერი: 50 მილიმოლური კალიუმის დიჰიდროფოსფატის ბუფერი, pH 2.0., pH მიყვანილ იქნა 100 მილიმოლური ფოსფორმჟავის დამატებით.

გამოყენებული კაპილარები: 50 მკმ შიგა დიამეტრის და 375 მკმ გარე დიამეტრის მქონე არამოდიფიცირებული კვარცის კაპილარი, ეფექტური სიგრძე 31 სმ, ხოლო მთლიანი სიგრძე 40 სმ.

ნიმუშის ინიცირება: ნიმუშების ინიცირება ხდებოდა 5 მილიბარი წნევით 3 წამის განმავლობაში.

ექსპერიმენტები ტარდებოდა მუდმივი დენით 150 მიკროამპერი.

ექსპერიმენტი ტარდებოდა 20°C მუდმივი ტემპერატურის პირობებში.

დეტექტირება ხდებოდა 200 და 220 ნმ ტალღის სიგრძეებზე.

ექსპერიმენტი 3: აცენოკუმარინის, ვარფარინის, ნაპროქსენის, კუმატეტრალილის და ფენოპროფენის ენანტიომერების დაყოფა.

გამოყენებული ბუფერი: 200 mM 2-(N-მორფოლინ) ეთანსულფონის მჟავა ($C_6H_{13}NO_4S$) + 0.1% 90 000 დალტონი მოლეკულური მასის მქონე ცელულოზა, pH 4.50.

გამოყენებული კაპილარები: 50 მკმ შიგა დიამეტრის და 375 მკმ გარე დიამეტრის მქონე არამოდიფიცირებული კვარცის კაპილარი, ეფექტური სიგრძე 31 სმ, ხოლო მთლიანი სიგრძე 40 სმ.

ნიმუშის ინიცირება: ნიმუშების ინიცირება ხდებოდა 5 მილიბარი წნევით 3 წამის განმავლობაში.

ექსპერიმენტები ტარდებოდა უარყოფითი ძაბვის პირობებში -20კვ.-(-)30კვ. ფარგლებში.

ექსპერიმენტი ტარდებოდა 20°C მუდმივი ტემპერატურის პირობებში.

დეტექტირება ხდებოდა 200 ნმ ტალღის სიგრძეზე.

ექსპერიმენტი 4: ტეტრაჰიდროზოლინის ენანტიომერების დაყოფა

გამოყენებული ბუფერი: ფოსფორმჟავა/ტრიეთანოლამინი , pH 3.21.

გამოყენებული კაპილარები: 50 მკმ შიგა დიამეტრის და 375 მკმ გარე დიამეტრის მქონე არამოდულიცირებული კვარცის კაპილარი, ევექტური სიგრძე 31 სმ, ხოლო მთლიანი სიგრძე 40 სმ.

ნიმუშის ინიცირება: ნიმუშების ინიცირება ხდებოდა 60 მილიბარი წნევით 4 წამის განმავლობაში.

ექსპერიმენტები ტარდებოდა უარყოფითი ძაბვის პირობებში 30 კვ.

ექსპერიმენტი ტარდებოდა 20°C მუდმივი ტემპერატურის პირობებში.

დეტექტირება ხდებოდა 210 ნმ ტალღის სიგრძეზე.

3.7 ბმრ ექსპერიმენტები

ბმრ ექსპერიმენტებში გამოყენებული ნიმუშების კონცენტრაცია 30-ჯერ უფრო მაღალი იყო, ვიდრე კაპილარულ ელექტროფორეზში გამოყენებული ნიმუშების კონცენტრაცია, რათა განმეორებადი ბმრ სპექტრები მიგველო. ბმრ ექსპერიმენტებში გამხსნელად გამოყენებული იყო 50 მილიმოლური დეიტერირებული ფოსფორმჟავა გახსნილი დეიტერიუმის ოქსიდში (D_3PO_4 განზავებული D_2O -ით), ხსნარის pH 2-ზე მიყვანილი იყო ნატრიუმის დეიტეროოქსიდის ხსნარით დეიტერიუმის ოქსიდში (40% wt). ტერბუტალინის რაცემული ნარევი (TBT, 1.3–1.5 მგ ყველა შემთხვევაში) β -CD-თან (10.1 მგ), HMDS- β -CD-თან (9.5 მგ) და HDAS- β -CD-თან (14.0 მგ) თითოეული გახსნილი იყო 0.7 მლ გამხსნელში. ყველა ნიმუში მოთავსებული იყო ვორტექს შემრევში 1 წთ-ის განმავლობაში სრული გახსნის მიზნით და შემდეგ გავფილტრეთ 0.45 მკმ ფორების ზომის მქონე პოლიპროპილენის მემბრანულ ფილტრში. 90°-იანი პულსის ოპტიმიზაცია მოხდა თითოეული ნიმუშისთვის. როდესაც საჭირო იყო, ყველა ბმრ სიგნალი იდენტიფიცირებული იქნა COSY, TOCSY და HSQC მონაცემების მიხედვით. 1D ROESY ექსპერიმენტების დროს ხდებოდა ცალკეული პროტონის დასხივება და შესაბამისი სპექტრების ჩაწერა, რათა დაგვეჩვენებინა თუ რომელი პროტონები მდებარეობდნენ დასხივებულ პროტონთან არაუმეტეს 2-5 ანგსტრემის მოშორებით. სელექტიური ადგენების პულსის ხანგრძლივობის და სიხშირის შერჩევა ხდებოდა ავტომატურად V_{nmrJ} პროგრამის (ვერსია 3.2). თითოეულ 1D NOESY ექსპერიმენტში სპექტრის აკუმულაციის რიცხვი იყო 512, რომელიც შემდეგ იკრიბებოდა ფურიე ტრანსფორმაციით. დაბალი სიხშირის პულსის ხანგრძლივობა ყველა შემთხვევაში იყო 400 მილიწამი. ყველა ბმრ ექსპერიმენტი ჩატარდა 25 °C-ზე და ბმრ სპექტრები ჩაიწერა პროგრამით MestreNOVA (ვერსია 11.0.2, Mestrelab Research S. L., (სანტიაგო დე კომპოსტელა, ესპანეთი).

3.8 მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფიის ექსპერიმენტი

მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფიის ექსპერიმენტი ჩვენს მიერ გამოყენებულ იქნა იმ საკვლევი რაცემული ნაერთების სუფთა ენანტიომერების შესაგროვებლად, რომლებიც არ იყო ხელმისაწვდომი ჩვენს ლაბორატორიაში. კერძოდ ეს ნივთიერებებია: ტერბუტალინი და ბრომბუტეროლი.

ტერბუტალინის ენანტიომერების დაყოფა მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფიის გამოყენებით:

ტერბუტალინის ენანტიომერების დასაყოფად გამოყენებული იყო ქირალურ სვეტი Lux Cellulose-4 (4.6 მმ × 250 მმ, 5 მკმ ნაწილაკების ზომა), რომელიც მომზადებულია ცელულოზა ტრის(4-ქლო-3-მეთილფენილკარბამატი)-ის საფუძველზე, (ფენომენექსი, ტორანსი, კალიფორნია, აშშ), დაყოფა ტარდებოდა 25 °C ტემპერატურაზე. მოძრავ ფაზად გამოყენებულ იყო ნ-ჰექსან/პროპან-2-ოლი/ჰიანჰველმჟავას ნარევი (70:30:0.1, v/v/v), მოძრავი ფაზის ნაკადი იყო 1 მლ/წთ. აღწერილ პირობებში ტერბუტალინის ენანტიომერები დაიყო ფუძისეულად, ანალიზის დრო შეადგენდა 25 წუთს, გარჩევითობა იყო 1.9, ენანტიომერების ელუირების რიგი იყო შემდეგნაირი: პირველი ელუირდებოდა R-(-)-ტერბუტალინი და მეორე S-(+)-ტერბუტალინი [82].

ცალ-ცალკე მოხდა ტერბუტალინის R-(-)-და S-(+)-ენანტიომერების ფრაქციების შეგროვება. როგორც სითხური ქრომატოგრაფიით ჩატარებულმა ანალიზმა აჩვენა, შეგროვებული S-(-)-ტერბუტალინის ენანტიომერული სისუფთავე იყო არანაკლებ 99.8%, ხოლო R-(-)-ტერბუტალინის ენანტიომერული სისუფთავე იყო 99.0%., ენანტიომერულად „სუფთა“ ფრაქციები იქნა გამოყენებული რაცემულ ტერბუტალინზე დასამატებლად, რათა შეგვესწავლა ენანტიომერების მიგრაციის რიგი კაპილარულ ელექტროფორეზში.

ბრომბუტეროლის ენანტიომერების დაყოფა ხდებოდა სითხური ქრომატოგრაფიის გამოყენებით:

ბრომბუტეროლის ენანტიომერების დასაყოფად ექსპერიმენტში გამოყენებული იყო ქირალური ქირალური სვეტი Lux Cellulose-3 (4.6 მმ × 250 მმ, 5 მკმ ნაწილაკების ზომა), ფენომენექსი, ტორანსი, კალიფორნია, აშშ), რომელშიც ქირალურ სელექტორს წარმოადგენს ცელულოზა ტრის (4-მეთილბენზოატი), დაყოფა ტარდებოდა 25°C ტემპერატურაზე. მოძრავ ფაზად გამოყენებულ იყო მეთანოლი/წყალი/დიეთილამინის ნარევი (75:25:0.1, v/v/v), მოძრავი ფაზის ნაკადი იყო 1 მლ/წთ. აღწერილ პირობებში ენტანტიომერები დაიყო ფუძისეულად, ანალიზის დრო შეადგენდა 15 წუთს [83] ცალ-ცალკე მოხდა ბრომბუტეროლის R და S ენანტიომერების ფრაქციების შეგროვება. შეგროვებული S -ბრომბუტეროლის ენანტიომერული სისუფთავე იყო არანაკლებ 99.8% ხოლო R-ბრომბუტეროლის ენანტიომერული სისუფთავე იყო 99.0%. ენანტიომერულად „სუფთა“ ფრაქციების შერევით 2/1 თანაფარდობით, მომზადდა მონიშნული ნიმუში კაპილარულ ელექტროფორეზში ენანტიომერების მიგრაციის რიგის შესასწავლად. ასევე ბრომბუტეროლის სუფთა ენანტიომერები შესწავლილი იქნა წრიული დიქროიზმის მეთოდით და აღმოჩნდა, რომ ორივე მათგანს აქვთ ერთნაირი ნიშანი, რაც თავის მხრივ იშვიათ შემთხვევას წარმოადგენს.

4. მიღებული ექსპერიმენტული შედეგები და მათი განსჯა
 4.1 ენანტიომერების დაყოფა კაპილარული ელექტროფორეზის
 გამოყენებით

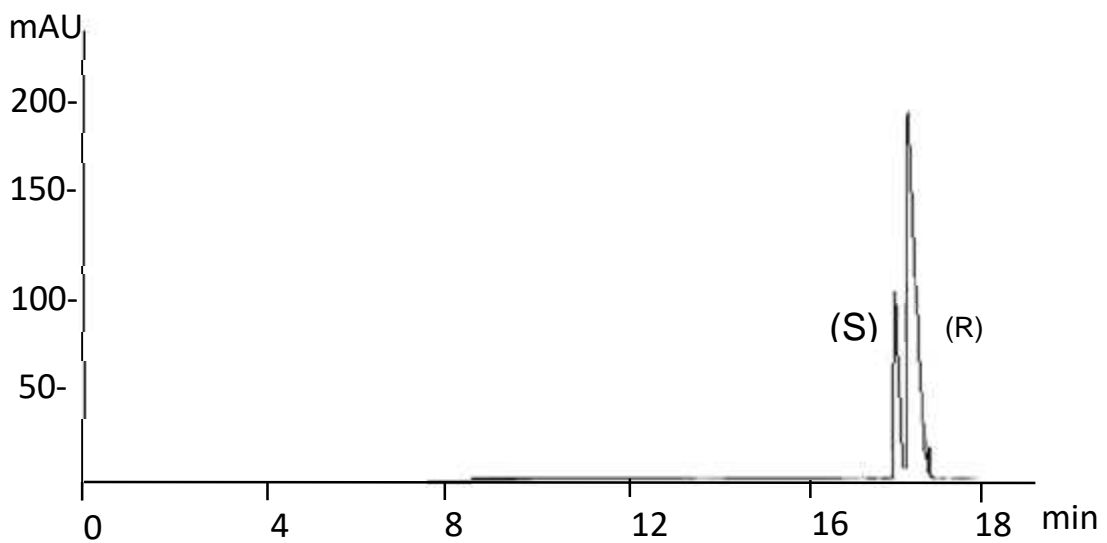
4.1.1 ანტიჰისტამინური მოქმედების ზოგიერთი რაცემული ნივთიერების
 ენანტიომერების დაყოფის სკრინინგი კაპილარული ელექტროფორეზის
 მეთოდის გამოყენებით

როგორც ექსპერიმენტულ ნაწილში გვქონდა აღნიშნული, ჩვენს მიერ შესწავლილ იქნა სამი ანტიჰისტამინური მოქმედების რაცემული ნივთიერების, ბრომფენირამინის, ქლორფენირამინის და დიმეთინდინის ენანტიომერების დაყოფა ქირალურ სელექტორებად α -CD, β -CD, γ -CD, ჰეპტაკის(2-6-დი-*O*-მეთილ)- β -ციკლოდექსტრინის, ჰეპტაკის(2-3-6-ტრი-*O*-მეთილ)- β -ციკლოდექსტრინის გამოყენებით, მიღებული შედეგები წარმოდგენილია ცხრ. 3-ში.

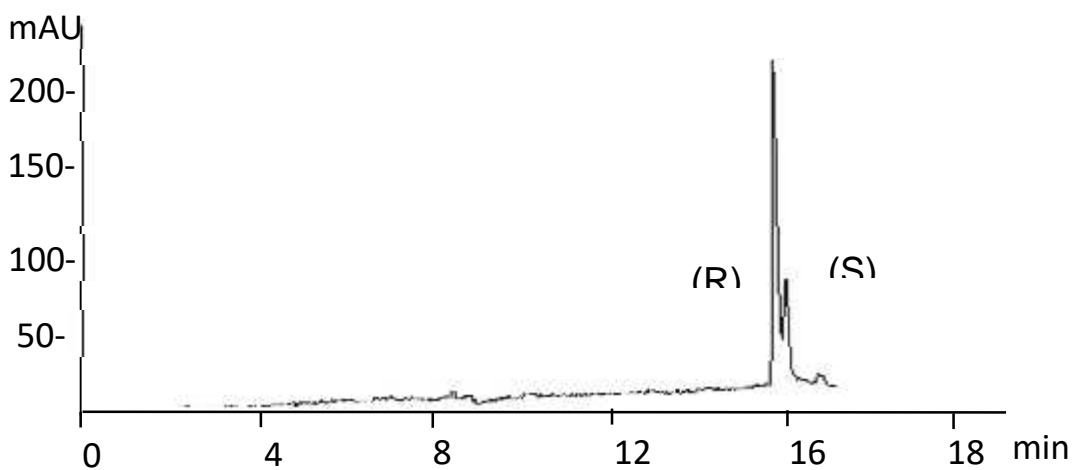
ცხრილი 3. ქლორფენირამინის და ბრომფენირამინის ენანტიომერების დაყოფა ნეიტრალური ციკლოდექსტრინებით, ექსპერიმენტის პირობები: 50 მილიმოლური კალიუმის დიჰიდროფოსფატის ბუფერი, pH 3.0, 50 მკმ შიგა დიამეტრის კვარცის კაპილარი, ელექტური სიგრძე 50 სმ, ძაბვა 20კვ.

ქირალური სელექტორი	კონცენტრაცია მგ/მლ	ქლორფენირამინი			ბრომფენირამინი		
		t ₁ , წთ	t ₂ , წთ	მიგრაციის რიგი	t ₁ , წთ	t ₂ , წთ	მიგრაციის რიგი
α -CD	100 მგ/მლ	2,00	2,00-	-	2,60	-	-
β -CD	18 მგ/მლ	12,50	12,86	(-)(+)	15,00	15,86	(-)(+)
γ -CD	400 მგ/მლ	3,87	3,87	-	3,05	-	-
DM- β -CD	50 მგ/მლ	20,00	20,0	-	21,92	-	-
TM- β -CD	80 მგ/მლ	12,62	13,02	(+)(-)	14,10	14,67	(+)(-)

როგორც წარმოდგენილი შედეგებიდან ჩანს, ჩვენს შესწავლი ნატივური და მოდიფიცირებულ ციკლოდექსტრინებიდან ფენირამინის ქლორ- და ბრომშემცველი ჰალოგენაწარმების ენანტიომერები დაიყო მხოლოდ ქირალურ სელექტორებად β -CD-ის და TM- β -CD-ის გამოყენებით. აქვე უნდა აღინიშნოს ის საინტერესო ფაქტი, რომ მოხდა ენანტიომერების მიგრაციის რიგის შებრუნება ორივე ჰალოგენაწარმის ენანტიომერების შემთხვევაში, კერძოდ, β -CD-ზე ჯერ მიგრირდა (-) ენანტიომერი, ხოლო TM- β -CD-ის შემთხვევაში (+)-ენანტიომერი, იხ. ნახ. 1 (ა) და (ბ) და ნახ. 2 (ა) და (ბ).

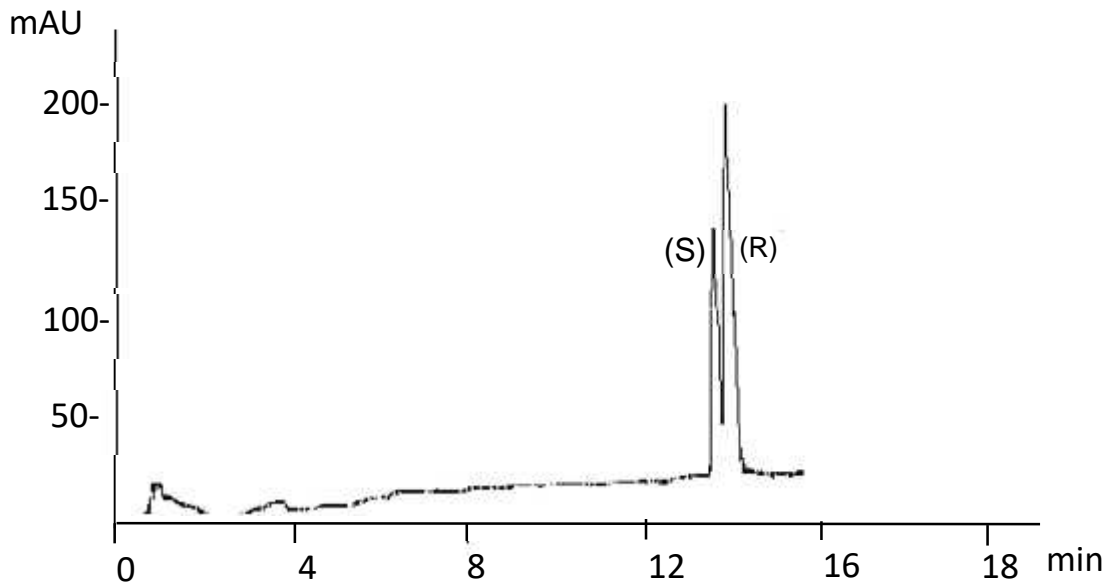


(ა)

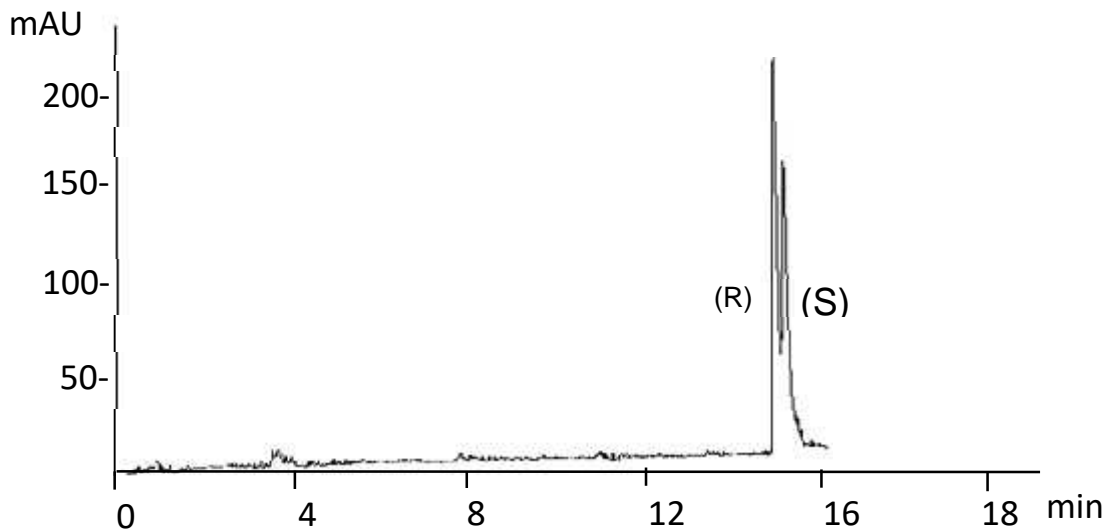


(ბ)

ნახ. 1 ბრომფენირამინის ენანტიომერების დაყოფა ქირალურ სელექტორებად β -CD-ის (ა) და TM- β -CD (ბ) გამოყენებით, ანალიზის პირობები იგივეა, რაც ცხრ. N1-ში მითითებული ექსპერიმენტისთვის.



ა)



ბ)

ნახ. 2 ქლორფენირამინის ენანტიომერების დაყოფა ქირალურ სელექტორებად β -CD-ის (ა) და TM- β -CD (ბ) გამოყენებით, ანალიზის პირობები იგივეა, რაც ცხრ. N1-ში მითითებული ექსპერიმენტისთვის.

უნდა აღინიშნოს, რომ ქლორფენირამინის და ბრომფენირამინის ენანტიომერების დაყოფა β -CD-ის და TM- β -CD გამოყენებით შესწავლილი იქნა ადრინდელ გამოკვლევებში [87, 88].

წინამდებარე სადისერტაციო ნაშრომში ჩვენ ვცდილობდით ადრინდელი შედეგების გამეორებასთან ერთად შეგვემოწმებინა ან ნივთიერებების ენანტიომერების დაყოფის შესაძლებლობა ნატივური α -CD და γ -CD-ის გამოყენებით. ამ ციკლოდექსტრინების გამოყენებით ბრომფენირამინის და ქლორფენირამინის ენანტიომერების დაყოფა ვერ მოხერხდა.

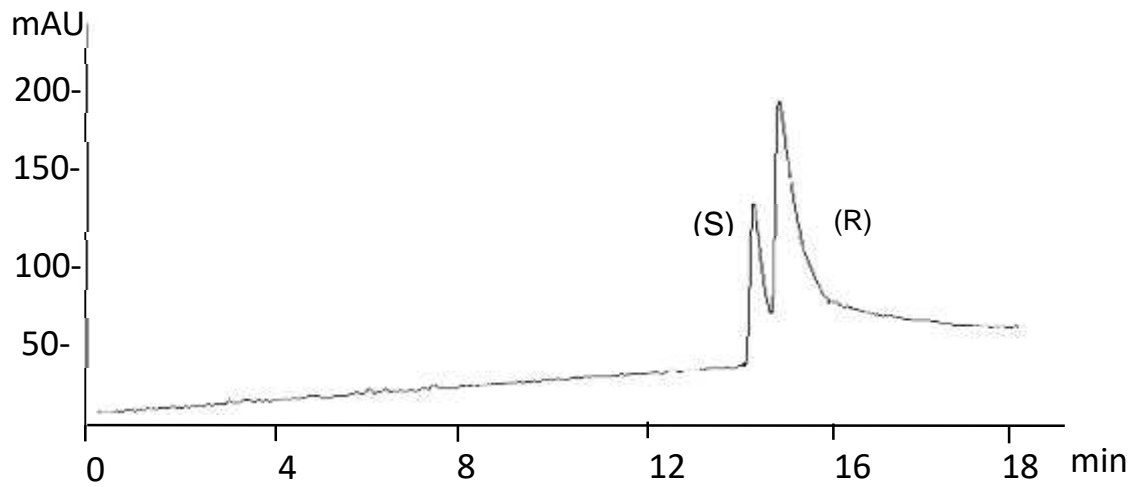
დიმეთინდინის ენანტიომერები დაყოფა ჩვენს მიერ შესწავლილი ხუთივე ქირალური სელექტორის გამოყენებით, როგორც ეს წარმოდგენილია ცხრ. 4-ში.

ცხრ. 4 დიმეთინდინის ენანტიომერების დაყოფა ნეიტრალური ციკლოდექსტრინებით. ექსპერიმენტის პირობები: 50 მილიმოლური კალიუმის დიჰიდროფოსფატის ბუფერი, pH 3.0, 50 მკმ შიგა დიამეტრის კვარცის კაპილარი, ეფექტური სიგრძე 50 სმ, ძაბვა 20კვ.

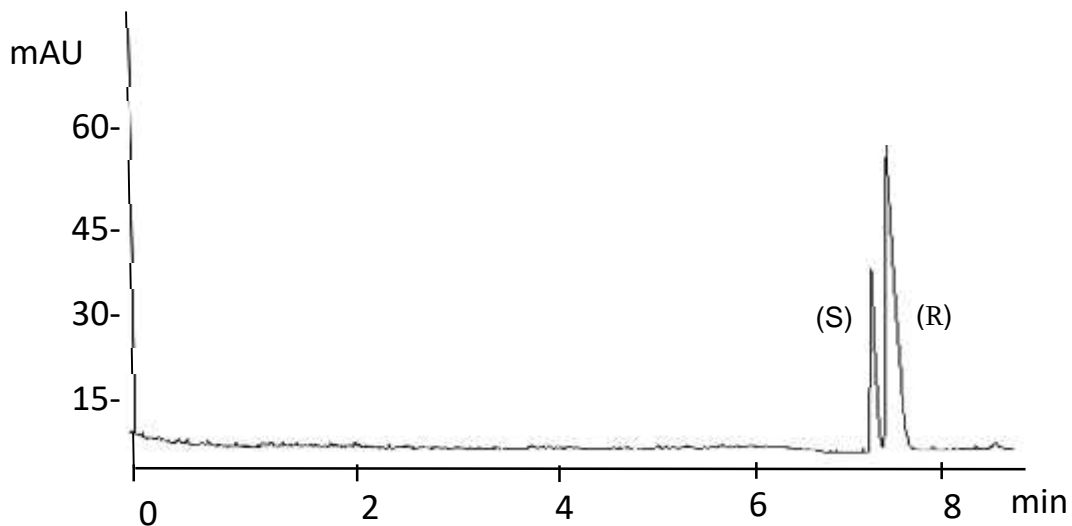
ქირალური სელექტორი	კონცენტრაცია, მგ/მლ	t ₁ , წთ	t ₂ , წთ	r ₁	მიგრაციის რიგი
α -CD	100	9.2	9.5	1.01	(-) (+)
β -CD	18	7.3	7.8	1.02	(-) (+)
γ -CD	100	6.5	6.8	1.02	(-) (+)
TM- β -CD	60	8.2	8.5	1.01	(+) (-)
DM- β -CD	50	2.0	2.1	1.01	(+) (-)

უნდა აღინიშნოს, რომ დიმეთინდინის ენანტიომერების მიგრაციის რიგი უცვლელი იყო ქირალურ სელექტორებად სამივე ნატივური ციკლოდექსტრინის

გამოყენების შემთხვევაში, თუმცა ენანტიომერების დაყოფის სელექტიურობა უფრო მაღალი იყო β -CD და γ -CD-ზე α -CD-თან შედარებით, იხ. ნახ. 3.



ა)

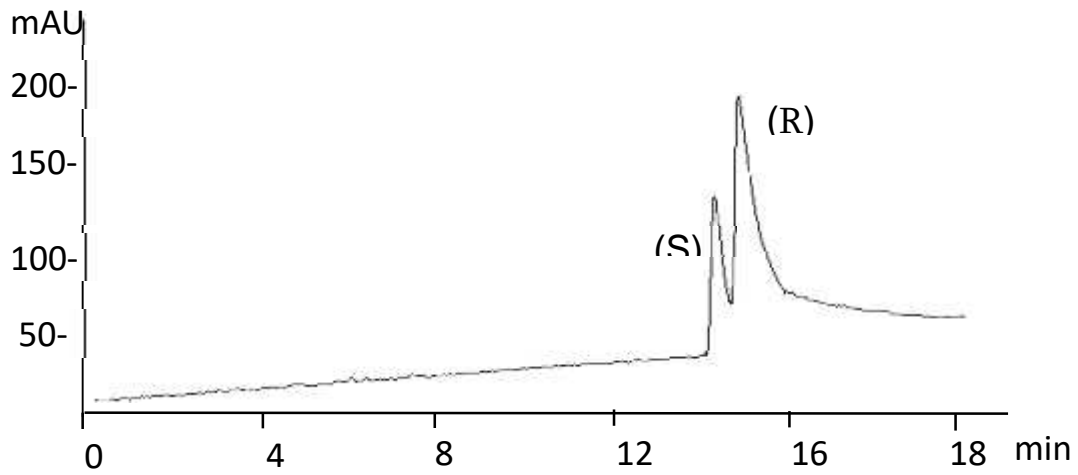


ბ)

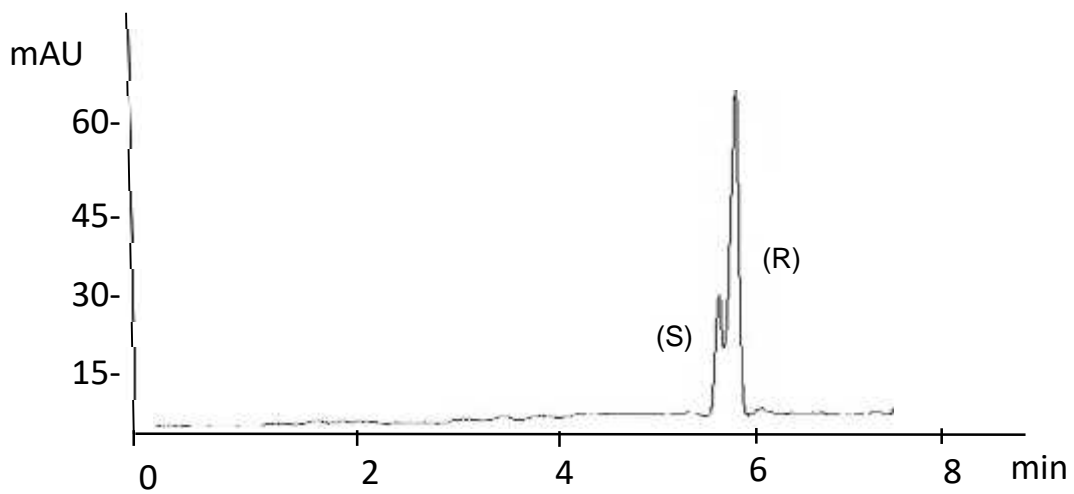
ნახ. 3 დიმეთინდინის ენანტიომერების დაყოფა ქირალურ სელექტორებად α -CD-ის (ა) და β -CD (ბ) გამოყენებით, ანალიზის პირობები იგივეა, რაც ცხრ. N2-ში მითითებული ექსპერიმენტისთვის.

როგორც ცხრ. 4-ში წარმოდგენილი შედეგებიდან ჩანს, β -CD-ის 2 და 6 მდგომარეობაში მეთილირებამ გამოიწვია დიმეთინდინის ენანტიომერების აფინობის შებრუნება β -CD-თან შედარებით. ასევე უნდა აღინიშნოს, რომ მოხდა

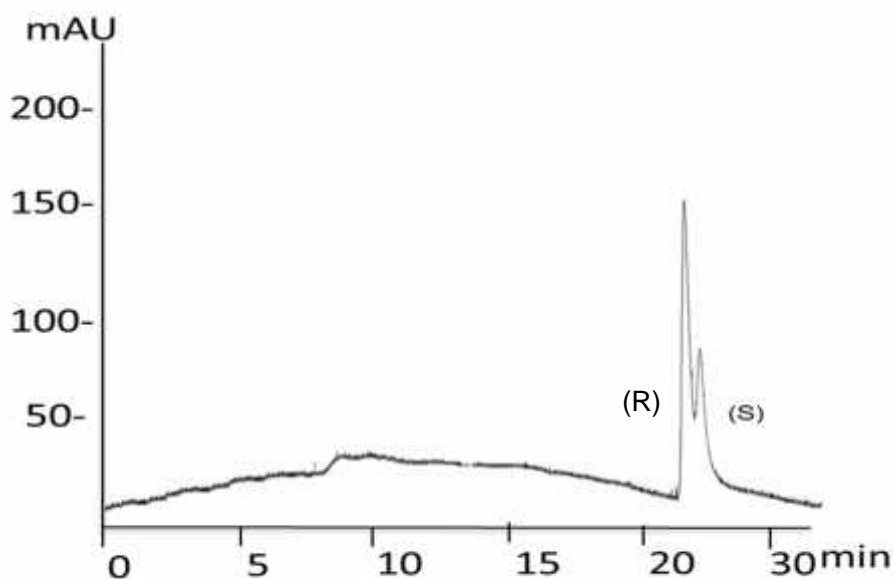
დიმეთილდინის ენანტიომერების დაყოფის სელექტიულობის გაზრდა β -CD-იდან TM- β -CD და DM- β -CD-ზე გადასვლისას (იხ. ნახ 4 (ა), (ბ) და (გ)). სავარაუდოდ ეს შეიძლება აიხსნას ციკლოდექსტრინის გარე შრის ჰიდროფობურობის გაზრდით.



ა)



ბ)



გ)

ნახ. 4 დიმეთინდინის ენანტიომერების დაყოფა ქირალურ სელექტორებად β -CD-ის (ა), DM- β -CD-ის (ბ) და TM- β -CD-ის (გ) გამოყენებით, ანალიზის პირობები იგივეა, რაც ცხრ. N2-ში მითითებული ექსპერიმენტისთვის.

ჩვენს მიერ მიღებული შედეგებიდან ჩანს, რომ დიმეთინდინის ენანტიომერებს განსხვავებული აფინობა გააჩნიათ სელექტიურად 2 და 6 მდგომარეობაში მეთილირებულ β -CD-ის და ტრიმეთილ β -CD-ის მიმართ. ამრიგად, დიმეთინდინის ენანტიომერების აფინობაზე ციკლოდექსტრინების მიმართ გავლენას ახდენს არა მარტო შიგა ღრუს გეომეტრიული ზომები, არამედ გარე შრეზე არსებული განსხვავებული ქიმიური ჯგუფები.

