

ივანე ჯავახიშვილის სახელობის თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტი

ელენე ტატუნაშვილი

კლენპენტეროლის ენანტიომერების დაყოფა ციკლოდექსტრინის
ტიპის ქირალური სელექტორებით კაპილარულ ელექტროფორეზში
და სელექტორ-სელექტანდის კომპლექსების სტრუქტურის კვლევა
ბირთვულ-მაგნიტური რეზონანსის მეთოდით

ქიმიური ექსპერტიზა

ნაშრომი შესრულებულია ქიმიის მაგისტრის აკადემიური ხარისხის
მოსაპოვებლად

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

თბილისი

2017

სარჩევი

ანოტაცია-----	3
შესავალი-----	7
1. ლიტერატურული ნაწილი	
1.1 კაპილარული ელექტროფორეზის გამოყენება და ნივთიერებათა ძვრადობის განმსაზღვრელი ფაქტორები	9
1.1.1 ელექტროფორეტული ძვრადობა-----	9
1.1.2 ელექტროოსმოტური ძვრადობა-----	11
1.2 კაპილარული ელექტროფორეზის უპირატესობები-----	16
1.3 ქირალური ნივთიერებების ენანტიომერების დაყოფა ქირალურ სელექტორებად ციკლოდექსტრინების გამოყენებით-----	17
1.3.1 ციკლოდექსტრინები-----	18
1.4 თანამედროვე ინსტრუმენტული მეთოდები სელექტორ/სელექტანდის კომპლექსის კვლევისათვის-----	19
1.4.1 ბმრ სპექტროსკოპიის უპირატესობები-----	19
1.4.2 ROESY სპექტროსკოპია-----	20
2. ექსპერიმენტული ნაწილი	
2.1 გამოყენებული ხელსაწყოები-----	22
2.2 გამოყენებული რეაგენტები-----	23
2.3 ენანტიომერების ფრაქციონირება-----	24
2.4 კაპილარული ელექტროფორეზის ექსპერიმენტის პირობები-----	25
2.5 ბირთვულ მაგნიტური რწზონანსის პირობები-----	25
3. ექსპერიმენტების შედეგები და განსჯა	
3.1 კაპილარული ელექტროფორეზის შედეგები-----	26
3.2 ბმრ სპექტროსკოპიის ექსპერიმენტის შედეგები-----	31
3.3 მოლეკულური დინამიკის შედეგები-----	40
3.4 ბმის ენერგიები-----	42
დასკვნები-----	43
გამოყენებული ლიტერატურა-----	44

ანოტაცია

ასიმეტრიული ორგანული მოლეკულების არსებობა უკვე დიდი ხანია ცნობილია. დღესდღეობით სამკურნალწამლო ნივთიერებების ნახევარზე მეტი შეიცავს ქირალურ ცენტრს მოლეკულაში, მათი 90% გამოიყენება რაცემატის სახით, რომლებიც შედგება ენანტიომერების ეკვიმოლური რაოდენობისგან. მიუხედავად იმისა, რომ ენანტიომერებს გააჩნიათ ერთნაირი ქიმიური ფორმულა და ერთნაირი ფიზიკურ-ქიმიური თვისებები, ისინი ერთმანეთისგან განსხვავდებიან ფერმენტებთან, პროტეინებთან და რეცეპტორებთან მოქმედებით. სწორედ ეს განაპირობებს მათ განსხვავებულ ბიოლოგიურ მოქმედებას ორგანიზმზე. ამ მიზეზის გამო ზოგიერთი სამკურნალო საშუალება იწარმოება ერთი, დადებითი თერაპიული მოქმედების ენანტიომერის სახით. აღნიშნულიდან გამომდინარე ახალი გაუმჯობესებული მეთოდების შემუშავება ენანტიომერების დასაყოფად და განსაზღვრისათვის აუცილებელია.

კაპილარული ელექტროფორეზი წარმოადგენს ნივთიერებათა დაყოფის ელექტროკინეტიკურ მეთოდს, რომელიც ფართოდ გამოიყენება ენანტიომერული ნარეგების ანალიზის მიზნით. კაპილარულ ელექტროფორეზში ენანტიომერების დაყოფა შესაძლებელია მხოლოდ ქირალური სელექტორების გამოყენებით. აღნიშნულ მეთოდში ქირალურ სელექტორებად ყველაზე ხშირად გამოიყენება ციკლოდექსტრინები. ციკლოდექსტრინები ენანტიოსელექტიურად გამოიცილობენ ენანტიომერებს გარდამავალი (დროებითი) არაკოვალენტური დიასტერეომერული კომპლექსების წარმოქმნის გზით.

წინამდებარე სამუშაოში შესწავლილი იქნა ბეტა-ადრენერგული აგონისტების კლასის წარმომადგენელი ქირალური ნივთიერების, კლენპენტეროლის ენანტიომერების დაყოფა და ენანტიომერების მიგრაციის რიგი ნეიტრალური და β -ციკლოდექსტრინის დამუხტული და დაუმუხტავი ნაწარმებით კაპილარულ ელექტროფორეზში. ანალიზების შედეგად აღმოჩნდა, რომ მიგრაციის რიგის ცვლილება მოხდა ჰეპტაკის(2,3-დიაცეტილ) β -ციკლოდექსტრინისა და ჰეპტაკის(2,6-დისულფო-3-მეთილ) β -ციკლოდექსტრინის შემთხვევაში ნეიტრალურ β -ციკლოდექსტრინთან შედარებით. აღნიშნულიდან გამომდინარე, მიგრაციის რიგზე გავლენა მოახდინა ციკლოდექსტრინის მოლეკულაში ერთ შემთხვევაში აცეტილის ჯგუფების არსებობამ, ხოლო მეორე შემთხვევაში მეთილისა და ორი სულფატური ჯგუფის ერთდროულმა არსებობამ. როგორც ცნობილია, სხვადასხვა ციკლოდექსტრინის გამოყენებისას ენანტიომერების მიგრაციის

რიგის ცვლილება გამოწვეულია მოლეკულათშორისი გამოცნობის მექანიზმის ცვლილებით, რის გამოც მიიღება არაკოვალენტური გარდამავალი კომპლექსების განსხვავებული ელექტროფორეტული ძვრადობები.

კვლევის შემდგომ საფეხურს წარმოადგენდა კომპლექსწარმოქმნის მექანიზმის ახსნა და იმ მოლეკულათშორისი ძალების დახასიათება, რომლებიც განაპირობებდა სელექტორ-სელექტანდის შეკავშირებას და ქირალურ გამოცნობას. იმისათვის რომ დავახასიათოთ მოლეკულათშორისი კავშირები ნივთიერების მოლეკულასა და სელექტორს შორის საჭიროა სელექტორ/სელექტანდის კომპლექსის სტრუქტურის ვიზუალიზაცია. კომპლექსის სტრუქტურის დადგენის მიზნითა და სელექტორ/სელექტანდის შორის შეკავშირების მუდმივების განსაზღვრისათვის საჭირო იყო ჩაგვეტარებინა ბურთვულ მაგნიტური რეზონანსის ექსპერიმენტები, კერძოდ კი ROESY ექსპერიმენტები და მოლეკულური მოდელირების მეთოდები.

ბირთვულ მაგნიტური რეზონანსის ექსპერიმენტები ჩატარდა კლენპენტეროლის მონიშნული ნიმუშისა და იმ ციკლოდექსტრინების ნარევის ხსნარებში, სადაც მოხდა მიგრაციის რიგის ცვლილება. სიგნალების მიკუთვნების მიზნით თავდაპირველად ჩატარდა 1D და 2D ექსპერიმენტები: H1, HSQC და COSY. კომპლექსის მოლეკულათშორისი კავშირების დასადგენად და კომპლექსის სტრუქტურის ასაგებად ჩატარდა 1D და 2D ROESY. სელექტიური დასხივების მეთოდის გამოყენებით დასხივდა ყველა პროტონი სისტემაში და დარეგისტრირდა მის ახლოს მყოფი პროტონებისგან მიღებული სიგნალები. ჩატარებული ექსპერიმენტების საფუძველზე მიღებული შედეგებითა და მოლეკულური მოდელირების მეთოდების დახმარებით კლენპენტეროლი/ 2,3-დიაცეტილ β- და კლენპენტეროლი/ β-ციკლოდექსტრინის კომპლექსებს შორის მნიშვნელოვანი განსხვავება დადგინდა როგორც სტრუქტურის ასევე შეკავშირების მუდმივების საერთო ენერგიების მხრივაც.

Annotation

The existences of chiral organic molecules have long been known. In pharmaceutical industries approximately 90% of chiral drugs are marketed as racemates, consisting of an equimolar mixture of two enantiomers. Although the enantiomers have the same chemical connectivity of atoms, they differ in their interactions with enzymes, proteins and receptors. These differences in interactions lead to differences in the biological activities. With this tendency the development of new improved methods for the separation and determination of enantiomers became a permanent necessity and also a challenge.

Capillary electrophoresis (CE) is beginning to play a major role in the separation of chiral compounds. In capillary electrophoresis enantioseparation can be achieved only using chiral selectors. Cyclodextrins (CDs) are the important and frequently used class of chiral selectors in CE. In process of enantioseparation, cyclodextrins discriminate between the enantiomers by an enantioselective complexation of the analyte and the chiral selector, giving rise to differences in the electrophoretic mobilities of the enantiomers.

In the present work enantioseparation and enantiomer migration order of the chiral β -adrenergic agonist drug clenpenterol in the presence of native cyclodextrins and charged and uncharged derivatives of β -CD as chiral selectors was studied in CE. The reversal of enantiomer migration order (EMO) was observed in case of heptakis(2,3-diacetyl)- β -cyclodextrin and heptakis(2,6-disulfo-3-methyl)- β -cyclodextrin compared with native β -cyclodextrin. Reversal of EMO can be achieved by changes in the electrophoretic mobilities of the complexes formed between the chiral selector and each enantiomer which can be caused by modifications in the molecular recognition mechanisms between enantiomer and chiral selector.

On the next stage of our investigation, the attempt was made to explain complexation mechanism and evaluate the intermolecular forces which take part in chiral recognition. Therefore, in order to understand the fine intermolecular interactions between analyte and selector and evaluate nature of intermolecular forces, the structure of the complexes enantiomer-chiral selector was rationalized by using NMR spectroscopy experiments, in particular rotating frame nuclear Overhauser experiment (ROESY) and molecular modeling methods.

The possible mechanisms of the EMO reversal of the clenpenterol enantiomers depending on the structure of the CD were studied by using ^1H NMR, HSQC, COSY and 1D and 2D ROESY experiments. Selective ROESY experiments were carried out to all systems in which reversal of enantiomer migration order was seen in CE

runs. Selective irradiations were done with the aim to detect intermolecular NOE interactions, and to detail the structure of the complexes. Thereby, significant differences were observed between the structure of β -cyclodextrin and HDA- β -CD complexes with Clenpenterol and also in case of total energies of binding forces of each enantiomer with CDs.

