ივანე ჯავახიშვილის თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტი

მარიამ ძამაშვილი

ტემპერატურის გავლენის შესწავლა ტრიადიმეფონის ენანტიომერების დაყოფაზე ამილოზა ტრის(3-ქლორ-5-მეთილფენილკარბამატის) სილიკაგელზე დაფენით მომზადებულ ქრომატოგრაფიულ სვეტებზე სითხურ ქრომატოგრაფიაში

ზუსტ და საბუნებისმეტყველო მეცნიერებათა ფაკულტეტი,
სპეციალობა- ქიმიური ექსპერტიზა

სამაგისტრო ნაშრომი შესრულებულია ქიმიის მაგისტრის აკადემიური ხარისხის მოსაპოვებლად

სამეცნიერო ხელმძღვანელი:
ქიმიის მეცნიერებათა დოქტორი, პროფესორი,
საქართველოს
მეცნიერებათა ეროვნული აკადემიის აკადემიკოსი
ბეჟან ჭანკვეტაძე

თბილისი

2019 წელი

შინაარსი

1. ანოტაცია 3

2. შესავალი 4

2.1 ქირალური ნივთიერებების ენანტიომერების დაყოფის მნიშვნელობა 4

2.2 ენანტიომერები და მათი კლასიფიკაცია 5

2.3 ენანტიომერების დაყოფის ინსტრუმენტული მეთოდები 7

2.3.1 გაზური ქრომატოგრაფია 7

2.3.2 კაპილარული ელექტროფორეზი 8

2.3.3 ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფი 9

2.4 სითხური ქრომატოგრაფია 9

2.5 ქრომატოგრაფიული დაყოფის მახასიათებელი პარამეტრები 10

2.6 ენანტიომერების დაყოფა მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფიის მეთოდით ... 11

2.7 ენანტიომერიზაცია და მისი კინეტიკური და თერმოდინამიკური აღწერა 12

3. პოლისაქარიდული ქირალური სტაციონარული ფაზების მიმოხილვა 18

3.1 პოლისაქარიდების: ამილოზას და ცელულოზას მოკლე დახასიათება 19

3.2 პოლისაქარიდული ეთერები და კარბამატები ქირალურ სტაციონალურ ფაზებად 21

3.3 ქირალური სტაციონალური ფაზების ოპტიმიზაცია 24

4. ექსპერმიმენტის შედეგები და მათი განსჯა 26

4.1 გამოკვლეული ნივთიერებები 26

4.2 სტაციონარული ფაზები 27

4.3 გამოყენებული მოძრავი ფაზები 27

4.4 გამოყენებული ხელსაწყო და რეაქტივები 28

4.5 შედეგები 28

5. გამოყენებული ლიტერატურა 40

1. ანოტაცია

ქირალური სამკურნალწამლო საშუალებების ენანტიომერების ანალიზური და პრეპარატული დაყოფა ძალიან მნიშვნელოვანია, რადგანაც ამ ენანტიომერებს, გაჩნიათ განსხვავებული ფარმაკოლოგიური და ტოქსიკური თვისებები. ენანტიომერული ნარევების დაყოფის ერთ-ერთ ძირითად მეთოდს წარმოადგენს მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფია, ხოლო მოცემულ მეთოდში ყველაზე ფართოდ გამოყენებულ ქირალურ სტაციონარულ ფაზებს პოლისაქარიდების ნაწარმების საფუძველზე მომზადებული მასალები წარმოადგენს.

მოცემულ ნაშრომში განხილულია სითხური ქრომატოგრაფიის მეთოდით ტემპერატურის გავლენის შესწავლა ტრიადიმეფონის ენანტიომერების დაყოფოს მაგალითზე, ამილოზა ტრის (3-ქლორ-5-მეთილფენილკარბამატის) სილიკაგელზე დაფენით მომზადებულ ქრომატოგრაფიულ სვეტებზე, ასევე ენენტიომერების ურთიერთგარდაქმნის კინეტიკური მახასიათებლები.

Summery

Separation of enantriomers of chiral drugs is important because the enantiomers commonly exhibit different pharmacological and toxic properties. High-performance liquid chromatography (HPLC) is one of the major methods for separation of enantiomers and polysaccharide derivatives belong to the most successful chiralselectors for separation of enantiomers in HPLC.

The present work deals with the study of the influence of temperature on the separation of triadimephone enantiomers in high-performance liquid chromatography (HPLC). Amylose tris(3-chloro-5-methylphenylcarbamate) covalently attached to the silica surface was used as a chiral stationary phase. The kinetics of enantiomerization process was studied.

2. შესავალი

2.1 ქირალური ნივთიერებების ენანტიომერების დაყოფის მნიშვნელობა

სამკურნალწამლო საშუალებების უმრავლესობა შეიცავს ერთ ქირალურ ცენტრს მაინც. მიუხედავად ენანტიომერების ქიმიური და ფიზიკური თვისებების იდენტურობისა, ისინი ავლენენ მკვეთრად განსხვავებულ იბიოაქტივობებს, როგორებიცა ფარმაკოლოგიური, ტოქსიკოლოგიური, ფარმაკოკინეტიკური და მეტაბოლიტური აქტივობები. უკეთეს შემთხვევაში ერთი ენანტიომერის სასარგებლო აქტივობა გაცილებით მეტია ვიდრე მეორის. ხშირ შემთხვევებში არასამკურნალო ენანტიომერს არ გააჩნია შესამჩნევი ფიზიოლოგიური აქტივობა და მხოლოდ უსარგებლო მინარევია, ხოლო არის შემთხვევები, როდესაც მეორე ენანტიომერს გააჩნია ტოქსიკური ან სხვა ტიპის მავნე ზემოქმედება. ამის მაგალითია გასულისაუკუნის 60-იან წლებში პრეპარატი თალიდომიდის შემთხვევა. ეს პრეპარატი რაცემული სახით ენიშნებოდა თფეხმძიმე ქალებს, როგორც გულისრევის საწინააღმდეგო საშუალება, თუმცა შემდეგ გაირკვა, რომ თალიდომიდის ერთ-ერთი ენანტიომერი იწვევდა ნაყოფში ფოკომელიას - კიდურების განუვითარებლობას. მსოფლიო მასშტაბით 10 000-მდე ასეთი შემთხვევაა რეგისტრირებული, სამწუხაროდ დაავადებული ახალშობილების მხოლოდ 50% გადარჩა. თუმცა შემდგომი კვლევებით გაირკვა, რომ თუნდაც სუფთა ენანტიომერული თალიდომიდის მიღების შემდეგ ორგანიზმში მეტაბოლიზმის შედეგად ის განიცდის გარდაქმნას მის მავნე ქირალურ ანალოგში და წარმოადგენს საფრთხეს ნაყოფისათვის, ეს პრეპარატი დღეს-დღეობით აკრძალულია ფეხმძიმე ქალებისთვის. ამერიკის შეერთებული შტატების წამლისა და საკვები პროდუქტების სააგენტო -FDA რეკომენდაციას უწევს თითოეული ენანტიომერის ფარმაკოლოგიური თვისებების კვლევას ახალი სამკურნალო პრეპარატის დამუშავებისას, ან მხოლოდ ერთი ენანტიომერის გამოყენებას.