წინამდებარე გამოკვლევაში დადგენილი დიმეთინდინის ენანტიომერების აფინობა β -CD-ის და TM- β -CD-ის მიმართ კარგ თანხმობაშია ადრე მიღებულ შედეგებთან [89].

4.1.2 კუმარინის ზოგიერთი ქირალური ნაწარმის ენანტიომერების დაყოფა
კაპილარული ელექტროფორეზის მეთოდის გამოყენებით

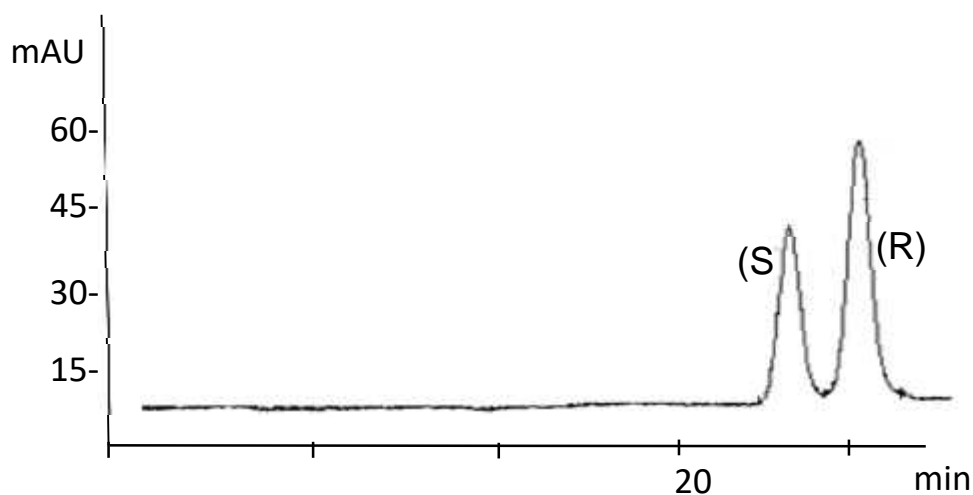
ჩვენს მიერ შესწავლილი იქნა კუმარინის სამი რაცემული ნაწარმის: აცენოკუმარინის, ვარფარინის და კუმატეტრალილის ენანტიომერების დაყოფა კაპილარული ელექტროფორეზის მეთოდით ქირალურ სელექტორებად დამუხტული და დაუმუხტავი ციკლოდექსტრინების გამოყენებით. მიღებული შედეგები წარმოდგენილია ცხრილ 3-ში.

ცხრ. 5 აცენოკუმარინის, ვარფარინის, კუმატეტრალილი ენანტიომერების დაყოფა ქირალურ სელექტორებად ნატივური და მოდიფიცირებული ციკლოდექსტრინების გამოყენებით, ანალიზის პირობები: 200 mM 2-(N-მორფოლინ) ეთანსულფონის მჟავა (C₆H₁₃NO₄S) + 0.1% 90 000 მოლეკულური მასის მქონე ცელულოზა , pH 4.50, ძაბვა -25 კილოვოლტი

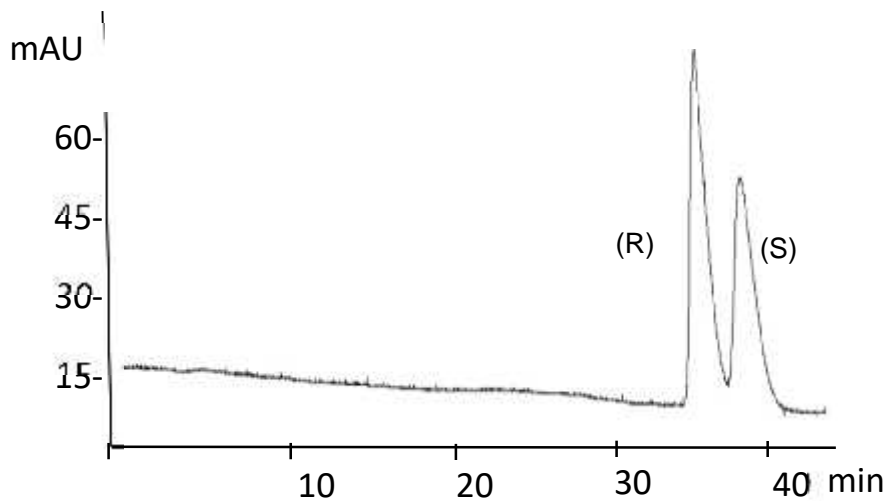
ქირალური სელექტორი	ქირალური სელექტორის კონცენტრაცია, მგ/მლ	აცენოკუმარინი				ვარფარინი				კუმატეტრალილი			
		t ₁ , წთ	t ₂ , წთ	+/-	α	t ₁ , წთ	t ₂ , წთ	+/-	α	t ₁ , წთ	t ₂ , წთ	+/-	α
α-CD	100	35,3	-	-	-	25,3	26,3	-/+	1.04				
β-CD	6	27,6	28,3	+/-	1,03	42,2	44,0	+/-	1.04	15,0	15,2	-/+	1.02
γ-CD	300	38,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
DM-β-CD	60	18,6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
TM-β-CD	80	24,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

HS- β -CD	20	7,9	8,3	-/+	1,05	6,9	7,6	-/+	1,09	6,6	7,1	+/-	1,07
HMDS- β - CD	30	6,7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
HDMS- β - CD	20	8,7	-	-	-	15,1	15,5	-/+	1,03	-	-	-	-

უნდა აღინიშნოს, რომ ვარფარინის შემთხვევაში ენანტიომერების მიგრაციის რიგი შებრუნდა α -CD და β -CD-ს შორის, რაც იმაზე მიგვანიშნებს, რომ ციკლოდექსტრინის შიგა ღრუს მოცულობის გაზრდამ, ე.წ. გეომეტრიულმა ფაქტორმა გამოიწვია ქირალური გამოცნობის მექანიზმის ცვლილება (ნახ. 5).



ა)

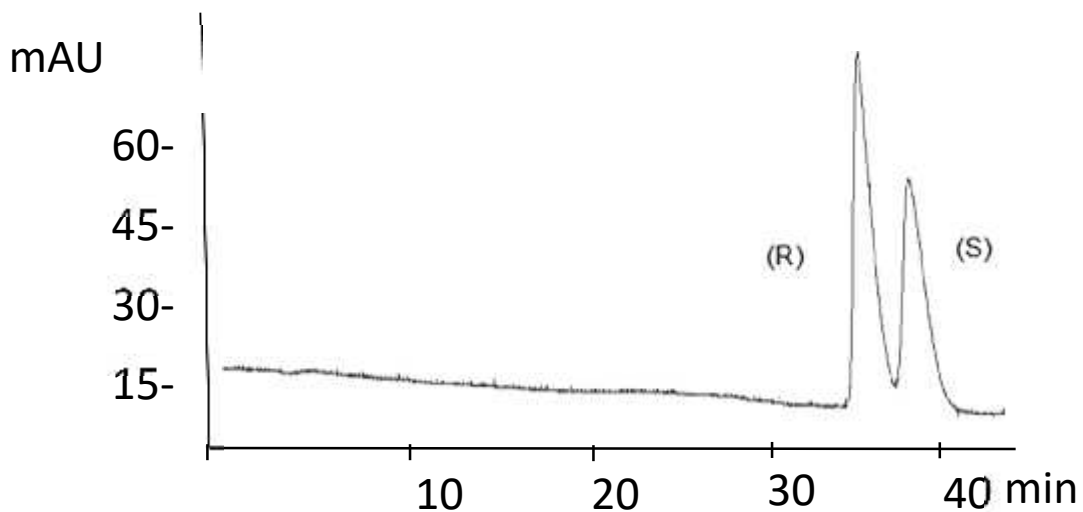


ბ)

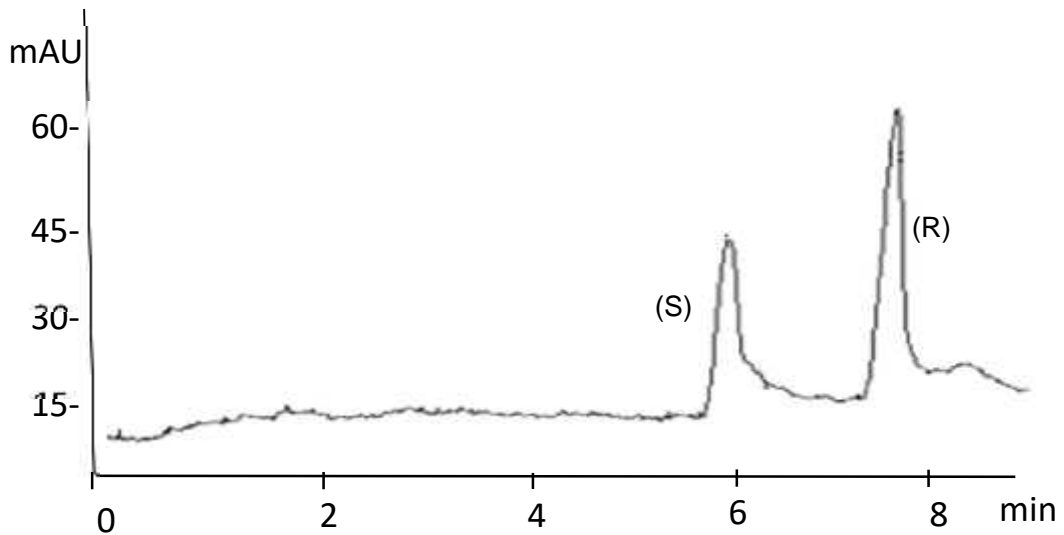
ნახ.5 ვარფარინის ენანტიომერების მიგრაციის რიგის ცვლილება ქირალურ სელექტორებად α -CD (ა) და β -CD (ბ) ციკლოდექსტრინების გამოყენებით. ანალიზის პირობები იგივეა, რაც ცხრ. N5-ში.

ჩვენს მიერ მიღებული შედეგები, კერძოდ ის, რომ ქირალურ სელექტორებად დამუხტული HS- β -CD-ის და HDMS- β -CD-ის გამოყენების შემთხვევაში (ნახ. 6 (ა) და (ბ)) მოხდა ვარფარინის ენანტიომერების მიგრაციის რიგის ცვლილება ქირალურ სელექტორად ნატივური β -CD-თან შედარებით, კარგ თანხმობაშია ადრინდელ გამოკვლევებთან [N4]. მითითებულ ნაშრომში აღნიშნულია, რომ ჩვენს მიერ შესწავლილი β -CD-ის დამუხტული ნაწარმები შეიცავს ძლიერი მჟავა ბუნების მქონე სულფატურ ჯგუფს. ცნობილია, რომ ასეთ გარემოში ვარფარინიც ნაწილობრივ შეიძლება არსებობდეს ანიონურად დამუხტული სახით, რაც გამოიწვევს ელექტროსტატიკურ განზიდვას სელექტორსა და საანალიზო ნივთიერებას შორის, ეს კი თავის მხრივ ენანტიომერების დასაყოფად ხელისშემშლელი ფაქტორი აღმოჩნდება, ისევე როგორც სელექტორის და საანალიზო ნივთიერების მიგრაცია ერთსა და იმავე მხარეს. თუმცა ბევრი ადრინდელი კვლევებიც ადასტურებს [1], რომ მიუხედავად სელექტორის და

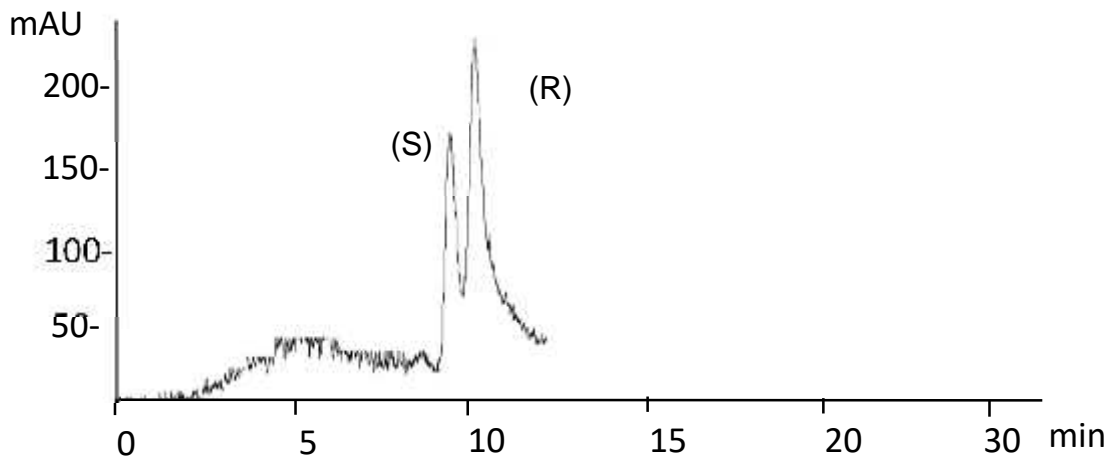
საანალიზო ნივთიერების ერთი და იმავე ნიშნის მუხტისა, შესაძლებელია ენანტიომერების ფუძისეული დაყოფაც კი იქნას მიღებული. იმისათვის რომ უკეთ იქნას ახსნილი დამოკიდებულება ვარფარინის ენანტიომერების მიგრაციის რიგს, რომელიც მიიღწევა კაპილარული ელექტროფორეზის გამოყენებით ანიონური ცკლოდექსტრინებით და მათ ფაქტიურ გამოცნობის მექანიზმს შორის, აუცილებელია იმის გათვალისწინება, რომ ყველა აღნიშნული დამუხტული ცკლოდექსტრინის ნაწარმს გააჩნია უფრო ძლიერი ძვრადობა ანოდისაკენ, ვიდრე საანალიზო ნიმუშს. სწორედ ამიტომ ცკლოდექსტრინთან უფრო ძლიერად შეკავშირებული ენანტიომერი მიგრირდება როგორც პირველი პიკი ყველა შესწავლილი ანიონური ცკლოდექსტრინის გამოყენების შემთხვევაში. ვარფარინის (-)- ენანტიომერი უფრო ძლიერად შეკავშირებული HS- β -CD და HDMS- β -CD-თან და შესაბამისად ის მიგრირებს როგორც პირველი პიკი.



ა)



ბ)

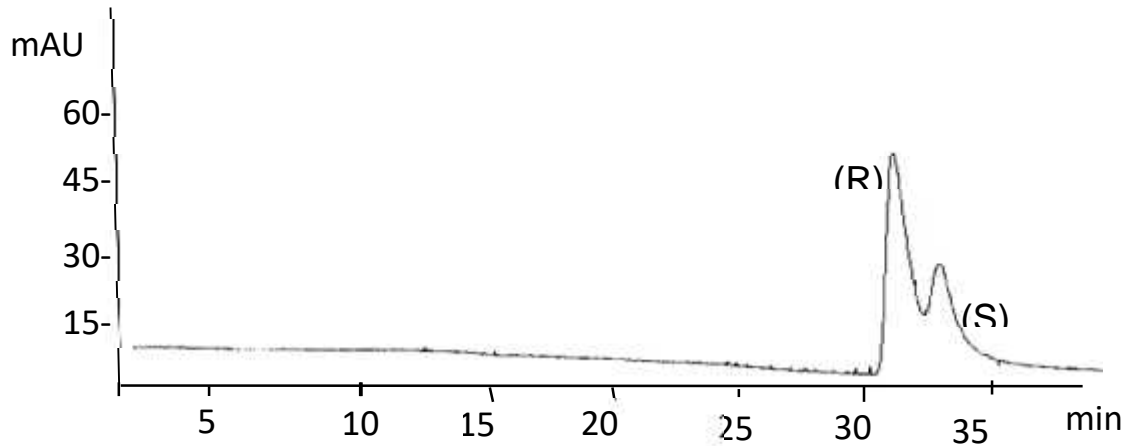


გ)

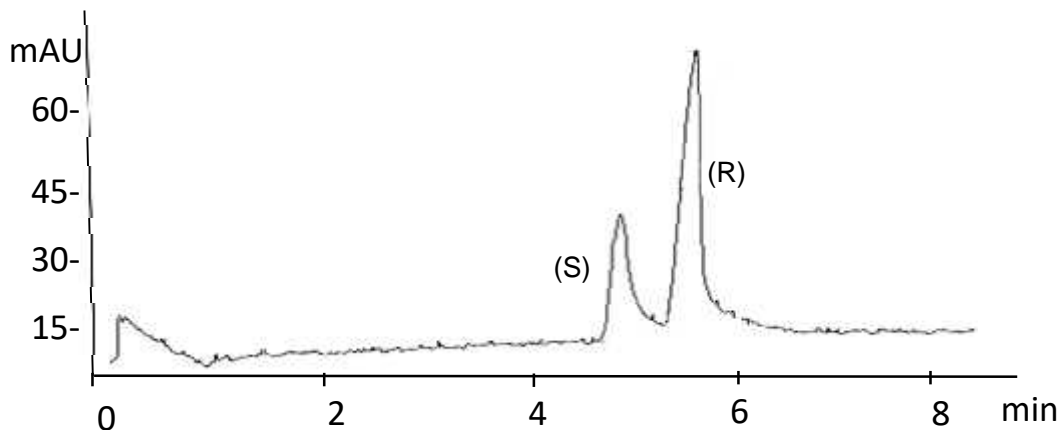
ნახ.6 ვარფარინის ენანტიომერების მიგრაციის რიგის ცვლილება ქირალურ სელექტორებად β -CD-ის (ა), HS- β -CD-ის (ბ) და HDMS- β -CD-ის (გ) გამოყენებით. ანალიზის პირობები იგივეა, რაც ცხრ. N5-ში.

ვარფარინის მსგავსად ზუსტად ანალოგიური მექანიზმით შეიცვალა ენანტიომერების მიგრაციის რიგი აცენოკუმარინის და კუმატეტრალისათვის ქირალური სელექტორად β -CD-ის (ა) და HS- β -CD-ის (ბ) გამოყენებით დაყოფისას,

კერძოდ თუ აცენოკუმარინის (+)-ენანტიომერი მიგრირებს როგორც პირველი პიკი β -CD-ის-ის შემთხვევაში, ქირალურ სელექტორად დამუხტული, ანიონური HS- β -CD-ის გამოყენების შემთხვევაში პირველი მიგრირებდს (-) ენანტიომერი, იხ. ნახ. 7.



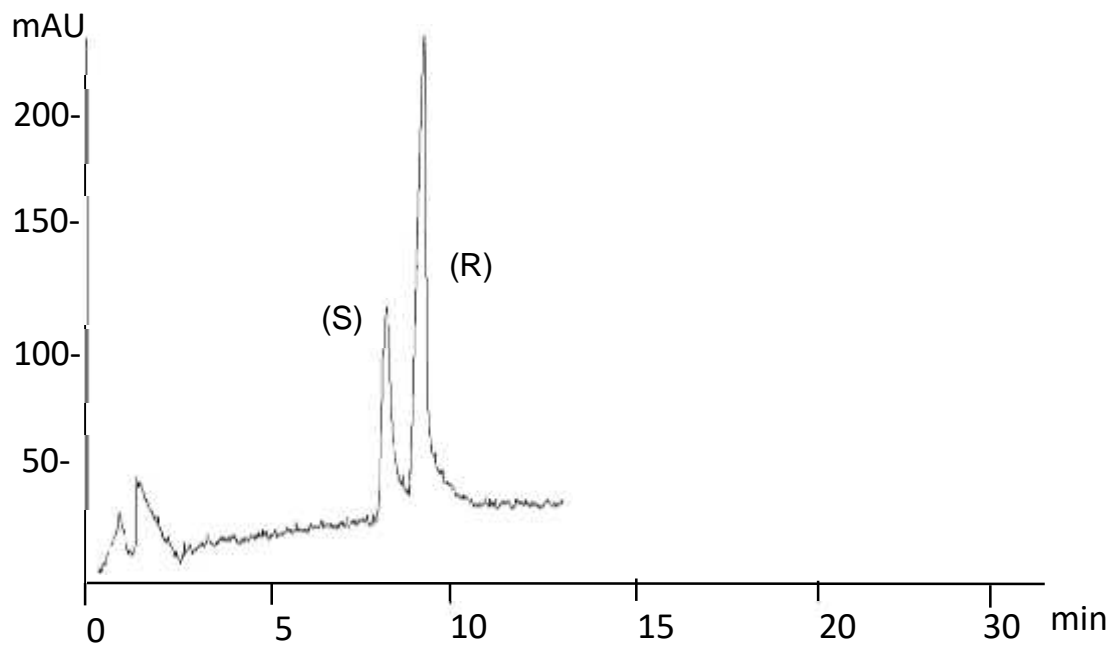
ა)



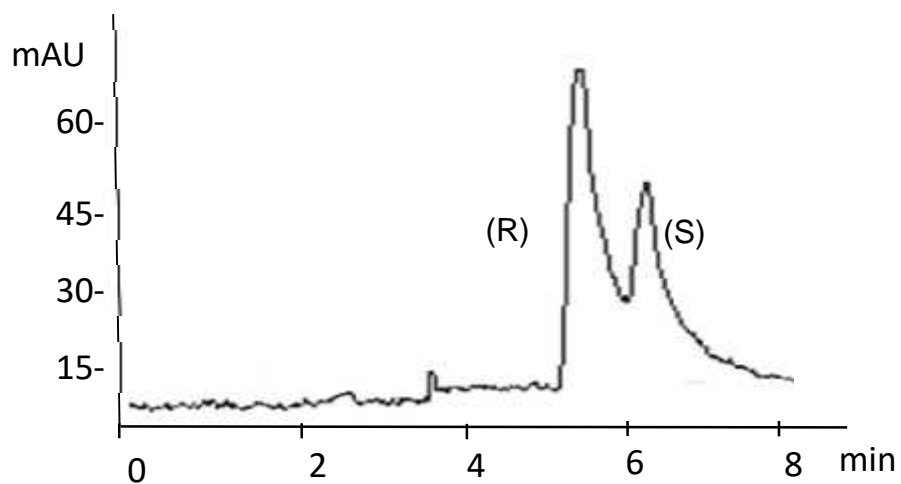
ბ)

ნახ. 7 აცენოკუმარინის ენანტიომერების დაყოფა ქირალური სელექტორად β -CD-ის (ა) და HS- β -CD-ის (ბ) გამოყენებით, ანალიზის პირობები იგივეა, რაც ცხრ. N5-ში.

რაც შეეხება კუმატეტრალის ენანტიომერების დაყოფას, აღმოჩნდა რომ მისი (+)-ენანტიომერი უფრო ძლიერად უკავშირდებოდა HS- β -CD-ს და შესაბამისად ამ დამუხტული ანიონური ციკლოდექსტრინის გამოყენების შემთხვევაში სწორედ ეს ენანტიომერი მიგრირებდს პირველი, მაშინ როდესაც ნეიტრალური β -CD-ის გამოყენების დროს პირველი მიგრირებს (-)-ენანტიომერი იხ. ნახ. 8.



ა)



ბ)

ნახ. 8 კუმატეტრალილის ენანტიომერების დაყოფა ქირალური სელექტორად β -CD-ის (ა) და HS- β -CD-ის (ბ) გამოყენებით, ანალიზის პირობები იგივეა, რაც ცხრ. N5-ში.

4.1.3 ტეტრაჰიდროზოლინის ენანტიომერების დაყოფა კაპილარული ელექტროფორეზის მეთოდის გამოყენებით

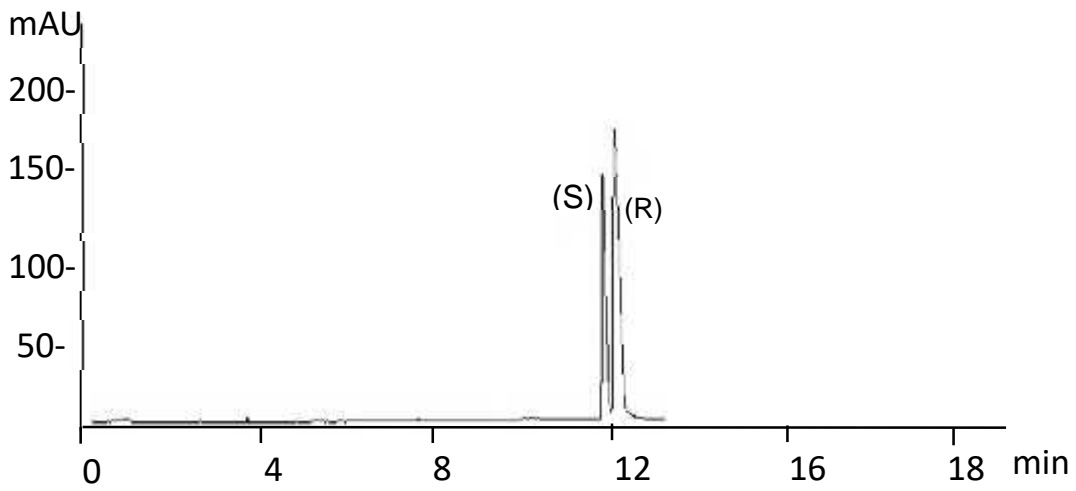
ტეტრაჰიდროზოლინი არის იმიდაზოლის ქირალური ნაწარმი, რომელიც ორი ენანტიომერის რაცემულ ნარევს წარმოადგენს. ჩვენს შვეისწავლეთ ტეტრაჰიდროზოლინის ენანტიომერების დაყოფა ქირალურ სელექტორებად როგორც ნატივური, ასევე მოდიფიცირებული, დამუხტული და ნეიტრალური ცილოდექსტრინების გამოყენებით, მიღებული შედეგები წარმოდგენილია ცხრ. 6-ში.

ცხრ.6 ტეტრაჰიდროზოლინის ენანტიომერების დაყოფა ქირალურ სელექტორებად ნატივური და მოდიფიცირებული ციკლოდექსტრინების გამოყენებით, ბუფერი: ფოსფორმჟავა/ტრიეთანოლამინი , pH 3.21, ძაბვა-30კვ..

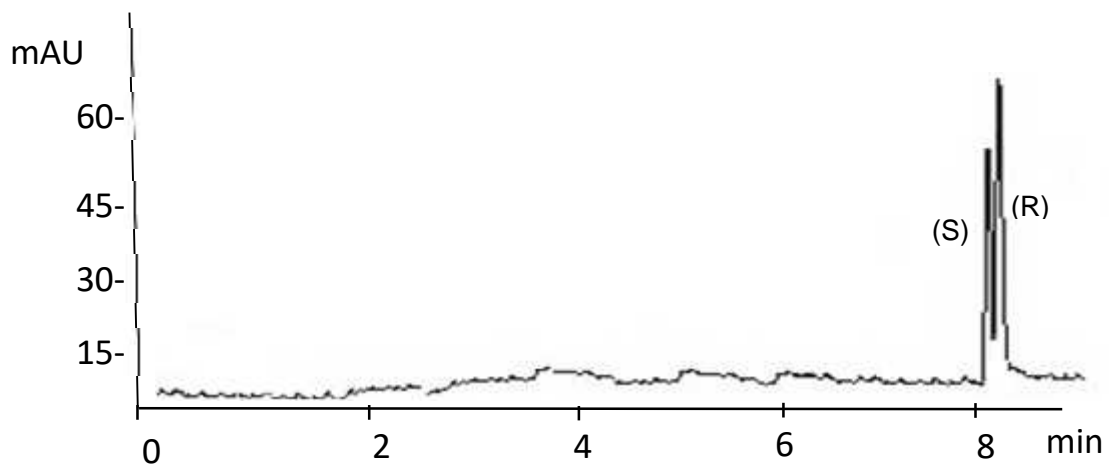
ქირალური სელექტორი	კონცენტრაცია (მგ/მლ)	t ₁ , წთ	t ₂ , წთ	r ₁	მიგრაციის რიგი
r-CD	100	4.472	4.472	-	-
s-CD	18	9.917	10.137	1.02	S/R
x-CD	100	4.824	4.824	-	-
DM-s-CD	50	14.136	14.477	1.02	S/R
TM-s-CD	50	5.663	5.725	1.01	S/R
HMDS-s-CD	30	7.119	7.522	1.06	R/S
HDMS-s-CD	30	2.376	3.974	1.67	S/R
HD(O)S-s-CD	80	5.244	5.319	1.01	S/R

ცხრილში წარმოდგენილი შედეგებიდან ჩანს, რომ ნატივური ციკლოდექსტრინებიდან ტეტრაჰიდროზოლინის ენანტიომერები დაიყო მხოლოდ ქირალურ სელექტორად β CD-ის გამოყენებით, ხოლო რაც შეეხება ჩვენს მიერ

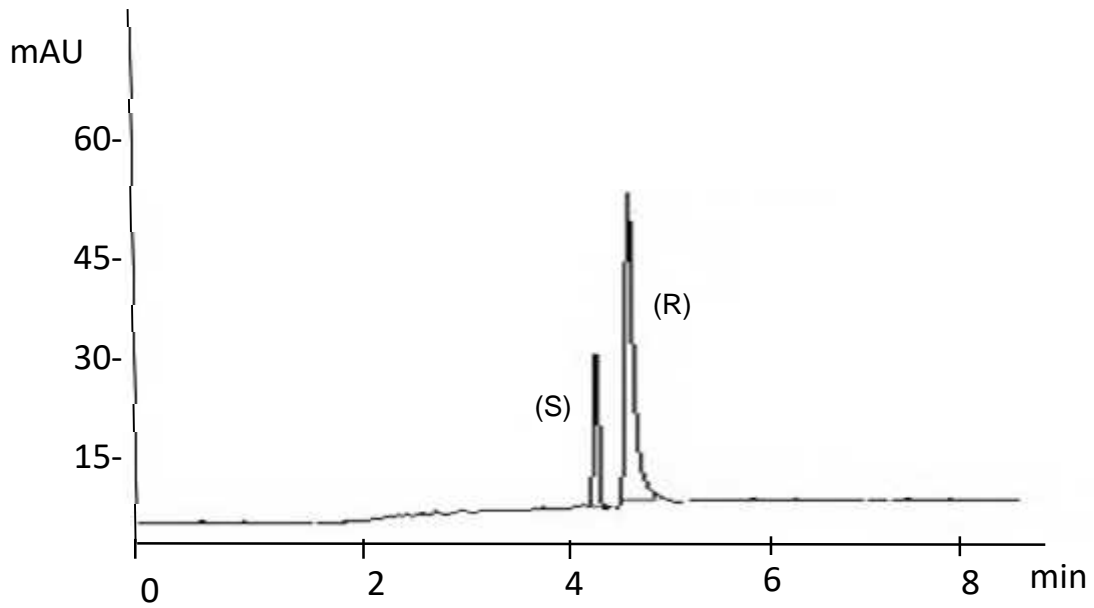
შესწავლილ β CD-ის მოდიფიცირებულ ნაწარმებს, ქირალურ სელექტორებად ყველა მათგანის გამოყენებით დაიყო ტეტრაჰიდროზოლინის ენანტიომერები. საინტერესოა აღინიშნოს ის ფაქტი, რომ რიგის შებრუნებას ადგილი ჰქონდა მხოლოდ ჰეპტაკის (2,6-დისულფო-3-მეთილ)- β -ციკლოდექსტრინის გამოყენების შემთხვევაში. მაშინ როდესაც ენანტიომერების მიგრაციის რიგი უცვლელი იყო, როგორც β CD-ის, ასევე მისი მეთილირებული ნაწარმების და მეთილირებულ ნაწარმში ერთი სულფო ჯგუფის არსებობის პირობებში, მეორე სულფო ჯგუფით მეთილის ჯგუფის ჩანაცვლებამ შეცვალა ქირალური გამოცნობის მექანიზმი, შესაბამისი ქირალური დაყოფის ელექტროფეროგრამები წარმოდგენილია ნახ. 9-ზე.



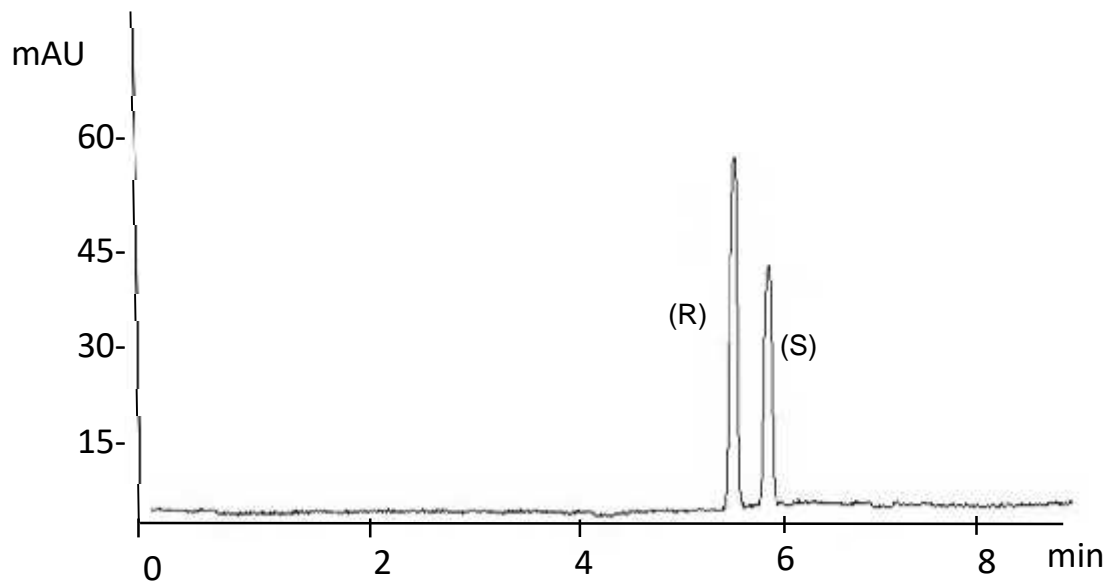
ა)



ბ)



ბ)



დ)

ნახ. 9 ტეტრაჰიდროზოლინის ენანტიომერების დაყოფა ქირალურ სელექტორებად β -CD-ის (ა) DM- β -CD-ის (ბ) და HDMS- β -CD-ის (გ) HMDS- β -CD-ის (დ) გამოყენებით. ანალიზის პირობები იგივე რაც ცხრ. N6-ში.