შესავალი

თავდაპირველად ქირალობა აღმოაჩინა ლუის პასტერმა 1848 წელს, რომელმაც პირველად ხელით დაყო ღვინის მჟავას ენანტიომერები[1]. დაახლოებით ერთი საუკუნე დასჭირდა ქირალობის მნიშვნელობის და ფენომენის დადგენას, რომელიც დიდ როლს თამაშობს მცენარეებში, ცოცხალ ორგანიზმებში, ფარმაცევტულ, სასოფლო-სამეურნეო თუ ქიმიურ ინდუსტრიაში.[2] ყველა ცილა, ფერმენტი, ამინომჟავა, ნახშირწყალი, ნუკლეოზიდი, ჰორმონი და ალკალოიდების ფართო ჯგუფი ქირალურია. ხელოვნურად მიღებული ქირალური პროდუქტებისაგან განსხვავებით, ბუნებაში ქირალური ნივთიერებები გავრცელებულია მხოლოდ ერთი ენანტიომერის სახით, მაგალითად ამინომჟავები ბუნებაში გავრცელებულია L-იზომერის სახით, ხოლო შაქრები- D-იზომერის სახით. დღესდღეობით, სამკურნალწამლო საშუალებების ნახევარზე მეტი შეიცავს ქირალურ ცენტრს მოლეკულაში და მათი უმეტესობა ნაწილი რაცემატის სახით გამოიყენება.[1][2] ენანტიომერებს გააჩნიათ ერთნაირი ქიმიური სტრუქტურა, თუმცა უმეტეს შემთხვევაში სხვადასხვა მოქმედება ფარმაკოლოგიის, ტოქსიკოლოგიის, ფარმაკოკინეტიკისა და მეტაბოლიზმის თვალსაზრისით. ამ მიზეზის გამო ზოგიერთი სამკურნალო საშუალება იწარმოება ერთი, დადებითი თერაპიული მოქმედების ენანტიომერის სახით. რამდენადაც ქირალობას უდიდესი მნიშვნელობა აქვს ცოცხალი ორგანიზმებისთვის, ნებისმიერი სახის ინდუსტრიისა თუ სამეცნიერო მიმართულებისთვის, ახალი გაუმჯობესებული მეთოდების შემუშავება ენანტიომერების დასაყოფად მათი კვლევის თვალსაზრისით ძალიან მნიშვნელოვანია.[3] ინსტრუმენტული მეთოდებით პირველი ენანტიომერული დაყოფები ეკუთვნის გაზურ ქრომატოგრაფიას, ხოლო მოგვიანებით ენანტიომერების დაყოფის უპირატეს ტექნიკად დამკვიდრდა მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფია, გარკვეული დროის შემდეგ- კაპილარული ელექტროფორეზი. მიუხედავად იმისა, რომ კაპილარული ელექტროფორეზი ახალი მეთოდია, ის საკმაოდ ფართოდ გამოიყენება ენანტიომერული ნარევების დასაყოფად. მრავალი შრომა არის გამოქვეყნებული ენანტიომერების დაყოფის კუთხით, თუმცა არაკოვალენტური ურთიერთქმედების მექანიზმები ნაკლებად არის შესწავლილი. აღნიშნული მეთოდი საინტერესოა არა მარტო ენანტიომერების დაყოფის, არამედ არაკოვალენტური მოლეკულათაშორისი ურთიერთქმედების კვლევის მხრივაც. ექსპერიმენტი მეტად საინტერესოა, რადგან თითოეული ენანტიომერი განსხვავებული მექანიზმით მოქმედებს და უკავშირდება ქირალურ სელექტორს სხვადასხვა სახის შეკავშირების მუდმივების საშუალებით. კაპილარული ელექტროფორეზის ნაკლად შეიძლება ჩაითვალოს ის ფაქტი, რომ არ იძლევა პირდაპირ ინფორმაციას კომპლექსის ტიპის შესახებ. სელექტორ/სელექტანდის კომპლექსწარმოქმნის მექანიზმის

კვლევის მიზნით გამოიყენება ბირთვულ მაგნიტური რეზონანსის სპექტროსკოპია და მოლეკულური მოდელირების მეთოდები კაპილარულ ელექტროფორეზთან ერთად. აღსანიშნავია, რომ ზმრ სპექტროსკოპია წარმოადგენს ინფორმატიულ და ზუსტ ტექნიკას, რომელიც ინფორმაციას გვაძლევს კომპლექსის სტრუქტურისა და სტექიომეტრიის შესახებ, გარდა ამისა ხელსაყრელია კომპლექსწარმოქმნის მექანიზმის კვლევა, რადგან შესაძლებელია ზუსტად იმავე პირობებში ჩატარდეს ექსპერიმენტები, რა პირობებშიც იყო კაპილარული ელექტროფორეზის ექსპერიმენტში ენანტიომერული ნარეგების დაყოფის დროს.

1. ლიტერატურული ნაწილი

1.1 კაპილარული ელექტროფორეზის გამოყენება და ნივთიერებათა ძვრადობის განმსაზღვრელი ფაქტორები

კაპილარული ელექტროფორეზის სისტემა პირველად შექმნა ჰერტენმა ცილების, ნუკლეინის მჟავებისა და არაორგანული იონების დასაყოფად 1965 წელს. ამ მეთოდის პოტენციალი აღმოაჩინეს ჯორგენსონმა და ლუკასმა 1980 წელს, როდესაც პირველად გამოაქვეყნეს მაღალეფექტური დაყოფები[4].

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

[3][6] 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 ნაწილაკის ეფექტური მუხტი, ბუფერთან სოლვატაცია და დენის ნაკადისადმი მდგრადობა დამოკიდებულია ნივთიერების სტრუქტურაზე. კაპილარულ ელექტროფორეზში შესაძლოა ერთსა და იმავე პირობებში ერთმანეთისგან დაიყოს, როგორც დადებითად დამუხტული ნივთიერებები, ასევე ნეიტრალური და ანიონური ნაწილაკები.

1.1.1 ელექტროფორეტული ძვრადობა

ელექტროფორეტული ძვრადობა დამუხტული ნივთიერების მახასიათებელია და აღიძვრება ელექტროლიტის გარემოში. ელექტროლიტის ხსნარის თვისებებს როგორცაა, იონური ძალა, pH, იონების ტიპი, აქვს დიდი მნიშვნელობა ნივთიერებათა დაყოფის მისაღწევად[3].

მუდმივი ელექტრული ველის გამოყენებისას E, დამუხტული ნაწილაკები განიცდიან ელექტროსტატიკურ ძალას- F_e , რომელიც პროპორციულია ელექტრული ველის ძალისა და იონის მუხტისა:

$$F_e = qE$$

სწორედ ეს ძალა აჩქარებს იონის გადაადგილებას საწინააღმდეგოდ დამუხტული ელექტროდისაკენ. ამ დროს დიდი მნიშვნელობა აქვს გარემოს სიბლანტეს, რადგან თუ ანალიზი ტრადება ბლანტ გარემოში, მაშინ ხახუნის ძალის გამო ნაწილაკების გადაადგილება ფერხდება და ნაწილაკები ნელა გადაადგილდებიან ელექტროდისაკენ.

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

$$v = \mu E$$

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

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

ელექტროფორეტული ძვრადობა წარმოადგენს იონის მახასიათებელ სისიდეს მოცემულ პირობებში.

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

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

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

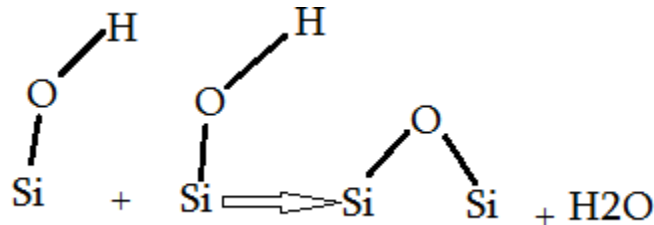
1.1.2 ელექტროოსმოსი

პირველი კვლევები ელექტროოსმოსის ფენომენზე ეკუთვნის ჰელმჰოლცს, რომელმაც თავდაპირველად ჰორიზონტალურ მდგომარეობაში მყოფ, წყლიანი ფაზით შევსებულ კვარცის კაპილარს, რომელიც შეიცავდა დამუხტულ ნაწილაკებს ბოლოებზე მოსდო ძაბვა[3]. კაპილარის შიდა კედელი ძაბვის მოდების შემდეგ დაიმუხტა უარყოფითად, ხოლო გამხსნელის ფენამ, რომელიც იმყოფებოდა კედელთან და მასში არსებულმა ნაწილაკებმა შეიძინა საპირისპირო მუხტი. სითხემ, რომელიც იმყოფებოდა კედელთან ამ პროცესის შედეგად დაიწყო მიგრაცია საწინააღმდეგოდ დამუხტული ელექტროდის მიმართულებით, სწორედ ამ პროცესს ეწოდება ელექტროოსმოსი[5], ხოლო ხსნარის ელექტროოსმოტური ძვრადობა აღიწერება შემდეგი გამოსახულებით:

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

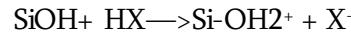
გამოსახულება აღწერს ელექტროოსმოტურ ძვრადობას, როგორც ფუნქციას რომელიც, პირდაპირ პროპორციულია ხსნარის დიელექტრული მუდმივისა, მოდებული ელექტრული ველისა და ძეტა პოტენციალისა, ხოლო უკუპროპორციულია ხსნარის სიბლანტისა.

ბუფერული ხსნარის ძვრადობას კაპილარში აღწერს შტერნის ორმაგი შრის მოდელი[3]. თითქმის ყველა მყარი ზედაპირი იძენს ელექტრულ მუხტს ზედაპირზე. მუხტის წარმომავლობა შესაძლოა იყოს მყარი ზედაპირის იონიზაციის წყარო ან ელექტროლიტების იონების ადსორბცია მყარ ზედაპირზე. რადგან ელექტროფორეზისთვის გამოიყენება კვარცისგან კაპილარები დაუმუშავებელი ზედაპირით, ასეთი მოდელი აღწერს კვარცის კაპილარის შიდა ზედაპირის იონიზაციას. კაპილარების შელღობა ხდება 1100°C-სა და უფრო მაღალ ტემპერატურაზე, ამ დროს კვარცის სილანოლური ჯგუფები კონდენსირდება:

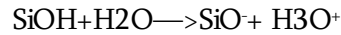


და წარმოიქმნება დაჭიმული სილოქსანური ბმები. მას შემდეგ, როდესაც კვარცის კაპილარში გაატარებენ წყლიან ფაზას, ხსნარის კაპილარის კედლებთან კონტაქტისას სილოქსანური ბმები აღდგება კვლავ სილანურ ჯგუფებად ჰიდროლიზის საშუალებით, რომლებიც შემდგომ განიცდიან

იონიზაციას. ელექტროლიტური გარემოს pH-ზე დამოკიდებულებით სილანური ჯგუფები შესაძლოა იყოს დადებითად დამუხტული, როგორც SiOH^+ :

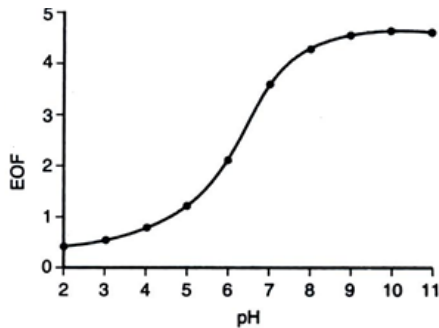


როდესაც $\text{pH} < 2$, მაშინ კვარცის კედლები ნეიტრალურია, რადგან ამ დროს სილანური ჯგუფების დისოციაცია ძალიან არის შემცირებული. იმ შემთხვევაში, როდესაც $\text{pH} > 2$, ხდება სილანური ჯგუფების დეპროტონირება:



ხსნარის pH-სიდიდის გაზრდით იზრდება სილანური ჯგუფების დისოციაციის ხარისხი.

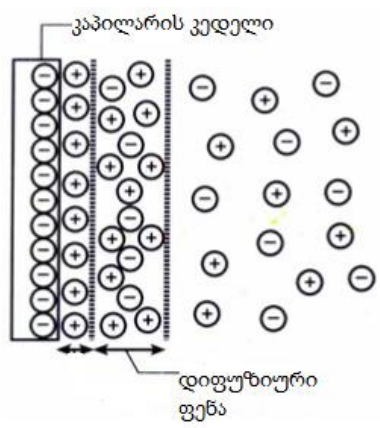
ელექტროოსმოსური ნაკადის ძალა მაქსიმალურ სიდიდეს აღწევს, როდესაც ხსნარის $\text{pH} = 8.0$, ხოლო pH-ის შემდგომი ზრდით ელექტროოსმოსის ნაკადის ძალა რჩება მუდმივი.



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. წარმოსახვითი საზღვარი მკაცრად განსაზღვრულ ფენასა და დიფუზიურ ფენას შორის ცნობილია, როგორც გამყოფი ზედაპირი. დიფუზიურ ფენაში ყოველთვის სჭარბობს დადებითი მუხტი და ელექტრული ველის მოდების შემდეგ დადებითად დამუხტული იონები იწყებენ გადაადგილებას კათოდისკენ.