2.2 ენანტიომერები და მათი კლასიფიკაცია

მოლეკულური ქირალობის ფუძემდებელია ფრანგი მიკრობიოლოგი ლუის პასტერი. მან 1848 წელს ხელით (ვიზუალური გადარჩევით) დაყო ღვინის მჟავას ნატრიუმ-ამონიუმის მარილის კრისტალები. ტერმინი ქირალობა მოდის ბერძნული სიტყვისგან ქიროს (χειρ), რაც ხელს ნიშნავს.

როდესაც მოლეკულა არათავსებადია საკუთარ სარკულ გამოსახულებასთან, მას ქირალურს უწოდებენ, ხოლო არათავსებად სარკულ გამოსახულებებს-ენანტიომერებს. ქირალურ მოლეკულაში შეიძლება გვქონდეს ქირალობის ცენტრი, იგივე ასიმეტრიული ცენტი. ორგანული ნივთიერებების შემთხვევაში ხშირად ასეთ ცენტრს წარმოადგენს ნახშირბადის ატომი, რომელსაც ოთხი სხვადასხვა ჩამნაცვლებელი გააჩნია. ასეთ ატომს-სტერეოგენულ ნახშირბადატომს უწოდებენ. თუმცა ხშირია შემთხვევები, როდესაც ქირალური ცენტრის როლს გოგორდი, ფოსფორი და აზოტი ასრულებს, როგორც მაგალითად ომეპრაზოლის, ციკლოფოსფამიდის და მეტაქვალონის მოლეკულებში, შესაბამისად. როგორც აღვნიშნეთ, აქირალურ გარემოში ენანტიომერების ფიზიკური და ქიმიური თვისებები იდენტურია, გარდა პოლარიზებული სინათლის მობრუნების კუთხის ნიშნისა. ამ ოპტიკური აქტიურობის გამო, ენანტიომერებს ხშირად ოპტიკურ იზომერებსაც უწოდებენ, თუმცა ეს ტერმინი მოძველებულია. ოპტიკურ თვისებაზე დაფუძნებული კლასიფიკაციის მიხედვით, ენანტიომერები იყოფა მარცხნივ მბრუნავ (levorotary- l იზომერი) და მარჯვნივ მბრუნავ (dextrorotary- d იზომერი) იზომერებად. მარცხნივ მბრუნავი ხშირად აღინიშნება „-“ ნიშნით, ხოლო მარჯვნივ მბრუნავი „+“ ნიშნით, ხოლო d და l იზომერების ექვიმოლური (50/50) ნარევს რაცემატი ეწოდება და აღინიშნება „ ±“ ნიშნით, ან (d,l). რაცემატს არ გააჩნია ოპტიკური აქტივობა.

თანამედროვე ნომენკლატურის მიხედვით, ენანტიომერების კლასიფიკაცია ხდება ჩამნაცვლებელი ჯგუფების 3 განზომილებიანი სივრცული განლაგების მიხედვით ქირალური ცენტრის გარშემო მოლეკულაში. ეს კლასიფიკაცია დაფუძნებულია კან-ინგოლდ-პრელოგის პრიორიტეტების წესზე, რომელიც გამოიყენება ორგანულ ქიმიაში ჩამნაცვლებელი ჯგუფების პრიორიტეტების განსაზღვრისთვის. ასიმეტრიულ ნახშირბადთან ჩანაცვლებული ჯგუფების პრიორიტეტების განსაზღვრა ხდება რამდენიმე წესის თანმიმდევრობით. არსებობს სხვადასხვა წესი, თუმცა მათ შორის

უმარტივესი შემდეგია: ატომთა მეტი რიცხვის მქონე ჩამნაცვლებელი ჯგუფი წინ უძღვის ატომთა ნაკლები რიცხვის მქონე ჩამნაცვლებელ ჯგუფს. თუკი ყველაზე მაღალი პრიორიტეტის ჯგუფიდან ყველაზე დაბალი პრიორიტეტის ჯგუფისკენ ათვლა მიმდინარეობს საათის ისრის მიმართულებით, მაშინ ენანტიომერის კონფიგურაციაა R (ლათინურიდან rectus- მარჯვნივ), ხოლო თუ ათვლა მიმდინარეობს საათის ისრის საწინააღმდეგო მიმართულებით, მაშინ ენანტიომერის კონფიგურაციაა S (ლათინურიდან sinestra - მარცხენა), რაცემული ნარევი აღინიშნება როგორც R,S. პირდაპირი კავშირი ამ ნომეკლატურასა და ბრტყლად პოლარიზებული სინათლის ბრუნვის ნიშანს შორის არ არსებობს. კონკრეტული მოლეკულის თვისებებიდან გამომდინარე შეიძლება გვქონდეს R(+) ან R(-) და S(+) ან S(-). მოლეკულის ოპტიკური აქტიურობა განისაზღვრება პოლარიმეტრის, ან წრიული დიქროიზმის მეშვეობით, ხოლო ჩამნაცვლებელი ჯგუფების სივრცული განლაგება ბირთვულ-მაგნიტური რეზონანსის, ანდა რენტგენოსტრუქტურული ანალიზით. R/S სამგანზომილებიანი კონფიგურაცია საშუალებას გვაძლევს ავხსნათ ენანტიომერების ურთიერთქმედება მათ ბიოლოგიურ რეცეპტორებთან.

თუკი მოლეკულაში არის რამდენიმე ქირალური ცენტრი, ამ შემთხვევაში გვექნება სტერეოიზომერები. ორი ქირალური ცენტრის შემთხვევაში გვექნება დიასტერეომერები.

ენანტიომერები და დიასტერეომერები წარმოადგენენ სტერეოიზომერების ოჯახს. სტერეოიზომერებს აქვთ ერთნაირი ქიმიური ფორმულა და შემადგენლობა, მაგრამ განსხვავდებიან ჩამნაცვლებლების სივრცული ორიენტაციით.

ეუტომერს უწოდებენ ბიოაქტიურ ენანტიომერს, რომელსაც აქვს მაღალი ფარმაკოლოგიური აქტივობა, ხოლო მისი საწინააღმდეგო ენანტიომერს *დისტომერი* ეწოდება.

2.3 ენანტიომერების დაყოფის ინსტრუმენტული მეთოდები

2.3.1 გაზურიქრომატოგრაფია

გაზური ქრომატოგრაფიის მეთოდით ქირალური სტაციონარული ფაზის გამოყენებით ენანტიომერების დაყოფა პირველად განხორციელდა გასული საუკუნის 60-იან წლებში. დღესდღეობით გაზური ქრომატოგრაფიით ენანტიომერების დასაყოფად ორი მიდგომაა გამოყენებული: პირდაპირი მიდგომისას ოპტიკური იზომერების დაყოფა ხდება ქირალური სტაციონარული ფაზების გამოყენებით, ხოლო არაპირდაპირი მიდგომის დროს, ხდება საანალიზო ენანტიომერების ნარევის დერივატიზაცია ენანტიომერულად სუფთა ქირალური დანამატით და ხდება მიღებული დიასტერეომერების ანალიზი სტანდარტული არაქირალური სტაციონარული ფაზების გამოყენებით. გამოიყენება ასევე ორგანზომილებიანი გაზური ქრომატოგრაფია, სხვადასხვა სტაციონარული ფაზების მქონე სვეტების კონფიგურაციების გამოყენება ერთ ანალიზში. გაზური ქრომატოგრაფიის მაღალი ეფექტურობა საშუალებას იძლევა ერთ ანალიზში დაიყოს არა მარტო ენანტიომერები, არამედ აქირალური მინარევები და დამაბინძურებლები, ანუ ხდება არა მარტო ქირალური, არამედ ქიმიური დაყოფაც.