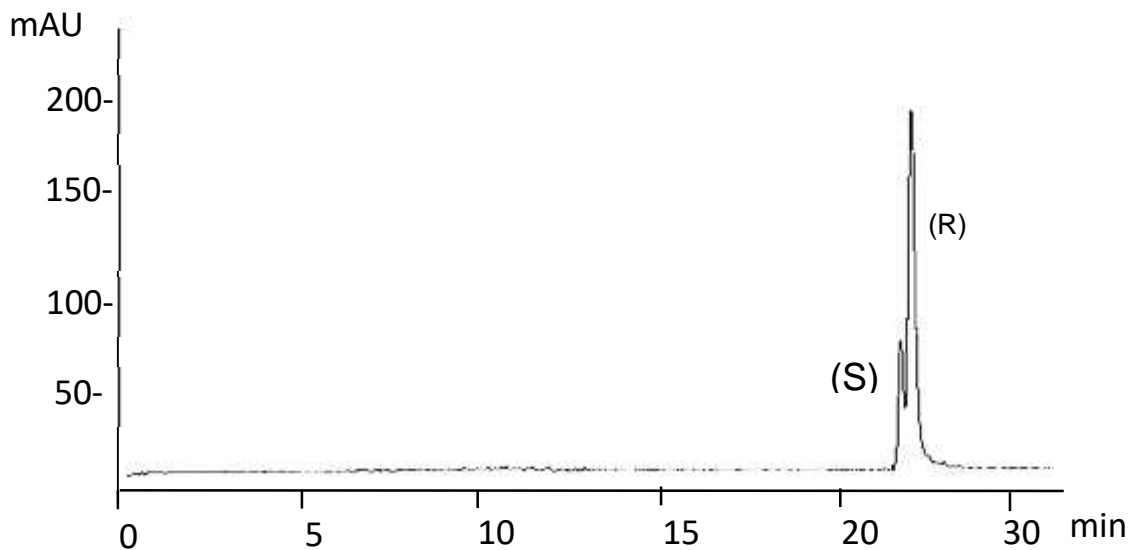
ჩვენი ვარაუდით ქირალურ სელექტორად ჰეპტაკის(2-6-დისულფო-3-მეთილ)- β -ციკლოდექსტრინის გამოყენების შემთხვევაში ადგილი აქვს გარე

კომპლექსის წარმოქმნას, ხოლო ყველა სხვა დანარჩენ შემთხვევაში სელექტორ-სელექტანდს შორის წარმოიქმნებოდა ჩართული კომპლექსები, რაც გამოიხატა ენანტიომერების მიგრაციის განსხვავებულ რიგში.

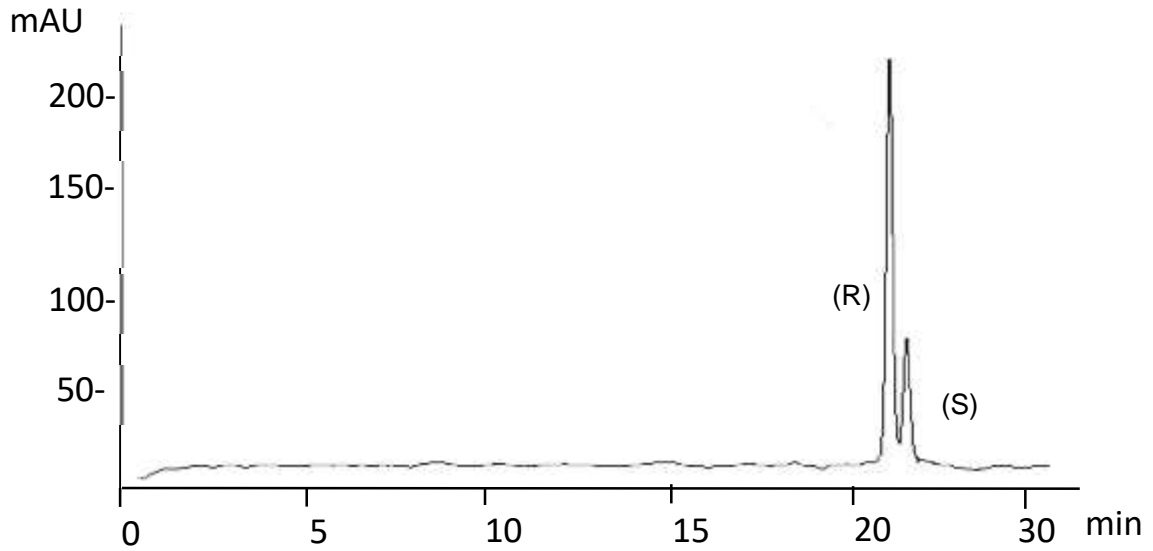
4.1.4 ზოგიერთი ქირალური ჰერბიციდის ენანტიომერების დაყოფა

კაპილარული ელექტროფორეზის მეთოდის გამოყენებით

ჩვენს მიერ შესწავლილი იყო სოფლის მეურნეობაში ფართოდ გამოყენებული ჰერბიციდების მეკოპროპის და დიქლოროპროპის ენანტიომერების დაყოფა. ორივე მათგანი წარმოადგენს პროპიონის მჟავას ნაწარმებს, კერძოდ მეკოპროპი არის იგივე 2-(4-ქლორო-2-მეთილფენოქსი)პროპიონის მჟავა და დიქლოროპროპი იგივე 2-(2,4-დიქლოროფენოქსი)პროპიონის მჟავა. ქირალურ სელექტორებად გამოვიყენეთ β -CD და მისი დიმეთილ- და ტრიმეთილ- ნაწარმები. აღსანიშნავია რომ ქირალურ სელექტორებად β -CD-ის და DM- β -CD-ის გამოყენების შემთხვევაში ენანტიომერების მიგრაციის რიგი ერთი და იგივე იყო, ხოლო მეთილირებული TM- β -CD-ის გამოყენების შემთხვევაში ადგილი ჰქონდა ქირალური გამოცნობის მექანიზმის ცვლილებას, რაც გამოიხატა ენანტიომერების მიგრაციის რიგის შებრუნებით. ნახ. 10 (ა) და (ბ).

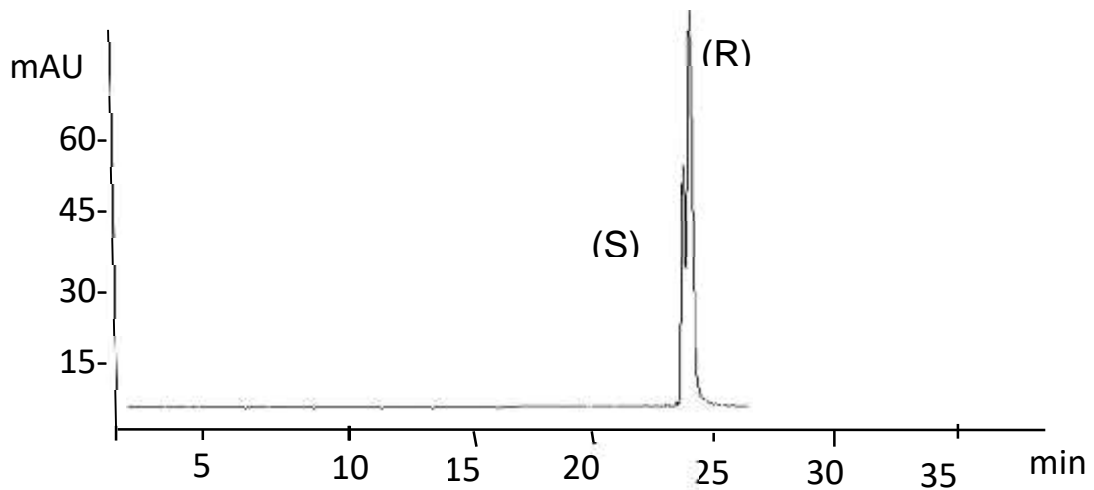


ა)

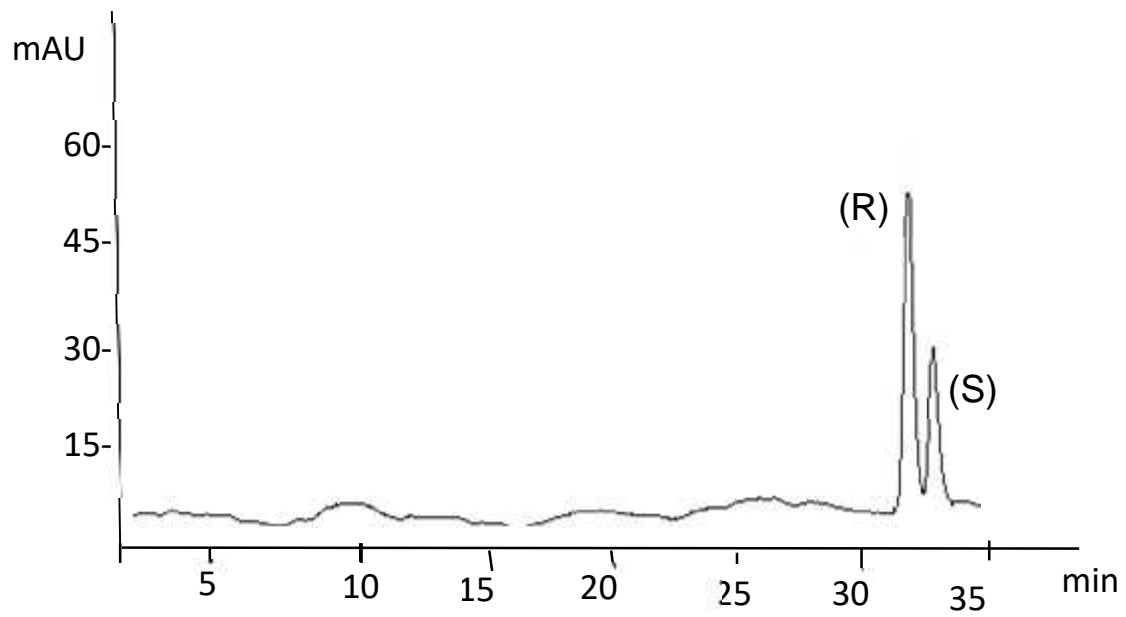


ბ)

ნახ. 10 მეკოპროპის ენანტიომერების დაყოფა ქირალურ სელექტორად β -CD-ის (ა) და TM- β -CD-ს (ბ) ციკლოდექსტრინის გამოყენებით, ბუფერი: 50 მილიმოლური კალიუმის დიჰიდროფოსფატის ბუფერი, pH 2.5, ძაბვა-(-25)კვ., 50 მკმ შიგა დიამეტრის მქონე კაპილარი, ეფექტური სიგრძე 31 სმ.



ა)



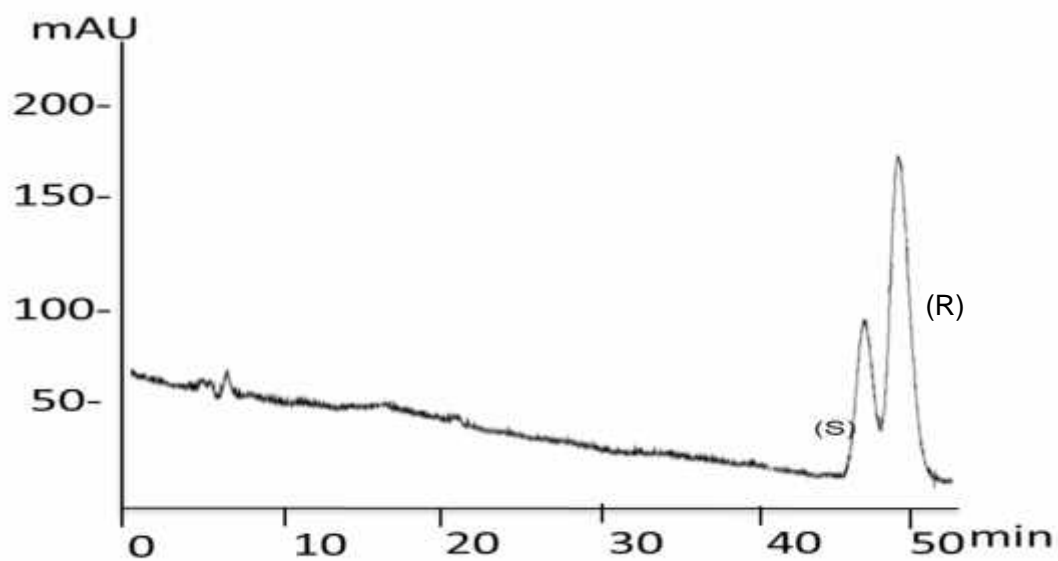
ბ)

ნახ. 11 დიქლოროპროპის ენანტიომერების დაყოფა ქირალურ სელექტორად β -CD-ის (ა) და TM- β -CD-ის (ბ) ციკლოდექსტრინის გამოყენებით. ანალიზის პირობები: ბუფერი: 50 მილიმოლური კალიუმის დიჰიდროფოსფატის ბუფერი, pH 2.5, ძაბვა-(-25)კვ., 50 მკმ შიგა დიამეტრის მქონე კაპილარი, ეფექტური სიგრძე 31 სმ.

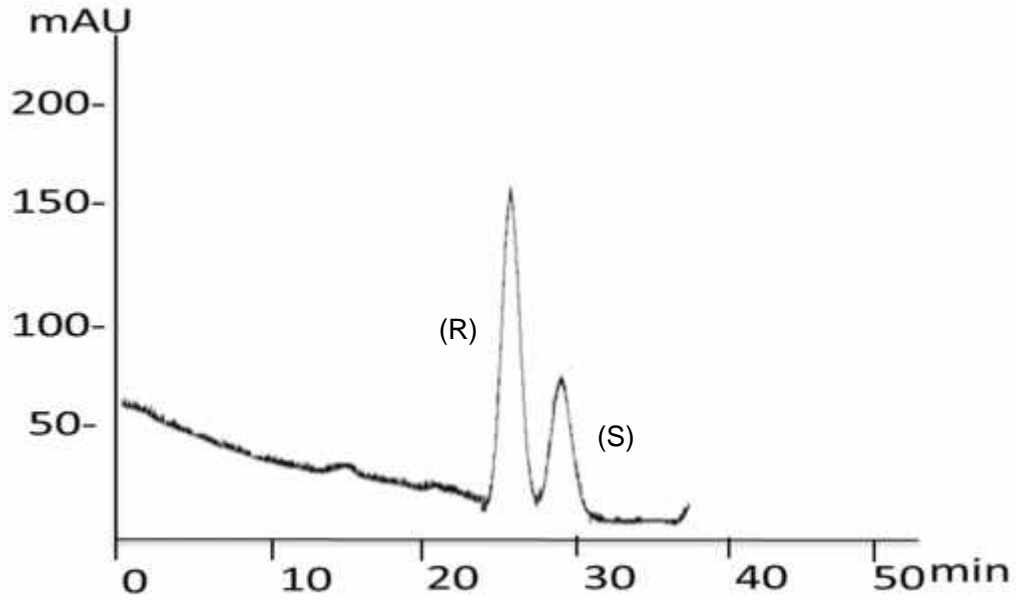
4.1.5 ფენოპროფენის ენანტიომერების დაყოფა კაპილარული

ელექტროფორეზის მეთოდის გამოყენებით

ფენოპროფენის ენანტიომერების დაყოფა ჩვენს მიერ შესწავლილი იყო ქირალურ სელექტორებად β -CD-ის და TM- β -CD-ის გამოყენებით. ენანტიომერების მიგრაციის რიგი შებრუნდა β -CD-დან TM- β -CD-ზე გადასვლისას, რაც სავარაუდოდ აიხსნება იმით, რომ მეთილირებამ გაზარდა გარე შრის ჰიდროფობურობა. შედეგების ამსახველი ქრომატოგრამები იხილეთ ნახ. 12-ზე.



ა)



ბ)

ნახ. 12 ფენოპროფენის ენანტიომერების დაყოფა ქირალურ სელექტორად β -CD-ის (ა) და TM- β -CD-ს (ბ) ციკლოდექსტრინის გამოყენებით. ანალიზის პირობები: ბუფერი: 200mM 2-(N-მორფოლინ) ეთანსულფონის მჟავა(C₆H₁₃NO₄S) + 0.1% 90 000 მოლეკულური მასის მქონე ცელულოზა, pH 4.50, 50 მკმ შიგა დიამეტრის კვარცის კაპილარი, ელექტური სიგრძე 31 სმ, ძაბვა-(-25)კვ.

4.1.6 ზოგიერთი რაცემული β2 ადრენერგული რეცეპტორის აგონისტების ენანტიომერების დაყოფა კაპილარული ელექტროფორეზის მეთოდის გამოყენებით

ჩვენს მიერ შესწავლილ იქნა რამდენიმე ქირალური β2 ადრენერგული რეცეპტორის აგონისტების ენანტიომერების დაყოფა, ესენია ტერბუტალინი, ბრომბუტეროლი და კლენპენტეროლი, ქირალურ სელექტორებად გამოვიყენეთ: ჰეპტაკის(2,6-დი-*O*-მეთილ)-β-CD (DM-β-CD) და ჰეპტაკის(2,3,6-ტრი-*O*-მეთილ)- β-CD, (TM-β-CD). ნატივური β-CD, ჰეპტაკის(2-*O*-მეთილ-3,6-დი-*O*-სულფო)-β-CD (HMDS-β-CD), ჰეპტაკის 2,3-di-*O*-მეთილ-6-*O*-სულფო)- β-CD, (HDMS-β-CD) და ჰეპტაკის(2,3-დი-*O*-აცეტილ-6-*O*-სულფო)- β-CD, (HDAS-β-CD).

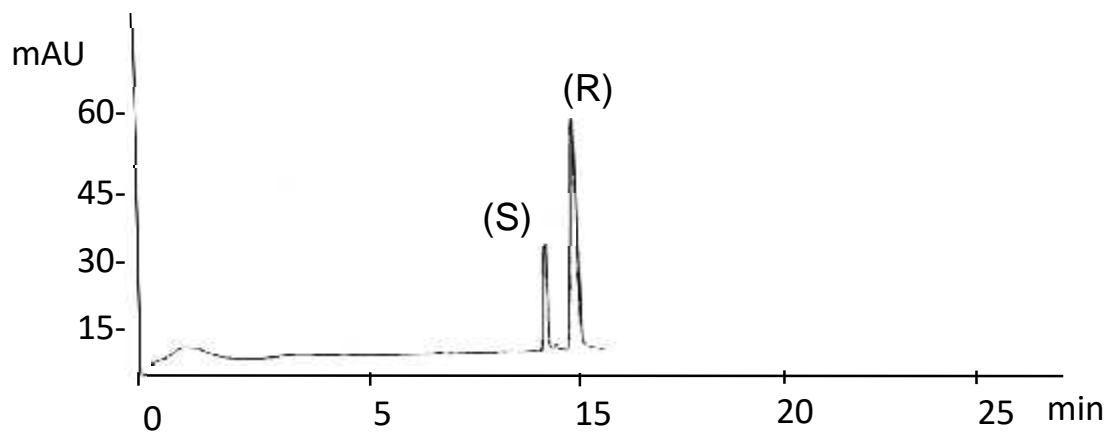
ტერბუტალინის ენანტიომერების დაყოფა კაპილარული ელექტროფორეზით ჩატარდა მონიშნულ ნიმუშის გამოყენებით, რომელშიც R-(-)- და S-(+)-ენანტიომერი ერთმანეთთან იყო თანაფარდობით 2:1, შესაბამისად. დაყოფის პარამეტრების და ენანტიომერების მიგრაციის რიგის შესახებ შედეგები თავმოყრილია ცხრილ 7-ში.

ცხრ.7 ტერბუტალინის ენანტიომერების დაყოფის პარამეტრები და ენანტიომერების მიგრაციის რიგი, ანალიზის პირობები: 50 მილიმოლური კალიუმის დიჰიდროფოსფატის ბუფერი, pH 2.0., 50 მკმ შიგა კვარცის კაპილარი, ეფექტური სიგრძე 31 სმ., ანალიზი ტარდებოდა მუდმივი დენის პირობებში: 150 მიკროამპერი

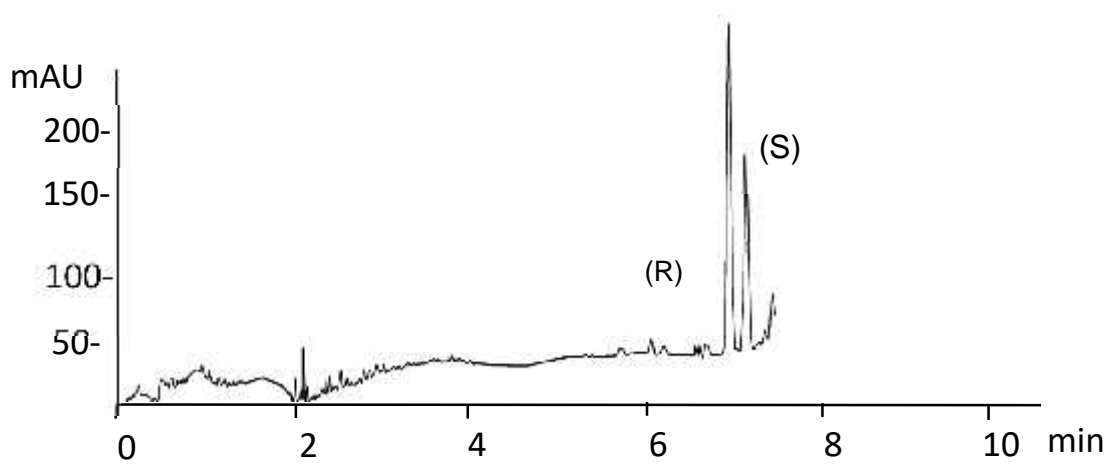
ქირალური სელექტორი	კონცენტრაცია, მგ/მლ	t ₁ , წთ	t ₂ , წთ	r ₁	მიგრაციის რიგი
r-CD	100	13.756	14.679	1.07	S/R
s-CD	21	15.236	16.017	1.05	R/S
x-CD	110	16.038	16.693	1.04	R/S

DM-s-CD	40	14.387	15.090	1.05	R/S
TM-s-CD	50	14.206	14.614	1.03	R/S
HMDS-s-CD	21	34.932	36.642	1.02	R/S
HDMS-s-CD	20	12.698	13.016	1.03	R/S
HDAS-s-CD	0.6	12.230	13.009	1.06	R/S
HS-s> CD	1	15.641	20.395	1.29	R/S

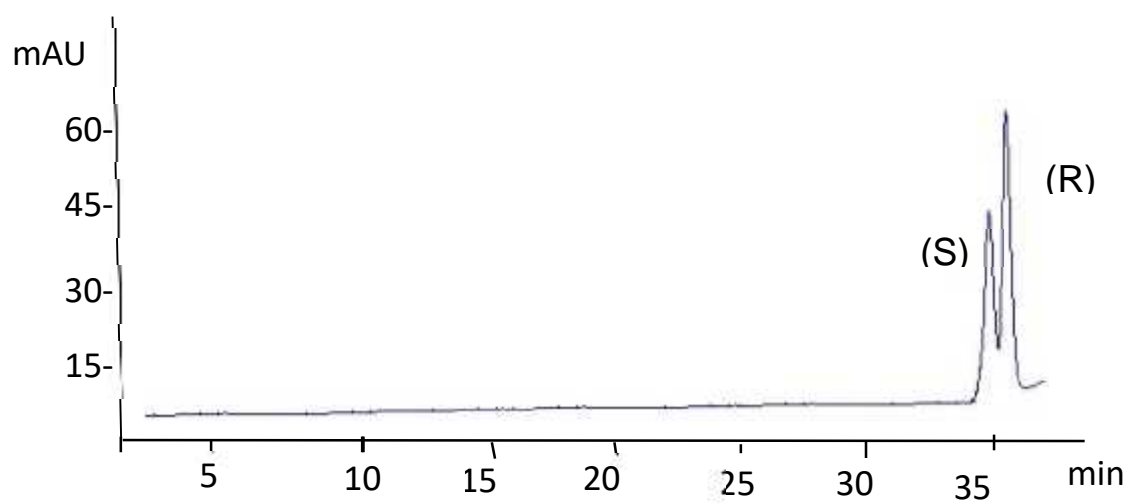
ენანტიომერების დაყოფის ყველაზე ძლიერი უნარი გამოავლინა ჰეპტაკის (2, 3-დიაცეტილ-6-O-სულფო)-β-CD-მა, რომელიც სხვა ციკლოდექსტრინებთან შედარებით ყველაზე დაბალი კონცენტრაციით იყო გამოყენებული. აღსანიშნავია ის ფაქტი, რომ ქირალური გამოცნობის მექანიზმი და შესაბამისად ენანტიომერების მიგრაციის რიგი განსხვავებული იყო β-CD-სა და ϕCD-ს შორის, რაც მიუთითებს იმაზე, რომ ქირალური სელექტორის ზომების, ანუ მხოლოდ გეომეტრიული ფაქტორის გავლენით, შეიცვალა სელექტორ-სელექტანდს შორის ურთიერთქმედების მექანიზმი (ნახ 13 (ა) და 13 (ბ)). ქირალურ სელექტორებად ϕ CD-ის და მისი ნაწარმების გამოყენებისას ენანტიომერების მიგრაციის რიგი ერთი და იგივე იყო, გარდა ჰეპტაკის მეთილ-დი-სულფო-β-ციკლოდექსტრინის შემთხვევისა (ნახ 13 (ბ) და 13 (გ)). ენანტიომერების მიგრაციის განსხვავებული რიგი HMDS-β-CD-სა და დანარჩენ ციკლოდექსტრინებს შორის ადრეულ კვლევებშიც იყო რამდენიმე ქირალური ნივთიერებისთვის დადგენილი. იმისათვის, რომ დაგვედგინა სელექტორ-სელექტანდს შორის ურთიერთქმედების მექანიზმები კვლევები ჩატარდა ბირთვულ მაგნიტური რეზონანსის (ბმრ) სპექტროსკოპიის და მოლეკულური მოდელირების გამოთვლების გამოყენებით. ეს შედეგები წარმოდგენილია ქვემოთ.



s)



δ)



δ)

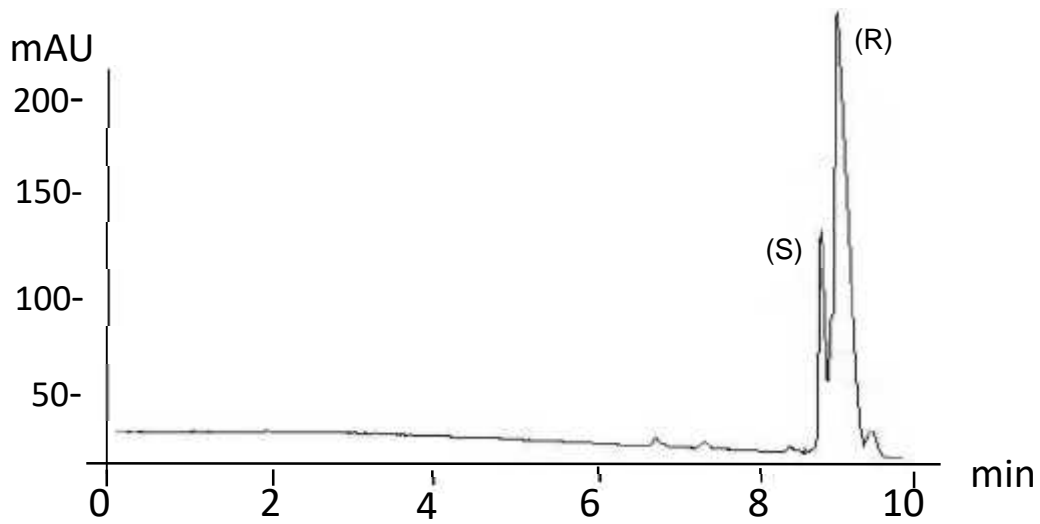
ნახ. 13 ტერბუტალინის ენანტიომერების დაყოფა ქირალურ სელექტორებად α -CD (ა), β -CD (ბ) და HMDS- β -CD-ის (გ) გამოყენებით, ანალიზის პირობები იგივეა რაც ცხრ. N7-ში აღწერილ ექსპერიმენტში.

ჩვენს მიერ ასევე შესწავლილ იქნა ბრომბუტეროლის ენანტიომერების დაყოფა კაპილარული ელექტროფორეზით მონიშნულ ნიმუშის გამოყენებით, რომელშიც და S-(+) და R-(-)-ენანტიომერები შერეული იყო თანაფარდობით 2:1, შესაბამისად. დაყოფის პარამეტრების და ენანტიომერების მიგრაციის რიგის შესახებ შედეგები თავმოყრილია ცხრილ 6-ში.

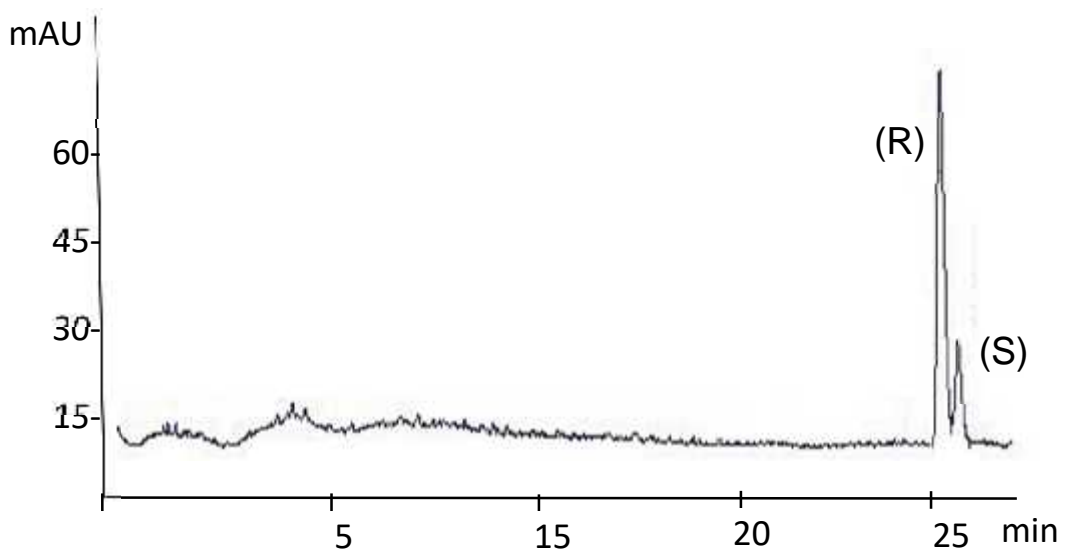
ცხრ. 8 ბრომბუტეროლის ენანტიომერების დაყოფის პარამეტრები და ენანტიომერების მიგრაციის რიგი. ანალიზის პირობები: 50 მილიმოლური კალიუმის დიჰიდროფოსფატის ბუფერი, pH 2.0., 50 მკმ შიგა კვარცის კაპილარი, ელექტური სიგრძე 31 სმ., ანალიზი ტარდებოდა მუდმივი დენის პირობებში: 150მკა.

ქირალური სელექტორი	კონცენტრაცია, მგ/მლ	t ₁ , წთ	t ₂ , წთ	a	მიგრაციის რიგი
α -CD	200	19.38	19.53	1.01	S/R
β -CD	18	10.14	10.30	1.02	S/R
γ -CD	400	26.57	27.10	1.02	R/S
DM- β -CD	40	16.22	17.06	1.05	S/R
TM- β -CD	80	14.18	14.29	1.01	S/R
HMDS- β -CD	21	30.37	30.91	1.02	R/S
HDMS- β -CD	30	18.39	18.72	1.02	S/R
HDAS- β -CD	1	13.78	15.70	1.14	R/S
HDA- β -CD	25	11.16	12.32	1.10	R/S

როგორც ცხრილში წარმოდგენილი შედეგებიდან ჩანს ადგილი ჰქონდა ენანტიომერების მიგრაციის რიგის შებრუნებას ბეტა და გამა ციკლოდექსტრინებს შორის, რაც ნიშნავს, რომ ენანტიომერების მიგრაციის რიგის ცვლილება გამოწვეულ იქნა, მოლეკულის გეომეტრიული ზომის გავლენით (ნახ. 14).



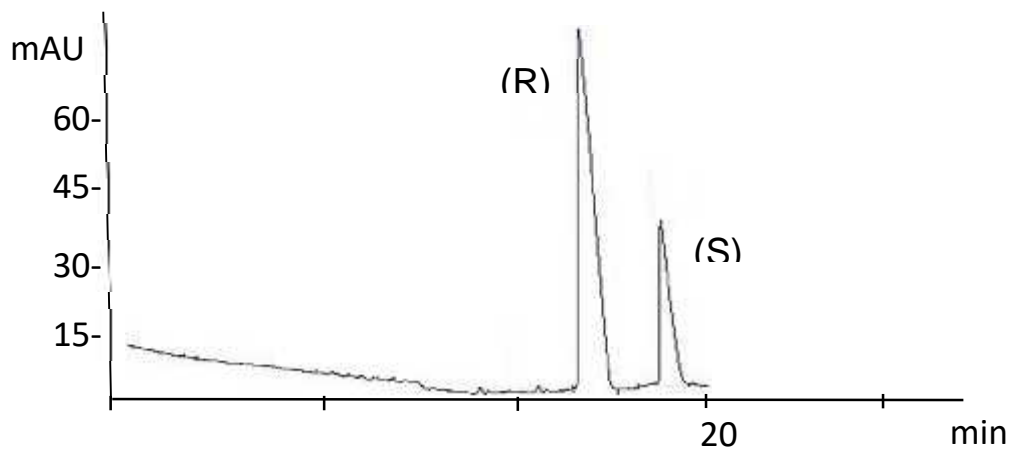
ა)



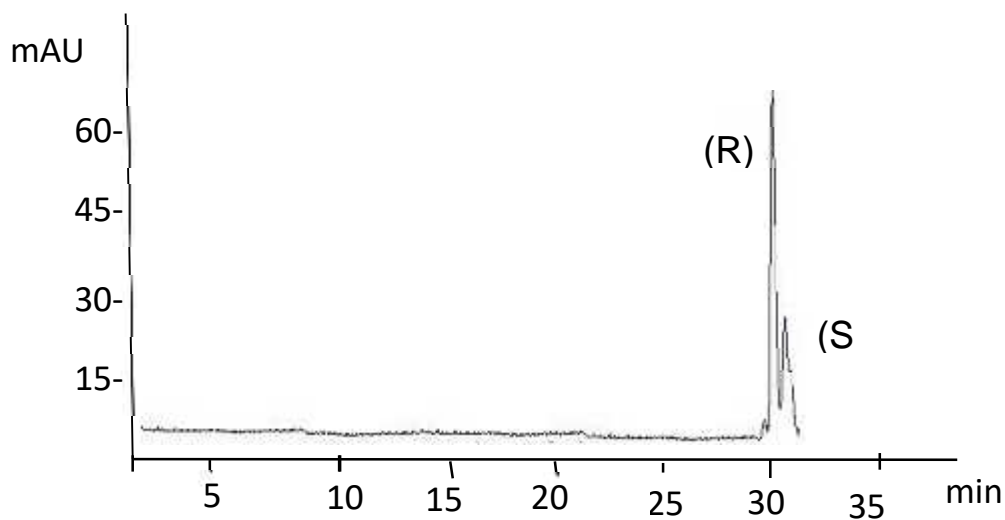
ბ)

ნახ. 14 ბრომბუტეროლის ენანტიომერების დაყოფა ქირალურ სელექტორებად β -CD (ა) და γ -CD (ბ)-ის გამოყენებით, ბუფერი: 50 მილიმოლური კალიუმის დიჰიდროფოსფატის ბუფერი, pH 2.