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



შტერნის ორმაგი ელექტრული შრის მოდელი

1.2 კაპილარული ელექტროფორეზის უპირატესობები

დღესდღეობით კაპილარული ელექტროფორეზი იძენს უფრო მეტ უპირატესობას დაყოფის სხვა ფართოდ გავრცელებულ მეთოდებთან შედარებით, როგორცაა მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფია, გაზური ქრომატოგრაფია და ა.შ. კაპილარული ელექტროფორეზის უპირატესობები მდგომარეობს შემდეგში[6][12]:

1. კაპილარებს ახასიათებთ მაღალი ელექტრული მდგრადობა, რის გამოც შესაძლებელია ანალიზები ჩატარედეს მაღალი ელექტრული ველის ქვეშ ($100-500 \text{ V/cm}$) მინიმალური სითხოს წარმოქმნით. მაღალი ელექტრული ველის გამოყენება განპირობებს ანალიზების მცირე დროს.
2. კაპილარის დიამეტრი ჩვეულებრივი მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფიის სვეტის დაახლოებით მეათიათასედია. კაპილარულ ელექტროფორეზის ექსპერიმენტებში გამოყენებული ტიპური კაპილარის შიდა დიამეტრი $25-75 \mu\text{m}$ -ს წარმოადგენს. ამ მიზეზის გამო კაპილარული ელექტროფორეზი ითვლება ნივთიერებათა დაყოფის მინიატურულ მეთოდად. მიკრო დიამეტრის მქონე კაპილარის გამოყენება დიფუზიური მოვლენებისა და ტემპერატურული სხვაობების შემცირების მიზეზია, რაც განაპირობებს მაღალეფექტური პიკების მიღებას. კაპილარულ ელექტროფორეზში გამოყენებული კაპილარები, ჩვეულებრივი ქრომატოგრაფიული სვეტისგან განსხვავებით არ არის შევსებული, რის გამოც განივი დიფუზია შემცირებულია, რომელიც დისპერსიის მთავარი გამომწვევი მიზეზია. ამ მიზეზების გამო არ ვხვდებით ზონის გაფართოებებს მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფიის მსგავსად და ვიღებთ დაყოფებს მაღალი გარჩევითობითა და მაღალი ეფექტურობით.
3. მიკროდიამეტრის მქონე კაპილარების გამოყენების გამო იხარჯება მცირე რაოდენობით გამხსელები, ნიმუშები და ქირალური სელექტორები, რის გამოც მეთოდი იაფი და ეკონომიურია.
4. კაპილარულ ელექტროფორეზში ძირითადად გამოიყენება არაორგანული ბუფერები, რაც იცავს გარემოს დაბინძურებისაგან.
5. მკვდარი მოცულობის არ არსებობა, რომელიც გამოწვეულია ნივთიერების ინიცირებით და დეტექტირებით პირდაპირ კაპილარში.
6. მეთოდის სწრაფი დამუშავებისა და შედეგის შესაძლებლობა.
7. ქირალური სელექტორების ფართო არჩევანი და მარტივად შეცვლის შესაძლებლობა.

8. კაპილარულ ელექტროფორეზში განსხვავებით მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფიისა და გაზური ქრომატოგრაფიისა შესაძლებლობა გვაქვს შევისწავლოთ სტერეოსელექტიური ეფექტები, რაც შეუძლებელია წინ აღნიშნულ მეთოდებში.

1.3 ქირალური ნივთიერებების ენანტიომერების დაყოფა ქირალურ სელექტორებად ციკლოდექსტრინების გამოყენებით

იმისათვის რომ მივაღწიოთ ენანტიომერების დაყოფას კაპილარულ ელექტროფორეზში საჭიროა ქირალური სელექტორების შეყვანა სისტემაში. ქირალურ სელექტორებად ყველაზე ხშირად გამოიყენება ციკლოდექსტრინები. ციკლოდექსტრინებს აქვთ უნარი ენანტიოსელექტიურად გამოიცილონ ენანტიომერები ერთმანეთისაგან. იმისათვის რომ მოხდეს ენანტიომერების დაყოფა, უნდა წარმოიქმნას დროებითი არაკოვალენტური დიასტერეომერული კომპლექსები საკვლევ ნივთიერებასა და ქირალურ სელექტორს შორის. კომპლექსწარმოქმნა წონასწორული პროცესია. კაპილარში გადაადგილებისას თავისუფალ მდგომარეობაში მყოფ ნივთიერებასა და ბმულს ქირალურ სელექტორთან უნდა გააჩნდეთ განსხვავებული ძვრადობები[3][11].

ენანტიომერების ელექტროფორეტულ ძვრადობებს შორის სხვაობა აღიძვრება გარდამავალი დიასტერეომერული კომპლექსების წარმოქმნის ხარჯზე. დიასტერეომერებს გააჩნიათ ერთი და იგივე მუხტის სიმკვრივეები, აქედან გამომდინარე არ უნდა ხდებოდეს მათი დაყოფა, თუმცა, დიასტერეომერების განსხვავებული ძვდრობა გამოწვეულია განსხვავებული მუხტის სიმკვრივეებით, რომლის მიზეზიც არის მათი განსხვავებული ორიენტაცია სივრცეში და სპეციფიური ურთიერთქმედება დიასტერეომერულ კომპლექსებში. დიასტერეომერების სივრცეში სხვადასხვა ორიენტაციას შეუძლია გამოიწვიოს დენის ნაკადის მიმართ განსხვავებული წინაღობა და განსხვავებული ეფექტური ძვრადობები. ეს მცირე განსხვავებებიც კი ზოგჯერ საკმარისია იმისათვის, რომ მივიღოთ დიასტერეომერების ფუძისეული დაყოფები.

დროს, რომელსაც ნივთიერება კაპილარში ატარებს გარდამავალი კომპლექსის სახით დამოკიდებულია შეკავშირების მუდმივებზე. ასევე გარე პარამეტრებზე როგორცაა, ქირალური სელექტორის კონცენტრაცია, ტემპერატურა და ა.შ. 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[3][11].

$$\Delta\mu = \mu_1 - \mu_2 = \mu_f + \mu_{c1} K_1 [C] / (1 + K_1 [C]) - \mu_f + \mu_{c2} K_2 [C] / (1 + K_2 [C])$$

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.

$$K_1 = K_2 = K$$

მაშინ გამოსახულება იღებს შემდეგ სახეს:

$$\Delta\mu = \mu_1 - \mu_2 = K[C](\mu_{c1} - \mu_{c2}) / (1 + K[C])$$

$$\mu_{c1} \neq \mu_{c2}$$

ფორმულიდან გამომდინარე შესაძლებელია დაიყოს დიატერეომერული 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. 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.

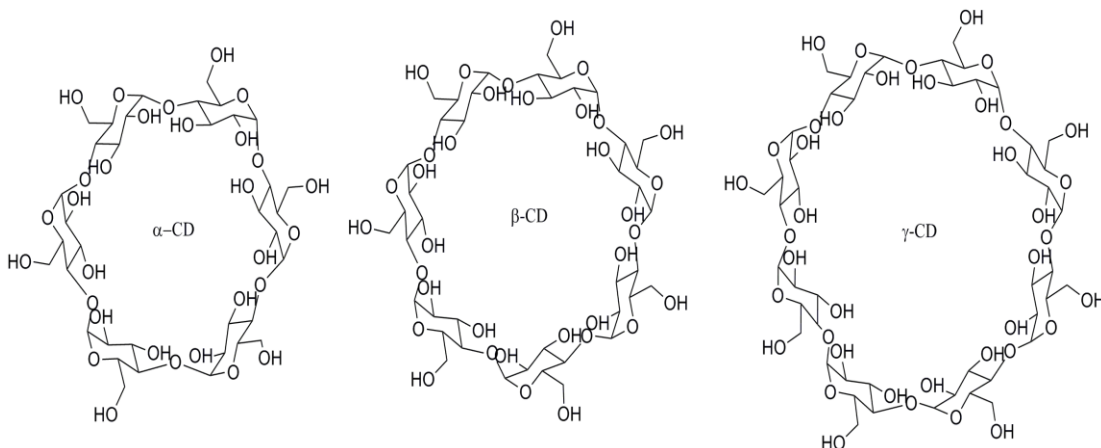
კომპლექსწარმოქმნის წარმართვის ძალები არაკოვალენტური ხასიათისაა. ძირითადი მოლეკულათაშორისი ძალები ჰიდროფობრია: ელექტროსტატიკური (კოლუმბური, დიპოლ-დიპოლური), ვან დერ ვალსური და ვხვდებით ასევე სპეციფიურ ურთიერთქმედებას წყალბადური ბმის სახით. წყალბადური ბმა მოქმედებს შორ მანძილზე, ასე რომ შორი მანძილებიდან შესაძლებელია კავშირების დამყარება სელექტორსა და სელექტანდს შორის.

1.3.1 ციკლოდექსტრინები

ციკლოდექსტრინები წარმოადგენენ ციკლურ ოლიგოსაქარიდებს[9], რომლებიც გამოიყენებიან როგორც ფარმაცევტულ წარმოებაში, ასევე საკვები დანამატების სახითაც. რამდენადაც ციკლოდექსტრინები მიღებულია სახამებლის ბაქტერიული გარდაქმნით, ისინი არსებობენ ერთი ენანტიომერული ფორმის სახით და არ არსებობს მათი ოპტიკური ანტიპოდი. ციკლოდექსტრინები შედგება 1,4-ბმით დაკავშირებული α -D-გლუკოპირანოზის ჯგუფების სხვადასხვა რაოდენობისგან. ციკლოდექსტრინების ღრუ წარმოადგენს ჰიდროფობურს, ხოლო გარე შრე ჰიდროფილურს. იმის გამო, რომ გლუკოპირანოზის ციკლებს აქვთ სავარძლისებური კონფორმაცია, ციკლოდექსტრინებს აქვთ წაკვეთილი კონუსური ფორმა სრულყოფილი ცილინდრული ფორმის მაგივრად.

ციკლოდექსტრინები შეიცავს როგორც პირველად, ასევე მეორეულ ჰიდროქსილის ჯგუფებს და ისინი განლაგებული არიან გარე შრეზე. პირველადი ჰიდროქსილის ჯგუფები მდებარეობენ 6C-მდგომარეობაში ციკლოდექსტრინის ღრუს ვიწრო მხარეს, ხოლო მეორეული ჰიდროქსილის ჯგუფები 2C და 3C მდგომარეობაში ღრუს განიერ მხარეს. ცენტრალური ღრუ წარმოგვიდგება ნახშირბადული ჯაჭვის სახითა და ეთერული ჟანგბადის სახით გლუკოზის ნაშთებში, რაც წარმოადგენს ციკლოდექსტრინის ღრუს ჰიდროფობურობის მიზეზს. გლიკოზიდური ჟანგბადის ბმის არწარმომქმნელი ელექტრონები, რომლებიც ორიენტირებული არიან ციკლოდექსტრინის ღრუს ცენტრისკენ, ღრუს ანიჭებენ ლუისის ფუძის თვისებას.

ჰიდროქსილის ჯგუფები ციკლოდექსტრინების მოდიფიცირების საშუალებას იძლევა. შესაძლოა რომელიმე ჰიდროქსილის ჯგუფის ჩანაცვლება რომელიმე ფუნქციონალური ჯგუფით ან ციკლოდექსტრინების მოლეკულების მიბმა სილიკატებზე ქრომატოგრაფიული ანალიზებისათვის[10].



1.4 თანამედროვე ინსტრუმენტული მეთოდები სელექტორ-სელექტანდის კომპლექსის კვლევისათვის

დიასტერეომერული კომპლექსების კვლევისათვის შემოთავაზებულია რამდენიმე ტექნიკა. მათი პოტენციალი საკმაოდ განსხვავებულია ერთმანეთისაგან და მათი გამოყენება დამოკიდებულია ექსპერიმენტის მიზნებზე[11].

ამ ტექნიკებს მიეკუთვნება პოტენციომეტრია, პოლარიმეტრია, ინფრაწითელი სპექტროსკოპია, პოლაროგრაფია და თერმული ტექნიკები, რომელთა საშუალებითაც შესაძლოა განისაზღვროს შეკავშირების მდმივები.

ამათ გარდა წარმატებით გამოიყენება შეკავშირების მუდმივების განსაზღვრის ახალი მეთოდები, მაგ. მასსპექტრომეტრია, რომელიც გამოიყენება სელექტორ-სელექტანდის ურთიერთქმედების აღსაწერად. ამ უკანასკნელის დადებით მხარეს წარმოადგენს მისი მაღალი მგრძობიარობა და მაღალი ინფორმატიულობა. თუმცა, აღნიშნულ ტექნიკებში ყველაზე ინფორმატიული და ზუსტი ბმრ-სპექტროსკოპიაა[3][14].

1.4.1 ბმრ სპექტროსკოპიის უპირატესობები

ბმრ სპექტროსკოპია ფართოდ გამოიყენება მოლეკულათაშორისი არაკოვალენტური კავშირების დასახასიათებლად სელექტორსა და სელექტანდს შორის. მისი უპირატესობები მდგომარეობს[3][11]:

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.
2. ბმრ-სპექტროსკოპია იძლევა მკაფიო განსვავებას ჩართულ და სხვა ტიპის კომპლექსების გარეგანი კავშირების შესახებ.
3. ბმრ სპექტროსკოპიის სპექტრზე შესაძლოა გამოვარჩიოთ ენანტიოტოპური სიგნალები ქირალურ გარემოში. ეს კი გვაძლევს საშუალებას გამოვიყენოთ რაცემული ნარევი, რათა შევისწავლოთ ენანტიოსელექტიური პარამეტრები მაგ. შეკავშირების მუდმივები, სტეციომეტრია, თავისუფალი ენერგია, ენთალპია და ენტროპია.