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

2.3.2 კაპილარული ელექტროფორეზი

პირველი დაყოფა კაპილარული ელექტროფორეზის მეთოდით განხორციელდა მე-20 საუკუნის 80-იან წლებში, მის შემდეგ მეთოდი აქტიურად ვითარდება. კაპილარული ელექტროფორეზის მთავარ უპირატესობებს წარმოადგენს ნიმუშის და სხვა რეაგენტების განსაკუთრებით მცირე ხარჯი, ანალიზის მცირე დრო, დაყოფის მაღალი ეფექტურობა და ისეთი ნივთიერებების დაყოფის შესაძლებლობა, რომელთა დაყოფაც გართულებულია, ან საერთოდ შეუძლებელია გაზური, ან სითხური ქრომატოგრაფიის გამოყენებით.

კაპილარული ელექტროფორეზის ექსპერიმენტისას შესაძლებელია ისეთი მონაცემების მიღება, რომლელთა მიღებაც შეუძლებელია გაზურ ან მაღალეფექტურ სითხურ ქრომატოგრაფიის მეთოდებით. მაგალითად სელექტორ-სელექტანტის ურთიერთქმედების ისეთი სტერეოსელექტიური ეფექტების დაფიქსირება, რომელთა დანახვაც შეუძლებელია ქრომატოგრაფიული, ბირთვულ-მაგნიტური რეზონანსის ან წრიული დიქროიზმის მეთოდების გამოყენებით.

გარდა ამისა, კაპილარული ელექტროფორეზი უფრო მოქნილია ვიდრე სხვა ანალიზური მეთოდები. სულ რამდენიმე წუთია საჭირო ელექროფორეზის ერთი მეთოდიდან მეორეზე გადასასვლელად, მაშინ როდესაც სითხურ ქრომატოგრაფიაში სვეტების ან ელუენტის შეცვლა, შემდგომის სისტემის გაწონასწორება ხანგრძლივი და ხშირად არასასურველი პროცესია. გაზური ქრომატოგრაფია კი ლიმიტირებულია მხოლოდ სვეტის შეცლით, ამავდროულად მოძრავი ფაზის მოდიფიკაცია ხშირად შეუძლებელია, ან არაეფექტურია.

ასევე კაპილარული ელექტროფორეზული მეთოდი უფრო იაფია და ეკოლოგიურად სუფთა, რადგანაც არ იყენებს ტოქსიკურ ორგანულ გამხსნელებს და ნარჩენების რაოდენობა გვაქვს მიკროლიტრებსა და მაქსიმუმ მილილიტრებში.

მეთოდის ნაკლია შედარებით დაბალი მგრძნობიარობა, ვიდრე სხვა ქრომატოგრაფიული მეთოდების. თუმცა ნიმუშის პრეკონცენტრირების მეთოდების განვითარების ხარჯზე მგრძნობიარობაში განსხვავებაც მნიშვნელოვნად მცირდება.

თანამედროვე კაპილარული ელექტროფორეზის ხელსაწყოები საშუალებას იძლევა ჩატარდეს არა მარტო ელექტროფორეტული, არამედ კაპილარული ელექტრო

ქრომატოგრაფიული ექსპერიმენტები, რომელიც წარმოადგენს კაპილარულ სითხურ ქრომატოგრაფიის და კაპილარულ ელექტროფორეზის კომბინაციას.

2.3.3 ზეკრიტიკულისითხეებისქრომატოგრაფი

ენანტიომერების დასაყოფად ასევე წარმატებით გამოიყენება ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფია, სადაც ელუენტის როლს ძირითადად ასრულებს აირი, ან სითხე რომლის წნევა ან ტემპერატურა თერმოდინამიკული კრიტიკული წერტილის მაღლაა.

ყველაზე ფართოდ ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფიაში ელუენტად გამოიყენება ნახშირორჟანგი - CO_2, რადგანაც ადვილია მისი ზეკრიტიკულ მდგომარეობაში მოყვანა. გარდა ამისა ნახშირორჟანგი არის იაფი, ეკოლოგიურად სუფთა, ინერტული და გამოსაყენებლად უსაფრთხო აირი.

ქირალური დაყოფებისთვის ზეკრიტიკული სითხეების ქრომატოგრაფიაში გამოიყენება სვეტები, რომლებიც პირდაპირ გადმოტანილია მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფიიდან. ძირითადად ესენია პოლისაქარიდული ტიპის, ჯაგრისის ტიპის პირკლეს ფაზები და მაკროციკლური ანტიბიოტიკური ქირალური სტაციონარულიფაზები.

ქრომატოგრაფიული სვეტების მაღალი ეფექტურობა (ძირითადად სწრაფი დიფუზიის გამო) ზეკრიტიკულ სითხეებში ეკოლოგიური სისუფთავე, უსაფრთხოება და სიიაფე ამ მეთოდის მთავარიუპირატესობაა.

2.4 სითხური ქრომატოგრაფია

ქრომატოგრაფია არის ნარევების ცალკეულ კომპონენტებად დაყოფის მეთოდი, რომელიც დაფუძნებულია კომპონენტების განსხვავებულ წონასწორულ განაწილებაზე ორ ერთმანეთთან შეურევად ფაზაში. ერთ-ერთი ამ ფაზებიდან მოძრავია, ხოლო მეორე უძრავი. ნიმუშის კომპონენტების მოძრაობა ქრომატოგრაფიულ სისტემაში დამოძრაობის სწორხაზოვანი სიჩქარე წარმოადგენს მოძრავ და უძრავ ფაზაში წონასწორული

განაწილების ფუნქციას. კომპონენტები, რომლებიც ძირითადად განაწილებულნი არიან სტაციონარულ ფაზაში, მოძრაობენ უფრო ნელა, ვიდრე კომპონენტები, რომლებიც ძირითადად განაწილებულნი არიან მოძრავ ფაზაში. ამგვარად ენანტიომერების დაყოფას განაპირობებს მათ სწორხაზოვან სიჩქარეებს შორის სხვაობა, რაც თავის მხრივ გამოწვეულია ენანტიომერების წონასწორულ განაწილებათა შორის სხვაობით.