როგორც ცხრილი N8-დან ჩანს, ბეტა ციკლოდექსტრინის მეორეული ბოლოს აცილირება იწვევს ბრომბუტეროლის მიგრაციის რიგის შებრუნებას ნატივურ ბეტა ციკლოდექსტრინთან შედარებით, მაშინ როდესაც იგივე ბოლოს მეთილირება, ისევე როგორც პირველადი ბოლოს სულფატირება, აღნიშნულ ეფექტს არ იწვევდა. ბრომბუტეროლის ენანტიომერების მიგრაციის რიგის შებრუნებას ადგილი ჰქონდა აგრეთვე ბეტა ციკლოდექსტრინსა და მის ძლიერ დამუხტულ ნაწარმს, HMDS- β -CD-ს შორის (ნახ 15 (ა) და 15 (ბ)).



ა)



ბ)

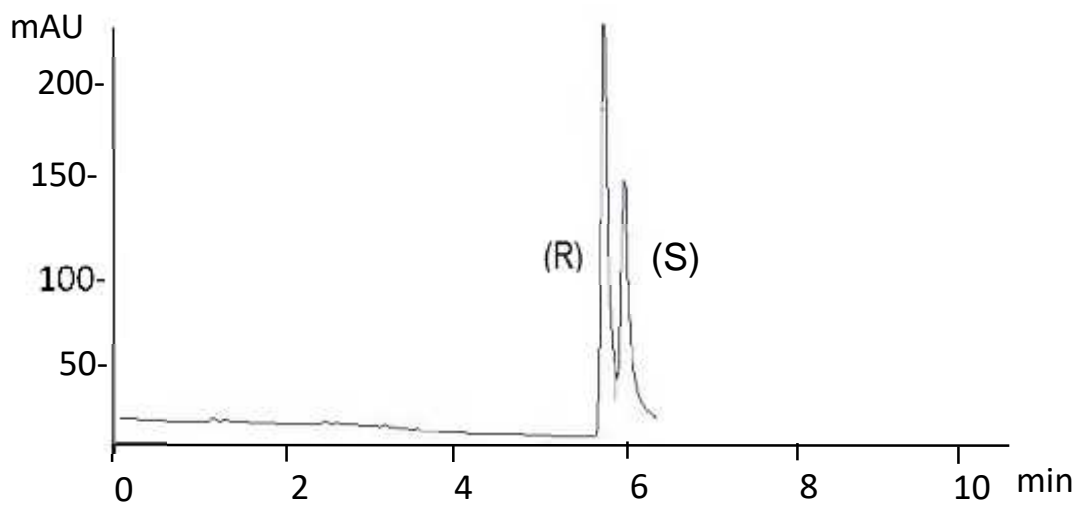
ნახ.15 ბრომბუტეროლის ენანტიომერების მიგრაციის რიგის შეზღუდვა ქირალურ სელექტორებად HDAS-CD (ა) და HMDS-CD (ბ) გამოყენების შემთხვევებში. ანალიზის პირობები იგივეა, როგორც ეს აღწერილია ცხრ. N 8-ში აღწერილ ექსპერიმენტში.

კლენპენტეროლის ენანტიომერების დაყოფა ნატივური ციკლოდექსტრინებიდან მხოლოდ β-CD ციკლოდექსტრინით გახდა შესაძლებელი.

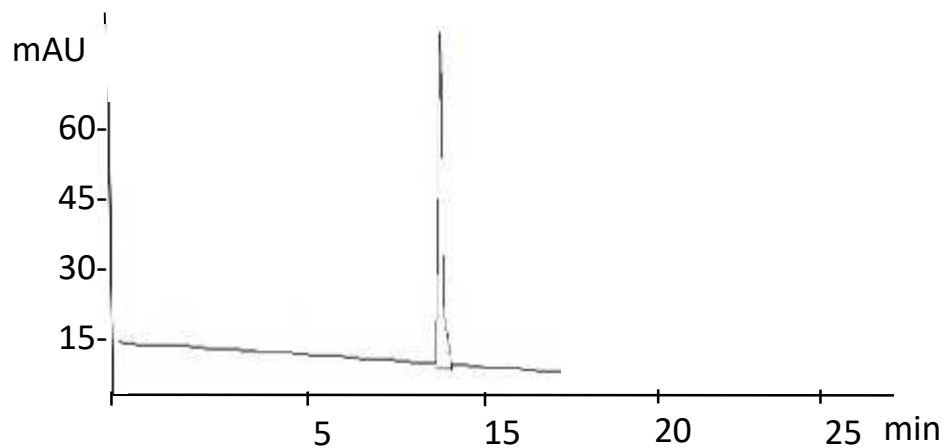
ცხრ. 9 კლენპენტეროლის ენანტიომერების დაყოფის პარამეტრები და ენანტიომერების მიგრაციის რიგი. ანალიზის პირობები: 50 მილიმოლური კალიუმის დიჰიდროფოსფატის ბუფერი, pH 2.0., 50 მკმ შიგა კვარცის კაპილარი, ელექტური სიგრძე 43 სმ., ანალიზი ტარდებოდა მუდმივი ძაბვის პირობებში: 20კვ..

ქირალური სელექტორი	კონცენტრაცია, მგ/მლ	t ₁ , წთ	t ₂ , წთ	α ₁	მიგრაციის რიგი
β-CD	100	14.679	14.679	-	-
β ^o -CD	20	8.963	9.212	1.02	R/S
β ^u -CD	110	16.038	16.693	1.04	R/S
DM-β ^o -CD	20	10.727	11.608	1.04	R/S
TM-β ^o -CD	100	17.284	17.610	1.02	R/S
HMDS-β ^o -CD	20	14.600	16.926	1.05	S/R
HDMS-β ^o -CD	20	12.698	13.016	1.03	R/S
HDA-β ^o -CD	10	6.964	7.067	1.01	S/R
HDAS-β ^o -CD	1	10.336	10.636	1.02	R/S
HS-β ^o -CD	1	15.641	20.395	1.29	R/S

ნატივური α , β და γ ციკლოდექსტრინები ერთმანეთისგან განსხვავდება მხოლოდ გლიკოპირანოზის ნაშთების რაოდენობით მაკროციკლში. შესაბამისად ადგილი ჰქონდა გეომეტრიული ფაქტორის გავლენას კლენპენტეროლის ენანტიომერების დაყოფაზე, რაც იმას ნიშნავს, რომ α -და γ -ციკლოდექსტრინების ციკლის ზომები, განსაკუთრებით შიგა ღრუს ზომა არ აღმოჩნდა ოპტიმალური კლენპენტეროლის მოლეკულასთან ჩართული კომპლექსების წარმოქმნისთვის, ან ქირალური გამოცნობისთვის და შესაბამისად, არ მოხდა ამ ორი ციკლოდექსტრინის გამოყენებით ენანტიომერების დაყოფა.



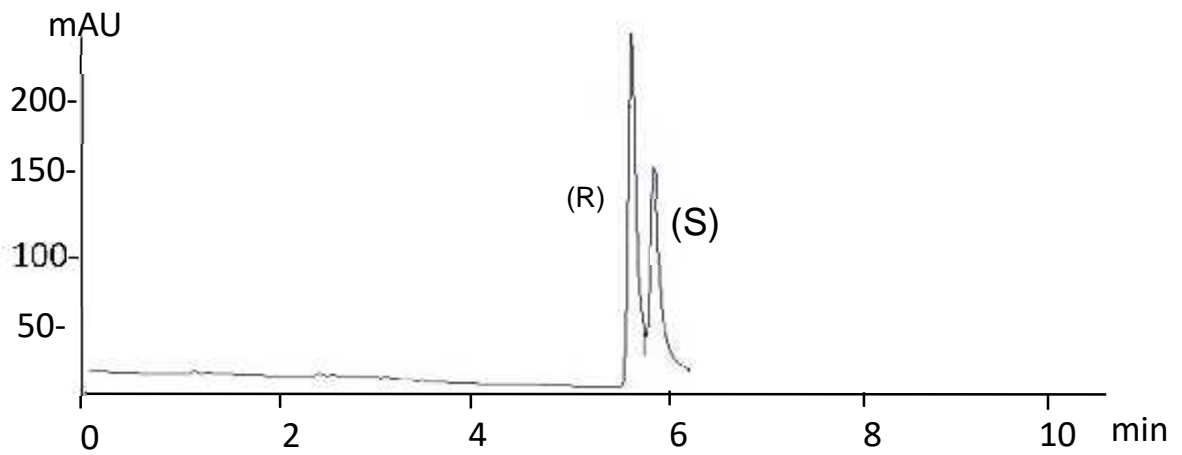
ა)



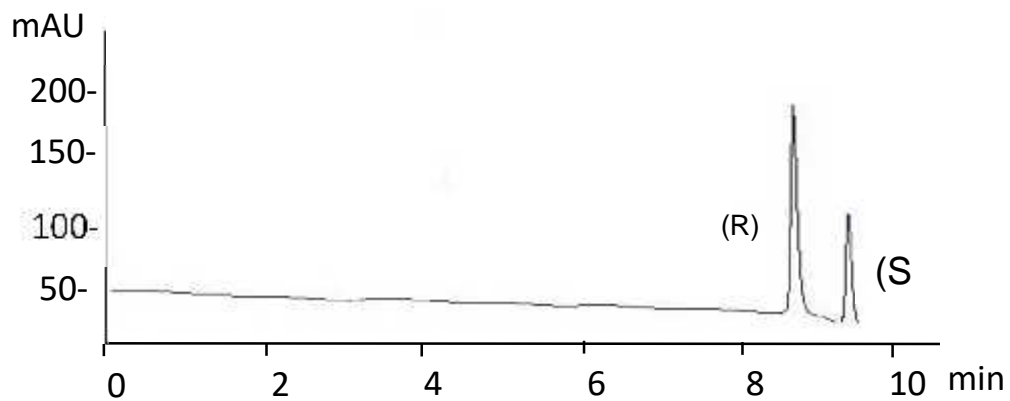
ბ)

ნახ. 16 კლენპენტეროლის ანალიზი კაპილარულ ელექტროფორეზში ქირალურ სელექტორად β -CD (ა)-ს და γ -CD (ბ)-ის გამოყენებით, ანალიზის პირობები იგივეა, როგორც ეს აღწერილია ცხრ. N 9-ში აღწერილ ექსპერიმენტში..

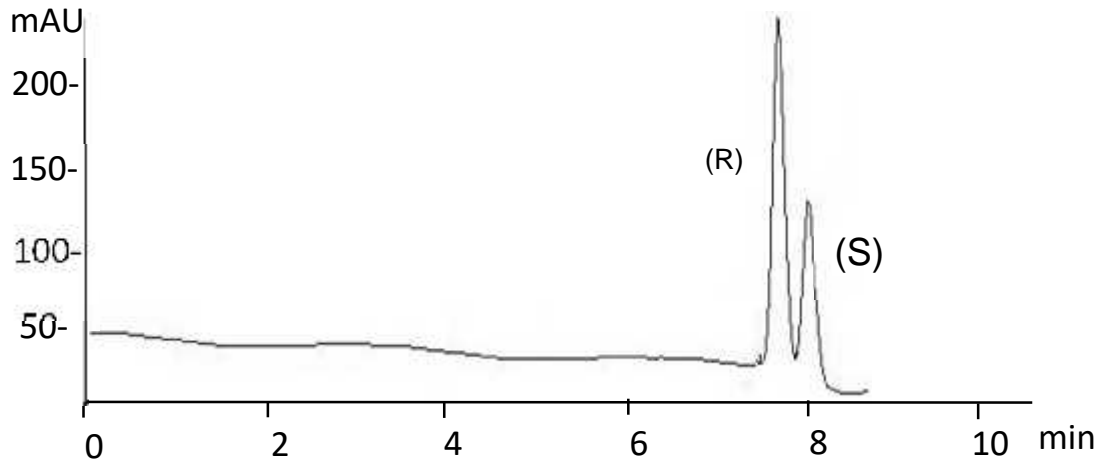
კლენპენტეროლის ენანტიომერების დაყოფის შემთხვევაში β -CD-ის მეთილირებამ არ გამოიწვია კომპლექსწარმოქმნის მექანიზმის ცვლილება და აქედან გამომდინარე არ მოხდა ენანტიომერების მიგრაციის რიგის ცვლილება (ნახ. 17 (ა), (ბ) და (გ)).



ა)



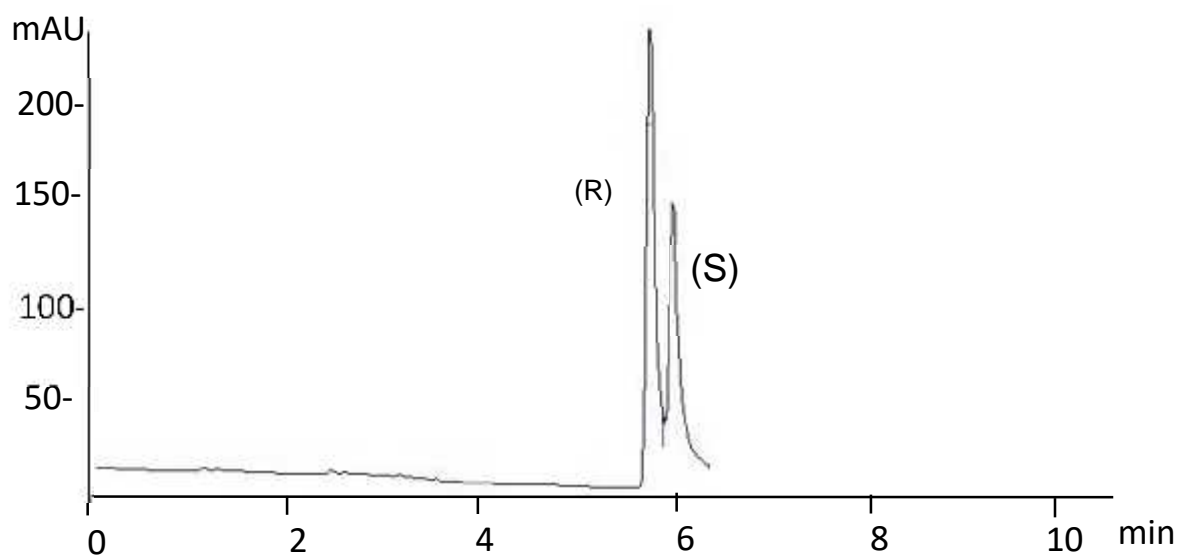
ბ)



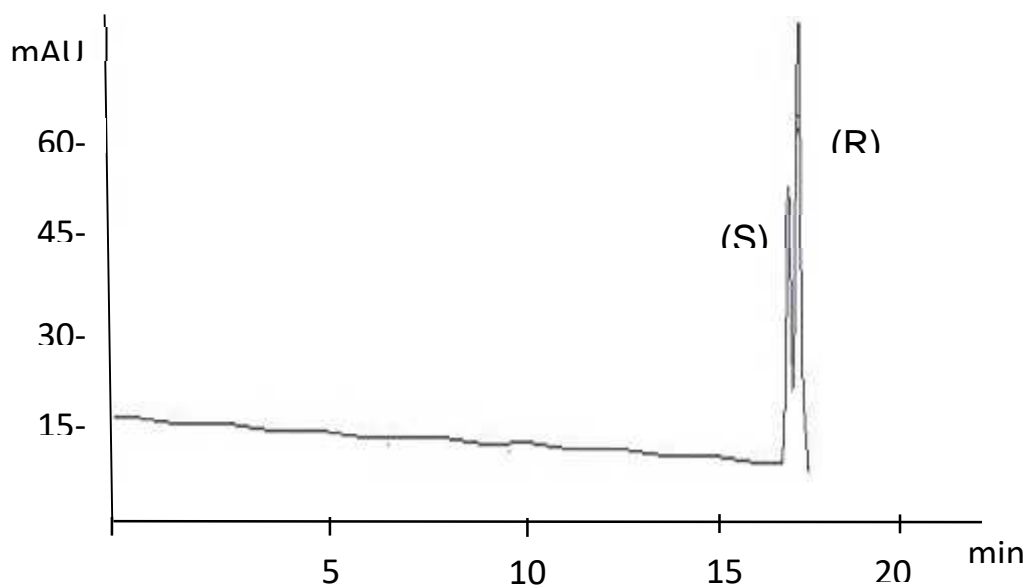
გ)

ნახ. 17 კლენპენტეროლის ენანტიომერების დაყოფა კაპილარულ ელექტროფორეზში ქირალურ სელექტორებად β -CD (ა)-ის, DM- β -CD (ბ)-ის და TM- β -CD (გ) -ის გამოყენებით, ანალიზის პირობები იგივეა როგორც ეს აღწერილია ცხრ. N 7-ში აღწერილ ექსპერიმენტში.

უნდა აღინიშნოს, რომ კლენპენტეროლის ენანტიომერების მიგრაციის რიგის ცვლილება გამოიწვია β -ციკლოდექსტრინის მოლეკულაში 2 და 3 მდგომარეობაში აცეტილის ჯგუფების შეყვანამ, რომლებიც წარმოადგენენ წყალბადური ბმის აქცეპტორებს და განლაგებული არიან ციკლოდექსტრინის ღრუს განიერ მხარეს. აცეტილის ჯგუფები ზრდის ციკლოდექსტრინის ჰიდროფობური ღრუს სიმაღლეს, რაც იწვევს მიგრაციის რიგის შებრუნებას და ძლიერდება სელექტორ-სელექტანდს შორის ურთიერთქმედება. როგორც ჩანს, ეს იწვევს დაყოფის სელექტიურობის გაზრდასაც (ნახ 18 (ა) და 18 (ბ)).



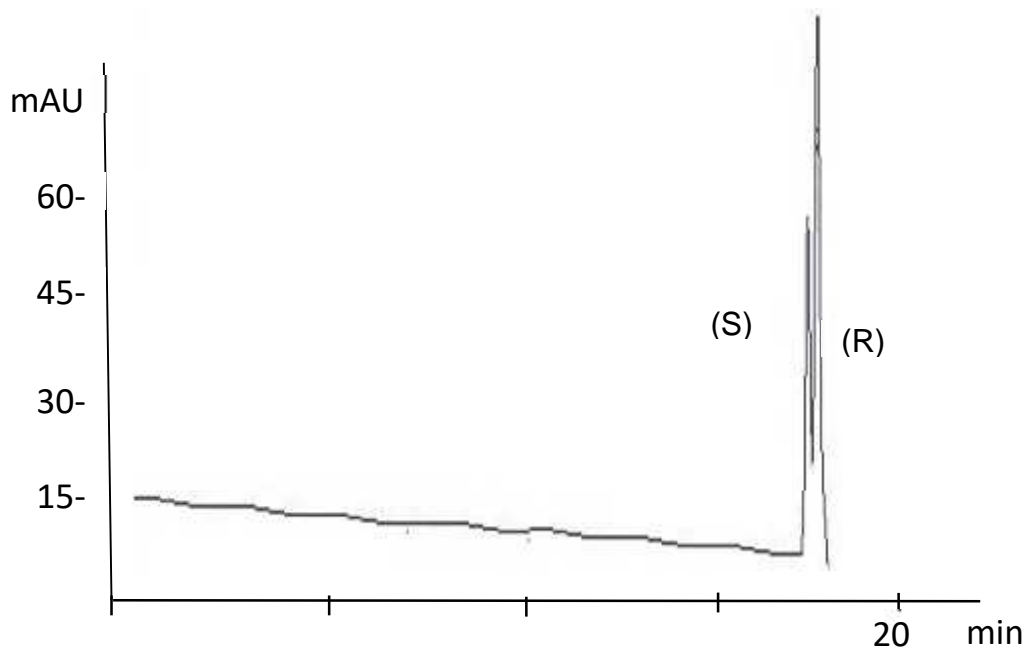
ა)



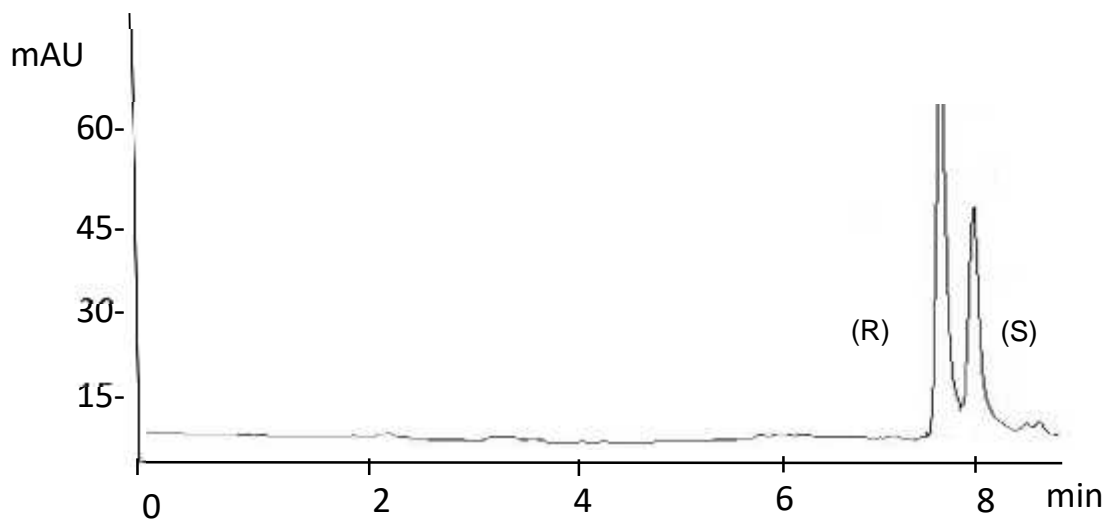
ბ)

ნახ. 18 კლენპენტეროლის ენანტიომერების დაყოფა კაპილარულ ელექტროფორეზში ქირალურ სელექტორებად β -CD (ა)-ის და HDA- β -CD (ბ)-ის გამოყენებით, ანალიზის პირობები იგივეა როგორც ეს აღწერილია ცხრ. N 9-ში აღწერილ ექსპერიმენტში.

როდესაც ქირალურ სელექტორად გამოვიყენეთ დამუხტული ციკლოდექსტრინი, კერძოდ ჰეპტაკის (2,3-დი-*O*-აცეტილ-6-*O*-სულფო)- β -ციკლოდექსტრინი კლენპენტეროლის ენანტიომერების დაყოფა ქირალური სელექტორის ძალიან დაბალი კონცენტრაციით მიიღწეოდა მაღალი სელექტივობით. გარდა ამისა, როგორც აღმოჩნდა 2,3-დიაცეტილ- β -ციკლოდექსტრინის 6-მდგომარეობაში ჰიდროქსილის ჯგუფის ნაცვლად სულფატური ჯგუფის ჩანაცვლება იწვევს ქირალური გამოცნობის მექანიზმის ცვლილებას და შესაბამისად ენანტიომერების მიგრაციის რიგის ცვლილებას ამ ორი ციკლოდექსტრინის გამოყენების შემთხვევაში.



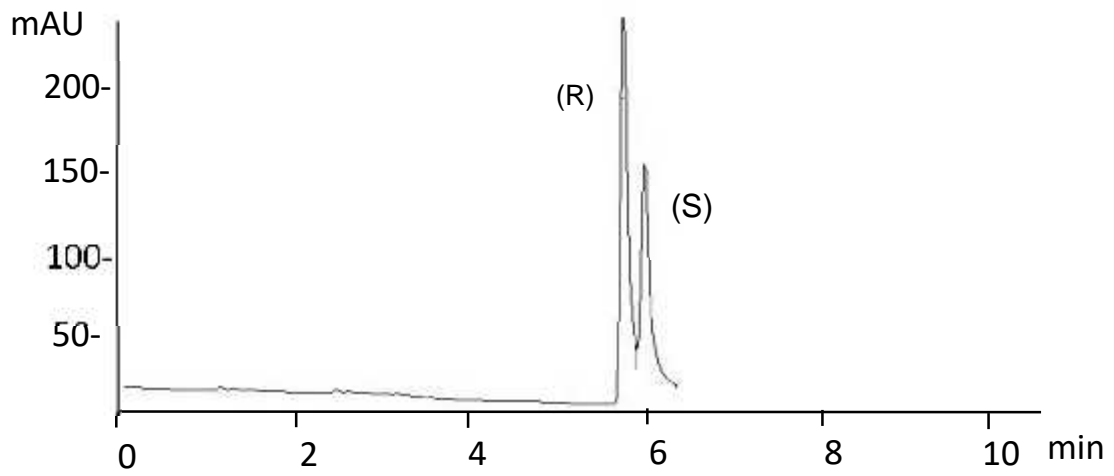
ა)



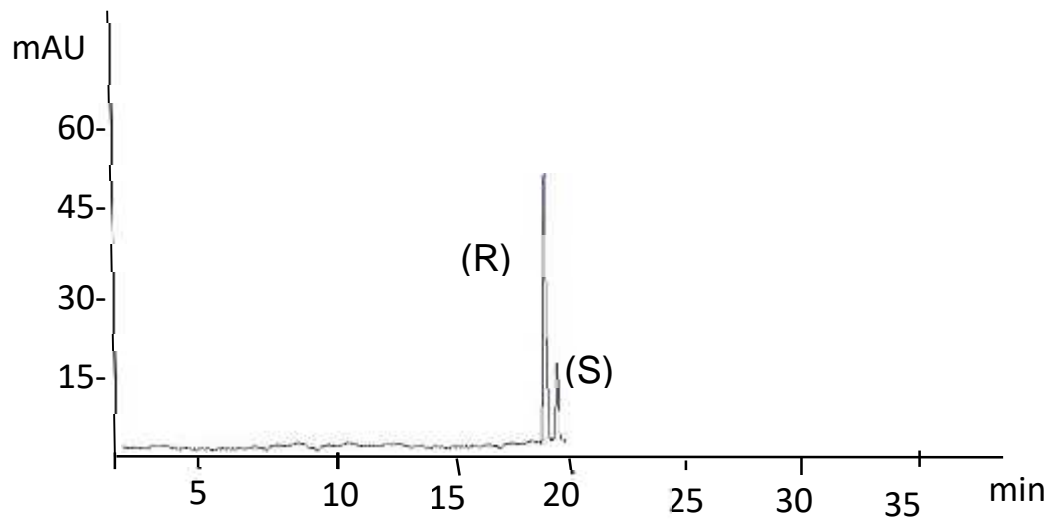
ბ)

ნახ. 19 კლენპენტეროლის ენანტიომერების დაყოფა კაპილარულ ელექტროფორეზში ქირალურ სელექტორად HDA-β-CD (ა)-ის და HDAS-β-CD (ბ)-ის გამოყენებით, ანალიზის პირობები იგივეა როგორც ეს აღწერილია ცხრ. N 9-ში აღწერილ ექსპერიმენტში.

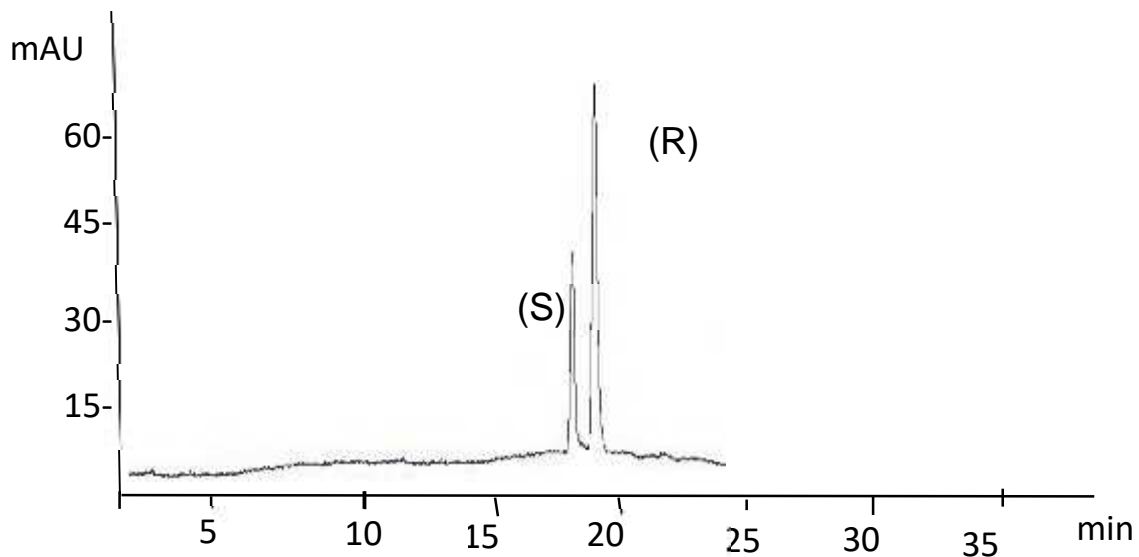
კლენპენტეროლის ენანტიომერების მიგრაციის რიგის ცვლილება β-CD-თან შედარებით არ მოხდა ქირალურ სელექტორად დამუხტული ჰეპტაკის (2,3-დი-*O*-მეთილ-6-*O*-სულფო)-β-ციკლოდექსტრინის გამოყენებისას, მაშინ როდესაც ენანტიომერების მიგრაციის რიგი β-CD-თან შედარებით შეიცვალა ქირალურ სელექტორად ჰეპტაკის (2,3-დი-*O*-სულფო-6-*O*-მეთილ)-β-ციკლოდექსტრინის გამოყენებისას (ნახ.20). თუ შევადარებთ ამ უკანასკნელის სტრუქტურას ასევე ანიონურ ჰეპტაკის (2,3-დი-*O*-მეთილ-6-*O*-სულფო)-β-ციკლოდექსტრინის სტრუქტურას (ნახ.8) დავინახავთ, რომ 6-პოზიციაში სულფო ჯგუფის არსებობამ გავლენა ვერ მოახდინა ენანტიომერების მიგრაციის რიგზე, მაშინ როდესაც 2 და 3 მდგომარეობაში სულფო ჯგუფების არსებობამ გამოიწვია ქირალური გამოცნობის მექანიზმის ცვლილება, რაც აისახა ენანტიომერების მიგრაციის რიგის ცვლილებაზე.



s)



ð)



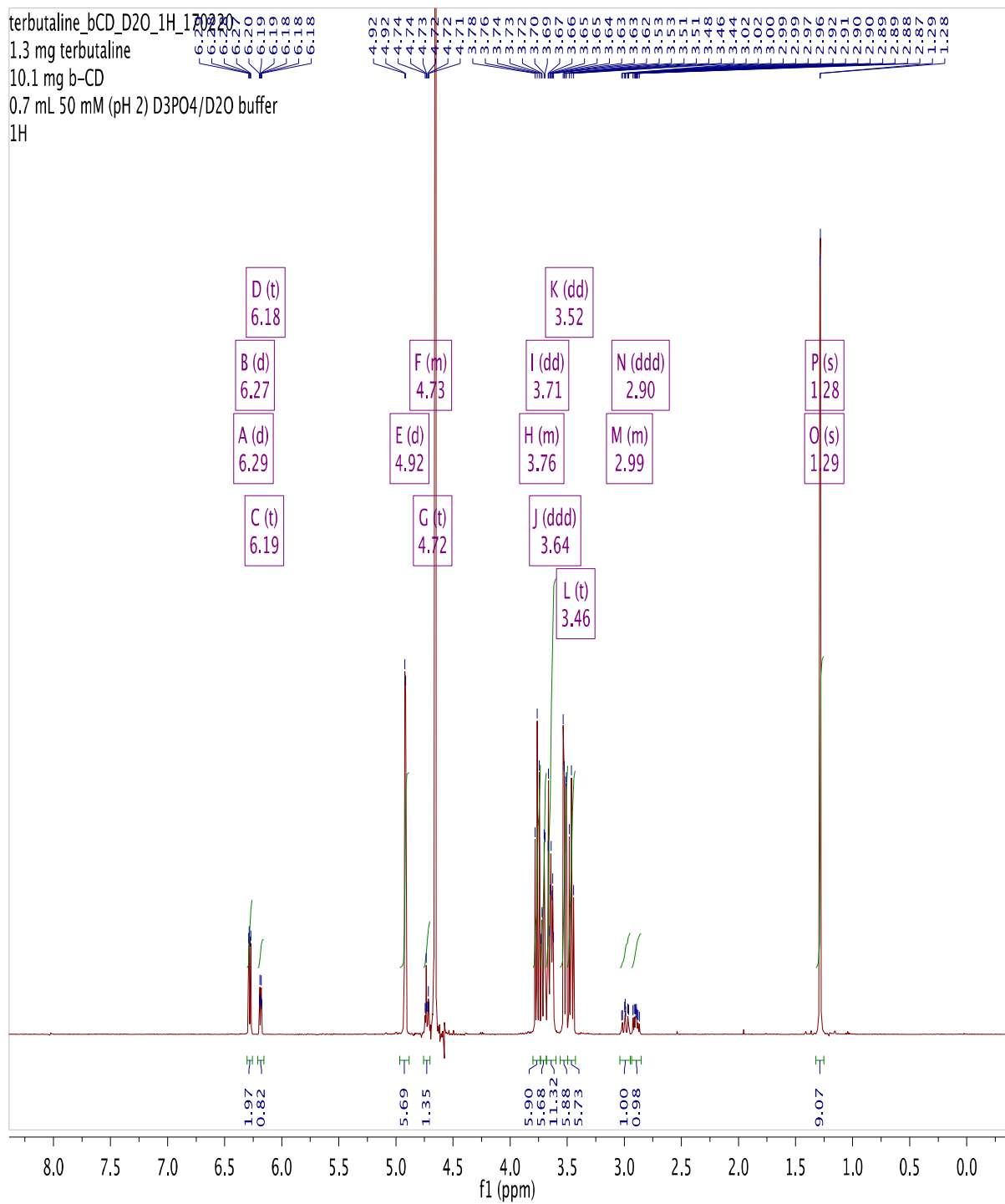
გ)

ნახ. 20 კლენპენტეროლის ენანტიომერების დაყოფა კაპილარულ ელექტროფორეზში ქირალურ სელექტორად β -CD (ა)-ის, 2,3-დიმეთილ-6-სულფო- β -ციკლოდექსტრინის (ბ) და 2,3-დისულფო-6-მეთილ- β -ციკლოდექსტრინის გამოყენებით, ანალიზის პირობები იგივეა როგორც ეს აღწერილია ცხრ. N 9-ში აღწერილ ექსპერიმენტში.