4. ქიმიური წანაცვლების ხასიათი და ბირთვულ ოვერჰაუზერის ეფექტი გვაძლევს ინფორმაციას კომპლექსის სტრუქტურისა და დინამიკის შესახებ. NOE-დან მიღებული ინფორმაცია არის მარტივად ინტერპრეტირებადი და პირდაპირი. აქედან გამომდინარე, NOE-დან მოღებული ინფორმაცია უნიკალურია სხვა ტექნიკებთან შედარებით.
5. ბმრ სპექტროსკოპიაში მიღებული სიგნალების საფუძველზე შესაძლოა მივიღოთ ინფორმაცია ქირალური გამოცნობის შესახებ ისეთი სელექტორ-სელექტანდური წყვილებისთვისაც კი, რომელთა დაყოფაც არ იყო წამატებული კაპილარული ელექტროფორეზის ექსპერიმენტში.

1.4.2 ROESY-სპექტროსკოპია

ROESY-სპექტროსკოპია წარმოადგენს ბმრ სპექტროსკოპიის ერთ-ერთ სახეს [15][16]. ამ მეთოდში პროტონის გაჯერებით შესაბამისი სიხშირის ტალღით დასხივებით, სივრცულად ახლოს მყოფი პროტონები განიცდიან გავლენას და შედეგად ხდება მათი სიგნალების ინტენსივობის გაზრდა, ამ მოვლენას ბირთვულ ოვერჰაუზერის ეფექტი (NOE) ეწოდება [13]. NOE-ზე დაფუძნებული მეთოდები უნიკალურია ბმრ სპექტროსკოპიის სხვა მეთოდებში, რადგან არ არის დამოკიდებული ატომებს შორის ქიმიური ბმის არსებობაზე, არამედ დამოკიდებულია პროტონების სივრცულ სიახლოვეზე. 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.

NOE დამოკიდებულია მოლეკულის მოძრაობის კორელაციურ დროზე, რომელიც განისაზღვრება მოლეკულის მასითა და გამხსნელის სიბლანტით. მაღალი მოლეკულური მასები და მაღალი სიბლანტე იწვევს მაღალ კორელაციურ დროს. NOE დადებით ფაზაში ჩანს პატარა მოლეკულებსათვის ($MW < 600$), NOE-ს ინტენსივობა ნულს უტოლდება საშუალო ზომის მოლეკულებსათვის ($MW 700-1200$) და ხდება უარყოფითი დიდი ზომის მოლეკულებსათვის ($MW > 1200$).

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. 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 მაგ. სპინური დიფუზიის შედეგად მიღებული სიგნალები.

ROESY სპექტროსკოპია წარმოადგენს ექსპერიმენტს, სადაც ჰომობირთვული NOE ეფექტები იზომება სპინის ბლოკირების პირობებში. ROESY განსაკუთრებით ეთავსება მოლეკულებს, რომელთა მოძრაობის კორელაციური დრო (τ_c), $\omega\tau_c \sim 1$, სადაც ω – 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. ROESY მეთოდში შერევის დრო არის სპინის ბლოკირების პერიოდი. ამ დროის განმავლობაში მიმდინარეობს დაბლოკილი სპინების მაგნეტიზაციის კომპონენტების მიმოცვლა სხვა ბირთვებთან

2. ექსპერიმენტული ნაწილი

2.1 გამოყენებული ხელსაწყოები

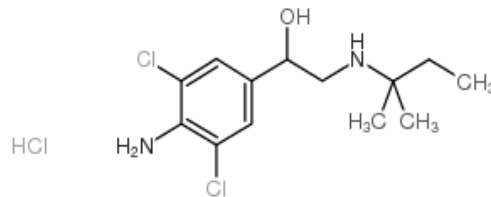
კაპილარულ ელექტროფორეზში ენანტიომერების ენანტიომერული ნარეგების დასაყოფად გამოვიყენეთ Agilent G1600 (Agilent Technologies, ვალდბრონი, გერმანია) კაპილარული ელექტროფორეზის სისტემა, რომელიც აღჭურვილი იყო ტემპერატურის კონტროლის სისტემით, ინიცირების ავტომატური სისტემითა და ულტრაიისფერი დეტექტორით. მიღებული შედეგების დამუშავება ხდებოდა Chemstation B.04.03 პროგრამით online და offline ინტერფეისებში.

ბირთვულ მაგნიტური რეზონანსის ექსპერიმენტების ჩასატარებლად გამოვიყენეთ Varian 500 მეგაჰერციანი ხელსაწყო ვარირებადი ტემპერატურული კონტროლით.



2.2 გამოყენებული რეაგენტები

ნივთიერება, რომლის ენანტიომერების დაყოფა და მიგრაციის რიგით შევისწავლეთ კაპილარულ ელექტროფორეზში წარმოადგენდა კლენპენტეროლის(1-(4-ამინო-3,5-დიქლორფენილ)-2-(1,1-დიმეთილ-პროპილ-ამინო)ეთანოლ ჰიდროქლოდიდი). კლენპენტეროლი მოწოდებული იყო Sigma-Aldrich(სტაინჰემი, გერმანია)-ის ფირმიდან.



კაპილარულ ელექტროფორეზში ქირალური დაყოფების მისაღწევად გამოვიყენეთ Sigma-Aldrich(სტაინჰემი, გერმანია)-ისა და Cyclolab-ის (ბუდაპეშტი, უნგრეთი) ფირმის ქირალური სელექტორები:

α -ციკლოდექსტრინი, β -ციკლოდექსტრინი, γ -ციკლოდექსტრინი, ჰეპტაკის(2-3-დი-O-აცეტილ)- β -ციკლოდექსტრინი, ჰეპტაკის(2-3-დი-O-აცეტილ-6-O-სულფო)- β -ციკლოდექსტრინი, ჰეპტაკის(2-6-დი-O-მეთილ)- β -ციკლოდექსტრინი, ჰეპტაკის(2-3-6-ტრი-O-მეთილ)- β -ციკლოდექსტრინი, ჰეპტაკის(2-6-დი-O-მეთილ-3-სულფო)- β -ციკლოდექსტრინი, ჰეპტაკის(2-6-დი-O-სულფო-3-O-მეთილ)- β -ციკლოდექსტრინი, ჰეპტაკის(2-3-დიჰიდრიქსი-6-O-სულფო)- β -ციკლოდექსტრინი

კაპილარული ელექტროფორეზის ექსპერიმენტში გამოყენებული რეაგენტები: 0.01N NaOH ხსნარი, 85% H₃PO₄, 50mM KH₂PO₄-ის ბუფერი და დეიონიზირებული წყალი.

ბმრ ექსპერიმენტებში გამოყენებული რეაგენტები: D₃PO₄ 98%-იანი დეიტერირებით, D₂O 99.9% -იანი დეიტერირებით და NaOD 40%-იანი ხსნარი, რომელიც მოწოდებული იყო კომპანია Sigma (MO, USA)-ის მიერ.

2.3 ენანტიომერების ფრაქციონირება

კლენპენტეროლის ენანტიომერების ფრაქციონირება მოხდა Agilent-ის ფირმის მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფის ხელსაწოს საშუალებით.

გამოყენებული სვეტი ქირალური ადსორბენტი: Lux Cellulose-3 (4.6 mm x 250 mm ,ნაწილაკების ზომით-5- μm)

გამოყენებული მოძრავი ფაზა: მეთანოლი/წყალი/დიათილამინი (65:35:0.1)

ანალიზის ტემპერატურა: 25°C

კლენპენტეროლის ენანტიომერების შეგროვება მოხდა აღნიშნული მეთოდის გამოყენებით.

თავდაპირველად მოხდა პირველად ელუირებადი ენანტიომერის ფრაქციის შეგროვება მისთვის განკუთვნილ რეზერვუარში, ხოლო შემდგომ- მეორე ენანტიომერის. შეგროვებული ენანტიომერები გამოვიყენეთ კლენპენტეროლის მონიშნული ნიმუშის დასამზადებლად, კერძოდ, მოხდა შეგროვებული ენანტიომერების ერთმანეთთან შერევა 2:1 თანაფარდობით. აღნიშნული ნარევი გამოვიყენეთ კაპილარულ ელექტროფორეზში ნივთიერების ენანტიომერების მიგრაციის რიგის შესასწავლად და აგრეთვე ბირთვულ მაგნიტური რეზონანსის ექსპერიმენტის ჩასატარებლად.

2.4 კაპილარული ელექტროფორეზის ანალიზის პირობები

კაპილარული ელექტროფორეზის ექსპერიმენტები ჩატარდა 50mM ფოსფატური ბუფერისა (PH 2.0) და მასში გახსნილი სხვადასხვა ციკლოდექსტრინის ხსნარებით.

ანალიზებისთვის გამოვიყენეთ კვარცის კაპილარები, შიდა დიამეტრით 50 მკმ, მთლიანი სიგრძით 50სმ და ეფექტური სიგრძით 43სმ. ანალიზების დაწყებამდე კაპილარი ირეცხებოდა 0.01 N NaOH -ის ხსნარით 2 წუთის განმავლობაში, შემდეგ ბუფერული და ქირალური სელექტორიანი ხსნარებით 2 და 1 წუთის განმავლობაში. კლენპენტეროლის მონიშნული ნიმუშის ინიცირება ხდებოდა ჰიდროდინამიკურად 10-13მილიბარით 3 წამის განმავლობაში. ანალიზები ჩატარდა 20°C ტემპერატურაზე 10-22 კილოვოლთი ძაბვის პირობებში. დეტექტირება ხდებოდა 200ნმ და 220 ნმ ტალაზე.

2.5 ბმრ ექსპერიმენტის პირობები

ბირთვულ მაგნიტური რეზონანსის ექსპერიმენტები ჩატარდა 50mM D3PO4 /D2O (pH=2) 0.7მლ ბუფერში გახსნილ 3.1 მგ კლენპენტეროლის მონიშნულ ნიმუშზე 12-14 მგ ციკლოდექსტრინების დანამატით 25 °C ტემპერატურის პირობებში.

ანალიზების დაწყებამდე მოხდა 90°-იანი იმპულსის კუთხის რეგულაცია.

1D ROESY ექსპერიმენტებში ანალიზები ჩატარდა 400ნწმ სპინური შერევის პირობებში.

3. ექსპერიმენტების შედეგები და განსჯა

3.1 კაპილარული ელექტროფორეზის შედეგები:

კლენპენტეროლის რაცემატი გაანალიზდა როგორც ბუნებრივ, ასევე ბუნებრივი ციკლოდექსტრინების დამუხტულ და დაუმუხტავ ნაწარმებზე. ენანტიომერების დაყოფის შემდეგ, კლენპენტეროლის ენანტიომერების მიგრაციის რიგის შესასწავლად კლენპენტეროლის მონიშნული ნიმუშით (ენანტიომერები 2:1 თანაფარდობით) ჩატარდა ექსპერიმენტები იმ ციკლოდექსტრინის ხსნარებში, სადაც მოხდა ენანტიომერების დაყოფა.