2.5 ქრომატოგრაფიული დაყოფის მახასიათებელი პარამეტრები

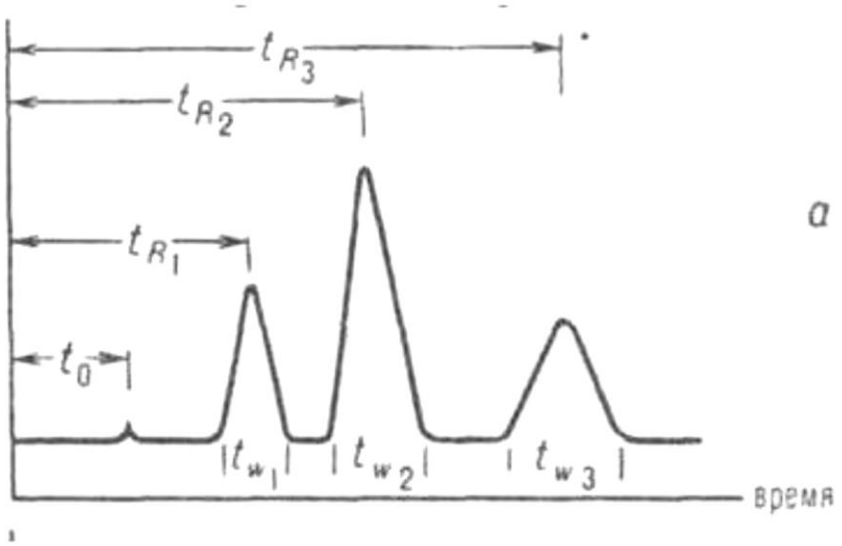
შეკავების ფაქტორი k გამოითვლება ფორმულით:

$$k_A = \frac{t_R - t_M}{t_M} \quad (1);$$

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(α), არის დაყოფის ხარისხის რაოდენობრივი მახასიათებელი და წარმოადგენს ორი ნიმუშის (მოცემულ შემთხვევაში ენანტიომერების) შეკავების ფაქტორთა ფარდობას:

$$\alpha = \frac{k_2'}{k_1'} \quad (2);$$

αდამოკიდებულია მხოლოდ საანალიზო კომპონენტების ბუნებაზე, ელუენტის ტიპზე, მის შემადგენლობაზე, და ადსორბენტის ბუნებაზე, მისი ზედაპირის ქიმიაზე.

სვეტის ეფექტურობა ხასიათდება თეორიული თეფშების რიცხვით N.

$$N = 16(\frac{t_R}{W})^2 \quad (3);$$

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

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

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

t_1 და t_2- პირველი და მეორე ნიმუშის (ენანტიომერის) შეკავების დროებია, ხოლო

W_1 და W_2 პირველი და მეორე ნიმუშის პიკის სიგანეები.

2.6 ენანტიომერების დაყოფა მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფიის მეთოდით

დღესდღეობით ენანტიომერული ნარევების დაყოფა, მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფიული მეთოდით წარმოადგენს ყველაზე ფართოდ გამოყენებად მეთოდს ისეთ სფეროებში, რომლებიც მოიცავენ წამლების, ბუნებრივი პროდუქტების, სასოფლო-სამეურნეო ქიმიკატების ანალიზს. მეთოდი საშუალებას იძლევა დავადგინოთ

არა მარტო ნაერთების ოპტიკური სისუფთავე არამედ მივიღოთ და შევაგროვოთ ოპტიკური იზომერების ფართო სპექტრი. ფარმაცევტულ მრეწველობაში ქირალური მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფია წარმოადგენს ძირითად მეთოდს ქირალური სამკურნალწამლო საშუალებების ფარმაკოკინეტიკის, ფიზიოლოგიური, ტოქსიკოლოგიური და მეტაბოლიტური აქტივობის დეტალურ კვლევასა და შემდგომ განვითარებაში. ამ ტენდენციამ გამოიწვია წამლების რაოდენობის ზრდა ფარმაცევტულ ბაზარზე რომლებიც შეიცავენ მხოლოდ ერთ ოპტიკურ იზომერს.

დაყოფის ეფექტური და ენანტიომერთა დიდი რაოდენობის მომცველი ქირალური სტაციონარული ფაზების შემუშავება წარმოადგენს ქირალური მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფიის ერთ-ერთ ძირითად ამოცანას. ქირალური სტაციონარული ფაზები ძირითადად შედგებიან მცირე ზომის ქირალური მოლეკულების ან ქირალური პოლიმერებისგან, რომლებიც დაფენილია ან ქიმიურად იმობილიზებულია შემავსებელზე.

2.7 ენანტიომერიზაცია და მისი კინეტიკური და თერმოდინამიკური აღწერა

ენანტიომერების დაყოფის თერმოდინამიკური მახასიათებლები

ბიოლოგიურ და ქიმიურ სისტემებში ენანტიომერების ძირითადი განმასხვავებელია წონასწორობა ენანტიომერსა (სელექტანტი) და რეცეპტორს (სელექტორი) შორის. ეს წონასწორული პროცესი სელექტანტსა და სელექტორს შორის შეიძლება აღიწეროს თერმოდინამიკური განტოლებებით. თერმოდინამიკური წონასწორული სიდიდეები, ენანტიომერების დაყოფისთვის ქირალურ სტაციონარულ ფაზაზე შესაძლოა აღიწეროს ქრომატოგრაფიული პარამეტრების განსაზღვრით. თერმოდინამიკური პარამეტრებიდან განისაზღვრება ცალკეული ენანტიომერის ენტროპიებსა და ენთალპიებს შორის სხვაობის ცვლილება, ($\Delta\Delta S$; $\Delta\Delta H$) და იზოენანტიოსელექტური ტემპერატურა (T_{iso}).

ენანტიომერების დაყოფა მაღალეფექტურ სითხურ ქრომატოგრაფიაში ქირალურ სტაციონარულ ფაზებზე თერმოდინამიკურად მართული პროცესია. როდესაც

დაიკვირვება ენანტიომერების დაყოფა ენატიოსელექტიურობის ფაქტორი (α) პირველადი მიახლოებით შეიძლება დავუკავშიროთ სვეტის ტემპერატურას შემდეგი განტოლებით (5):

$$\ln \alpha = -\frac{\Delta_{j,i}\Delta H^0}{RT} + \frac{\Delta_{j,i}\Delta S^0}{R} \quad (5):$$

სადაც j და i განსაზღვრავს მეტად და ნაკლებად დაყოვნებულ ენანტიომერებს, ხოლო $\Delta_{j,i}\Delta H^0$ და $\Delta_{j,i}\Delta S^0$ ენანტიომერების ენთალპიებს და ენტროპიებს შორის ცვლილების სხვაობებია. R - აირების მუდმივა, T-აბსოლუტური ტემპერატურა.

პროცესები რომლის შედეგადაც ხდება ენანტიომერების დაყოფა წარმოადგენს დროის მიხედვით გასაშუალებულ ყველა ენერგეტიკულად დასაშვებ მოლეკულათშორისი (სელექტორ-სელექტანტი) ურთიერთქმედებების ჯამს. თითოეულ მათგანს შესაძლოა ჰქონდეს განსხვავებული გეომეტრიული მოთხოვნები და ენერგეტიკული წილი. იმ შემთხვევაში როდესაც საანალიზო ნივთიერების მოლეკულების ურთიერთქმედების ენერგია სწორხაზოვნადაა დამოკიდებული ტემპერტურის ცვლილებაზე ვანთ-ჰოფის მრუდი (lnα-ს დამოკიდებულება 1/T-ზე) იღებს სწორხაზოვან ფორმას, რომლის დახრის კუთხის ტანგენსი არის $-\frac{\Delta_{j,i}\Delta H^0}{R}$ ხოლო Y ღერძთან გადაკვეთა წარმოადგენს $\frac{\Delta_{j,i}\Delta S^0}{R}$. უმეტესობა ქირალურ ნივთიერებების რომლებიც დაყოფილია მონომერულ ან პოლიმერულ სტაციონარულ ფაზებზე $\Delta\Delta H^0$ და $\Delta\Delta S^0$ წევრებს აქვთ უარყოფოთი ნიშანი და ენანტიომერების დაყოფა მიმდინარეობს ენთალპიური კონტროლით. ეს მიუთითებს, რომ

ა) უფრო მჭიდრო სტრუქტურის მქონე ქირალურ სტაციონარულ ფაზებს აქვს უფრო მცირე მოლეკულური უწესრიგობები.