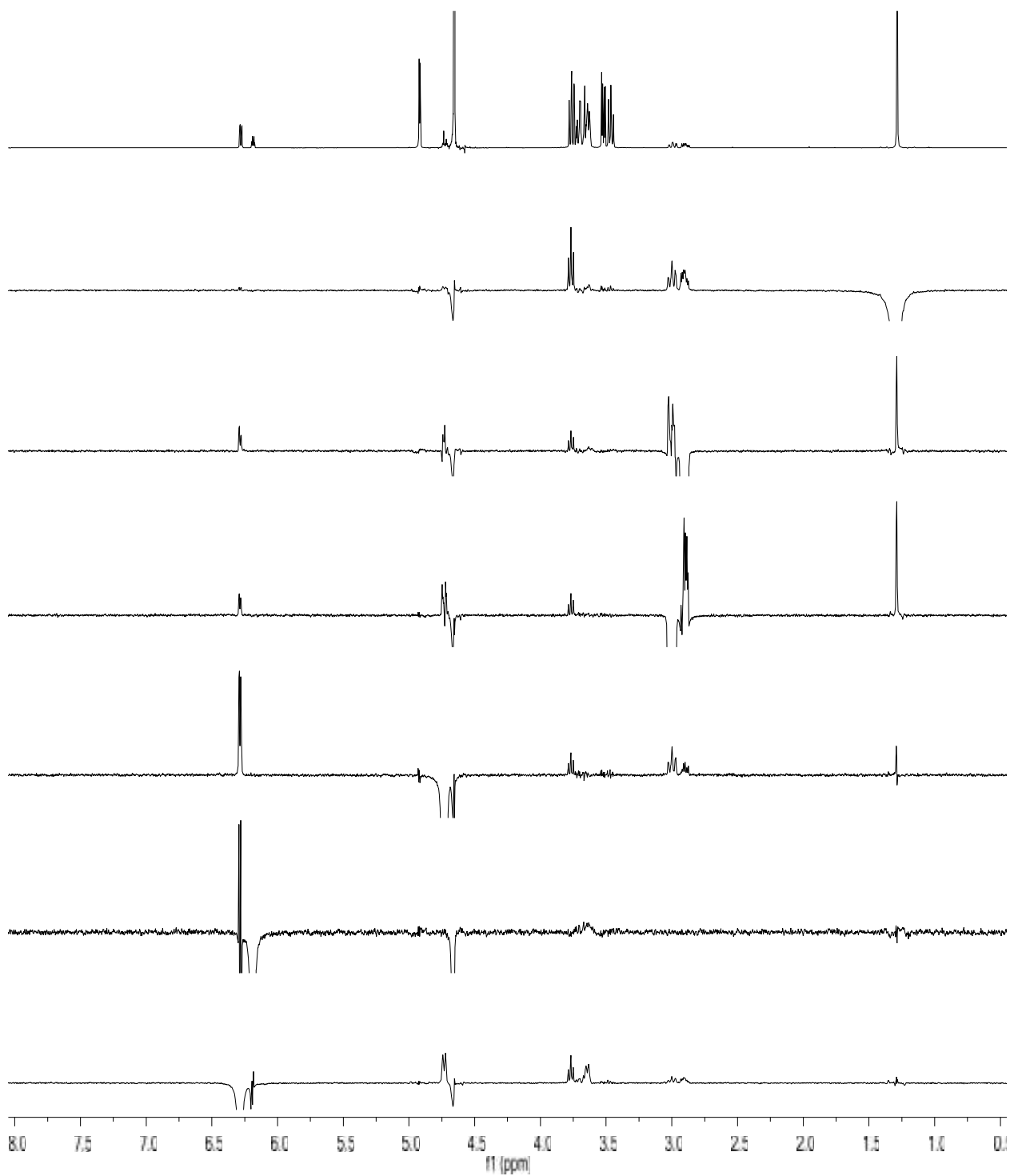
4.2 ბირთვულ მაგნიტური რეზონანსის ექსპერიმენტის შედეგები და განსჯა

4.2.1 ბირთვულ მაგნიტური რეზონანსის ექსპერიმენტის შედეგები და განსჯა ტერბუტალინის შემთხვევაში

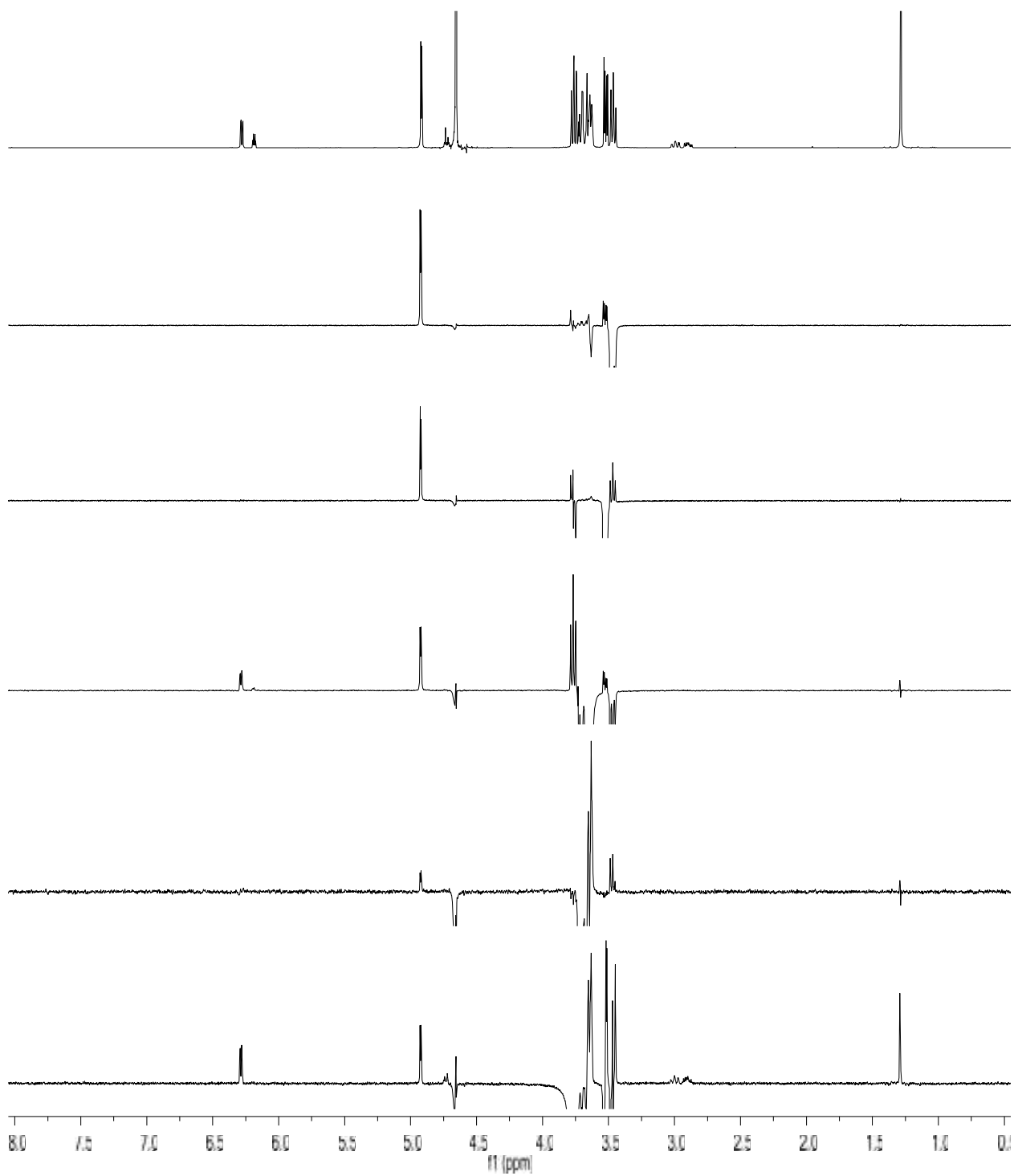
ტერბუტალინის და β -CD ციკლოდექსტრინის კომპლექსის პროტონულ-მაგნიტური რეზონანსის (ბმრ) სპექტრი წარმოდგენილია ნახ. 3-ზე. ყველა სიგნალი არის ვიწრო და კარგად გამოყოფილი. ყველა β -CD-ის წყალბადი იძლევა კარგად გამოყოფილ სიგნალს, H-5 და ერთი H-6 პროტონების გარდა, რომლებიც ერთსა და იმავე სიხშირეზე (3.64 ppm) რეზონირებენ. როდესაც ვასხივებდით ტერბუტალინის ფენილის ჯგუფის (Ph) H-2,6 (6.28 ppm, ნახ. 21), შედეგად ბირთვულ ოვერჰაუზერის ეფექტი (NOE) გამოძახილი გვექონდა β -CD-ის შიგა H-3 და H-5 პროტონებზე (შესაბამისად 3.76 და 3.64 ppm) და მცირე გამოძახილი ორივე H-6 (3.66 და 3.71 ppm) პროტონზე. ტერბუტალინის Ph H-4-ის (6.19 ppm) დასხივებისას β -CD იძლეოდა მხოლოდ მცირე გამოძახილს H-5 პროტონზე, მაგრამ ტერბუტალინის ალიფატური წყალბადების დასხივებისას (H-1, 4.73 ppm, H-2, 2.90 და 2.99 ppm, და C(CH₃)₃, 1.28 ppm) β -CD-ის H-3 პროტონი იძლეოდა გაცილებით ძლიერ გამოძახილს. მიღებული შედეგები მიუთითებს, რომ ტერბუტალინის არომატული ბირთვი ციკლოდექსტრინის ღრუში თავსდება ციკლოდექსტრინის მეორეული, განიერი ბოლოდან, არომატული ფრაგმენტი თავსდება მაკროციკლის შიგნით, ხოლო ალიფატური ნაწილი რჩება გარეთ და ურთიერთქმედებს გამხსნელთან. ეს დასკვნა ასევე დადასტურდა დამატებითი 1D ROESY ექსპერიმენტით, რომელშიც β -CD-ის წყალბადების დასხივება ხდებოდა სელექტიურად (ნახ. 4). β -CD-ის H-3 პროტონის დასხივებისას გამოძახილს იძლეოდა ტერბუტალინის ალიფატური და ასევე არომატული Ph H-2,6 თუმცა არა Ph H-4 პროტონი. β -CD H-5 და H-6 (3.64 ppm) პროტონები გამოძახილს იძლეოდნენ ტერბუტალინის Ph H-2,6 და Ph H-4 პროტონებზე, მაგრამ არა ტერბუტალინის ალიფატურ პროტონებზე.



ნახ. 21 ტერბუტალინის და β -CD ციკლოდექსტრინის კომპლექსის პროტონული სპექტრი.

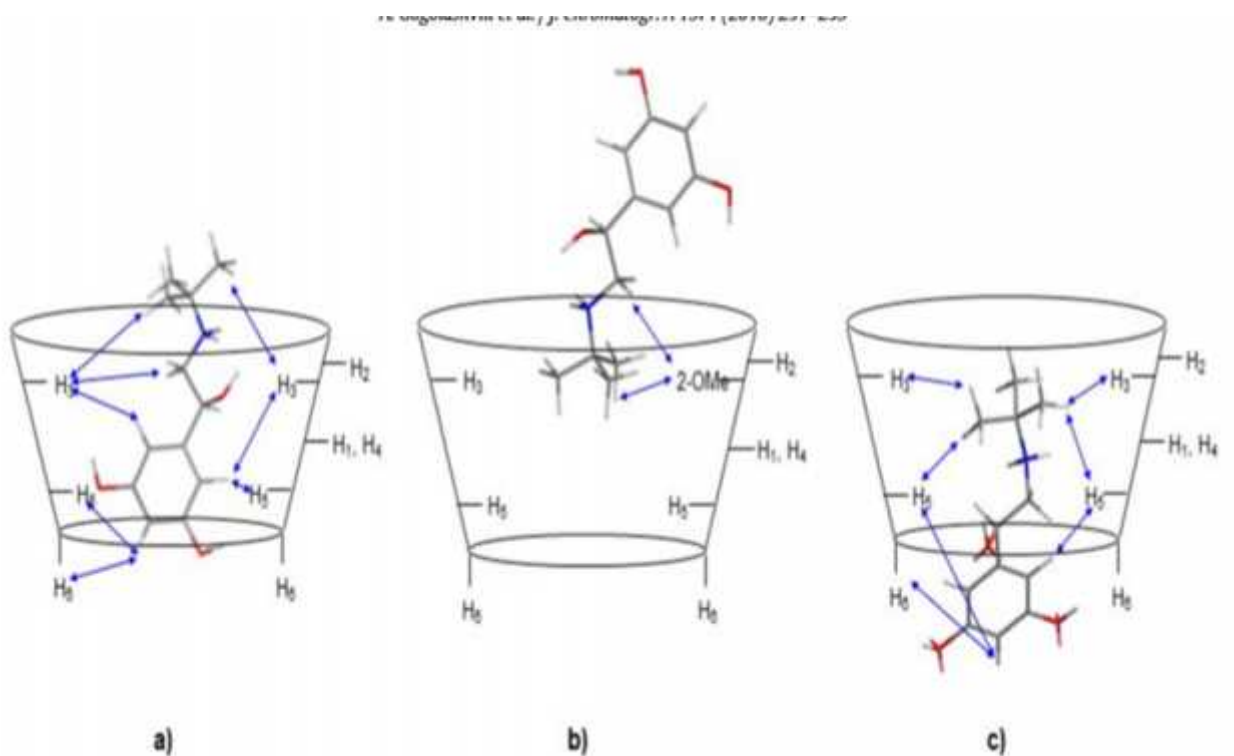


ნახ. 22 1D ROESY ექსპერიმენტი, β -CD-ის წყალბადების სელექტიურად დასხივება.

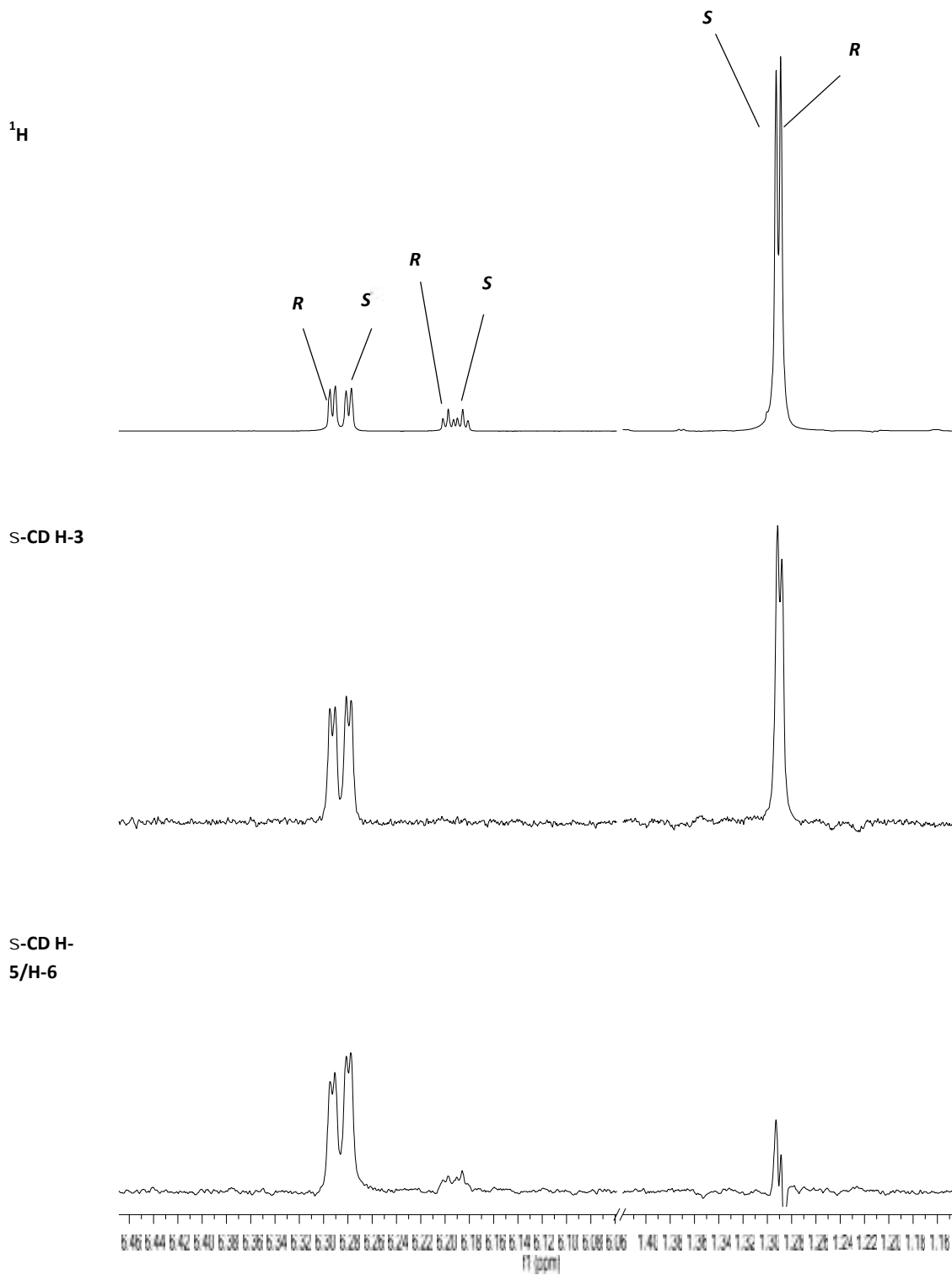


ნახ. 23 1D ROESY ექსპერიმენტი, ტერბუტალინის წყალბადების სელექტიურად დასხივება .

β-CD: TBT კომპლექსის სავარაუდო ვარიანტი წარმოდგენილია ნახ. 24 a. აუცილებელია აღინიშნოს, რომ მცირედი ენანტიოსელექტიური წანაცვლება დაიმზირებოდა ტერბუტალინის არომატული წყალბადების გამოძახილში, როდესაც β-CD-ის H-3, H-5 და H-6-ის დასხივება ხდებოდა. S-TBT იძლევა ოდნავ უფრო მაღალი ინტენსივობის გამოძახილებს, ვიდრე R- ენანტიომერი (ნახ. 25). ეს შედეგი კარგ კორელაციაშია ენანტიომერების მიგრაციის რიგთან, რომელიც მიღებული იქნა კაპილარული ელექტროფორეზით ენანტიომერების დაყოფის შედეგად.



ნახ. 24 კომპლექსის სტრუქტურის სავარაუდო ვარიანტები ტერბუტალინის და ბეტა ციკლოდექსტრინის (a) , ტერბუტალინის და HMDS-β-CD (b) და ტერბუტალინის და HDAS-β-CD (c)

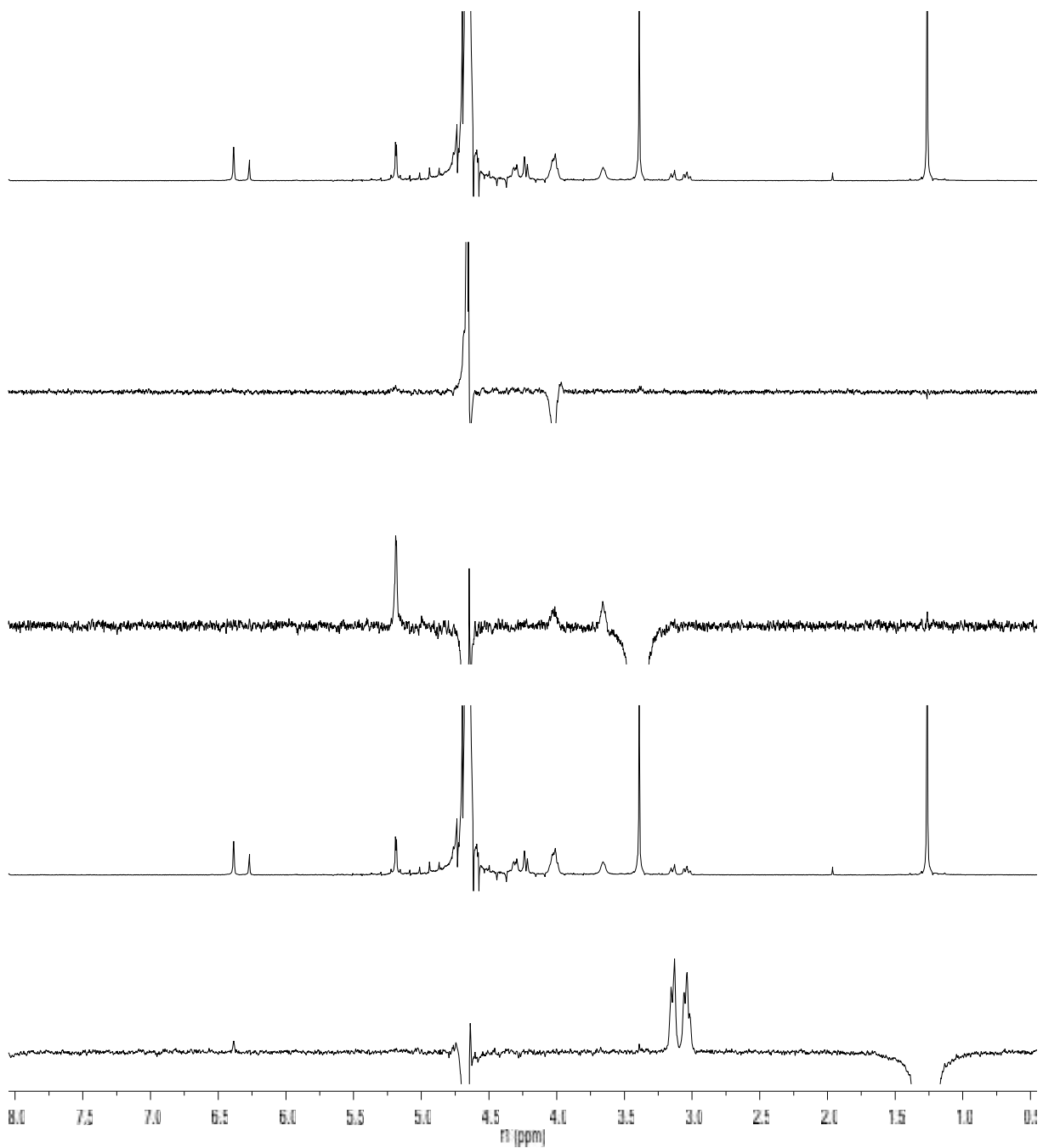


ნახ. 25 β -CD-ის H-3, H-5 და H-6-ის დასახივება, რაცემული ტერბუტალინის კომპლექსი HMDS- β -CD-თან.

ტერბუტალინის და HMDS- β -CD-ის კომპლექსის ^1H ბმრ სპექტრში ყველა სიგნალი იყო მიკუთვნებული შესაბამის პროტონებს. HMDS- β -CD-ის პროტონების

სიგნალების გარჩევითობა დაბალი იყო. რადგან TBTH-1 და HMDS- β -CD H-3 (4.65 და 4.70 ppm, შესაბამისად) სიგნალები ერთმანეთთან ძალიან ახლოს იყო დანარჩენ HDO-თან, ამ სიგნალების სელექტიური აღზნების ექსპერიმენტი არ მომხდარა. გარდა ამისა, HMDS- β -CD H-4 და H-5 რეზონანსული სიგნალები გადაიფარებოდა (4.01 ppm). სიგნალების გახლეჩა კომპლექსაციის შედეგად დამზერილი არ ყოფილა.

1D ROESY ექსპერიმენტებმა მოგვცა ძალიან მწირი შედეგები და ვერ მოხერხდა ცალსახა მოლეკულათსორისი ურთიერთქმედების დადგენა. ორგანოზომილებიანმა ROESY ექსპერიმენტმა აჩვენა მცირე ურთიერთქმედება ტერბუტალინის C (CH₃) ჰ-ჯგუფსა და HMDS- β -CD-ის 2-OMe პროტონებს შორის. თუ ტერბუტალინსა და HMDS- β -CD-ს შორის წარმოიქმნება ჩართული კომპლექსი, ამ შემთხვევაში ტერბუტალინის ალკილ ამინოჯგუფის ჩართვა ხდება HMDS- β -CD-ს შიდა ღრუს განიერი ბოლოდან და გამხსნელი ურთიერთქმედებს ტერბუტალინის რეზორცინის ჯგუფის მხრიდან. აღწერილი კომპლექსის სავარაუდო სტრუქტურა წარმოდგენილია ნახ. 24b. აუცილებელია აღინიშნოს, რომ კომპლექსი ნამდვილად წარმოიქმნება ტერბუტალინსა და HMDS- β -CD-ს შორის, სხვაგვარად არ მოხდებოდა ტერბუტალინის ენანტიომერების დაყოფა ამ ციკლოდექსტრინის გამოყენებით.

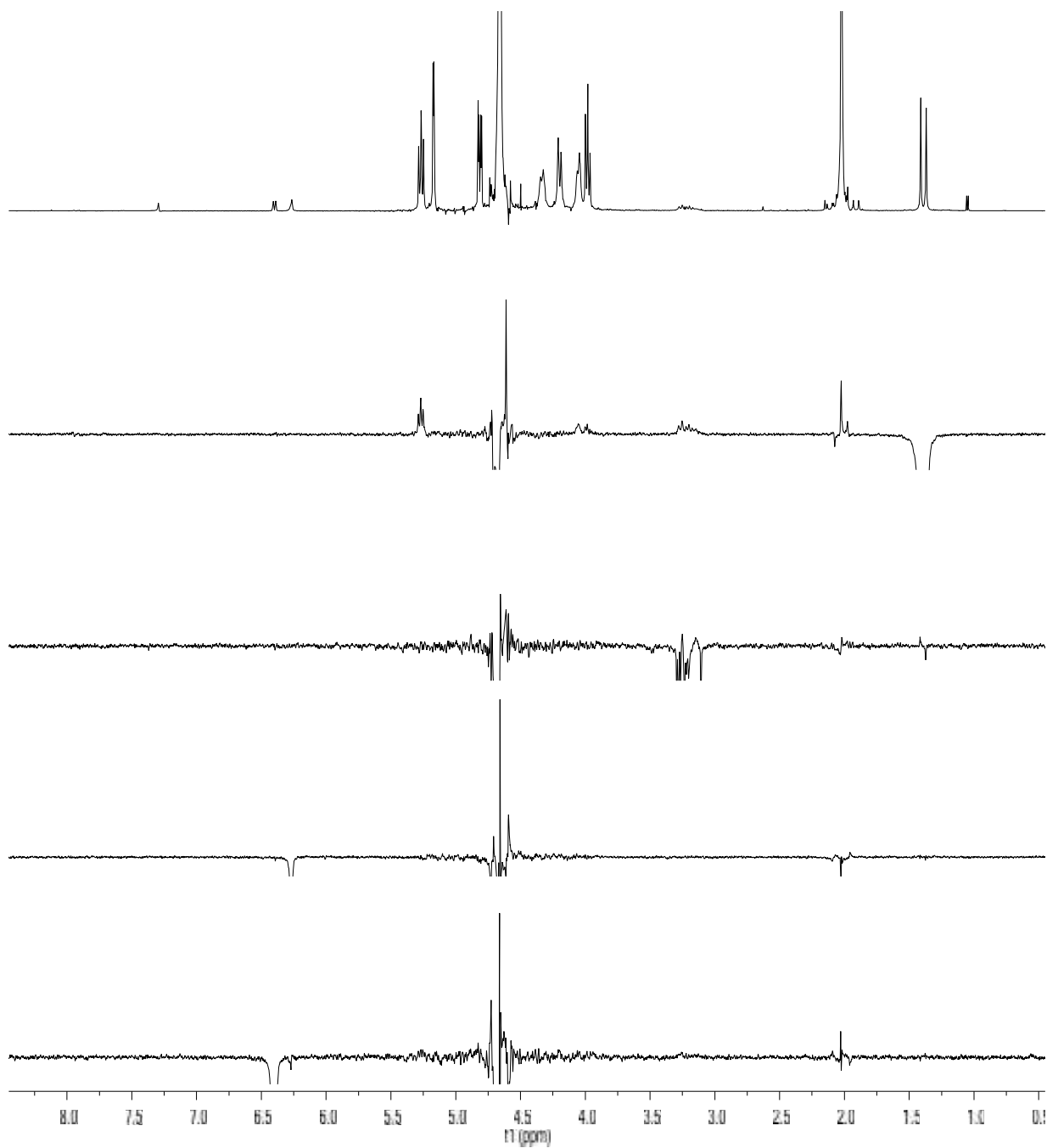


ნახ. 26 1D ROESY ექსპერიმენტი, HMDS-β-CD-ის წყალბადების სელექტიურად დასხივება

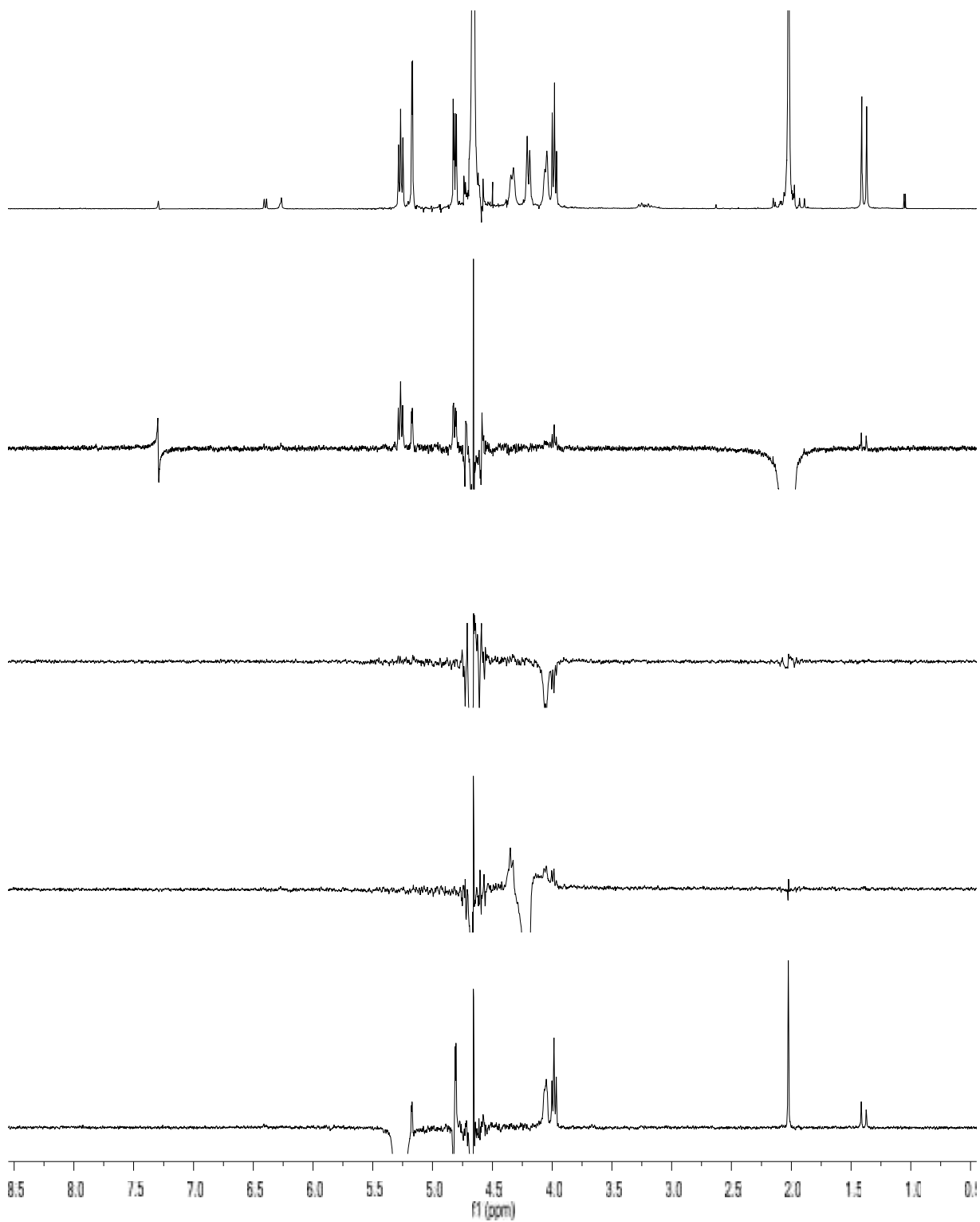
რაცემული ტერბუტალინის და HDAS-β-CD-ის კომპლექსის ¹H ბმრ სპექტრში (ნახ 27) რეზონანსული სიგნალები კარგად იზოლირებული და ერთმანეთისგან გამოყოფილია, ასევე ტერბუტალინის H-1 და HDAS- β-CD-ის H-2 რეზონირებს ერთსა და იმავე სიხშირეზე (4.81 ppm). სიგნალების გახლეჩა კომპლექსაციის

შემდეგ დამზერილ იქნა ტერბუტალინის Ph H-2,6 (6.39 და 6.41 ppm, S- და R-ტერბუტალინში შესაბამისად) და C(CH₃)₃ (1.37 და 1.41 ppm, შესაბამისად S-და R-ტერბუტალინში). ჩატარდა 1D ROESY (ნახ. 27) ექსპერიმენტები.