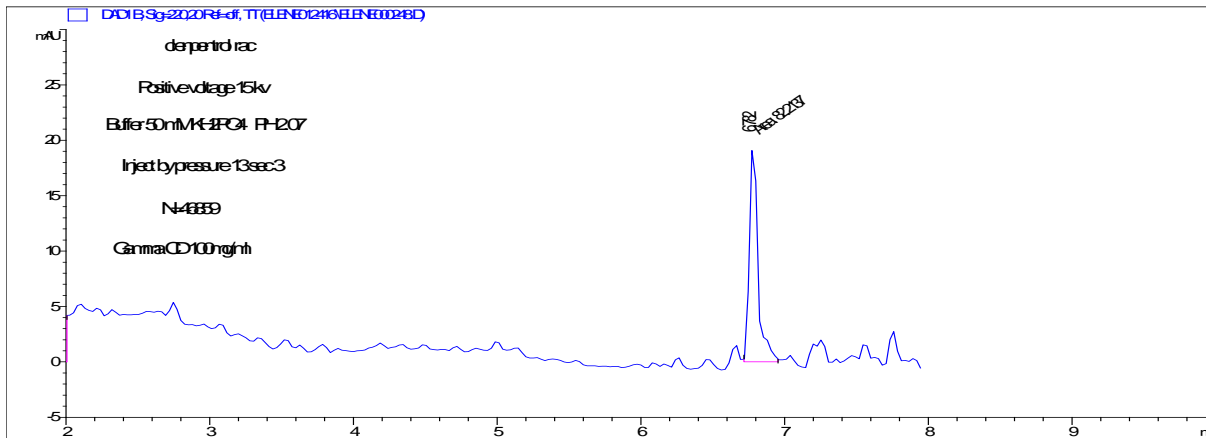
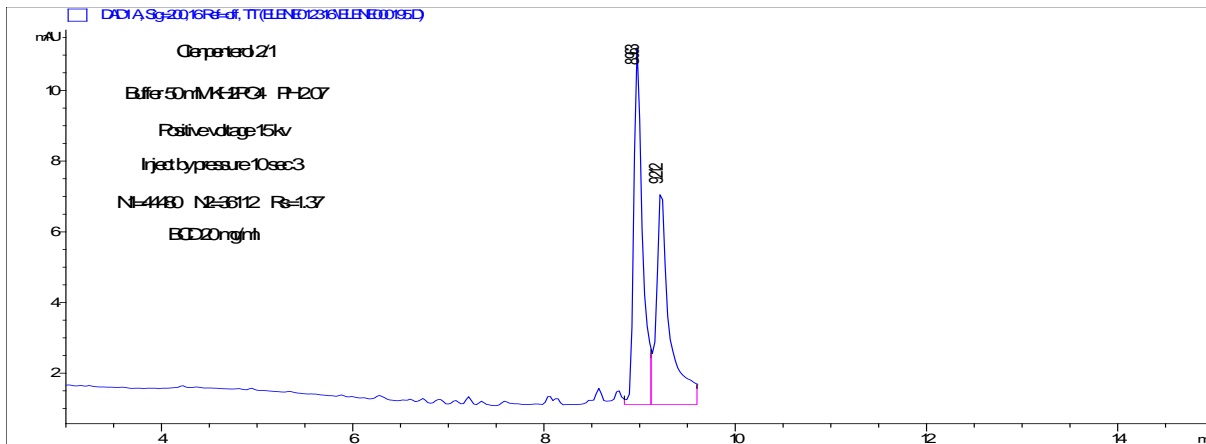
ცხრილში წარმოდგენილია ენანტიომერების მიგრაციის რიგის შესწავლის ექსპერიმენტის შედეგები:

ქირალური სელექტორი	კონცენტრაცია	t ₁ , min	t ₂ , min	α	მიგრაციის რიგი
α-CD	100mg/ml	14.679	14.679	1	-
β-CD	20mg/ml	8.963	9.212	1.02	1/2
γ-CD	100mg/ml	6.182	6.182	1	-
DM-β-CD	20mg/ml	10.727	11.608	1.04	1/2
TM-β-CD	100mg/ml	17.284	17.610	1.02	1/2
HMDS-β-CD	20mg/ml	14.600	16.926	1.04	2/1
HDMS-β-CD	20mg/ml	15.996	16.501	1.03	1/2
HDA-β-CD	10mg/ml	6.964	7.067	1.01	2/1
HDAS-β-CD	1mg/ml	10.336	10.636	1.02	1/2
HS-β-CD	1mg/ml	15.641	20.395	1.29	1/2

* მიგრაციის რიგში 1-ით და 2-ით აღნიშნულია ენანტიომერები.

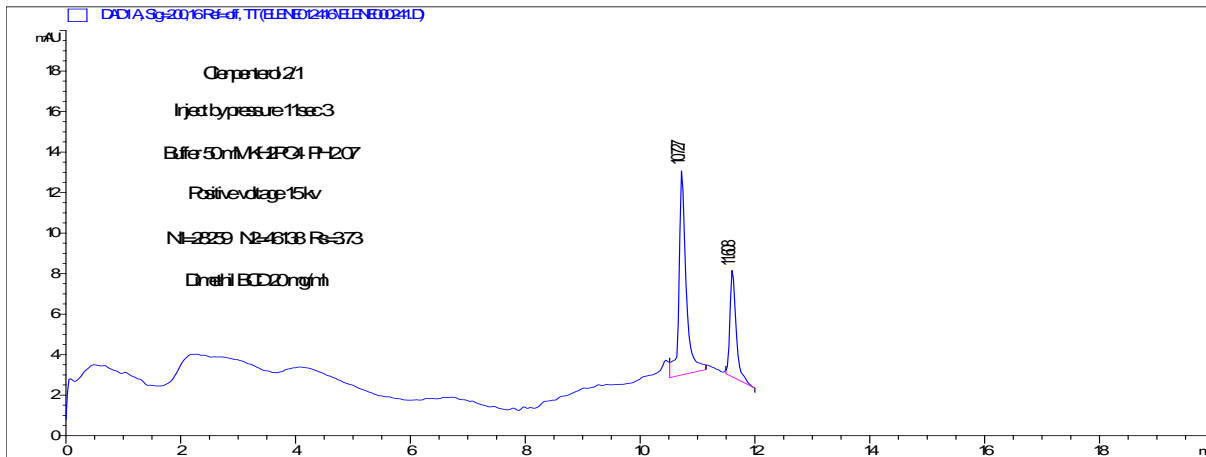
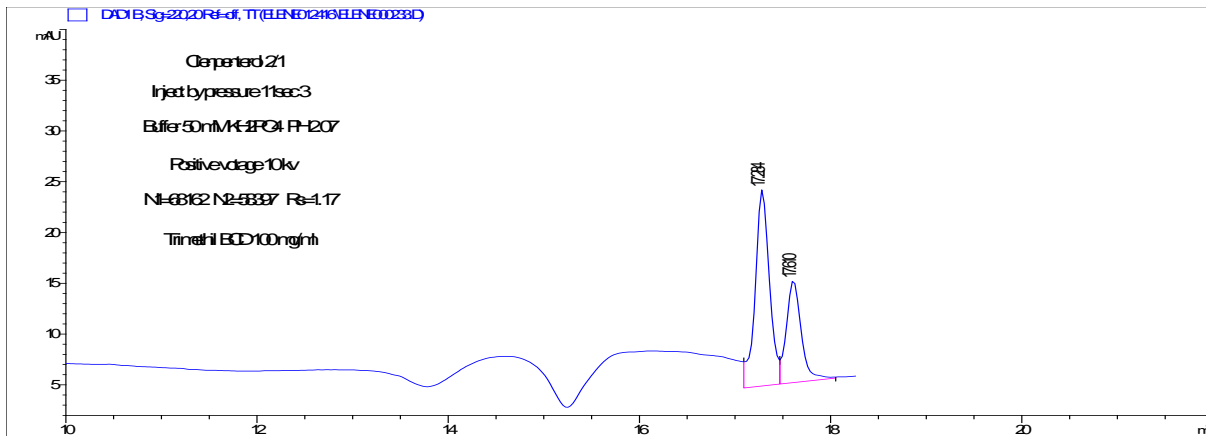
ბუნებრივი ციკლოდექსტრინები

კლენპენტეროლის ნიმუშის ანალიზით ბუნებრივ ციკლოდექსტრინებთან (α , β , γ): ენანტიომერების დაყოფა არ დაფიქსირდა არც ერთ ნეიტრალურ ციკლოდექსტრინზე β -ციკლოდექსტრინის გარდა. რადგანაც აღნიშნული ციკლოდექსტრინები მხოლოდ გლიკოპირანოზის ნაშთების რაოდენობით განსხვავდებიან ციკლში (6,7,8). აქედან გამომდინარე, α -და γ -ციკლოდექსტრინების ციკლის ზომები არ აღმოჩნდა ოპტიმალური ენანტიომერების დასაყოფად.



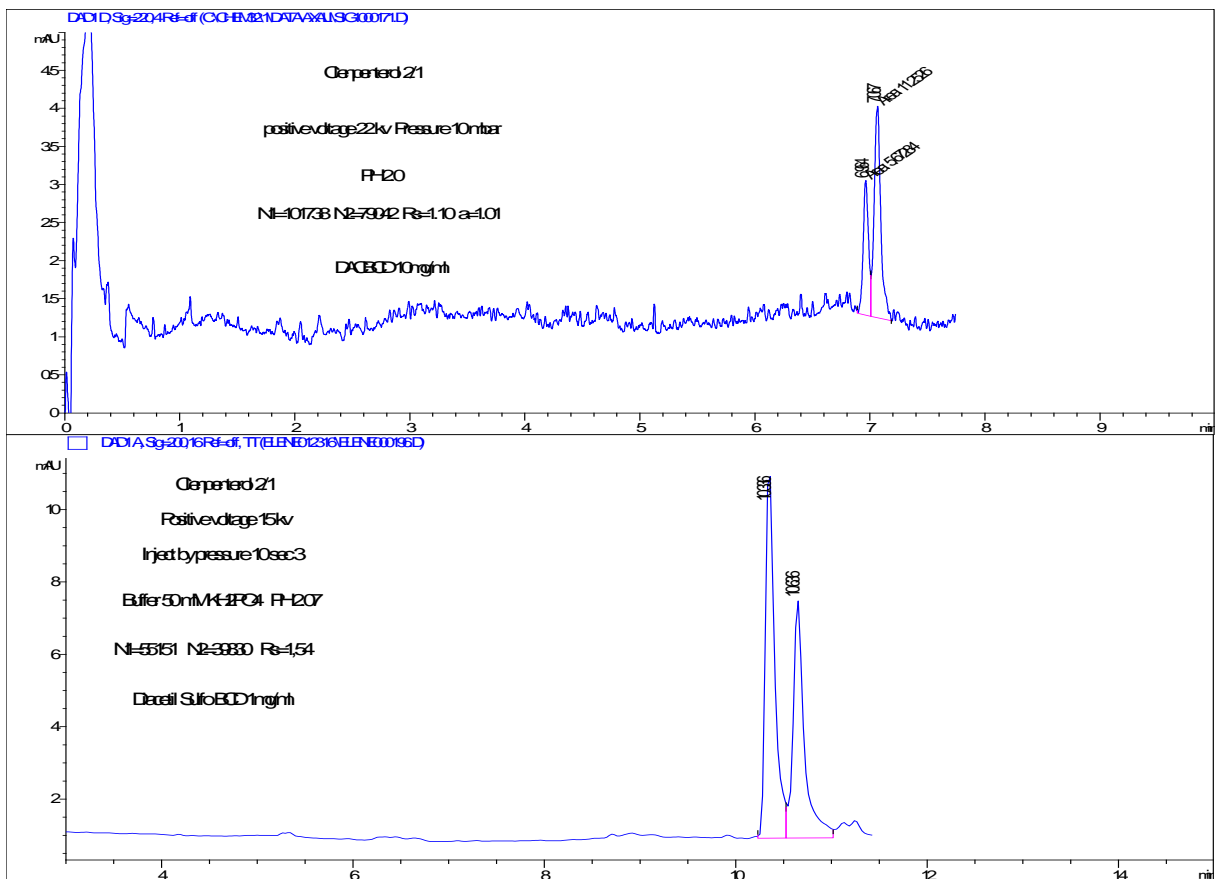
β-ციკლოდექსტრინის ნეიტრალური-მეთილირებული ნაწარმები:

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

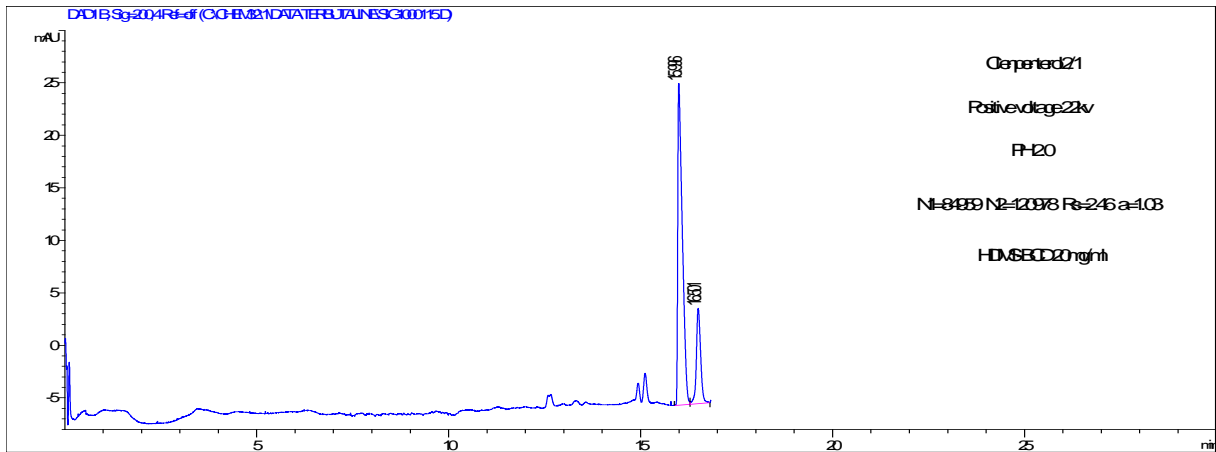
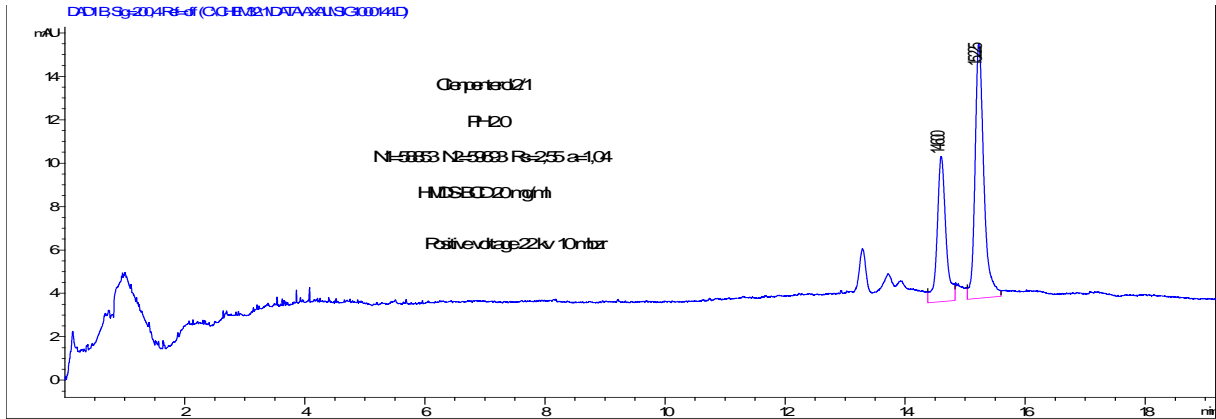


β-ციკლოდექსტრინის დამუხტული და დაუმუხტავი ნაწარმები.