ბ) ენანტიომერების ამოცნობა არის შედეგი მათ დაყოფაზე მომქმედი ენთალპიური და არასასურველი ენტროპიული ფაქტორის წილების გადანაწილებაზე.

გ) ენანტიოსელექტიურობა მცირდება ტემპერატურის გაზრდით, $\Delta\Delta H^0$ წევრის მაღალი უარყოფითი მნიშვნელობები მიუთითებს ენანტიოსელექიურობის ტემპერატურაზე დამოკიდებულებას.

იზოენანტიოსელექტიური ტემპერატურა წარმოადგენს ტემპერატურის ისეთ მნიშვნელობას რომლის დროსაც ენანტიომერების დაყოფა არ ხდება.

ტოლობიდან გამომდინარე როცა α=1 იზოენანტიოსელექტიური ტემპერატურა Tiso შეიძლება გამოითვალოს შემდეგი ფორმულით (6):

$$T_{iso} = \frac{\Delta_{j,i}\Delta H^0}{\Delta_{j,i}\Delta S^0} \quad (6);$$

Tiso ტემპერატურაზე მაღლა პროცესი ენტროპიულად მართვადია და შესაძლოა დაფიქსირდეს ენანტიომერების ელუირების რიგის შებრუნება, თუმცა ეს მოვლენა საკმაოდ იშვიათ შემთხვევაში ფიქსირდება.

გამომდინარე იქიდან, რომ მაღალეფექტურ სითხურ ქრომატოგრაფიაში მაღალი ტემპერატურების გამოყენება შეზღუდულია ენანტიომერული დაყოფების ძირითადი განმაპირობებელი ფაქტორია ენთალპიური კონტროლი და როგორც წესი ენანტიოსელექტიურობა უმჯობესდება დაბალ ტემპერატურაზე.

ენენტიომერების დაყოფის კინეტიკური მახასიათებლები

ქიმიური კინეტიკა შეისწავლის ქიმიური პროცესის სიჩქარეს, მორეაგირე სისტემის საწყისიდან საბოლოო მდგომარეობაში გადასვლის დროით კანონზომიერებებს. ქიმიური თერმოდინამიკის ერთ–ერთ უმთავრეს ცნებას წარმოადგენს წონასწორობის მუდმივა, ქიმიური კინეტიკის უმნიშვნელოვანეს კატეგორიებს კი წარმოადგენენ რეაქციის სიჩქარე და მისი მუდმივა.

ქიმიური კინეტიკა პირობითად იყოფა ორ ნაწილად:

- შესავალ ნაწილს წარმოადგენს ფენომენოლოგიური (ფორმალური) კინეტიკა, რომლის ძირითადი შინაარსი განისაზღვრება რეაქციის მიმდინარეობის ფორმალურ–მათემატიკური აღწერით. მასში განიხილება ის ემპირიული კანონები, რომლებიც განსაზღვრავენ პროცესის სიჩქარის დამოკიდებულებას რეაგენტთა კონცენტრაციებზე, აგრეთვე ამ კონცენტრაციების დროში ცვლილებას.

- ძირითად ნაწილს წარმოადგენს მოლეკულური კინეტიკა, როგორც მოძღვრება ქიმიური გარდაქმნის დეტალური მექანიზმის შესახებ.

ქიმიური კინეტიკის ძირითადი პოსტულატის გამოსახულებაში შემავალ პროპორციულობის k კოეფიციენტს ეწოდება რეაქციის *სიჩქარის მუდმივა.* იგი რიცხობრივად უტოლდება რეაქციის სიჩქარეს, როდესაც გამოსავალ ნივთიერებათა მოლური კონცენტრაციები ერთის ტოლია.

რეაქციის სიჩქარის მუდმივა დამოკიდებულია ქიმიურ რეაგენტთა ბუნებაზე და პროცესის ჩატარების პირობებზე. თუ გამონაკლისებს არ მივიღებთ მხედველობაში, რეაქციის სიჩქარის მუდმივა არ არის დამოკიდებული მორეაგირე ნივთიერებათა კონცენტრაციებზე. სიჩქარის მუდმივა წარმოადგენს მეტად მნიშვნელოვან კინეტიკურ მახასიათებელს და მას ხშირად განიხილავენ, როგორც ქიმიურ რეაგენტთა რეაქციის უნარის რიცხვით საზომს.

რეაქციის სიჩქარის მუდმივას განზომილება დამოკიდებულია მის რიგზე. ამით იგი განსხვავდება ჰომოგენური რეაქციის სიჩქარისაგან, რომლის განზომილებაც ყველა რიგის რეაქციებისათვის ერთი და იგივეა.

თანამედროვე ქიმიურ კინეტიკაში არენიუსის განტოლებაში შემავალ E პარამეტრს უწოდებენ *აქტივაციის ენერგიას.* ეს უკანასკნელი არის ის მინიმალური ჭარბი ენერგია, რომელიც უნდა მიეწოდოს გამოსავალ ნივთიერებათა ნაწილაკებს (ერთ მოლზე გადაანგარიშებით), სხვა სიტყვებით, აქტივაციის ენერგია ახასიათებს იმ ენერგეტიკულ ბარიერს, რომელიც უნდა გადალახოს მორეაგირე სისტემამ ქიმიური აქტის განხორციელებისათვის. მათ შეეძლოთ ქიმიურ გარდაქმნაში მონაწილეობის მიღება. სხვა აღნიშნული განმარტება სამართლიანია ელემენტარული რეაქციებისათვის. რთული რეაქციების შემთხვევაში ჯამური პროცესის ეფექტური აქტივაციის ენერგია წარმოადგენს ცალკეული ელემენტარული სტადიების აქტივაციის ენერგიათა გაკვეულ ფუნქციას. რთული რეაქციებისათვის აქტივაციის ეფექტური ენერგია არის ენერგეტიკული პარამეტრი არენიუსის განტოლებაში, რომელიც ახასიათებს რეაქციის სიჩქარის მუდმივას ფარდობით ტემპერატურულ დამოკიდებულებას. ეს იმას ნიშნავს, რომ რაც მეტია E, მით უფრო სწრაფად იზრდება k ტემპერატურის მომატებისას, ე.ი. მით უფრო „მგრძნობიარეა“ რეაქციის სიჩქარე ტემპერატურის ცვლილების მიმართ.

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

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

$k_{(T)} = A\, e^{-E/RT;}$ (7);

$k_{(T+10)} = A\, e^{-E/R(T+10)}$ (8);

მიღებულიგამოსახულებებიჩავსვათ $\gamma_T = \frac{k_{(T+10)}}{K_{(T)}}$ (9); ფორმულაში. გალოგარითმების შემდეგ გვექნება:

$$\ln \gamma_T = \ln k_{(T+10)} - \ln k_{(T)} = \frac{E}{RT} - \frac{E}{R_{(T+10)}} = \frac{10E}{RT_{(T+10)}} \quad (10);$$

ზომიერი და მაღალი ტემპერატურების პირობებში T>>10.