ტერბუტალინის არომატული და ალიფატური წყალბადების დასხივებამ არ აჩვენა რაიმე სახის მოლეკულათშორისი ურთიერთქმედება, რადგან არ იქნა დამზერილი ტერბუტალინის H-2 პროტონის დასხივების შემდეგ ციკლოდექსტრინის რომელიმე პროტონის გამოძახილი, ასევე ტერბუტალინის H-1 პროტონის დასხივების შემდეგ არ იქნა მიღებული სელექტიური გამოძახილი ციკლოდექსტრინის რომელიმე პროტონისგან, რადგან რეზონანსული სიგნალები გადაფარული იყო HDAS-β-CD H-2 წყალბადის რეზონანსული სიგნალით. ტერბუტალინის C(CH₃)₃ პროტონების აღზნების შემდეგ გამოძახილი მივიღეთ ციკლოდექსტრინის შიგა H-3 (5,27 ppm), ასევე შედარებით მცირე გამოძახილი H-5-ზე (4,06 ppm) და ასევე სავარაუდოდ HDAS-β-CD-ის 2-OAc წყალბადთან (2,02 ppm). HDAS-CD-ის H-3 პროტონის ინტენსიური აღზნებისას დაამზერილი იქნა საკმაოდ ინტენსიური გამოძახილი ტერბუტალინის C(CH₃)₃ -ზე. HDAS-CD-ის H-5 პროტონის და ორივე H-6 პროტონის დასხივებამ არ გამოიწვია ბირთვულ ოვერჰაუზერის ეფექტი. OAc-ის ორივე პროტონის აღზნებამ გამოიწვია გამოძახილი ტერბუტალინის C(CH₃)₃ და Ph H-2,6 წყალბადების, თუმცა ეს უკანასკნელი საკმაოდ სუსტია. 2D ROESY ექსპერიმენტმა (ნახ. 9) აჩვენა მოლეკულათშორისი ბირთვული ოვერჰაუზერის ეფექტი ტერბუტალინის C(CH₃)₃ -ის აღზნებისას HDAS-β-CD-ის H-3 და H-5 პროტონებზე, ასევე ტერბუტალინის არომატული პროტონების აღზნებისას გამოძახილი მოგვცა ციკლოდექსტრინის H-5 და H-6 პროტონებმა. და HDAS-CD. ეს შედეგები გვაჩვენებს რომ ტერბუტალინის ალიფატური ნაწილი თავსდება HDAS-β-CD-ის ღრუში პირველადი ვიწრო ბოლოდან, როგორც ეს ნაჩვენებია ნახ. 24c-ზე.

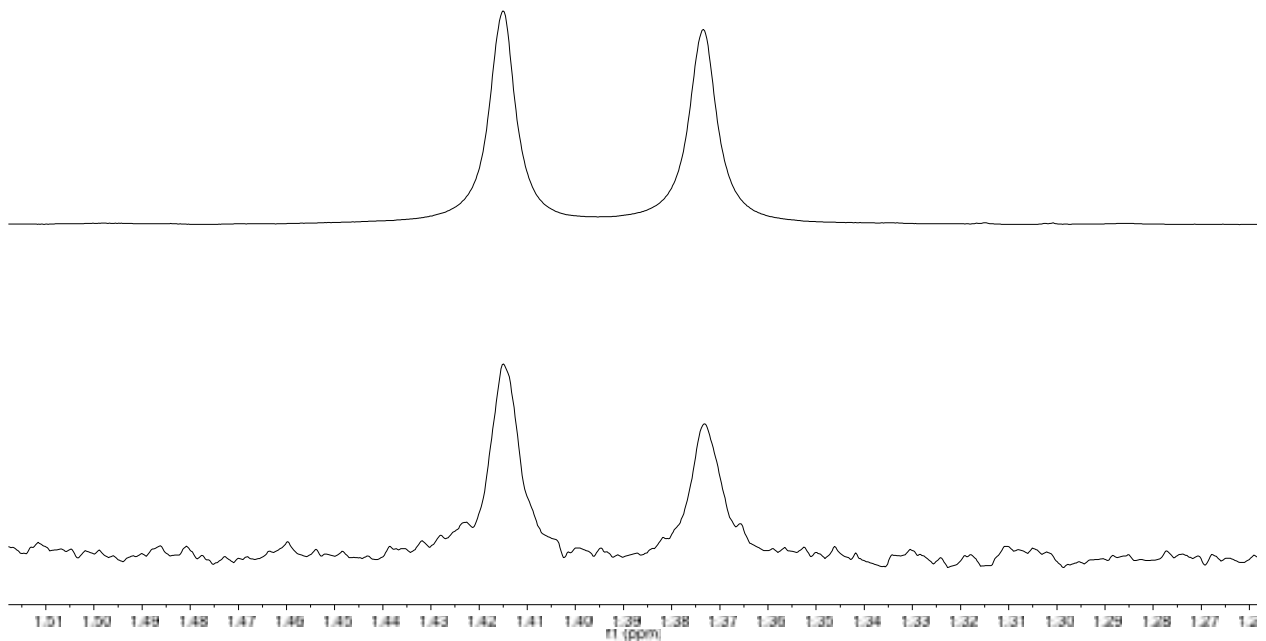


ნახ. 27 1D ROESY ექსპერიმენტი, HDAS- β -CD-ის წყალბადების სელექტიურად დასხივება.



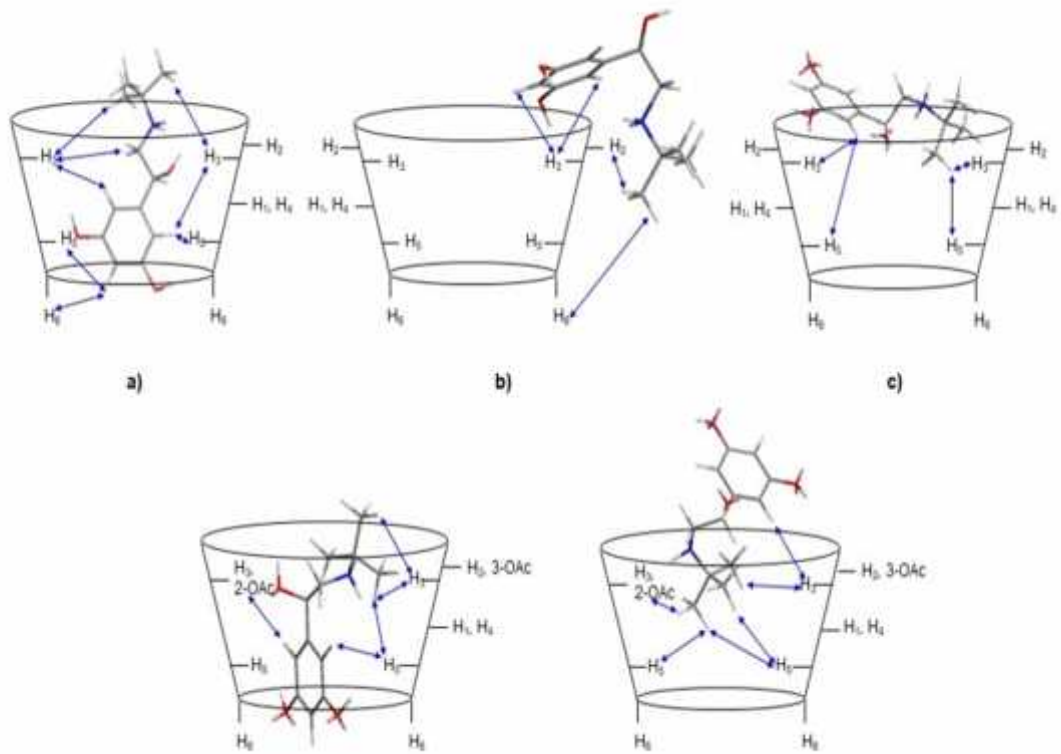
ნახ. 28 1D ROESY ექსპერიმენტი, ტერბუტალინის წყალბადების სელექტიურად დასხივება

აღსანიშნავია რომ ტერბუტალინის და ციკლოდექსტრინების კომპლექსების შემთხვევაში β -CD: ტერბუტალინი, HDAS- β -CD: ტერბუტალინის შემთხვევაში ასევე დაიმზირებოდა გარკვეული ენანტიომერული წანაცვლება, კერძოდ HDAS- β -CD-ის H-3 პროტონის დასხივების შედეგად R-ტერბუტალინზე ბირთვულ ოვერჰაუზერის ეფექტის გამოძახილი იყო უფრო ძლიერი, ვიდრე S-ტერბუტალინზე (ნახ. 29). საინტერესოა რომ ენანტიომერული წანაცვლება, რომელიც დაიმზირებოდა HDAS- β -CD-ის შემთხვევაში არის იმის საწინააღმდეგო რაც იყო ზემოთ აღწერილი β -CD-ის შემთხვევაში, მაშინ როდესაც ენანტიომერების მიგრაციის რიგი კაპილარული ელექტროფორეზით დაყოფის დროს ერთი და იმავე იყო ორივე ციკლოდექსტრინის შემთხვევაში (ნახ. 13). ეს კი ნიშნავს, რომ ენანტიომერების წანაცვლება რაც მიიღება ბირთვულ ოვერჰაუზერის ექსპერიმენტებში ძალიან ფრთხილად უნდა იქნას გამოყენებული ენანტიომერების აფინობის დასადგენად.



ნახ. 29 HDAS- β -CD-ის H-3 პროტონის დასხივების შედეგად მიღებული განსხვავებული ბირთვულ ოვერჰაუზერის ეფექტი ტერბუტალინის R და S ენანტიომერებს შორის.

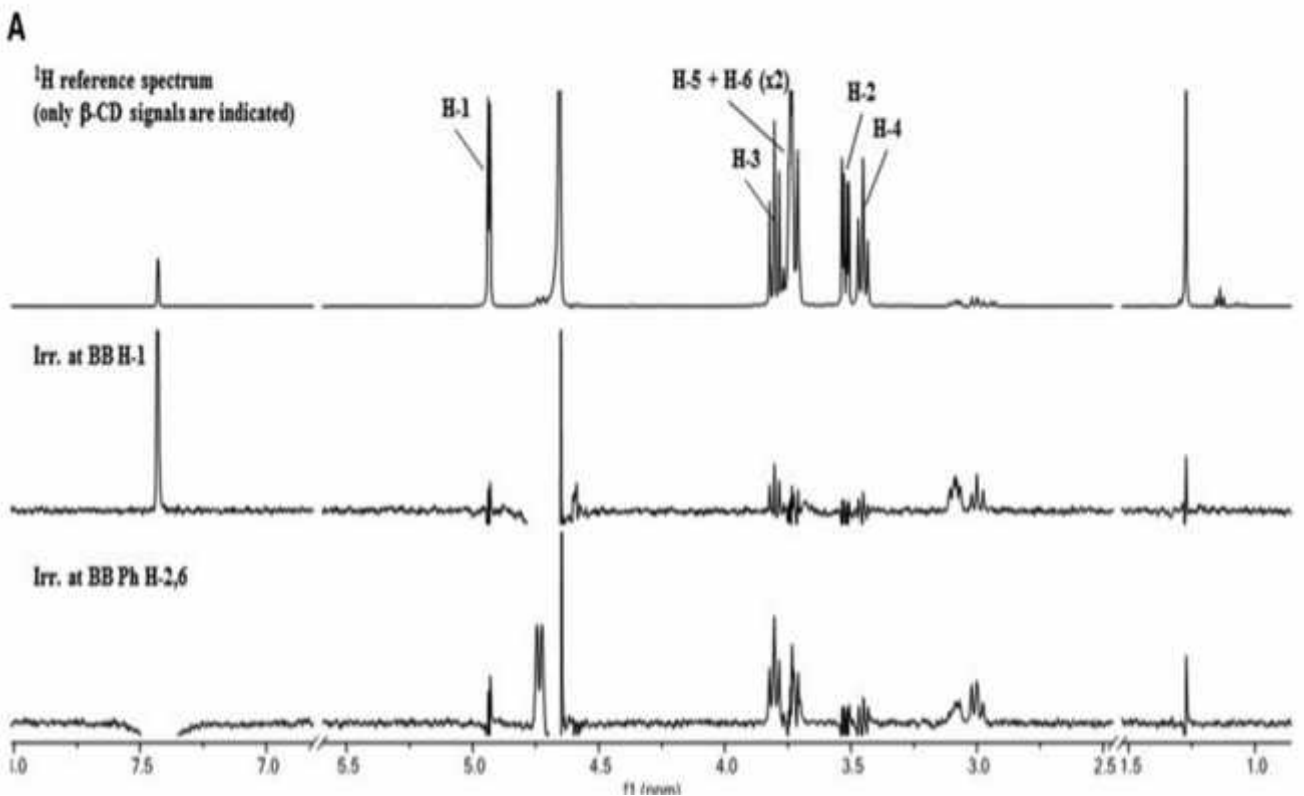
სხვადასხვა ზმრ ექსპერიმენტების შედეგად, როგორც ტერბუტალინის ზემოთ მოყვანილ კვლევაში იყო მოცემლი, დადგინდა კომპლექსის ტიპები თითოეულ ქირალურ სელექტორსა და ტერბუტალინს შორის. (ნახ. 30)



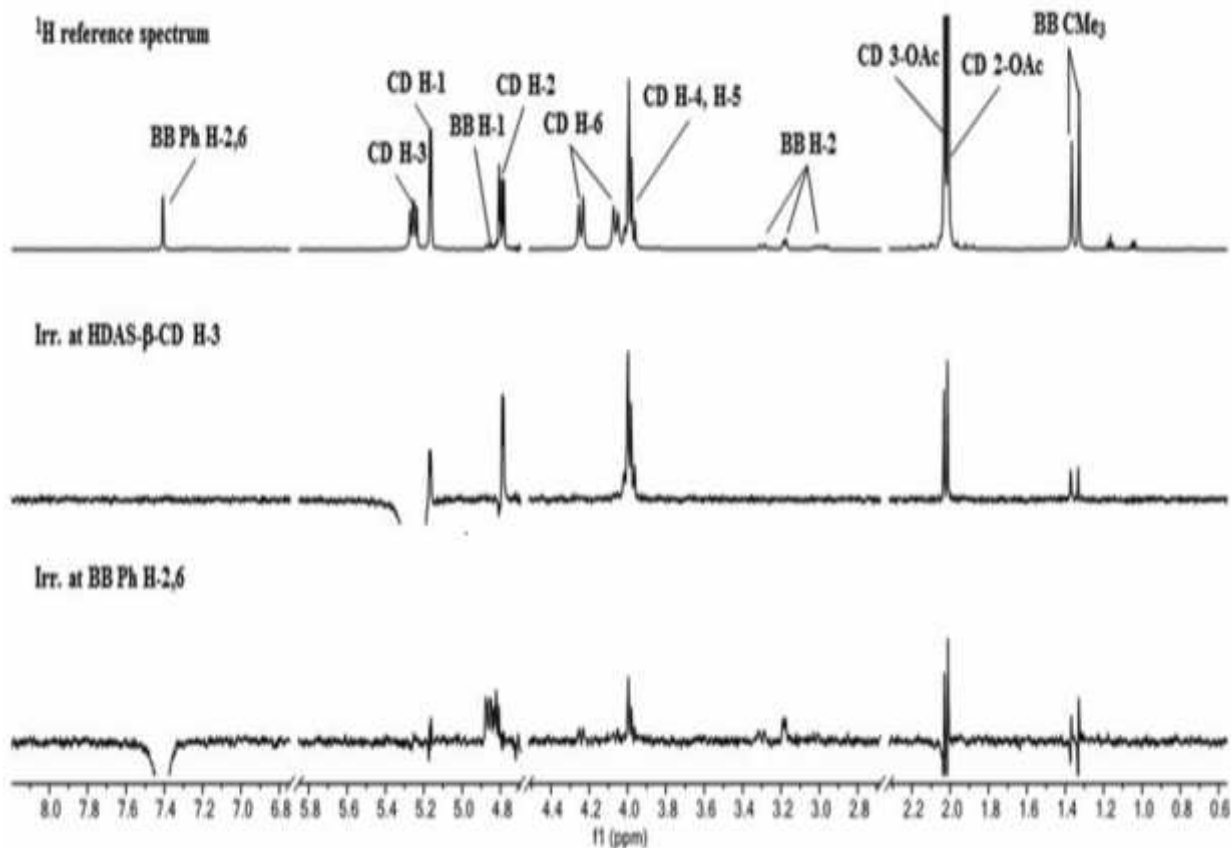
ნახ. 30 კომპლექსის სტრუქტურის სავარაუდო ვარიანტები ტერბუტალინის და ბეტა ციკლოდექსტრინის (a) , ტერბუტალინის და ალფა ციკლოდექსტრინის (b), ტერბუტალინის და გამა ციკლოდექსტრინის ტერბუტალინის (c) და ტერბუტალინის და HDAS- β -CD (d,e).

4.2.2 ბრომბუტეროლის ბირთვულ მაგნიტური რეზონანსის ექსპერიმენტის შედეგები და განსჯა ბრომბუტეროლის შემთხვევაში

როგორც ჩვენს მიერ ROESY ექსპერიმენტების შედეგის (ნახ 31,32) მიხედვით შედგენილი სელექტორ-სელექტანდის შესაძლო კომპლექსების სტრუქტურული გამოსახულებებიდან ჩანს, ბეტა და გამა ციკლოდექსტრინებთან ბრომბუტეროლის ფენილის ჯგუფი ურთიერთქმედებდა განიერი, მეორადი ბოლოდან და წარმოიქმნებოდა ერთმანეთის მსგავსი ჩართული კომპლექსები. მიუხედავად ამისა, ენანტიომერების მიგრაციის რიგი იყო განსხვავებული.

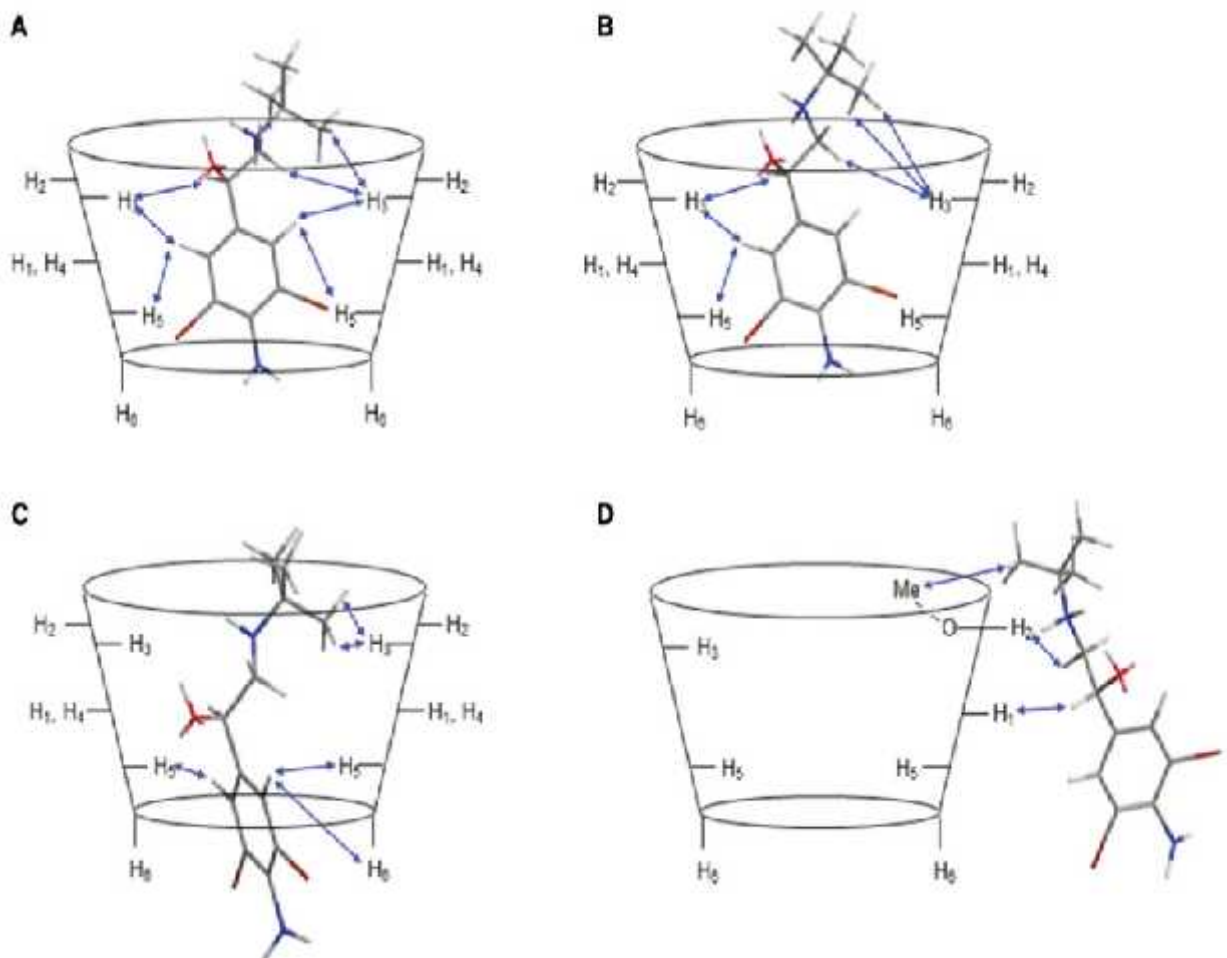


ნახ.31 ბეტა ციკლოდექსტრინისა და ბრომბუტეროლში ნარევი არსებული წყალბადების სელექტიური დასხივება

B

ნახ. 32 HDAS-β-CD ციკლოდექსტრინისა და ბრომბუტეროლში ნარევი არსებული წყალბადების სელექტიური დასხივება.

ამით კიდევ ერთხელ დასტურდება თეორიული მოსაზრება, რომ კაპილარულ ელექტროფორეზში ქირალური დაყოფა არ არის დამოკიდებული მხოლოდ განსხვავებულ შეკავშირების მუდმივებზე, არამედ ასევე გადამწყვეტი მნიშვნელობა აქვს კომპლექსების ძერადობას.

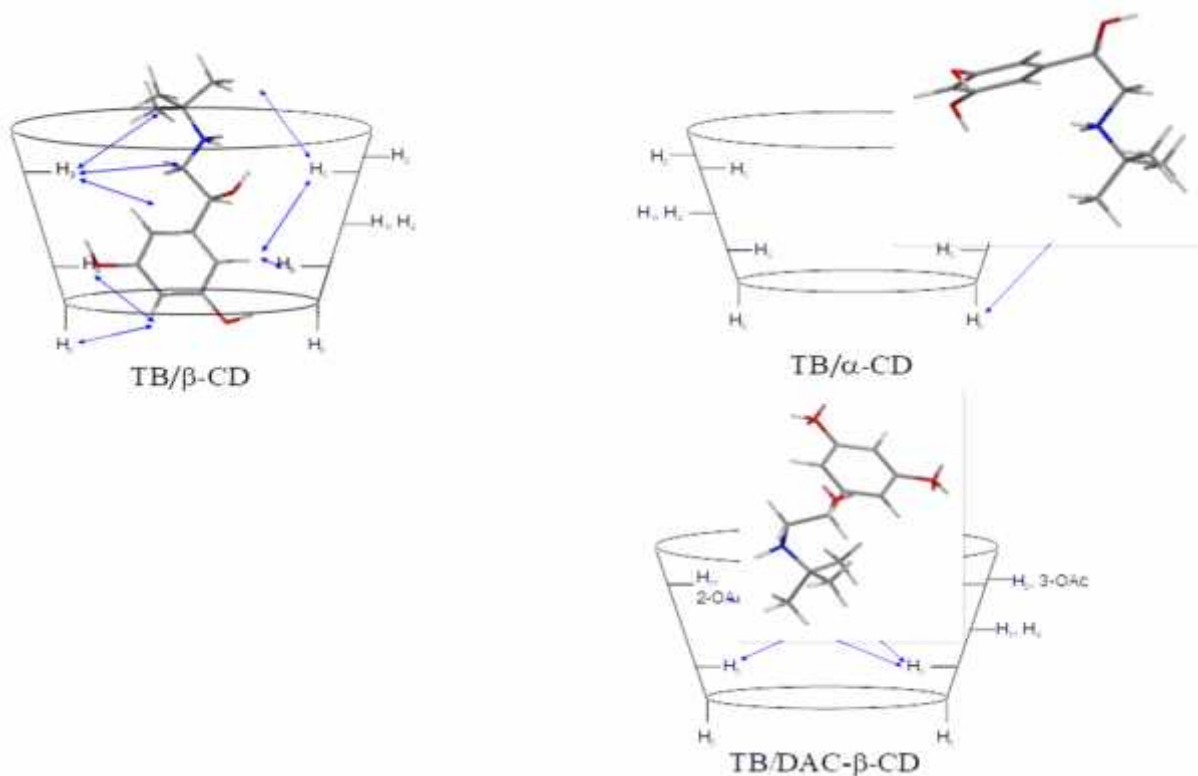


ნახაზი 33 ხსნარში არსებული ბრომბუტეროლის და ციკლოდექსტრინების სავარაუდო სტრუქტურები β -CD (A), γ -CD (B), HDAS- β -CD (C) და HMDS- β -CD (D).

ROESY ექსპერიმენტებზე დაყრდნობით შედგენილი ხსნარში არსებული ბრომბუტეროლის და ციკლოდექსტრინების სტრუქტურები (C) და (D) ნათლად აჩვენებს, რომ HDAS- β -CD-ის შემთხვევაში წარმოიქმნება ჩართული კომპლექსი, ხოლო HMDS- β -CD-ის შემთხვევაში ბრომბუტეროლის ჩართული კომპლექსი არ წარმოიქმნება, რაც შესაძლოა წარმოადგენდეს ბეტა ციკლოდექსტრინის ამ ორ ნაწარმს შორის ენანტიომერების მიგრაციის რიგის შებრუნების მიზეზს იხ. ნახ. 33.

როგორც ჩვენს მიერ ჩატარებული კაპილარული ელექტროფორეზის ექსპერიმენტის შედეგების განსჯის ნაწილში გვქონდა აღნიშნული, ჩვენს მიერ შესწავლილი იყო ტერბუტალინის ენანტიომერების მიგრაციის რიგის ცვლილება ქირალურ სელექტორებად ნატივური და დაუმუხტავი ციკლოდექსტრინების გამოყენებით. ენანტიომომების მიგრაციის რიგის ცვლილებას ადგილი ჰქონდა

ალფა, ბეტა და HDA- β -CD ციკლოდექსტრინებს შორის. მიგრაციის რიგის ცვლილება გამოიწვია, როგორც მოლეკულის გეომეტრიული ზომის ცვლილებამ, ასევე ციკლოდექსტრინის მოლეკულაში ჩამნაცვლებლის არსებობამ. ბმრ ROESY ექსპერიმენტებზე დაყრდნობით შევადგინეთ ხსნარში არსებული ტერბუტალინის და ციკლოდექსტრინების სტრუქტურები.

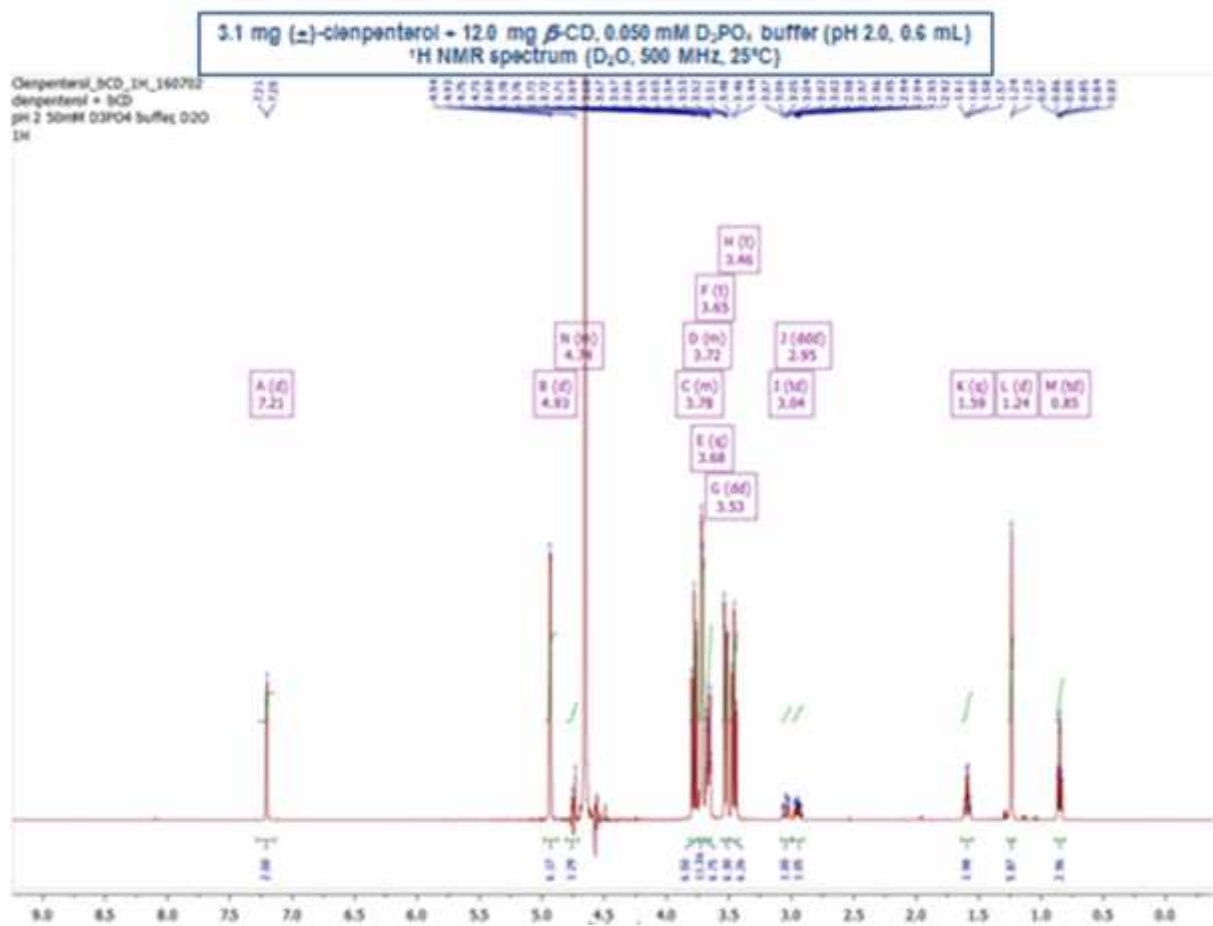


ნახ. 34. ხსნარში არსებული ბრომბუტეროლის და ციკლოდექსტრინების სავარაუდო სტრუქტურები β -CD (ა), α -CD (ბ), და DAC- β -CD (გ).

ROESY ექსპერიმენტებზე დაყრდნობით შეგვიძლია ვთქვათ, რომ ქირალური სელექტორის გეომეტრიული ზომის განსხვავების გამო მოხდა ბეტა ციკლოდექსტრინის შემთხვევაში ჩართული კომპლექსის წარმოქმნა, ხოლო ალფა ციკლოდექსტრინის შემთხვევაში გარე კომპლექსი წარმოიქმნა. რაც შეეხება HDAC- β -CD-ს, ამ შემთხვევაში ჩართული კომპლექსის წარმოქმნა ნივთიერების ალკილური ნაწილის მონაწილეობით მოხდა.

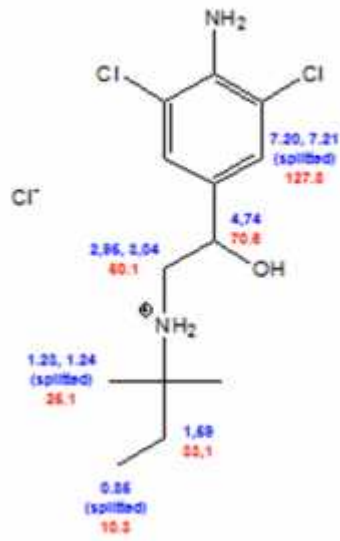
4.2.3 ბირთვულ მაგნიტური რეზონანსის ექსპერიმენტის შედეგები და განსჯა კლენპენტეროლის შემთხვევაში

გარდა პროტონულ მაგნიტური რეზონანსის ექსპერიმენტისა, ჩატარდა აგრეთვე ორგანოზომილებიანი კორელაციური ექსპერიმენტები, როგორც ჰომობირთვული, ასევე ჰეტერობირთვული. ამ შედეგების საფუძველზე თავდაპირველად მოხდა პროტონებისა და ^{13}C სიგნალების მიკუთვნება კლენპენტეროლისა და ორივე ციკლოდექსტრინისათვის (ნახ. 36 და 37):



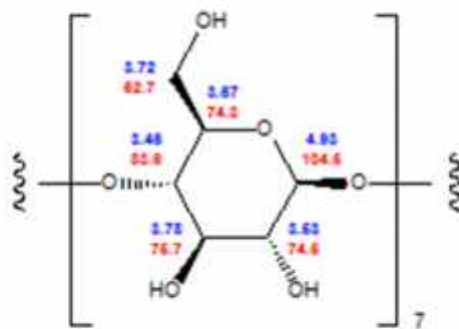
ნახ.35 კლენპენტეროლისა და β -ციკლოდექსტრინის ნარევის პროტონულ მაგნიტური რეზონანსის ექსპერიმენტი.

¹H სიგნალი
¹³C სიგნალი

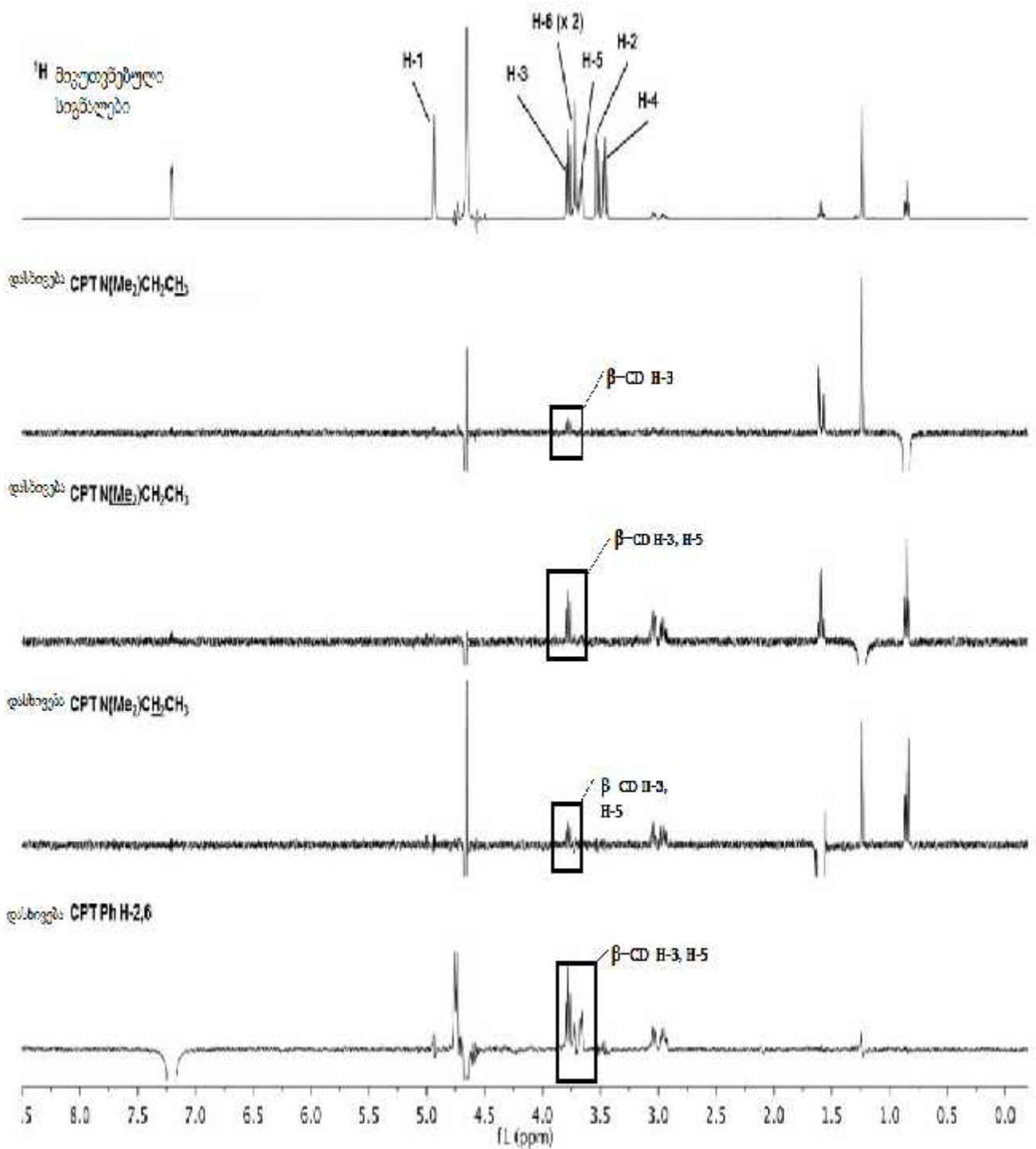


ნახ. 36 სიგნალების მინიჭება კლენპენტეროლისთვის.