კლენპენტეროლის მიგრაციის რიგის ცვლილება გამოიწვია β-ციკლოდექსტრინის მოლეკულაში 2 და 3 მდგომარეობაში აცეტილის ჯგუფების არსებობამ, რომლებიც წარმოადგენენ წყალბადური ბმის აქცეპტორებს და განლაგებული არიან ციკლოდექსტრინის ღრუს განიერ მხარეს. აცეტილის ჯგუფები ზრდიან ციკლოდექსტრინის ჰიდროფობური ღრუს სიმაღლეს, რის გამოც, გარდა მიგრაციის რიგის შებრუნებისა, ხასიათდება მაღალი სელექტიურობით. აღსანიშნავია ის ფაქტი, რომ როდესაც ანალიზებისთვის გამოვიყენეთ დამუხტული ციკლოდექსტრინი-2,3-დი-0-აცეტილ-6-0-სულფო-β-ციკლოდექსტრინი, კლენპენტეროლის დაყოფა მიიღწეოდა ძალიან დაბალ კონცენტრაციაზე მაღალი სელექტივობით, თუმცა განსხვავებით დიაცეტილ-β-ციკლოდექსტრინისა მასში 6-მდგომარეობაში ჰიდროქსილის ჯგუფის ნაცვლად სულფატური ჯგუფის შეყვანამ გავლენა ვერ მოახდინა ენანტიომერების მიგრაციის რიგის ცვლილებაზე.



კლენპენტეროლის ენანტიომერების მიგრაციის ცვლილების მეორე შემთხვევა დაფიქსირდა 2,6-დი-*O*-სულფო-3-მეთილ-β-ციკლოდექსტრინის გამოყენებისას. თუ შევადარებთ მის სტრუქტურას ისევ ანიონურ 2,6-დი-*O*-მეთილ-6-*O*-სულფო-β-ციკლოდექსტრინს ამ შემთხვევაში არ შეცვლილა მიგრაციის რიგი. ნათელია, რომ 2,6-დი-*O*-სულფო-3-მეთილ-β-ციკლოდექსტრინისგან განსხვავებით 6-პოზიციაში მეთილის ჯგუფის არსებობამ გავლენა ვერ მოახდინა ენანტიომერების მიგრაციის რიგზე.



3.2 ბირთვულ მაგნიტური რეზონანსის სპექტროსკოპიის ექსპერიმენტის შედეგები:

მას შემდეგ რაც შევისწავლეთ კლენპენტეროლის ენანტიომერების მიგრაციის რიგი სხვადასხვა ქირალური სელექტორების თანაობისას კაპილარულ ელექტროფორეზში, საჭირო გახდა შეგვესწავლა კომპლექსწარმოქმნის მექანიზმი და დაგვეხასიათებინა სელექტორ/სელექტანდის შეკავშირების მუდმივები ბირთვულ-მაგნიტური რეზონანსის სპექტროსკოპიის ექსპერიმენტით კომპლექსის ვიზუალიზაციის საშუალებითა და მოლეკულური მოდელირების მეთოდების გამოყენებით.

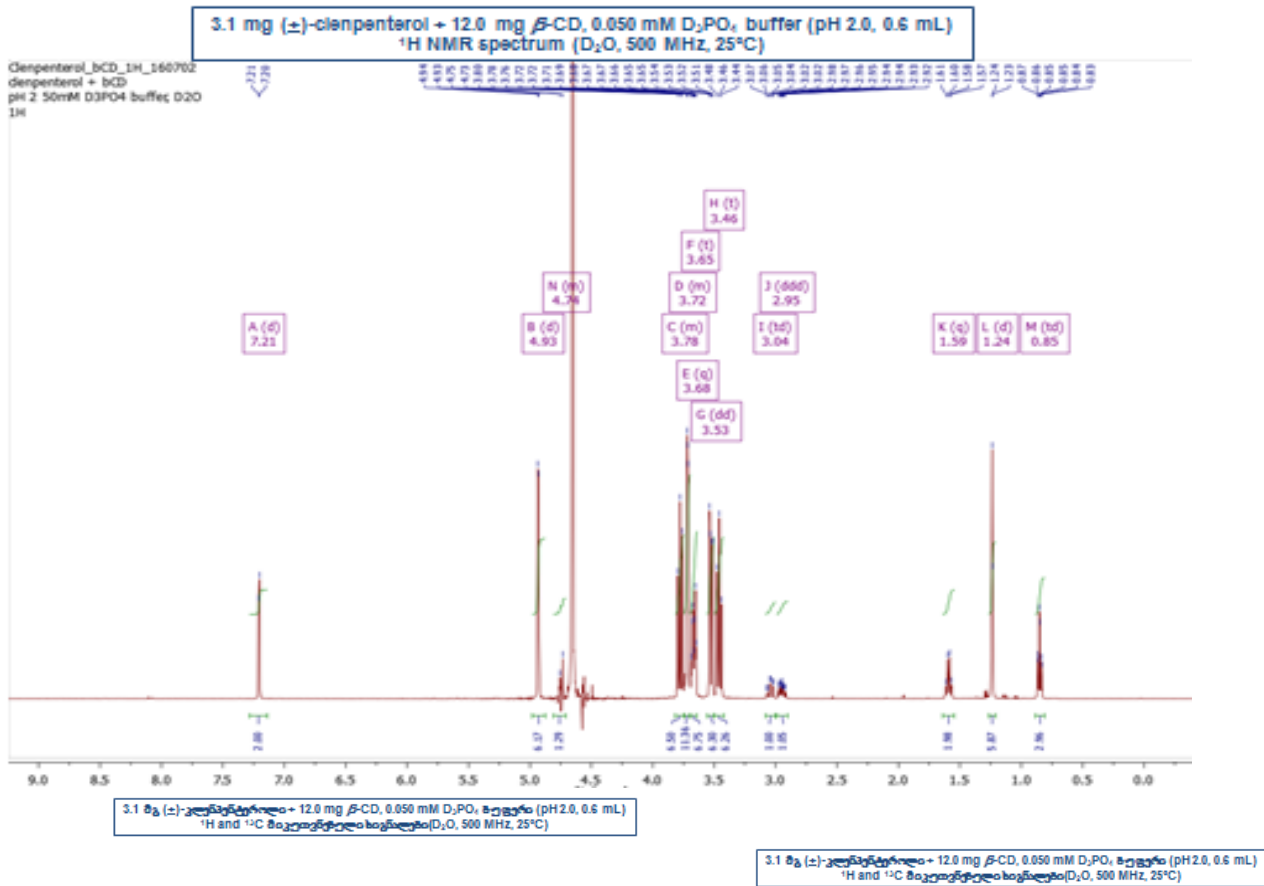
ბირთვულ მაგნიტური რეზონანსის ექსპერიმენტი ჩატარდა ყველა იმ სელექტორ/სელექტანდის წყვილისთვის, სადაც მოხდა მიგრაციის რიგის ცვლილება კაპილარულ ელექტროფორეზში.

თავდაპირველად ჩატარდა პროტონულ მაგნიტური რეზონანსის ექსპერიმენტი. ამ შემთხვევაში დაფიქსირდა ქირალური გამოცნობის მახასიათებელი პროტონების გახლეჩა და წანაცვლება ქიმიური წანაცვლების შკალაზე.

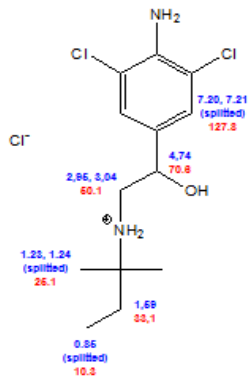
გარდა პროტონულ მაგნიტური რეზონანსის ექსპერიმენტისა ჩატარდა აგრეთვე ორგანოზომილებიანი კორელაციური ექსპერიმენტები, როგორც ჰომობირთვული, ასევე ჰეტერობირთვული (HSQC, COSY). ამ შედეგების საფუძველზე თავდაპირველად მოხდა პროტონებისა და ^{13}C სიგნალების მიკუთვნება კლენპენტეროლისა და ორივე ციკლოდექსტრინისათვის.

კომპლექსების ვიზუალიზაციის მიზნით ჩატარდა ერთ- და ორგანოზომილებიანი ROESY ექსპერიმენტები იმავე სისტემებში. კერძოდ, მიკუთვნებული სიგნალების საშუალებით, მოხდა უკვე ცნობილი პროტონების დასხივება შესაბამისი გამოსხივების ტალღით მათთვის დამახასიათებელ უბნებში ქიმიური წანაცვლების შკალაზე.

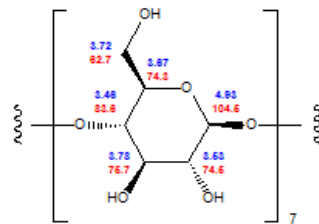
კლენპენტეროლისა და β-ციკლოდექსტრინის ნარევის პროტონულ მაგნიტური რეზონანსის ექსპერიმენტი