აქედან გამომდინარე, უხეში მიახლოებით შეგვიძლია ჩავწეროთ:

$T_{(T+10)} \approx T_2$, (11);

ე.ი.

$$\ln\gamma_T \approx \frac{10E}{RT_2} \quad (12);$$

უნდა აღინიშნოს, რომ ტემპერატურის საკმაოდ ფართო ინტერვალში მოცემული რეაქციის აქტივაციის ენერგია პრაქტიკულად მუდმივი სიდიდეა. ეს კი იმას ნიშნავს, რომ გამოსახულების მიხედვით, $\ln\gamma_T$ მიახლოებით წარმოადგენს T_2-ის უკუპროპორციულ სიდიდეს, მაშასადამე, γ_T - კოეფიციენტი მოცემულ რეაქციისათვის მუდმივი არ არის და ტემპერატურის გაზდისას იგი მცირდება.

აქტივაციის ენერგიის მიახლოებით შეფასებისათვის საკმარისია ორ ტემპერატურაზე რეაქციის სიჩქარის მუდმივას მნიშვნელობათა განსაზღვრა.ჩავწეროთ *არენიუსის განტოლება* რომელიმე T_1 და T_2 ტემპერატურების მიმართ:

$k_{(T1)} = A \cdot e^{-E/RT1}$ (13);

$k_{(T2)} = A \cdot e^{-E/RT2}$ (14);

მეორე გამოსახულება შევაფარდოთ პირველთან და ავიღოთ ლოგარითმი :

$$\ln\frac{k_{(T2)}}{k_{(T1)}} = \frac{E}{R} \cdot \left(\frac{1}{T_1} - \frac{1}{T_2}\right) \quad (15);$$

მიღებული ტოლობიდან ადვილად განისაზღვრება აქტივაციის ენერგიის მნიშვნელობა:

$$E = R \left(\frac{T_1 \cdot T_2}{T_2 - T_1}\right) \ln \frac{K_{(T_2)}}{K_{(T_1)}} \quad (16);$$

ზოგჯერ აქტივაციის ენერგიას მიახლოებით აფასებენ მოცემულ ტემპერატურაზე რეაქციის სიჩქარის ტემპერატურული γT კოეფიციენტის მიხედვით. ამ მიზნით სარგებლობენ (12) თანაფარდობით.

აქტივაციის ენერგიის ზუსტი ექსპერიმენტული განსაზღვრისათვის საჭიროა რეაქციის სიჩქარის მუდმივას მნიშვნელობათა დადგენა რამდენიმე ტემპერატურაზე (სასურველია - ფართო ტემპერატურულ ინტერვალში). ჩავწეროთ არენიუსის

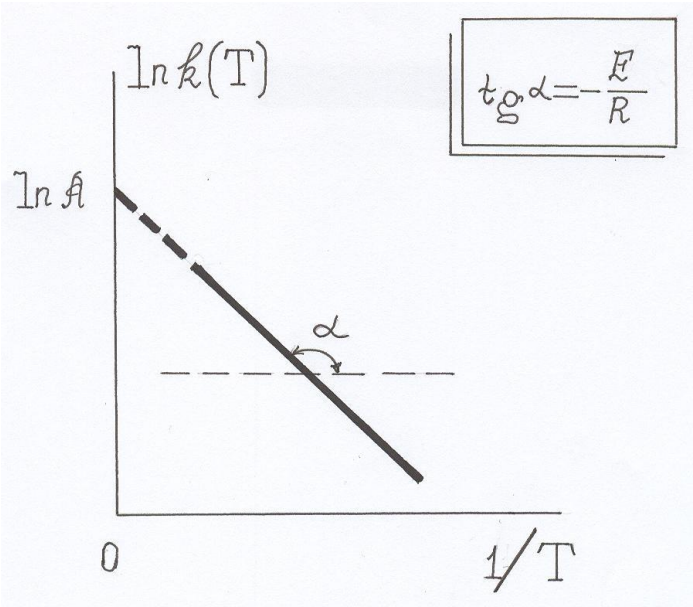
$$k = A \cdot e^{-E/RT} (17);$$

განტოლება ლოგარითმული ფორმით :

$$\ln k = \ln A - \frac{E}{RT} \quad (18);$$

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

აქედან გამომდინარე, ექსპერიმენტული მონაცემების საფუძველზე აგებენ გრაფიკს *ე.წ. არენიუსისეულ კოორდინატებში „ 1/T; lnk”* . თუ მიღებული გრაფიკი წარმოადგენს წრფეს, მაშინ აბსცისთა ღერძის მიმართ მისი დახრილობის მიხედვით გამოითვლიან რეაქციის აქტივაციის ენერგიას, ხოლო ორდინატთა ღერძზე ჩამოჭრილი მონაკვეთის მიხედვით დაადგენენ ექსპონენტისწინა მამრავლის რიცხვით მნიშვნელობას (ნახაზი №1).



ნახაზი №1

3. პოლისაქარიდული ქირალური სტაციონარული ფაზების მიმოხილვა

ამჟამად არსებობს მრავალი სხვადასხვა ტიპის ქირალური სელექტორი (ქს) ენანტიომერების თხევად-ფაზური დაყოფისათვის. ფაქტიურად ნებისმიერი დაბალი ან მაღალი მოლეკულური მასის მქონე ქირალურ ნივთიერება, რომელსაც აქვს უნარი წარმოქმნას არაკოვალენტური მოლეკულათაშორისი ენანტიოსელექტიური კომპლექსი, შეიძლება გამოყენებული იქნას როგორც ქირალური სელექტორი ენანტიომერების თხევად ფაზური დაყოფისთვის. ამის გამო ბოლო 50 წლის განმავლობაში ასეულობით ქს-ია აღწერილი ლიტერატურაში. მიუხედავად შესწავლილი ქს-ის დიდი რიცხვისა, მათგან მხოლოდ რამდენიმეს კომერციალიზაცია მოხდა. უფრო მეტიც, ყველა კომერციალიზებული მასალა არ დარჩენილა გამოყენებაში. მათი ნაწილი გაქრა ბაზრიდან, ხოლო ნაწილი თამაშობს

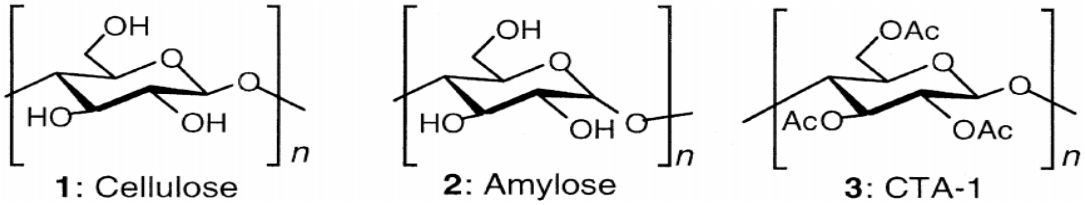
მეორეხარისხოვან როლს მრავალმილიარდიან ქირალურ ბიზნესში. გარდა ზემოთ აღნიშნული ქს-ის უნარისა, წარმოქმნას მოლეკულათაშორისი (გარდამავალი) კომპლექსები ქირალურ საანალიზო ნივთიერებებთან, არის კიდევ რამდენიმე კრიტერიუმი, რომლებსაც უნდა პასუხობდეს ქს, რათა მოხდეს მისი წარმატებით გამოყენება თხევად ფაზური დაყოფებისათვის. მათ შორის ყველაზე მნიშვნელოვანი არამოლეკულათაშორისი კომპლექსების წარმოქმნის კინეტიკა და დინამიკა საშუალებას გვაძლევდეს, რომ მოცემულ ქირალურ ნივთიერება გამოყენებული იქნას მაღალი ეფექტურობის მქონე დაყოფებისათვის, როგორებიცაა მესქ და განსაკუთრებით, კაპილარული ელექტროქრომატოგრაფია. ქს უნდა გამოიყენებოდეს უნივერსალურად სხვადასხვა მოძრავ ფაზებში: პირდაპირი და შებრუნებული ფაზები, პოლარულ-ორგანული ფაზები და ზეკრიტიკული სითხეები. ასევე უნდა გააჩნდეს მრავალრიცხოვანი განსხვავებული სტრუქტურების მქონე ქირალური ნივთიერებების ენანტიოსელექტიური გარჩევის/გამოცნობის უნარი. ქს გამოსადეგი უნდა იყოს მიკრო და ნანო მასშტაბის დაყოფის მეთოდებისთვის, ასევე ანალიზური და პრეპარატული მაშტაბის დაყოფებისთვისაც. ქს-ის მოსამზადებელი მასალები და რეაგენტები ხელმისაწვდომი უნდა იყოს.