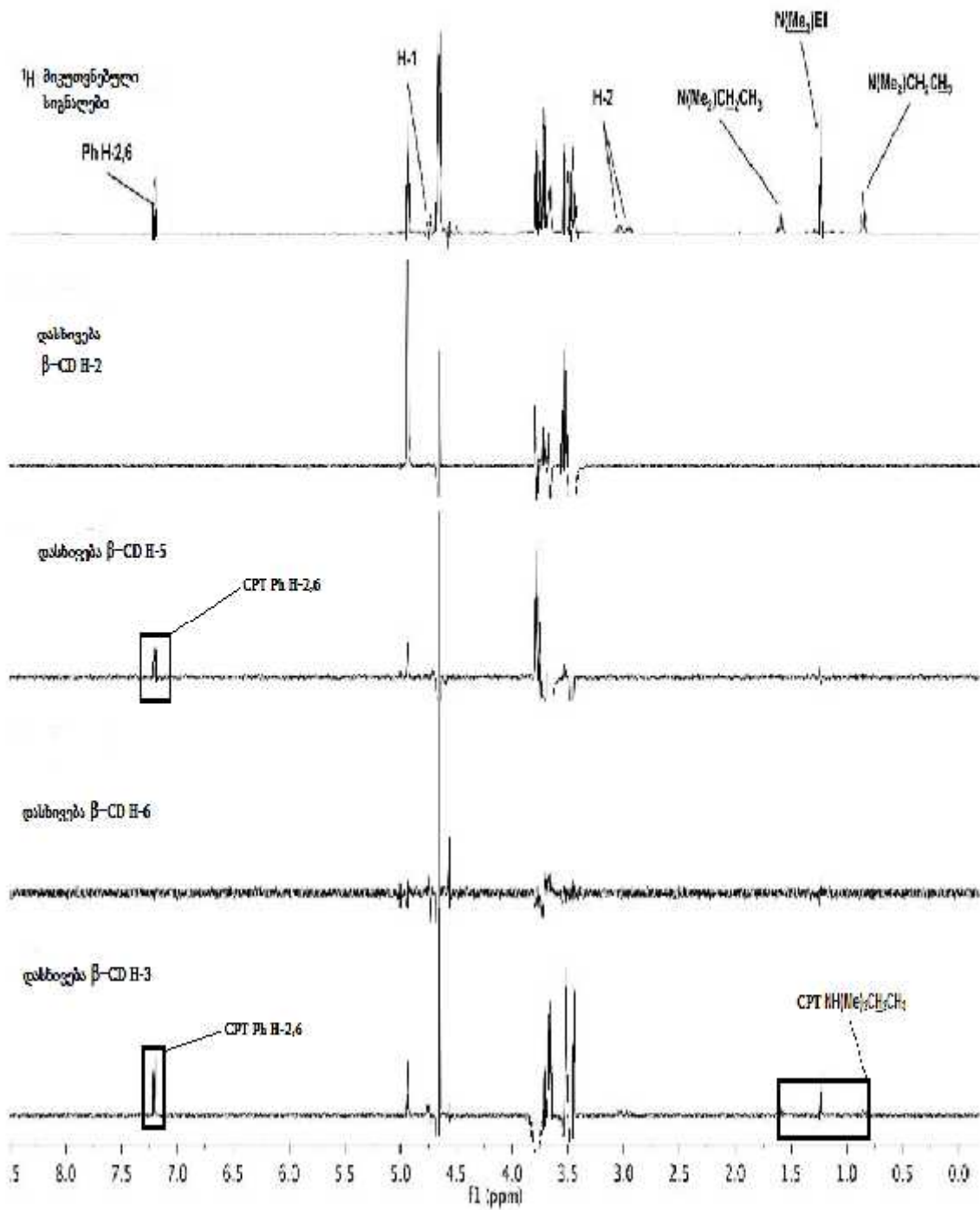
¹H სიგნალი
¹³C სიგნალი



ნახ. 37 სიგნალების მინიჭება β -ციკლოდექსტრინისთვის.



ნახ. 38 1D ROESY ექსპერიმენტის შედეგები კლენპენტროლის და ბეტა ციკლოდექსტრინის ნარევისთვის.



ნახ. 39 1D ROESY ექსპერიმენტის შედეგები კლენპენტროლის და ბეტა ციკლოდექსტრინის ნარევისთვის.

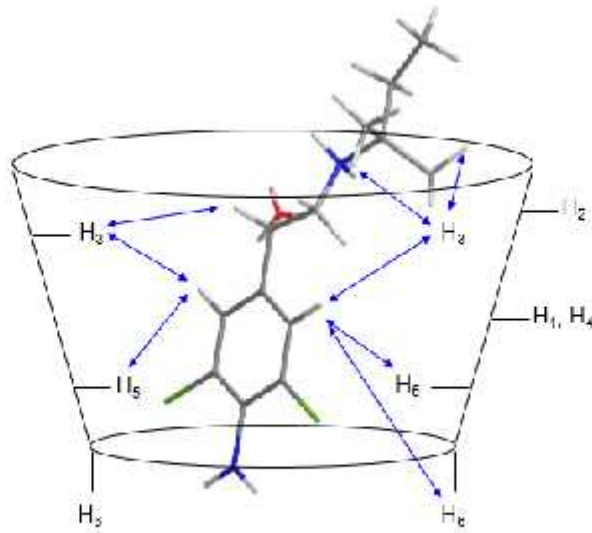
1D ROESY სელექტიური დასხივების მეთოდით სათითაოდ დასხივდა როგორც ქირალური სელექტორის, ასევე კლენპენტეროლის მოლეკულაში შემავალი პროტონები შესაბამის უბანში. კლენპენტეროლის ალიფატური ჯაჭვის პროტონების დასხივებით, მივიღეთ როგორც შიდამოლეკულური, ასევე მოლეკულათაშორისი სიგნალები. კომპლექსის აგებულების შესახებ კი ინფორმაციას მხოლოდ მოლეკულათაშორისი სიგნალი იძლევა. ამ შემთხვევაში მოლეკულათაშორისი სიგნალი დაფიქსირდა ციკლოდექსტრინის ღრუში მდებარე H-3 პროტონიდან. აქედან გამომდინარე კლენპენტეროლის ალიფატური ჯაჭვი ახლოს უნდა ყოფილიყო ციკლოდექსტრინის ღრუსთან.

ციკლოდექსტრინის ღრუში განიერ მხარეს მდებარე H-3 პროტონის დასხივებით მოლეკულათაშორისი სიგნალები დაფიქსირდა კლენპენტეროლის მოლეკულასთან. სუსტი მოლეკულათაშორისი სიგნალი მივიღეთ კლენპენტეროლის ალიფატური ჯაჭვიდან, ხოლო ძლიერი შიდამოლეკულური სიგნალი არომატული ბირთვის პროტონებიდან. რამდენადაც NOE-ს ინტენსივობა დამოკიდებულია პროტონებს შორის მანძილზე, მაშინ არომატული ბირთვი უფრო ახლოს უნდა ყოფილიყო ციკლოდექსტრინის ღრუში მდებარე H-3 პროტონთან ვიდრე ალიფატური ჯაჭვი, რადგან არომატული პროტონებიდან მიღებული სიგნალები უფრო ინტენსიურია ალიფატური ჯაჭვის პროტონებთან შედარებით.

β-ციკლოდექსტრინის ღრუში მის ვიწრო მხარეს მდებარე H-5-ის დასხივებით, მოლეკულათაშორისი სიგნალი მივიღეთ კლენპენტეროლის არომატული ბირთვის პროტონებიდან, ხოლო სიგნალი არ მიგვიღია ალიფატური ნაწილიდან. არომატული ბირთვიდან მიღებული სიგნალი კი იმის ვარაუდის საფუძველს იძლევა, რომ კლენპენტეროლის მოლეკულა ციკლოდექსტრინის ღრუში ჩაჯდა არომატული ბირთვით.

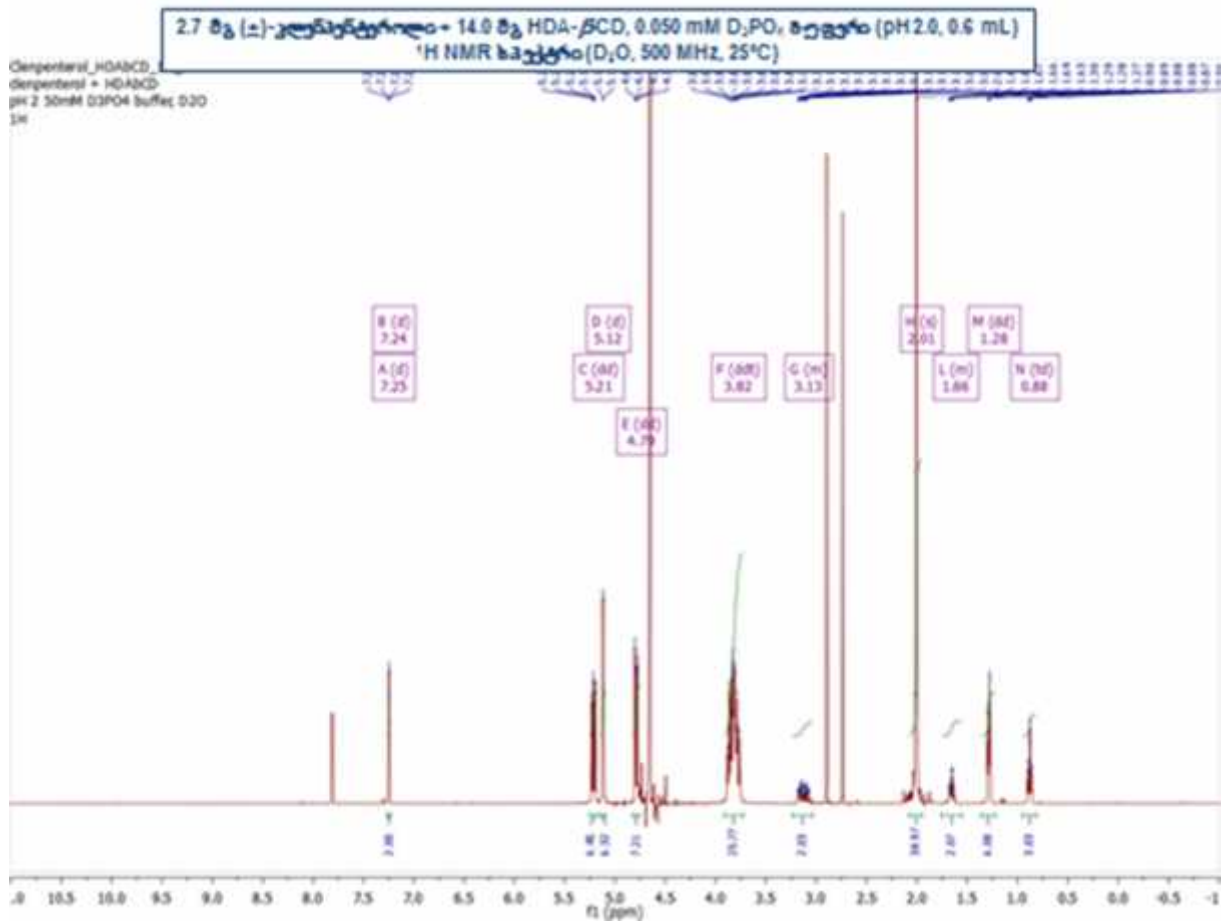
ციკლოდექსტრინის გარე პროტონების დასხივებით როგორებიცაა H-1, H-4, H-6, არ მიგვიღია მოლეკულათაშორისი NOE სიგნალები კლენპენტეროლის მოლეკულიდან, მივიღეთ მხოლოდ შიგამოლეკულური სიგნალები, რომლებიც

მომდინარეობდა თვითონ ციკლოდექსტრინის მოლეკულიდან. ეს სიგნალები კი ადასტურებდა, რომ ადგილი არ ჰქონია გარეგანი კომპლექსის ფორმირებას.



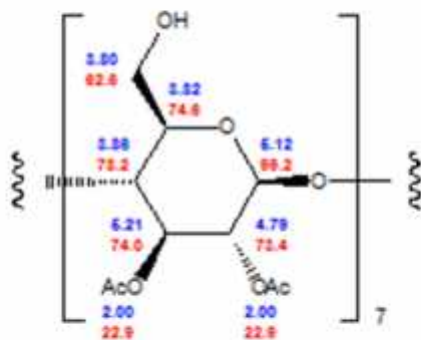
ნახ. 40 β-CD და კლენპენტეროლის კომპლექსის სტრუქტურა.

მიღებული შედეგებიდან დადასტურდა ჩართული კომპლექსის ფორმირება სელექტორ/სელექტანდს შორის. შედეგებიდან გამომდინარე კლენპენტეროლის მოლეკულა β-ციკლოდექსტრინის მოლეკულაში ჩაჯდა არომატული ბირთვის მხრიდან, რადგან სიგნალს იძლევა ციკლოდექსტრინის ღრუში მდებარე H-5-დან, ასევე H-3-დან, ასევე ალიფატური ჯაღვის პროტონები იძლევა მოლეკულათაშორის NOE-ს β-ციკლოდექსტრინის H-3-თან.



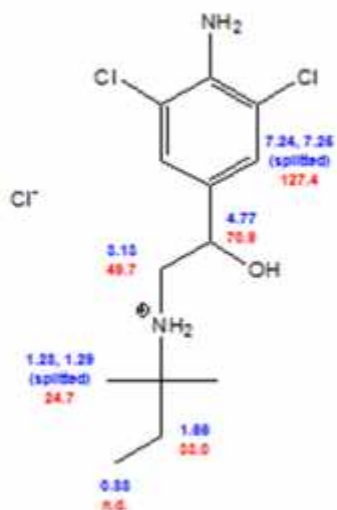
ნახ. 41 2,3-დიაცეტილ-β-ციკლოდექსტრინისა და კლენბუტეროლის პროტონულ მაგნიტური რეზონანსის ექსპერიმენტის სპექტრი.

¹H სიგნალი
¹³C სიგნალი

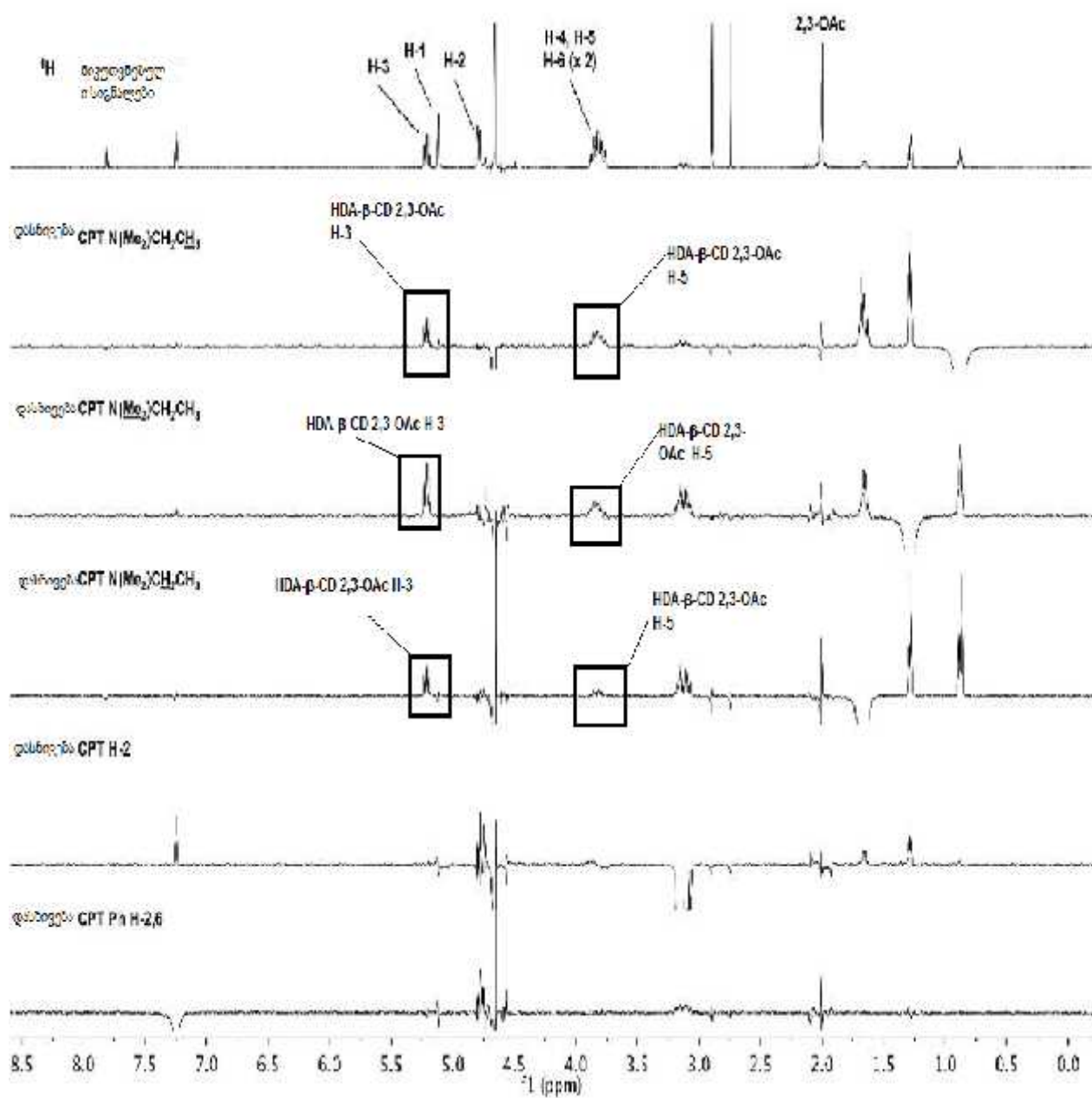


ნახ. 42 სიგნალების მინიჭება HDA-β-ციკლოდექსტრინისთვის.

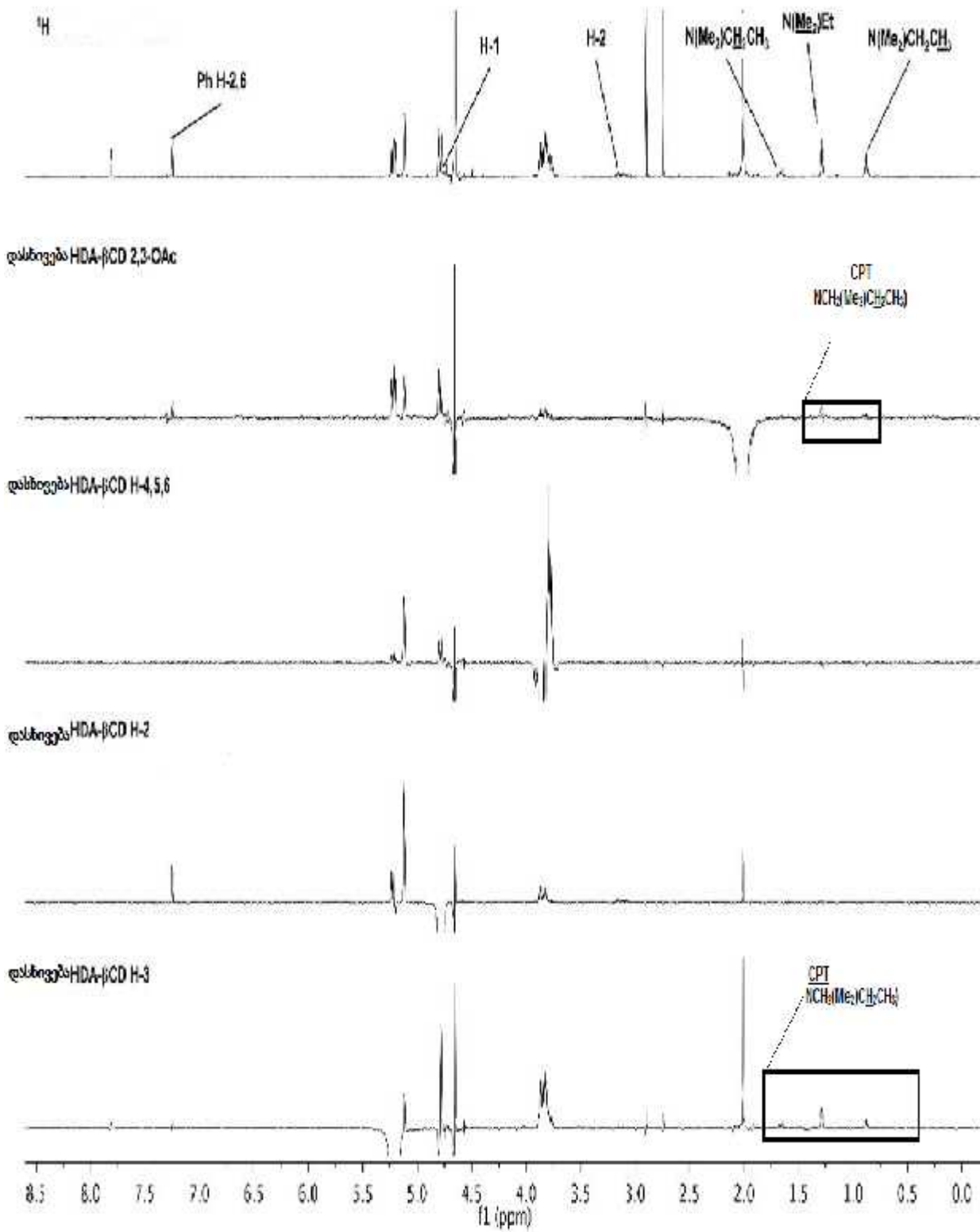
¹H სიგნალი
¹³C სიგნალი



ნახ. 43 სიგნალების მინიჭება კლენპენტეროლისთვის.



ნახ. 44 1D ROESY ექსპერიმენტის შედეგები კლენპენტროლის და დიაცეტილ-β ციკლოდექსტრინის ნარევისთვის.

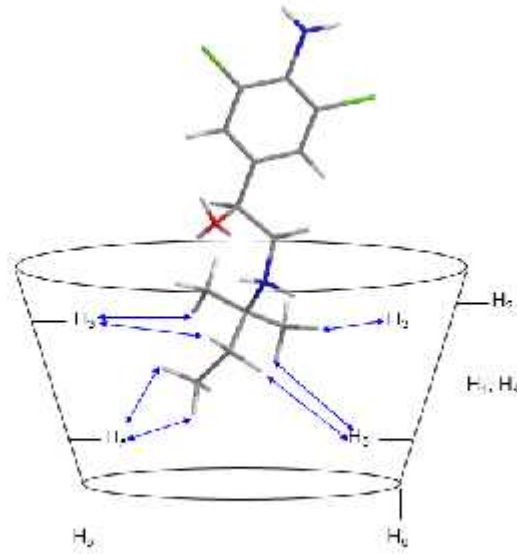


ნახ. 45 1D ROESY ექსპერიმენტის შედეგები კლენპენტეროლის და დიაცეტლ-β-ციკლოდექსტრინის ნარევისთვის.

1D ROESY დიაცეტილ-β-ციკლოდექსტრინის ღრუს H-3 პროტონის დასხივების შედეგად მოლეკულათაშორისი სიგნალი მივიღეთ კლენპენტეროლის ალიფატური ჯაჭვის პროტონებიდან. ხოლო მოლეკულათაშორისი NOE სიგნალი არ მიგვიღია არომატული ბირთვის პროტონებიდან. ეს კი ადასტურებდა, რომ არომატული ნაწილი H-3 პროტონიდან იმყოფებოდა შორ მანძილზე ალიფატურ ჯაჭვთან შედარებით.

კლენპენტეროლის ალიფატური ჯაჭვის პროტონების დასხივებით მივიღეთ შიგამოლეკულური და მოლეკულათაშორისი სიგნალები. მოლეკულათაშორისი სიგნალები მომდინარეობდა დიაცეტილ-β-ციკლოდექსტრინის H-3 და H-5 პროტონებიდან, რომლებიც მდებარეობენ ციკლოდექსტრინის ღრუში. ამ სიგნალებიდან ცხადი გახდა, რომ კლენპენტეროლის მოლეკულა იმყოფებოდა ციკლოდექსტრინის ღრუში ჩართული. NOE სიგნალების ინტენსივობის მიხედვით კი ძლიერი შიგამოლეკულური სიგნალების საფუძველზე ციკლოდექსტრინის ღრუს პროტონებსა და ალიფატურ ჯაჭვს შორის, იმის მანიშნებელი იყო, რომ კლენპენტეროლის მოლეკულა ციკლოდექსტრინის ღრუში ალიფატური ჯაჭვით ჩაჯდა. რაც შეეხება მოლეკულათაშორისი სიგნალების არ არსებობა კლენპენტეროლის არომატული ბირთვის პროტონებსა და ციკლოდექსტრინის ღრუს პროტონებს შორის მოწმობდა, რომ არომატული ბირთვი ციკლოდექსტრინის ღრუში არ იყო ჩართული.

2,3-დიაცეტილ- β-ციკლოდექსტრინის გარე შრის პროტონების დასხივებით არ მიგვიღია მოლეკულათაშორისი სიგნალები კლენპენტეროლის მოლეკულასთან, ამ შემთხვევაშიც მივიღეთ მხოლოდ შიგამოლეკულური სიგნალი თვითონ ციკლოდექსტრინის მოლეკულიდან, რაც იმას მოწმობდა, რომ ამ შემთხვევაშიც არ წარმოქმნილა გარეგანი კომპლექსი.



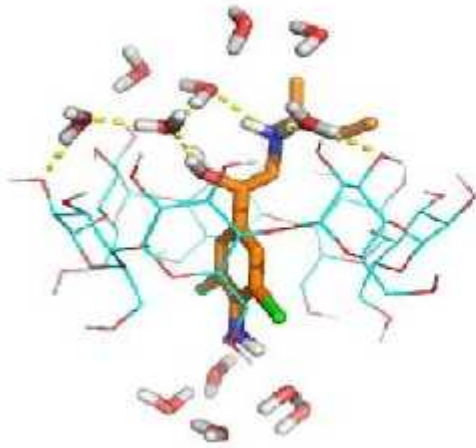
ნახ. 45 2,3-დიაცეტილ-β-ციკლოდექსტრინისა და კლენპენტეროლის კომპლექსის სტრუქტურა.

ანალიზების შედეგად დადასტურდა ჩართული კომპლექსის ფორმირება, თუმცა ამ შემთხვევაში გვაქვს საპირისპირო სურათი, რადგან კლენპენტეროლის მოლეკულა 2,3-დიაცეტილ-β-ციკლოდექსტრინის ღრუში ჩაჯდა ალიფატური ჯაჭვის მხრიდან, ციკლოდექსტრინის მეორეული მხრიდან, ხოლო არომატულ ბირთვი არ ყოფილა ქირალური სელექტორის ღრუში ჩართული.

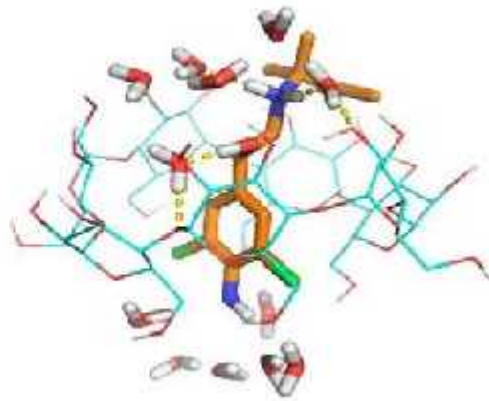
4.3 მოლეკულური მოდელირების შედეგები და განსჯა

100-ns MD სიმულაციების საფუძველზე მივიღეთ დეტალური ატომური ინფორმაცია კომპლექსების სამგანზომილებიანი სტრუქტურისა და მათი დინამიური ქცევის შესახებ წყლიან გარემოში. აღმოჩნდა, რომ კომპლექსები მდგრადია წონასწორობის პერიოდის შემდეგ დაახლოებით 40 ნანოწამის მანძილზე. გლუკოზის ნაშთები ორივე ციკლოდექსტრინის შემთხვევაში ინაჩუნებდნენ სავარძლისებურ კონფორმაციას მთელი სიმულაციების მანძილზე. ციკლოდექსტრინების წაკვეთილი კონუსური ფორმა, რომელიც განისაზღვრება ღრუს ვიწრო მხრით $O(6)H$ ჯგუფებით და განიერ მხარეს არსებული ჰიდროქსილის ჯგუფებით 2 და 3 პოზიციაში ასევე შენარჩუნებულია. საბოლოო ჯამში გეომეტრია ზუსტ თანხვედრაშია ROESY ექსპერიმენტის შედეგებთან.

ორივე ჩართული კომპლექსის შემთხვევაში β -ციკლოდექსტრინთან კლენპენტეროლის ორივე ენანტიომერი ჩართული იყო ქირალური სელექტორის მოლეკულაში დიქლორანილინის ჯგუფით, ხოლო ჰიდროქსილისა და ამინის ჯგუფები, რომელიც იმყოფება საპირისპირო მხარეს (ალიფატურ ჯაჭვში)-ციკლოდექსტრინის განიერ მხარეს, წყალბადურ ბმებს წარმოქმნიან წყლის მოლეკულებთან, რომლებსაც აქვთ ხიდური კავშირები ციკლოდექსტრინის მეორეულ ჰიდროქსილის ჯგუფებთან. პირდაპირი წყალბადური ბმები არ არის ფორმირებული β -ციკლოდექსტრინსა და კლენპენტეროლს შორის, რადგან გარშემორტყმულია გამხსნელით და $C5$ და $C6$ ქმნიან ჰიდროფობურ გარემოს, რაც თავისთავად ზღუდავს ფენილის ბირთვის. იზოფენილის ჯგუფი სრულიად შეზღუდულია გამხსნელის მიმართ და ვიცინალური პროტონირებული ამინო ჯგუფი ძალიან რთულად თუ წარმოქმნის წყალბადურ ბმას ციკლოდექსტრინის ჟანგბად ატომთან.



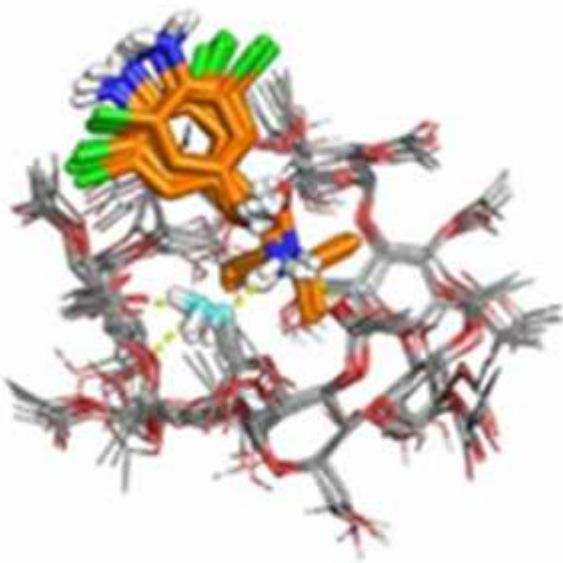
β CD:(*S*)-CPT



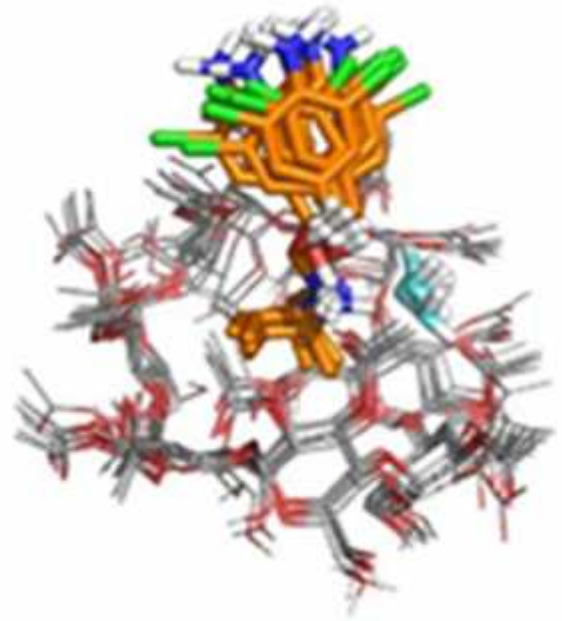
β CD:(*R*)-CPT

ნახ. 46 β -ციკლოდექსტრინისა და კლენპენტეროლის ენანტიომერების სამგანზომილებიანი სტრუქტურა წყლიან გარემოში.

კლენპენტეროლის ორიენტაცია შებრუნებულია 2,3-დიაცეტილ- β -ციკლოდექსტრინის კომპლექსის შემთხვევაში. იზოფენილის ჯგუფი აღმოჩნდა ჩართული ციკლოდექსტრინის ღრუში. კომპლექსებში კლენპენტეროლის ამინო ჯგუფი წარმოქმნის ძლიერ წყალბადურ ბმებს: ერთს აცეტილის ჯგუფის ჟანგბად ატომთან, ხოლო მეორე წყლის შუამავლობით ჩამოყალიბებული წყალბადური მბა დანარჩენ ჟანგბად ატომებთან.