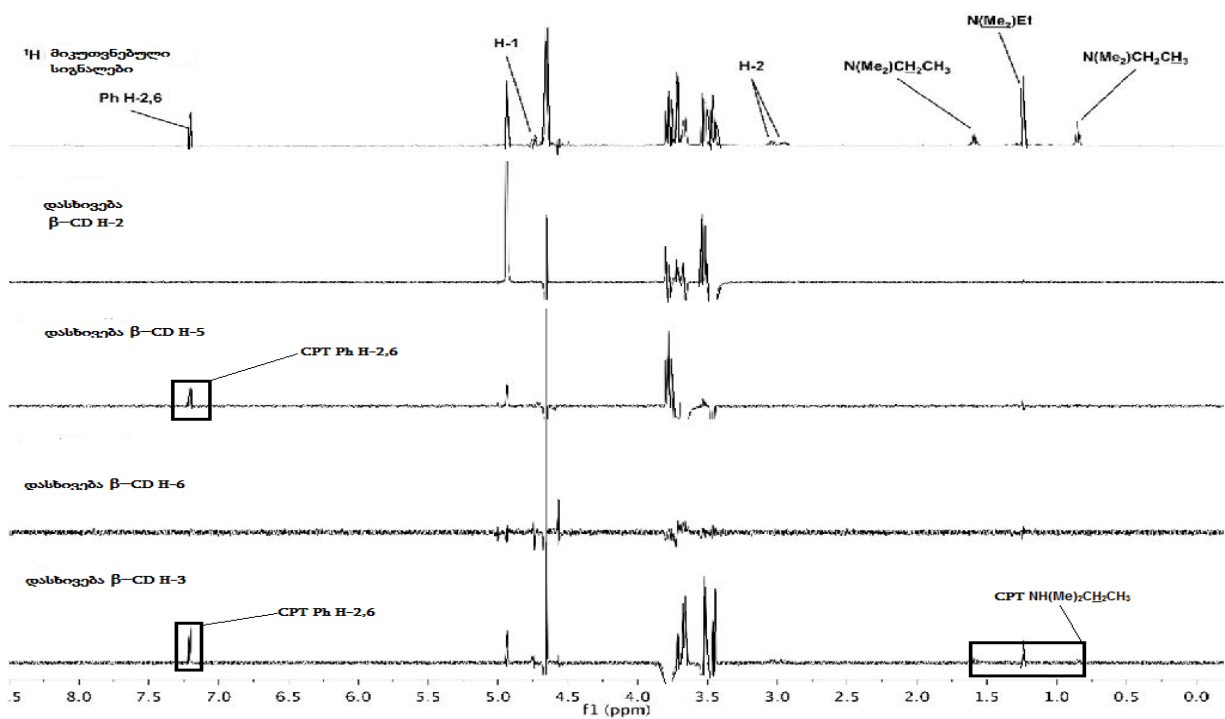
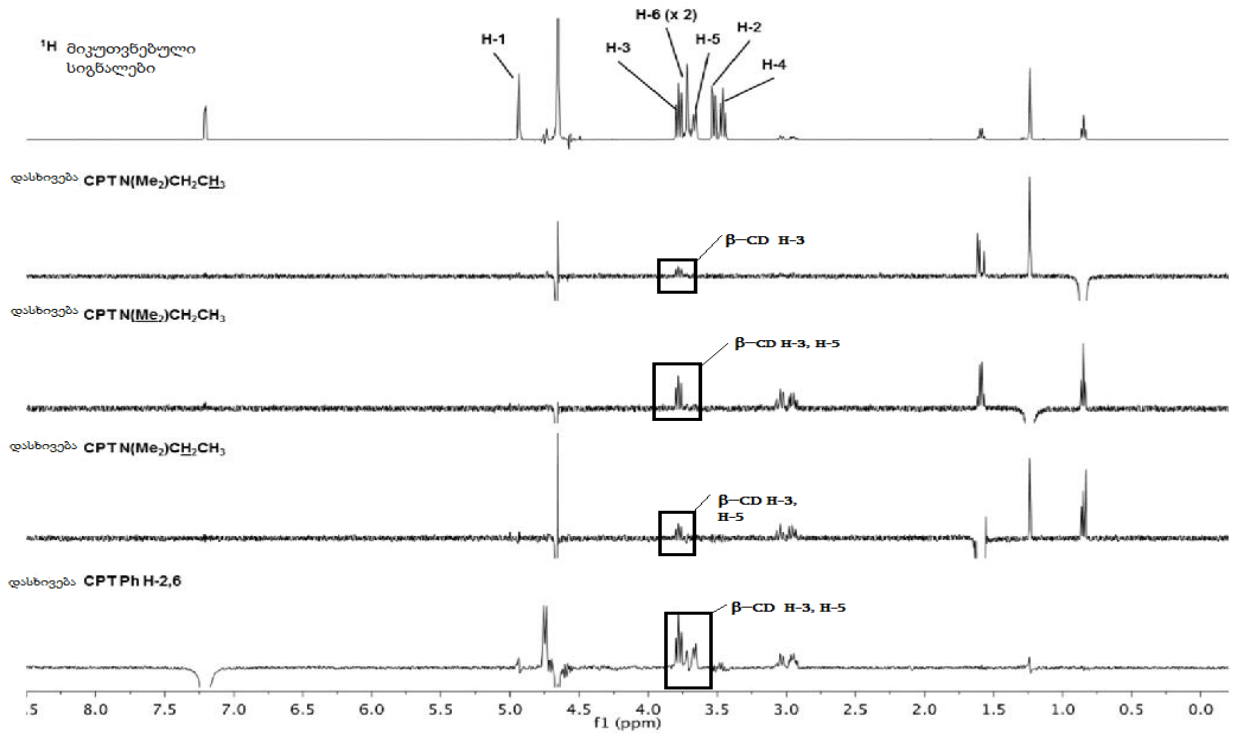
¹H სიგნალი
¹³C სიგნალი



¹H სიგნალი
¹³C სიგნალი



1D ROESY ექსპერიმენტის შედეგები



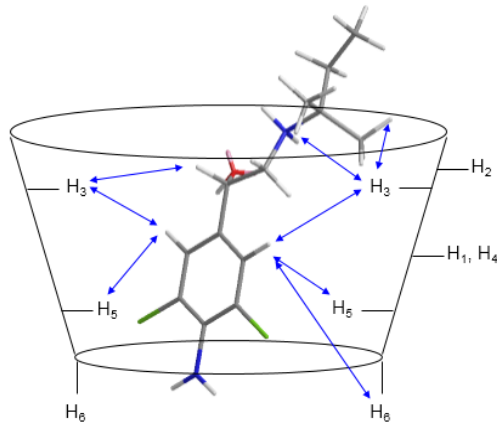
1D ROESY სელექტიური დასხივების მეთოდით სათითაოდ დასხივდა როგორც ქირალური სელექტორის ასევე კლენპენტეროლის მოლეკულაში შემავალი პროტონები შესაბამის უბანში. კლენპენტეროლის ალიფატური ჯაჭვის პროტონების დასხივებით, მივიღეთ როგორც შიდამოლეკულური, ასევე მოლეკულათაშორისი სიგნალები. კომპლექსის აგებულების შესახებ კი ინფორმაციას მხოლოდ მოლეკულათაშორისი სიგნალი იძლევა. ამ შემთხვევაში მოლეკულათაშორისი სიგნალი დაფიქსირდა ციკლოდექსტრინის ღრუში მდებარე H-3 პროტონიდან. აქედან გამომდინარე კლენპენტეროლის ალიფატური ჯაჭვი უნდა ყოფილიყო ციკლოდექსტრინის ღრუში არსებულ H-3 პროტონიდან 5-6 Å-ის სიშორეზე.

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 პროტონების სიგნალებთან 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. აქედან გამომდინარე ალიფატური ნაწილი ქირალური სელექტორის აღნიშნული პროტონიდან იმყოფებოდა 5-6Å-ზე შორს. ხოლო შორი მანძილი პროტონებს შორის არაეფექტურია ბირთვულ ოვერჰაუზერის ეფექტის დასამზერად. არომატული ბირთვიდან მიღებული სიგნალი კი იმის ვარაუდის საფუძველს იძლევა, რომ კლენპენტეროლის მოლეკულა ციკლოდექსტრინის ღრუში ჩაჯდა არომატული ბირთვით.

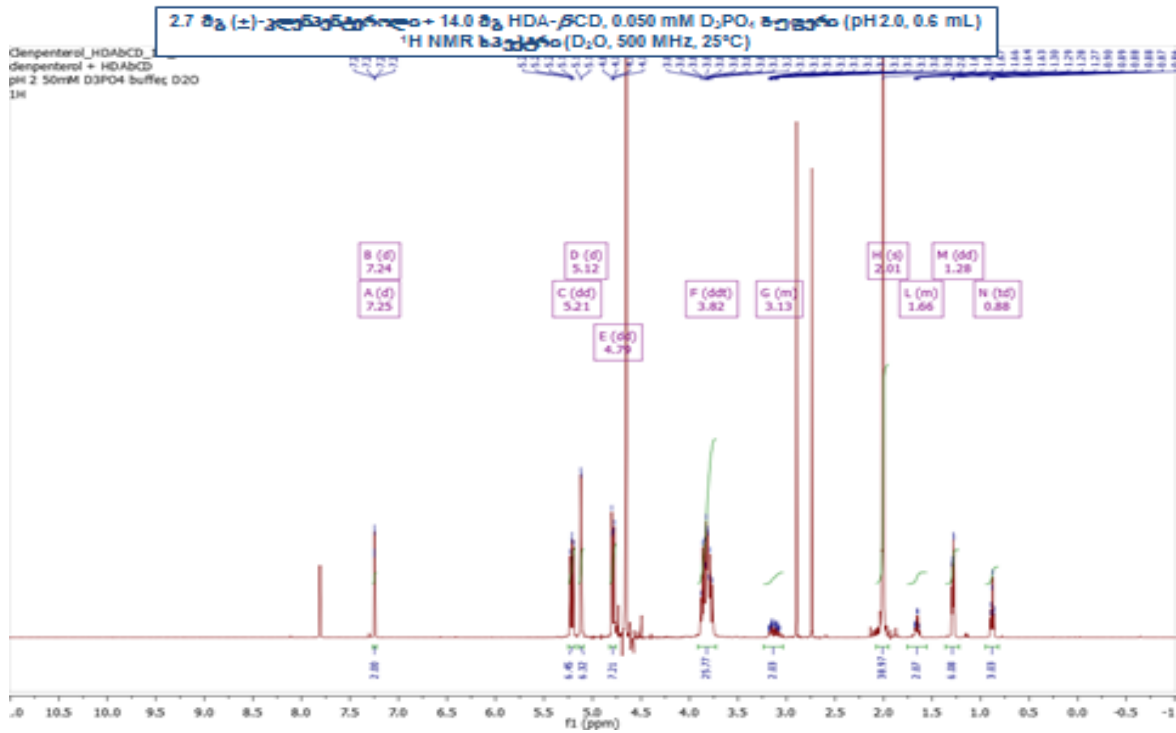
ციკლოდექსტრინის გარე პროტონების დასხივებით როგორებიცაა H-1, H-4, H-6, არ მიგვიღია მოლეკულათაშორისი NOE სიგნალები კლენპენტეროლის მოლეკულიდან, მივიღეთ მხოლოდ შიგამოლეკულური სიგნალები, რომლებიც მომდინარეობდა თვითონ ციკლოდექსტრინის მოლეკულიდან. ეს სიგნალები კი ადასტურებდა რომ ადგილი არ ჰქონია გარეგანი კომპლექსის ფორმირებას.

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.

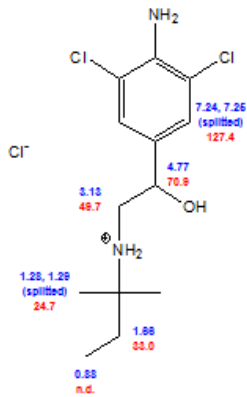
2,3-დიაცეტილ-β-ციკლოდექსტრინისა და კლენპენტეროლის პროტონულ
მაგნიტური რეზონანსის ექსპერიმენტის სპექტრი.



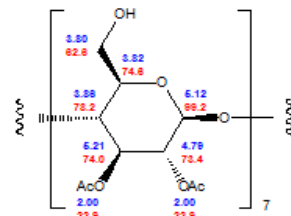
2.7 მგ (±)-კლენპენტეროლი + 14.0 მგ HDA-βCD, 0.050 mM D₂PO₄, შუქვა (pH 2.0, 0.6 mL)
¹H and ¹³C მაგნიტური რეზონანსი (D₂O, 500 MHz, 25°C)

2.7 მგ (±)-კლენპენტეროლი + 14.0 მგ HDA-βCD, 0.050 mM D₂PO₄, შუქვა (pH 2.0, 0.6 mL)
¹H and ¹³C მაგნიტური რეზონანსი (D₂O, 500 MHz, 25°C)