პოლისაქარიდების ნაწარმები სრულიად შეესაბამებიან ამ კრიტერიუმებს, ფაქტობრივად პოლისაქარიდული ქს-ია გამოყენებული ლიტერატურაში აღწერილი 80%-ზე მეტ ანალიზური და 90%-ზე მეტ პრეპარატული და საწარმოო მასშტაბების ენანტიომერების დაყოფების შემთხვევებში.

3.1 პოლისაქარიდების: ამილოზას და ცელულოზას მოკლე დახასიათება

პოლისაქარიდები, როგორებიც არიან *ცელულოზა*(1) და *ამილოზა* (2) მიეკუთვნებიან ყველაზე ფართოდ გავრცელებულ ოპტიკურად აქტიურ ბიოპოლიმერებს, აქვთ მკაცრად განსაზღვრული სტრუქტურა და შეუძლიათ დაყონ ენანტიომერები, მათ შორის ამინომჟავები და მათინაწარმები და ატროპიზომეტრულიბიფენილის ნაწარმები, თუმცა მათი ქირალური გამოცნოობის უნარი არა არის მაღალი. დაიტესტა სხვადასხვა პოლისაქარიდის ნაწარმები: ამილოზას, ცელულოზას, კურდლანის, ქსილინის, დექსტრანის. მათგან ყველაზე მაღალი ქირალური გამოცნობის ქირალური გამოცნობის

უნარი აღმოაჩნდათ სწორედ ამილოზას და ცელულოზას ნაწარმებს. პრაქტიკაში პირველად გამოყენებული პოლისაქარიდული ქირალური ფაზები დაასინთეზებული იქნა ჰესეს და ჰაგელის მიერ 1973 წელს. ეს იყო მიკრო კრისტალური ცელულოზის ტრიაცეტატი (CTA-1),



ამ ქირალურმა სტაციონალურმა ფაზამ გამოავლინა ენანტიომერების დაყოფის საინტერესო თვისებები და ბევრი არომატული და ალიფატური ენანტიომერი დაიყო CTA-1-ზე.

ახალმა CTA-1-მ უზრუნველყო ახალი ტიპის ქირალური სტაციონალური ფაზების დამზადება, რომლების ქირალური გამოცნობის უნარი მკვეთრად განსხვავდებოდა CTA-1ისგან. შეისწავლეს ამ ნივთიერებების ალკილ-, ციკლოალკილ-, არილ- ნაწარმები. არილ ნაწარმები ჩამნაცვლებელი ჯგუფით ბირთვში აღმოჩნდა ყველაზე კარგი ქირალური სელექტორი. დასინთეზდა ამილოზას და ცელულოზას ფენილ კარბონატებიც და ბენზოილფორმატებიც, თუმცა მათ არ აღმოაჩნდათ ისეთი კარგი ქირალური გამოცნობის უნარი, როგორიც ამ პოლიმერების ფენილკარბამატებს და ესთერებს. ამ აღმოჩენებმა გამოიწვია დიდი ინტერესი პოლისაქარიდების ნაწარმების, მათი ბენზოატებისა და ფენილკარბამატების ქირალურ სტაციონალურ ფაზებად გამოყენების მათი სილიკაგელზე დაფენის გზით.

ამ ტიპის ქირალურ სტაციონალურ ფაზებზე მოხერხდა სხვადასხვა ფუნქციონლური ჯგუფების შემცველი რაცემატების ფართო ჯგუფის დაყოფა, რომელიც ძლიერად იყო დამოკიდებული ფენილის ჯგუფებში არსებულ ჩამნაცვლებლებზე.

3.2 პოლისაქარიდული ეთერები და კარბამატები ქირალურ სტაციონალურ ფაზებად

მოცემული ქირალური სელექტორების ოპტიმიზაცია უპირველესად მიმართული იყო ფენილკარბამატის ფრაგმენტის ფენილისჯგუფში ჩამნაცვლებლის შეყვანით. ადრეული კვლევებიდან ცნობილი იყო, რომ პოლისაქარიდების არომატული ესთერები და კარბამატები ამჟღავნებდნენ საინტერესო ქირალური გამოცნობის უნარს, თუმცა ეს უნარი გაცილებით უმჯობესდება როცა ფენილის ჯგუფში შესაბამის პოზიციაზე შეგვყავს ელექტრონდონორული ან ელექტრონაქცეპტორული ჩამნაცვლებლები.

ჩამნაცვლებლები გავლენას ახდენენ ფენილკარბამატის ფრაგმენტში კარბამატის ჯგუფის ელექტრონულ სიმკვრივეზე, რაც თავის მხრივ გავლენას ახდენს ამჯგუფის შემდგომ ურთიერთქმედებაზე ქირალურ ნივთიერებასთან. როდესაც ელექტრონულ აქცეპტორული ჩამნაცვლებელია შეყვანილი ფენილის ჯგუფში, კარბამატის ჯგუფის N-H პროტონის მჟავურობა იზრდება. მაშასადამე, იზრდება ისეთი საანლიზო ნივთიერებების შეკავების დროები, რომლებიც შეიცავენ ელექტრონულ აქცეპტორულ ჯგუფებს, რადგან დიდი ალბათობით ისინი ურთიერთობას ამყარებენ კარბამატის N-H ჯგუფთან წყალბადური ბმებით.

მაშინ როცა ფენილის ჯგუფში შეყვანილია ელექტრონულდონორული ჩამნაცვლებელი კარბონილის ჯგუფის ჟანგბადის ელექტორული სიმკვრივე იზრდება და იმისი ალბათობა, რომ საანალიზო ნივთიერები ელექტრონდონორული ჩამნაცვლებელით თავისკენ მიიზიდოს, იზრდება.