HDA-βCD:(*S*)-CPT



HDA-βCD:(*R*)-CPT

ნახ. 47 2,3-დიაცეტილ-β-ცილოდექსტრინისა და კლენპენტეროლის ენანტიომერების სამგანზომილებიანი სტრუქტურა წყლიან გარემოში.

ცხრილი 10. ბმის ენერგიები (kcal· mol⁻¹)^a კლენპენტეროლის (R) და (S) ენანტიომერების βCD and HDA-βCD-თან.

	კომპლექსი	საერთო ^b	ვან დერ ვაარსული	კოლუმბური	CPT დესოლვატაცია	CD დესოლვატაცია	აპოლარული
1	βCD:(R)-CPT	-30.5 ± 1.6	-31.7 ± 1.5	-1.5 ± 1.5	2.7 ± 0.4	1.9 ± 0.2	-2.0 ± 0.1
2	βCD:(S)-CPT	-29.6 ± 1.2	-31.7 ± 1.4	-0.8 ± 0.9	2.9 ± 0.4	1.9 ± 0.2	-2.0 ± 0.1
3	HDA-βCD:(R)-CPT	-29.9 ± 1.7	-27.8 ± 1.6	-3.9 ± 0.5	-0.6 ± 0.2	4.6 ± 0.2	-2.3 ± 0.1
4	HDA-βCD:(S)-CPT	-31.3 ± 1.1	-29.2 ± 1.1	-4.2 ± 0.8	-0.5 ± 0.5	4.9 ± 0.3	-2.3 ± 0.1

ანალიზების შედეგად აღმოჩნდა, რომ ძირითადი ძალები რომლებიც მონაწილეობდა კომპლექსწარმოქმნის პროცესში წარმოადგენდა ვან დერ ვაარსულ ძალებს. მნიშვნელოვანი განსხვავებაა β-ციკლოდექსტრინისა და 2,3-დიაცეტლ-β-ციკლოდექსტრინის კომპლექსებს შორის, რომლებიც მომდინარეობს განსხვავებული გეომეტრიიდან. 2,3-დიაცეტლ-β-ციკლოდექსტრინის კომპლექსის შემთხვევაში β-ციკლოდექსტრინის კომპლექსთან შედარებით კომპლექსის გეომეტრიიდან გამომდინარე შექმნილია უფრო ხელსაყრელი ელექტროსტატიკური კავშირები, ასევე პირდაპირი და წყლის მოლეკულის შუამავლობით წარმნილი წყალბადური ბმები.

ენანტიომერების კომლექსების სტაბილურობა ორივე ციკლოდექსტრინის შემთხვევაში მცირედ განსხვავდება ერთმანეთისგან. β- ციკლოდექსტრინის კომპლექსის შემთხვევაში R- და S- ენანტიომერების ბმის საერთო ენერგიები მცირედ განსხვავდება ერთმანეთისგან, თუმცა R-ენანტიომერს გააჩნია მცირედ

მაღალი მნიშვნელობის შეკავშირების მუდმივა ციკლოდექსტრინის მოლეკულასთან ვიდრე კლენპენტეროლის S-ენანტიომერს.

2,3-დიაცეტლ- β -ციკლოდექსტრინის კომპლექსის შემთხვევაში β -ციკლოდექსტრინის კომპლექსის მსგავსად ენანტიომერების ბმის მუდმივების საერთო ენერგიები მცირედ განსხვავდება ერთმანეთისაგან, თუმცა ამ შემთხვევაში უფრო მაღალი შეკავშირების მუდმივას მნიშვნელობით ხასიათდება S-ენანტიომერი.

შედეგებიდან გამომდინარე ცხადი გახდა სელექტორ/სელექტანდურ კომპლექსებს შორის განსხვავება ორივე ციკლოდექსტრინის შემთხვევაში. ასევე R- და S- ენანტიომერების შეკავშირების მუდმივების განსხვავებულ მნიშვნელობებს შორის, კერძოდ β -ციკლოდექსტრინის შემთხვევაში R-ენანტიომერის შეკავშირების მუდმივას საერთო ენერგია იყო მეტი ვიდრე S- ის, ხოლო 2,3-დიაცეტილ- β -ციკლოდექსტრინის შემთხვევაში S-ის მნიშვნელობა აღემატებოდა R-ენანტიომერის შეკავშირების მუდმივას საერთო ენერგიის მნიშვნელობას.

ამ შედეგებიდან გამომდინარე, ნათელი გახდა ასევე კლენპენტეროლის ენანტიომერების მიგრაციის რიგის ცვლილების მიზეზი.

5. დასკვნები

1. შესწავლილ იქნა დიმეთინდინის ენანტიომერების დაყოფა ქირალურ სელექტორებად β -CD-ის, DM- β -CD-ის და TM- β -CD-ის გამოყენებით. ჩვენს მიერ მიღებული შედეგებიდან ჩანს, რომ დიმეთინდინის ენანტიომერებს განსხვავებული აფინობა გააჩნიათ სელექტიურად 2 და 6 მდგომარეობაში მეთილირებულ β -CD-ის და ტრიმეთილ β -CD-ის მიმართ, მიღებული შედეგები კარგ თანხვედრაშია ადრე მიღებულ შედეგებთან;
2. შესწავლილ იქნა ვარფარინის, აცენოკუმარინის და კუმატეტრალის ენანტიომერების მიგრაციის რიგის ცვლილება ქირალურ სელექტორებად β -CD-ის, HS- β -CD-ის და HDMS- β -CD-ის გამოყენებით.
3. შესწავლილი იქნა ტეტრაჰიდროზოლინის ენანტიომერების დაყოფა ქირალურ სელექტორებად β -CD-ის, DM- β -CD-ის, HDMS- β -CD-ის და HMDS- β -CD-ის გამოყენებით. ჩვენი ვარაუდით ქირალურ სელექტორად ჰეპტაკის(2-6-დისულფო-3-მეთილ)- β -ციკლოდექსტრინის გამოყენების შემთხვევაში ადგილი აქვს გარე კომპლექსის წარმოქმნას, ხოლო ყველა სხვა დანარჩენ შემთხვევაში სელექტორ-სელექტანდს შორის წარმოიქმნებოდა ჩართული კომპლექსები, რაც გამოიხატა ენანტიომერების მიგრაციის განსხვავებულ რიგით.
4. შესწავლილ იქნა სოფლის მეურნეობაში ფართოდ გამოყენებული ჰერბიციდების მეკოპროპის და დიქლოროპროპის ენანტიომერების დაყოფა ქირალურ სელექტორებად სელექტორებად β -CD-ის, DM- β -CD-ის და TM- β -CD-ის გამოყენებით. დადგინდა, ქირალურ სელექტორებად β -CD-ის და DM- β -CD-ის გამოყენების შემთხვევაში მეკოპროპის და დიქლოროპროპის ენანტიომერების მიგრაციის რიგი ერთი და იგივე იყო, ხოლო მეთილირებული TM- β -CD-ის გამოყენების შემთხვევაში ადგილი ჰქონდა ქირალური გამოცნობის მექანიზმის ცვლილებას, რაც გამოიხატა ენანტიომერების მიგრაციის რიგის შებრუნებით;
5. შესწავლილ იქნა ტერბუტალინის ენანტიომერების გამოცნობის მექანიზმები ნატივური β -CD, მისი ნეიტრალური და ანიონური ნაწარმების გამოყენებით. კაპილარული ელექტროფორეზის ექსპერიმენტის საშუალებით დადგინდა, რომ

ტერბუტალინის ენანტიომერების დასაყოფად ყველაზე მაღალი დაყოფის ფაქტორით ხასიათდება ანიონური HDAS-β-CD. ამ ქირალური სელექტორის გამოყენებით ფუძისეული დაყოფა მიღწეულ იქნა ყველაზე დაბალი კონცენტრაციის პირობებში.

6. ქირალური სელექტორების β-CD და HMDS-β-CD-ის ტერბუტალინის ენანტიომერების გამოცნობის განსხვავებული გამოცნობის მექანიზმები, ისევე როგორც HMDS-β-CD-ის განსაკუთრებულად მაღალეფექტური დაყოფის უნარი შესწავლილ იქნა ხსნარში ქირალური სელექტორების და ტერბუტალინის ენანტიომერების კომპლექსების 1D და 2D ROESY ექსპერიმენტებით და დადგინდა რომ:

- ✓ ქირალურ სელექტორად ნეიტრალური β-CD-ის გამოყენების დროს კომპლექსის წარმოქმნაში განსაკუთრებულ როლს თამაშობს ჰიდროფობური ურთიერთქმედება და ადგილი აქვს ჩართული კომპლექსის წარმოქმნას, ტერბუტალინის არომატული ნაწილი თავსდება β-CD-ის შიგა ღრუში;
- ✓ ქირალურ სელექტორად ანიონური ციკლოდექსტრინების გამოყენების დროს დომინანტურ როლს ასრულებს ელექტროსტატიკური ურთიერთქმედება და ადგილი ქვს ალიფატური მხრიდან ჩართული კომპლექსის წარმოქმნას HMDS-β-CD და HDAS-β-CD ციკლოდექსტრინების სხვადასხვა მხრიდან;

7. შესწავლილ იქნა ბრომბუტეროლის ენანტიომერების გამოცნობის მექანიზმები ნატივური β-CD, მისი ნეიტრალური და ანიონური ნაწარმების გამოყენებით. აღმოჩნდა, რომ ქირალურ სელექტორებად ნატივური β-CD და -CD-ის გამოყენებისას მიღებულ იქნა ბრომბუტეროლის ენანტიომერების განსხვავებული მიგრაციის რიგი, მიუხედავად იმისა, რომ ROESY ექსპერიმენტებით ხსნარში ამ ორ სელექტორთან ბრომბუტეროლის კომპლექსების შესწავლამ მათ შორის დიდი განსხვავება ვერ აჩვენა;

8. ნატივური β-CD-ის და -CD-ის გამოყენებისას ბრომბუტეროლის ენანტიომერების მიგრაციის განსხვავებულმა რიგმა სელექტორ სელექტანდის

კომპლექსების სტრუქტურაში არარსებული განსხვავების პირობებში კიდევ ერთხელ დაადასტურა, რომ სელექტორ სელექტანდის კომპლექსების მცირე თავისუფალი ენერგიების განსხვავების შემთხვევაშიც კი შესაძლებელია ენანტიომერების დაყოფა კაპილარული ელექტროფორეზის გამოყენებით;

9. ბრომბუტეროლის ენანტიომერების მიგრაციის განსხვავებულმა რიგი იქნა მიღებული ქირალურ სელექტორებად β -CD-ის და მისი ორი დამუხტული ანიონური, კერძოდ სულფატირებული ნაწარმის გამოყენებისას, კერძოდ HDAS- β -CD and HMDS- β -CD. ამ უკანასკნელ შემთხვევაში სელექტორ სელექტანდის კომპლექსებს შორის ნიშნელოვანი განსხვავება იქნა აღმოჩენილი ROESY ექსპერიმენტების გამოყენებით, მიუხედავად აღნიშნულისა შეუძლებელია იმ კრიტიკული სტრუქტურული განსხვავების იდენტიფიცირება, რომელმაც გამოიწვია გამოცნობის მექანიზმის შებრუნება;
10. შვეისწავლეთ კლენპენტეროლის ენანტიომერების დაყოფა და მიგრაციის რიგის ცვლილება კაპილარულ ელექტროფორეზში ქირალურ სელექტორებად სხვადასხვა ციკლოდექსტრინების გამოყენებით. მოლეკულური დინამიკის საშუალებით დადგინდა ენანტიომერების შეკავშირების მუდმივების ენერგიებს შორის მცირე სხვაობა, რაც საკმარისი აღმოჩნდა ენანტიომერების დასაყოფად.
11. შესწავლილ იქნა კლენპენტეროლი/ β -CD და კლენპენტეროლი/HDA- β -CD კომპლექსების აგებულება ხსნარში ბმრ-სპექტროსკოპიის რამდენიმე მეთოდის საშუალებით. მიღებული შედეგების საფუძველზე და მოლეკულური მოდელირების მეთოდების გამოყენებით დადგინდა, რომ:
 - ✓ კლენპენტეროლის ენანტიომერები β -CD-თან და HDA- β -CD-თან წარმოქმნიან კომპლექსებს, რომლებიც ხასიათდებიან განსხვავებული ძვრადობით და შესაბამისად ადგილი აქვს ენანტიომერების დაყოფას ორივე აღნიშნული სელექტორის გამოყენებით;
 - ✓ ბმრ ექსპერიმენტების და მოლეკულური მოდელირების გამოყენებით დადგინდა რომ კლენპენტეროლის ენანტიომერები β -CD-თან და HDA- β -CD-თან წარმოქმნიან განსხვავებული ტიპის ჩართულ კომპლექსებს;

- ✓ R- და S- ენანტიომერების შეკავშირების მუდმივების განსხვავებულ მნიშვნელობებს შორის, კერძოდ β -CD -ის შემთხვევაში R-ენანტიომერის შეკავშირების მუდმივას საერთო ენერგია იყო მეტი ვიდრე S- ის, ხოლო HDA- β -CD-ის შემთხვევაში S-ის მნიშვნელობა აღემატებოდა R-ენანტიომერის შეკავშირების მუდმივას საერთო ენერგიის მნიშვნელობას.

6. გამოყენებული ლიტერატურა

- [1] Capillary Electrophoresis in Chiral Analysis, B. Chankvetadze, John Wiley & Sons, Chchester, UK, 1997, 555 pp.;
- [2] J. 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;
- [3], Jones, J. A.; Regan, B.; Painter, J.; Mills, J.; Dutta, I.; Khajavi, B.; Galvez, Searching for the helical-gradient force on chiral molecules E. J., 10.1117/12.2253268;
- [4] Cahn-Ingold-Prelog Notation Tutorial, CIP Notation Tutorial;
- [5] Mark A.J. Koenis, C. S. Chibueze, M. A. Jinks, Valentin P. Nicu, Lucas Visscher, S. M. Goldup, Wybren J. Buma, Vibrational Circular Dichroism Spectroscopy for Probing the Expression of Chirality in Mechanically Planar Chiral Rotaxanes, Chemical Science (IF 9.346), 2020-07-23,
- [6] W C Guida, K G Daniel, W H Brooks 1, The Significance of Chirality in Drug Design and Development,; 2011;11(7):760-70
- [7] Romain Gautier, Optical activity from racemates, Nature Materials volume 15, pages591–592(2016);
- [8] Jonathan McConathy, Stereochemistry in Drug Action, Prim Care Companion J Clin Psychiatry, 2003; 5(2): 70–73 ;

- [9]. Imran Ali, Vinod K Gupta, Hassan Y Aboul-Enein, Prashant Singh, Bhavtosh Sharma, Role of racemization in optically active drugs development, *Chirality* 2007 Jun;19(6):453-63;
- [10]. H. D. Flack *Acta*, Louis Pasteur's discovery of molecular chirality and spontaneous resolution in 1848, together with a complete review of his crystallographic and chemical work, *Cryst.* (2009). A65, 371-389;
- [11]. Brooks WH1, Guida WC, K G Daniel, The significance of chirality in drug design and development, *Curr Top Med Chem*, 11(7):760-770;
- [12] I K Reddy , T R Kommuru, A A Zaghloul, M A Khan, Chirality and its implications in transdermal drug development., *Crit Rev Ther Drug Carrier Syst.* 2000;17(4):285-325;
- [13] *Chirality and Biological Activity of Drugs*, Crossey R.J. Boca Raton USA, CRC Press. 1995.199;
- [14] Gil-Av E. Freibusch B. Charles-Sigler R., Separation of enantiomers by gas liquid chromatography with an optically active stationary phase. *Tetraheron Letters* 7. 1966. 1009-1015.
- [15] S. Ahuja, *Chiral separation methods for pharmaceutical and biotechnological products*. New Jersey USA. Wiley & Sons Inc. 2011. 458.
- [16] Depta A. Giese T. Johannsen M. Brunner G., Separation of stereoisomers in a simulated

moving bed-supercritical fluid chromatography plant. *Journal of Chromatography A*.
1999.

Volume 865. Issue 1-2. 175-186

[17] F. H. M. van Zelst, S. G, Characterising polar compounds using supercritical fluid chromatography–nuclear magnetic resonance spectroscopy (SFC–NMR), *Faraday Discuss.*, 2019,218, 219-232

[18] Klesper E., Corwin A. H., Turner D. A., High pressure gas chromatography above critical temperatures, *J. Org. Chem.* 27, 1962, 700-701;

[19] *Chiral Recognition in Separation Methods*, A. Berthod, Springer Science & Business Media, 2010

[20] *Tswett and the invention of chromatography*, Ettre L.S. M.S., LCGC North America. 2003.;

[21] *Liquid Chromatography Fundamentals and Instrumentation*. Fanali S. Haddad P.R. Poole C. Schoenmakers P. Lloyd D. Waltham USA. Elsevier. 2013. 520.;

[22] *Fundamentals of preparative and nonlinear chromatography*. 2nd edition. Guiochon G. Felinger A. Shirazi D.G. Katti A.M. Amsterdam. Academic Press. 2006. 975. ;

[23] James W. Jorgenson, Krynn DeArman. Lukacs, Zone electrophoresis in open-tubular glass capillaries, *Anal. Chem.* 1981, 53, 8, 1298–1302;

[24] Robert L. St. Claire, *Capillary Electrophoresis*, *Anal. Chem.* 1996, 68, 12, 569–586;

- [25] Jay J. Corr and Joseph F. Anacleto, Analysis of Inorganic Species by Capillary Electrophoresis–Mass Spectrometry and Ion Exchange Chromatography–Mass Spectrometry Using an Ion Spray Source, *Anal. Chem.* 1996, 68, 13, 2155–2163;
- [26] Laurent Geiser, Determination of pK(a) values by capillary zone electrophoresis with a dynamic coating procedure, *Journal of Separation Science* 28(17):2374-80
- [27] Bezhan Chankvetadze, Wolfgang Lindner, and Gerhard K. E. Scriba, Enantiomer Separations in Capillary Electrophoresis in the Case of Equal Binding Constants of the Enantiomers with a Chiral Selector: Commentary on the Feasibility of the Concept, *Anal. Chem.* 2004, 76, 14, 4256–4260
- [28] Yu-Qi Feng, Capillary electrophoresis and open tubular capillary electrochromatography using a magnesia–zirconia coated capillary, *Analytica Chimica Acta* 428(2):255-263
- [29] Bezhan Chankvetadze, Separation of enantiomers with charged chiral selectors in CE, *ELECTROPHORESIS: PAST, PRESENT AND FUTURE* , 2009
- [30] Cheng S. Lee, William C. Blanchard, and Chin Tiao. Wu, Direct control of the electroosmosis in capillary zone electrophoresis by using an external electric field , *Anal. Chem.* 1990, 62, 14, 1550–1552
- [31] R. Freitag, Capillary Gel Electrophoresis, *Encyclopedia of Separation Science*, 2000
- [32] T. Hirokawa, Isotachopheresis, *Encyclopedia of Separation Science*, 2000
- [33] Cyro L.S. Chagas, Wendell K.T. Coltro, Instrumental Platforms for Capillary and Microchip Electromigration Separation Techniques, *Capillary Electromigration Separation Methods*, 2018

- [34] K.N. Marsh, S. Van Herwaarden, Measurement of the Thermodynamic Properties of Single Phases, *Experimental Thermodynamics*, 2003
- [35] Paweł Mateusz Nowak, corresponding author Michał Woźniakiewicz, Magdalena Janus, Paweł Kościelniak, Enhancing effectiveness of capillary electrophoresis as an analytical tool in the supramolecular acidity modification, 2017; 409(14): 3633–3643.
- [36] Enantioseparations by Capillary Electromigration Techniques, Bezhana Chankvetadze, *Chiral Analysis (Second Edition)*, 2018
- [37] ანა გოგოლაშვილი, სამაგისტრო ნაშრომი, 2017
- [38] Electrophoretic Mobility, Catherine Charcosset, *Encyclopedia of Membranes* (pp.1-2), Springer, Berlin, Heidelberg, 2015
- [39] Yvonne Walbroehl and James W. Jorgenson, Capillary zone electrophoresis of neutral organic molecules by solvophobic association with tetraalkylammonium ion, *Anal. Chem.* 1986, 58, 2, 479–481
- [40] Capillary separation: micellar electrokinetic chromatography, Shigeru Terabe, 10.1146/annurev.anchem.1.031207.113005
- [41] Bezhana Chankvetadze, Combined approach using capillary electrophoresis and NMR spectroscopy for an understanding of enantioselective recognition mechanisms by cyclodextrins, *Chemical Society Reviews*, 2004
- [42] B. Chankvetadze, Enantioseparations in capillary electromigration techniques: recent developments and future trends. Hittorfstrasse 58-62, 48149 Munster, Germany, *Journal of Chromatography A*, 906 (2001) 309–363

- [43] G.K.E.Scriba, *Chiral Separations in Capillary Electrophoresis*, Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering, Elsevier Reference Collection, 2015
- [44] Ivan Mikšík, *Capillary Gel and Sieving Electrophoresis, Capillary Electromigration Separation Methods*, 2018
- [45] K. Kakehi, S. Suzuki, *Analysis of Glycans; Polysaccharide Functional Properties*, Comprehensive Glycoscience, 2007
- [46] Bezhan Chankvetadze, *Enantioseparation in Capillary Chromatography and Capillary Electrochromatography Using Polysaccharide-Type Chiral Stationary Phases*, *Methods in Molecular Biology*, pp 387-399, 2004
- [47] M Girod 1, B Chankvetadze, G Blaschke, *Enantioseparations in non-aqueous capillary electrochromatography using polysaccharide type chiral stationary phases*, *Journal of Chromatography A*, 2000
- [48] A. Rocco, G. D’Orazio, Z. Aturki, S. Fanali, *Capillary Electrochromatography: A Look at Its Features and Potential in Separation Science*, Elsevier Science, 2013
- [49] Chankvetadze, B., Burjanadze, N., Maynard, D. M., Bergander, K., Bergenthal, D., Blaschke, G., *Electrophoresis* 2002, 23, 3027–3034.
- [50] Servais, A.- C., Rousseau, A., Fillet, M., Lomsadze, K., Salgado, A., Crommen, J., Chankvetadze, B., *Electrophoresis* 2010, 31, 1467–1474.
- [51] Lomsadze, K., Salgado, A., Calvo, E., Lopez J. A., Chankvetadze, B., *Electrophoresis* 2011, 32, 1156– 1163.
- [52] Chankvetadze, L., Servais, A.- C., Fillet, M., Salgado, A., Crommen, J., Chankvetadze, B., *J. Chromatogr. A* 2012, 1267, 206–216.

- [53] Maynard, D. K., Vigh, G., *Electrophoresis* 2001, 22, 3152–3162.
- [54] Maynard, D. K., Vigh, G., *Carbohydr. Res.* 2000, 328, 277–285. [54] The role of cyclodextrins in chiral capillary electrophoresis, Zoltán Juvancz, *Electrophoresis* 29(8):1701-12
- [55] J Wang, I M Warner, Combined polymerized chiral micelle and gamma-cyclodextrin for chiral separation in capillary electrophoresis, *J Chromatogr A*, 1995 Sep 22;711(2):297-304.
- [56] Stephen Wren T. A. Berger K.-S. Boos H. Engelhardt E. R. Adlard I. W. Davies K. D. Altria R. Stock, *The Use of Cyclodextrins as Chiral Selectors CHROM*, volume 6, 1997
- [57] Effect of Cyclodextrin Derivatization on Solubility and Efficacy of Drugs, *Colloid Science in Pharmaceutical Nanotechnology*, 2019
- [58] Syed Haroon Khalid, Mehreen Bashir, Sajid Asghar, Tauqeer Hussain Mallhi, Ikram Ullah Khan, Izuru Miyazawa, Physicochemical properties and inclusion complex formation of δ -cyclodextrin, *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, Volume 3, Issue 3, 1995, Pages 153-162
- [59] Yoshinori Takashima, Inclusion Complex Formation and Hydrolysis of Lactones by Cyclodextrins, *Chemistry Letters* 32(12):1122-1123, 2003
- [60] Bezhan Chankvetadze, Chiral Recognition and Enantioseparation Mechanisms in Capillary Electrokinetic Chromatography, *Chiral Recognition in Separation Methods* pp 97-152, 2010

- [61] Paola Peluso, Bezhan Chankvetadze, The molecular bases of chiral recognition in 2-(benzylsulfinyl) benzamide enantioseparation, *Analytica Chimica Acta*, Volume 1141, 2021
- [62] Kondo S. Yamamoto C. Kamigaito M. Okamoto Y. Synthesis and chiral recognition of novel regioselectively substituted amylose derivatives. *Chemistry Letters*. 2008. Volume 37 Issue 5. 558-559
- [63] Lindner K.R. Mannschreck A. Separation of enantiomers by high-performance liquid chromatography on triacetylcellulose. *Journal of Chromatography A*. 1980. Volume 193 Issue 2. 308-310
- [64] ქეთევან ლომსაძე, ბირთვულ მაგნიტური რეზონანსის სპექტროსკოპია, სალექციო კურსი
- [65] ბეჟან ჭანკვეტაძე, ბირთვულ მაგნიტური რეზონანსის სპექტროსკოპია, სალექციო კურსი
- [66] Mill Valley, One-dimensional and two-dimensional NMR Spectra by Modern Pulse Techniques. California: University Science Books. p. 136., 1992
- [67] Applications of nuclear magnetic resonance spectroscopy for the understanding of enantiomer separation mechanisms in capillary electrophoresis, Antonio Salgado, Bezhan Chankvetadze, *Journal of Chromatography A* 1467
- [68] Gerhard K. E. Scriba, Chiral Recognition Mechanisms in Analytical Separation Sciences, *Chromatographia* volume 75, pages815–838(2012)
- [69] Ida Fejősa, Single isomer cyclodextrins as chiral selectors in capillary electrophoresis, *Journal of Chromatography A*, Volume 1627, 2020,

- [70] Combined Approach Using Capillary Electrophoresis and NMR Spectroscopy for an Understanding of Enantioselective Recognition Mechanisms by Cyclodextrins, Bezhn Chankvetadze, *Chemical Society Reviews* 33(6):337-47
- [71] Jeffrey H. Simpson, *Through-Space Effects: The Nuclear Overhauser Effect (NOE), A Problem-Based Approach*, 2012, Pages 169-184
- [72] Mike P. Williamson, *NUCLEAR MAGNETIC RESONANCE SPECTROSCOPY TECHNIQUES | Nuclear Overhauser Effect*, *Encyclopedia of Analytical Science (Second Edition)* 2005
- [73] Martin Huenges, *Structural Chemistry Using NMR Spectroscopy, Peptides*, *Encyclopedia of Spectroscopy and Spectrometry (Third Edition)*, 2017
- [74] Edwin D. Becker, *Two-Dimensional NMR, High Resolution NMR (Third Edition) Theory and Chemical Applications*, 1999
- [75] Ketevan Lomsadze, Elena Domínguez Vega, Antonio Salgado Antonio L. Grego Gerhard K.E. Scriba Maria Luisa Marina, Bezhn Chankvetadze, Separation of enantiomers of norephedrine by capillary electrophoresis using cyclodextrins as chiral selectors: Comparative CE and NMR studies, *Special Issue: Electromigration Techniques in Pharmaceutical Analysis*, 2012
- [76] Tsang Lin Hwang and A. J. Shaka, J. Cross relaxation without TOCSY: transverse rotating-frame Overhauser effect spectroscopy, *Am. Chem. Soc.* 1992, 114, 8, 3157–3159
- [77] David Neuhaus, *Nuclear Overhauser Effect*, *eMagRes*, 2011
- [78] G.M. CLORE AND A.M. GRONENBORN, *Theory and Applications of the Transferred Nuclear Overhauser Effect to the Study of the Conformations of Small*

- Ligands Bound to Proteins, JOURNAL OF MAGNETIC RESONANCE 48,402-417 (1982)
- [79] Russell Hopson, Po Yin Bowie Lee, and Kathleen M. Hess, 1-Dimensional Selective Nuclear Overhauser Effect NMR Spectroscopy to Characterize Products from a Two-Step Green Chemistry Synthesis, J. Chem. Educ. 2018, 95, 4, 641–647
- [80] Sándor Boros, Offset compensated and zero quantum suppressed ROESY provides accurate 1H–1H distances in small to medium sized molecules, Magnetic Resonance in Chemistry 54(12):947-952
- [81] Sulaiman Krait, Antonio Salgado, Claudio Villani, Lukas Naumann, Christian Neusüß, Bezhan Chankvetadze, Gerhard K E Scriba, Unusual Complexation Behavior between Daclatasvir and γ -Cyclodextrin. A Multiplatform Study, Journal of Chromatography A, 2020
- [82] Applications of nuclear magnetic resonance spectroscopy for the understanding of enantiomer separation mechanisms in capillary electrophoresis. Salgado A, Chankvetadze B, Journal of chromatography. A, 31 Aug 2016, 1467:95-144
- [83] Raymond B. Yu, Chiral Selectors in Capillary Electrophoresis: Trends during 2017–2018, Molecules 2019, 24(6)
- [84] Joseph K. Rugutt, GR 24 Enantiomers: Synthesis, NMR Spectroscopy, X-ray Crystallography, and Separation by Chiral Electrokinetic Capillary Chromatography, Anal. Chem. 2000, 72, 16, 3887–3895
- [85] Bezhan Chankvetadze, Enantiomer migration order in chiral capillary electrophoresis, Special Issue: Capillary Electrophoresis and Electrochromatography Reviews: Fundamentals, 2002

- [86] Abdalla Elbashir, Combined Approach Using Capillary Electrophoresis and Molecular Modeling for an Understanding of Enantioselective Recognition Mechanisms, *Journal of Applied Solution Chemistry and Modeling*, Volume 1, 2012
- [87] B. Chankvetadze, N. Burjanadze, G. Pintore, D. Bergenthal, K. Bergander, C. Mühlenbrock, J. Breitkreutz, G. Blaschke, Separation of brompheniramine enantiomers by capillary electrophoresis and study of chiral recognition mechanisms of cyclodextrins using NMR-spectroscopy, UV-spectrometry, ESI-MS and x-ray crystallography, *J. Chromatogr. A*, 875(2000) 471-484.
- [88] B. Chankvetadze, G. Pintore, N. Burjanadze, D. Bergenthal, D. Strickmann, R. Cerri, G. Blaschke, Capillary electrophoresis, nuclear magnetic resonance and mass-spectrometric studies of opposite chiral recognition of chlorpheniramine enantiomers with various cyclodextrins, *Electrophoresis*, 19 (1998) 2101-2108.
- [89] Chankvetadze, B., Pintore, G., Burjanadze, N., Bergenthal, D., Bergander, K., Breitkreutz, J., Mühlenbrock, C., Blaschke, G., Mechanistic study of opposite migration order of dimethindene enantiomers in capillary electrophoresis in the presence of native β -CD and heptakis-(2,3,6-tri-O-methyl)- β -CD *J. Chromatogr. A* 2000, 875, 455– 469.
- [90] Hellriegel, C., Händel, H., Wedig, M., Steinhauer, S., Sörgel, F., Albert, K., Holzgrabe, U., *J. Chromatogr. A* 2001, 914, 315–324.
- [91] Krait, S., Salgado, A., Chankvetadze, B., Gago, F., Scriba, G. K. E. *J. Chromatogr. A* 2018, 1567, 198–210.

- [92] Salgado, A., Tatunashvili, E., Gogolashvili, A., Chankvetadze, B., Gago, F., Phys. Chem. Chem. Phys. 2017, 19, 27935–27939.
- [93] Chankvetadze, B., Burjanadze, N., Maynard, D. M., Bergander, K., Bergenthal, D., Blaschke, G., Electrophoresis 2002, 23, 3027–3034.
- [94] Servais, A.- C., Rousseau, A., Fillet, M., Lomsadze, K., Salgado, A., Crommen, J., Chankvetadze, B., Electrophoresis 2010, 31, 1467–1474.
- [95] Lomsadze, K., Salgado, A., Calvo, E., Lopez J. A., Chankvetadze, B., Electrophoresis 2011, 32, 1156– 1163.
- [96] Chankvetadze, L., Servais, A.- C., Fillet, M., Salgado, A., Crommen, J., Chankvetadze, B., J. Chromatogr. A 2012, 1267, 206–216.
- [97] Maynard, D. K., Vigh, G., Electrophoresis 2001, 22, 3152–3162.
- [98] Maynard, D. K., Vigh, G., Carbohydr. Res. 2000, 328, 277–285.
- [99] Gogolashvili, A., Tatunashvili, E., Chankvetadze, L., Sohajda, T., Szemann, J., Salgado, A., Chankvetadze, B., Electrophoresis 2017, 38, 1851–1859.
- [100] Gogolashvili, A., Tatunashvili, E., Chankvetadze, L., Sohajda, T., Szemann, J., Gumustas, M., Ozkan, S., Salgado, A., Chankvetadze, B., J. Chromatogr. A 2018, 1571, 231–23

დანართი 1. სადისერტაციო თემასთან დაკავშირებული
გამოქვეყნებული პუბლიკაციები

- 1) 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, March 2017, Electrophoresis 38(15):1851-1859
- 2) Structural rationale for the chiral separation and migration order reversal of clenpenterol enantiomers in capillary electrophoresis using two different β -cyclodextrins, September 2017, Physical Chemistry Chemical Physics 19(41):27935 – 27939
- 3) Separation of terbutaline enantiomers in capillary electrophoresis with cyclodextrin-type chiral selectors and investigation of structure of selector-selectand complexes, August 2018, Journal of Chromatography A 1571:231-239
- 4) Separation of brombuterol enantiomers in capillary electrophoresis with cyclodextrin type chiral selectors and investigation of structure of selector selectand complexes using nuclear magnetic resonance spectroscopy, March 2019, Electrophoresis 40(15):1904-1912
- 5) Separation of terbutaline enantiomers in capillary electrophoresis with neutral cyclodextrin-type chiral selectors and investigation of the structure of selector-selectand complexes using nuclear magnetic resonance spectroscopy, February 2020, Electrophoresis 41(12)
- 6) Separation of tetrahydrozoline enantiomers in capillary electrophoresis with cyclodextrin-type chiral selectors and investigation of chiral recognition mechanisms, Journal of Chromatography A Volume 1643, 26 March 2021, 46208