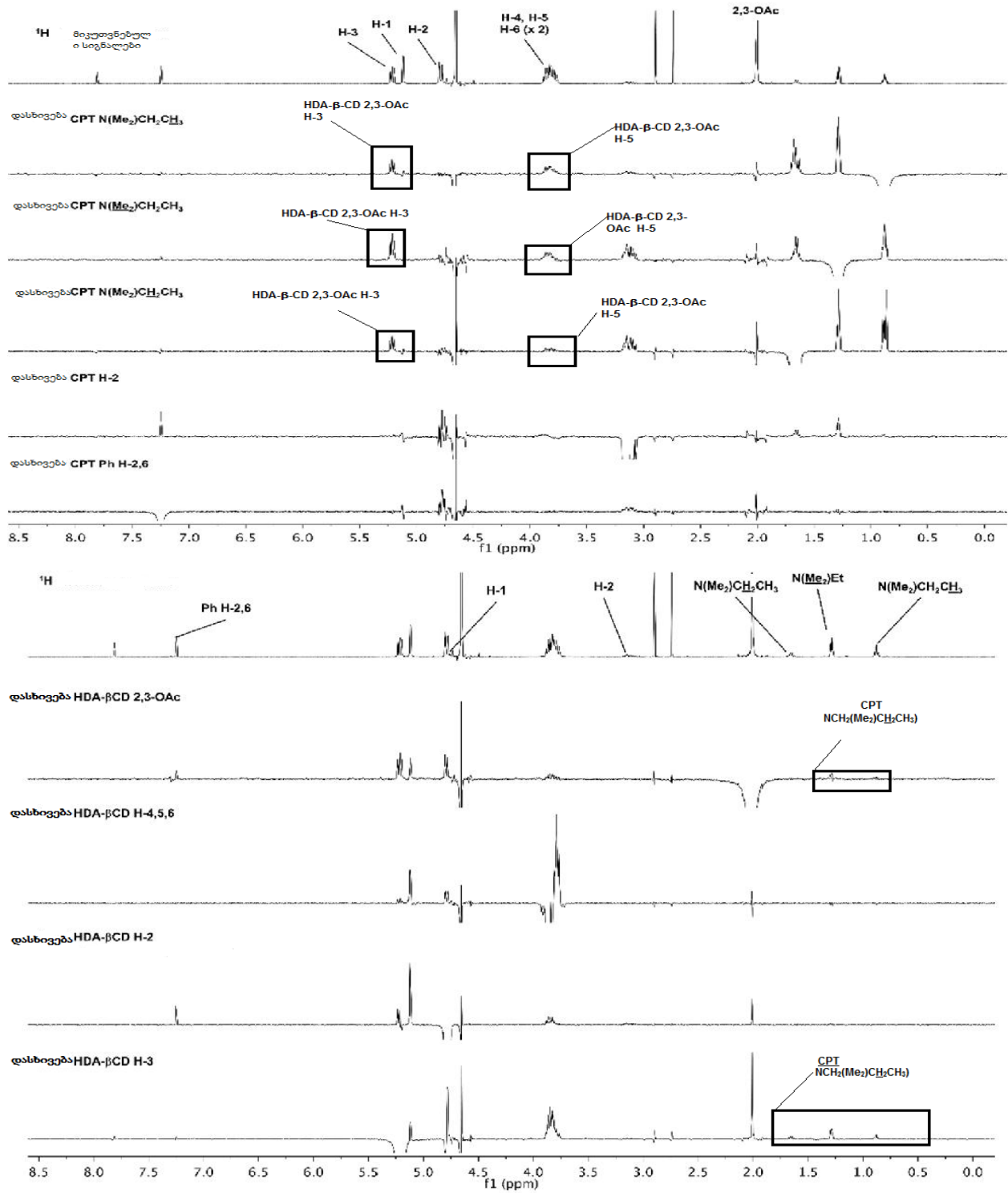
¹H სიგნალი
¹³C სიგნალი



¹H სიგნალი
¹³C სიგნალი



1D ROESY ექსპერიმენტის შედეგები

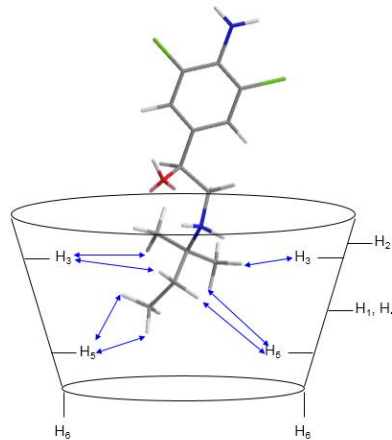


1D ROESY დიაცეტილ-β-ციკლოდექსტრინის ღრუს H-3 პროტონის დასხივების შედეგად მოლეკულათაშორისი სიგნალი მივიღეთ კლენპენტეროლის ალიფატური ჯაჭვის პროტონებიდან. ხოლო მოლეკულათაშორისი NOE სიგნალი არ მიგვიღია არომატული ბირთვის პროტონებიდან. ეს კი ადასტურებდა, რომ არომატული ნაწილი H-3 პროტონიდან იმყოფებოდა შორ მანძილზე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

2,3-დი-*O*-აცეტილ- β -ციკლოდექსტრინისა და კლენპენტეროლის კომპლექსის სტრუქტურა



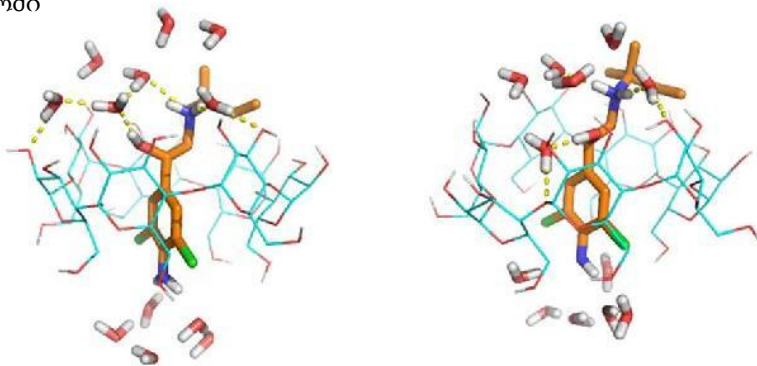
ანალიზების შედეგად დადასტურდა ჩართული კომპლექსის ფორმირება, თუმცა ამ შემთხვევაში გვაქვს საპირისპირო სურათი, რადგან კლენპენტეროლის მოლეკულა 2,3-დი-*O*-აცეტილ- β -ციკლოდექსტრინის ღრუში ჩაჯდა ალიფატური ჯაჭვის მხრიდან, ციკლოდექსტრინის მეორეული მხრიდან, ხოლო არომატულ ბირთვი არ ყოფილა ქირალური სელექტორის ღრუში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

3.3 მოლეკულური დინამიკის შედეგები

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.

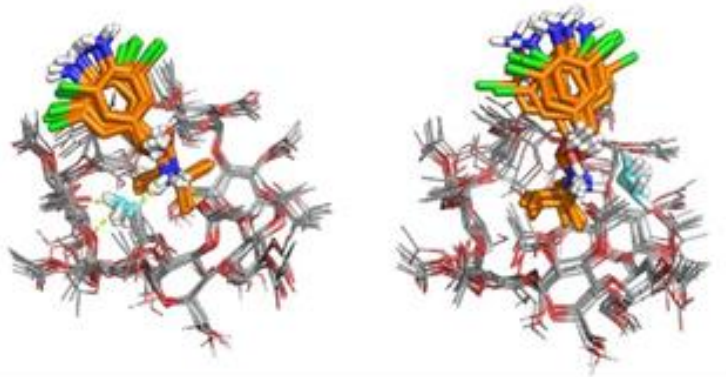
ორივე ჩართული კომპლექსის შემთხვევაში β-ციკლოდექსტინთან კლენპენტეროლის ორივე ენანტიომერი ჩართული იყო ქირალური სელექტორის მოლეკულაში დიქლორანლინის ჯგუფით, რომელიც გამოიშვრება გარეთ ციკლოდექსტრინის ღრუს ვიწრო მხრიდან, ხოლო ჰიდროქსილისა და ამინის ჯგუფები, რომელიც იმყოფება საპირისპირო მხარეს (ალიფატურ ჯაჭვში)-ციკლოდექსტრინის 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-ციკლოდექსტრინისა და კლენპენტეროლის ენანტიომერების სამგანზომილებიანი სტრუქტურა წყლიან გარემოში



კლენპენტეროლის ორიენტაცია შეზღუდულია 2,3-დი-*O*-აცეტილ- β -ციკლოდექსტრინის კომპლექსის შემთხვევაში. იზოფენილის ჯგუფი აღმოჩნდა, რომ არის ჩართული ღრუში. დიქლორანილინის ნაწილი გამოშვებულია ღრუდან და ეყრდნობა აცეტილის ჯგუფების არაპოლარულ ნახშირბად ატომებს. კომპლექსებში კლენპენტეროლის ამინო ჯგუფი წარმოქმნის ძლიერ წყალბადურ ბმებს: ერთს აცეტილის ჯგუფის ჟანგბად ატომთან, ხოლო მეორე წყლის შუამავლობით ჩამოყალიბებულ წყალბადურ მბას დანარჩენ ჟანგბად ატომებთან.

2,3-დიაცეტილ- β -ციკლოდექსტრინისა და კლენპენტეროლის ენანტიომერების სამგანზომილებიანი სტრუქტურა წყლიან გარემოში

HDA- β CD:(S)-CPTHDA- β CD:(R)-CPT

3.4 ბმის ენერგიები

ცხრილი. ბმის ენერგიები ($\text{kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$)^a კლენპენტეროლის (*R*) და (*S*) ენანტიომერების β CD and HDA- β CD-თან.

კომპლექსი	საერთო ^b	ვან დერ ვაარსული	CPT			
			კოლუმბური	დესოლვატაცია	CD დესოლვატაცია	აბოლარული
1 β CD:(<i>R</i>)-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 β CD:(<i>S</i>)-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- β CD:(<i>R</i>)-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- β CD:(<i>S</i>)-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 კომპლექსების 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-დი-*O*-აცეტლ- β -ციკლოდექსტრინის კომპლექსის შემთხვევაში β -ციკლოდექსტრინის კომპლექსის მსგავსად ენანტიომერების ბმის მუდმივების საერთო ენერგიები მცირედ განსხვავდება ერთმანეთისგან, თუმცა ამ შემთხვევაში უფრო მაღალი შეკავშირების მუდმივას მნიშვნელობით ხასიათდება *S*-ენანტიომერი.

დასკვნები:

შევისწავლეთ კლენპენტეროლის დაყოფა და მიგრაციის რიგის ცვლილება კაპილარულ ელექტროფორეზში ქირალურ სელექტორებად სხვადასხვა ციკლოდექსტრინების გამოყენებით. მოლეკულური დინამიკის ანალიზების საშუალებით დადგინდა ენანტიომერების შეკავშირების მუდმივების ენერგიებს შორის მცირე სხვაობა, რაც საკმარისი აღმოჩნდა ენანტიომერების დასაყოფად.

შესწავლილ იქნა კენპენტეროლი/ β -ციკლოდექსტრინისა და კლენპენტეროლი/2,3-დი- O -აცეტილ- β -ციკლოდექსტრინის კომპლექსების აგებულება ხსნარში ბმრ-სპექტროსკოპიის რამდენიმე მეთოდის საშუალებით. მიღებული შედეგების საფუძველზე და მოლეკულური მოდელირების მეთოდების გამოყენებით დადგინდა, რომ ორივე ტიპის კომპლექსი წარმოადგენს ჩართული სახის კომპლექსს.

დადგინდა სელექტორ/სელექტანდურ კომპლექსებს შორის განსხვავება ორივე ციკლოდექსტრინის შემთხვევაში, ასევე R- და S- ენანტიომერების შეკავშირების მუდმივების განსხვავებულ მნიშვნელობებს შორის;

დადგინდა კლენპენტეროლის ენანტიომერების მიგრაციის რიგის ცვლილების მიზეზი.

გამოყენებული ლიტერატურა:

1. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3614593/>
2. <https://www.khanacademy.org/test-prep/mcat/chemical-processes/stereochemistry/a/chiral-drugs>
3. Capillary Electrophoresis in Chiral Analysis-Bezhan Chankvetadze
4. https://en.wikiversity.org/wiki/Capillary_Electrophoresis
5. https://chem.libretexts.org/Core/Analytical_Chemistry/Instrumental_Analysis/Capillary_Electrophoresis
6. High performance capillary electrophoresis, David Heiger, 2000(5968-9963E)
7. <https://www.nature.com/scitable/definition/gel-electrophoresis-286->
8. Recent advances in chiral separation principles in capillary electrophoresis and capillary Electrochromatography, Gerald Gübitz Martin G. Schmid; Institute of Pharmaceutical Sciences, Dept. of Pharm. Chemistry, Karl-Franzens-University, Graz, Austria; Electrophoresis 2004, 23, 3981–3996
9. <https://notendur.hi.is/thorstlo/general.pdf>
10. Chiral separations, methods and protocols, Gerald Gubitz, Martin G. Schmid, Humanapress, Totawa, New Jersey, 2004
11. Enantioseparations in capillary electromigration techniques: recent developments and future trends *,1 Bezhan Chankvetadze , Gottfried Blaschke University of Munster, Institute of Pharmaceutical Chemistry, Hittorfstrasse 58-62, 48149 Munster, Germany, Journal of Chromatography A, 906 (2001) 309–363
12. <https://www.clicktocurecancer.info/capillary-electrophoresis/conclusion-nak.html>
13. <http://chem.ch.huji.ac.il/nmr/techniques/2d/roesy/roesy.html>
14. Enantioseparations by using capillary electrophoretic techniques The story of 20 and a few more years Bezhan Chankvetadze; Journal of Chromatography A, 1168 (2007) 45–70
15. Spin Dynamics, Basics of Nuclear Magnetic Resonance, Second edition, Malcolm H. Levitt, The University of Southampton, UK, 2008
16. Terence N. Mitchell, Burkhard Costisella, NMR – From Spectra to Structures. An Experimental Approach. Second Revised and Expanded Edition with 168 Figures, Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2007