ასევე დადგენილია, რომ ცელულოზას ფენილკარბამატებს, რომელთაც აქვთ უფრო ძლიერ პოლარული ჩამნაცვლებლები ფენილის ჯგუფში, ისეთები, როგორც ნიტრო და მეთოქსი ჯგუფია, ამჟღავნებენ უფრო დაბალ ქირალურ გამოცნობას. ეს ჯგუფები მდებარეობს ქირალური გლუკოზის ბირთვიდ ან მოშორებით, ამიტომ უჭირს საანალიზო ნივთიერებასთან ურთიერთქმედება და მისი “მიყვანა” გლუკოზის ფრაგმენტთან გამოსაცნობად. ამიტომაც ქირალური გამოცნობის უნარის გასაუმჯობესებლად ცელულოზას ფენილკარბამატებში ძლიერ პოლარული ჩამნაცვლებლები არ გამოიყენება. აუცილებელია გვახსოვდეს ისიც, რომ ქირალურ სელექტორსა და საანალიზო

ნივთიერების მოლეკულასშორის კავშირის ძალა არ არის განმსაზღვრელი მისი ქირალური გამოცნობისთვის.

დადგენილია, რომ არა მხოლოდ ბუნება, არამედ ჩამნაცვლებლის მდებარეობაც ფენილის ბირთვში მნიშვნელოვან გავლენას ახდენს პოლისაქარიდის ფენილკარბამატის ქირალური გამოცნობის უნარზე. მაგალითად, უმეტესობა ორთო-ჩანაცვლებული ცელულოზას ნაწარმები სახასიათდებიან დაბალი ქირალური გამოცნობით, მაშინ როცა მეტად პარა ნაწარმები უნივერსალური ქირალური სელექტორებია.

ამილოზას შემთხვევაშიც, მეთილისა და ქლორის არსებობა ფენილის ჯგუფში აუმჯობესებს ქირალური გამოცნობის უნარს. თუმცა, აღმოჩნდა გარკვეული განსხვავებები ცელულოზას და ამილოზას ნაერთებს შორის ჩამნაცვლებლების გავლენისა და ბუნების მხრივ. თუმცა ორივე პოლისაქარიდის შემთხვევაში ყველაზე გამოყენებადი ქირალური სელექტორია *ტრის (3,5დიმეთილფენილ) კარბამატი.* ეს ნივთიერებები დაფენილი სილიკაგელზე, ცნობილია LuxCellulose-1და Amylose-1 კომერციული სვეტების სახელწოდებით.

ამილოზას და ცელულოზას ფენილკარბამატების ნაწარმებში წყალბადური ბმები მყარდება მეზობლად მყოფი გლუკოპირანოზის ფრაგმენტების კარბამატის ჯგუფებს შორის, რომლებიც ჩანაცვლებულები არიან მეორე და მესამე პოზიციაში. (ანუ ერთი გლუკოზის ფრაგმენტში მეორე პოზიციაზეა ჩანაცვლებული, მეორე მეზობელი გლუკოზის მესამე პოზიციაზე). ამიტომ ფენილის ჯგუფში არსებული ჩამნაცვლებლები არა მხოლოდ საანალიზო ქირალური ნივთიერების და პოლისაქარიდის ფრაგმენტის ერთმანეთთან ურთიერთქმედებას უწყობს ხელს, არამედ მათ ხსნადობას ბევრ ორგანულ გამხსნელში. ამასთან ერთად პოლისაქარიდის უფრო მწყობრ მეორეულ სტრუქტურას განაპირობებენ. პოლისაქარიდის ფენილკარბამატები ქირალურ სელექტორად გამოიყენება მხოლოდ მაშინ, როცა ისინი დაფენილია სილიკაგელზე, ამიტომ აუცილებელია მათი ხსნადობა გარკვეულ გამხსნელებში, რათა გაიხსნას და შემდეგ დაეფინოს სარჩულზე. ამასთან ერთად პოლისაქარიდის ნაწარმები, რომლებიც გამოიყენება ქირალურ სელექტორებად HPLC-ში, უნდა იყოს უხსნადი გამოყენებულ მოძრავ ფაზაში. მაგალითად, ცელულოზა ტრის (3,5დიქლორფენილკარბამატი)

გამოირჩეოდა უკეთესი ქირალური გამოცნობის უნარით ცელულოზა ტრის (3,5დიმეთილფენილკარბამატ)-თან შედარებით, თუმცა ნივთიერების მაღალი ხსნადობა ჰექსანი/პროპანოლის მოძრავ ფაზაში გახდა მიზეზი მისი ვერ გამოყენებისა ქირალურ სელექტორად ნორმალურ ფაზიან ქრომატოგრაფიაში.

მოცემულ პოლისაქარიდების ფენიკარბამატებში კარბამატის ჯგუფს ორი ფუნქციური დატვირთვა აქვს: 1) ამჯგუფით ხდება საანალიზო ნივთიერების მოლეკულასთან ურთიერთქმედება 2) შიდამოლეკულური წყალბადური ბმების წყალობით, კარბამატის ჯგუფები მნიშვნელოვნად განსაზღვრავენ ამპოლისაქარიდების ნაწარმების ხსნადობას გარკვეულ ორგანულ გამხსნელებში და მათ მაღალ მოწესრიგებულ სტრუქტურას. რადგან ორივე ზემოთ ხსენებული თვისებაა უცილებელია HPLC-ში, პოლისაქარიდების ფენილკარბამატის მოლეკულებს აქვთ დაბალანსებული რაოდენობა კარბამატის ჯგუფებისა, რომელიც საჭიროა საანალიზო ნივთიერების მოკელურასთან ურთიერთქმედებისთვის და კარბამატის ჯგუფები, რომლებიც წარმოქმნიან შიდამოლეკულურ წყალბადურ ბმებს, რათა შეამცირონ ამ ნივთიერებების ხსნადობა ორგანულ გამხსნელებში. ამიტომაც ისინი იმედის მომცემი ქირალური სელექტორებია.

მომიჯნავე კარმაბატის ჯგუფებს შორის წყალბადური ბმების არსებობა მტკიცდება ინფრაწითელი პექტროსკოპიით. ამ ანალიზებმა აჩვენა, რომ ელექტრონ-დონორული ჩამნაცვლებლების არსებობა ფენილისჯგუფში ხელს უწყობს კარბამატის ჯგუფებს შორის შიდამოლეკულური წყალბადური ბმების წარმოქმნას, მაშინ როცა ელექტრონაქცეპტორული ბმის არსებობა ფენილის ჯგუფში ხელს უშლის წყალბადური ბმების წამოქმნას. ესაა ყველაზე საალბათო მიზეზი იმისა, თუ რატომაა ცელულოზა ტრის (3,5დიქლორფენილკარბამატი) ხსნადი ჰექსანი/იზოპორანოლი ფაზაში.

ამ მიზნით დაიწყო ისეთი ამილოზასა და ცელულოზას ფენილკარბამატების ნაწარმების შექმნა, რომლებიც შეიცავენ როგორც დონორულ, ისე აქცეპტორულ ჩამნაცვლებელს ფენილის ბირთვში, რათა ყოფილიყო კარგად დაბალანსებული რაოდენობა კარბამატის ჯგუფებისა რომლებიც საჭიროაში და მოლეკულური წყალბადური ბმების დასამყარებლად და კარბამატის ჯგუფებისა, რომლებიც N-H-ით მოქმედებენ საანალიზო ნივთიერების მოლეკულასთან. ასე რომ, უნივერსალური

გამოცნობის უნარი ახასიათებთ ცელულოზასა და ამილოზას ისეთ ნაწარმებს, რომლებიც შეიცავენ ფენილის ჯგუფში როგორც დონორულ, ისე აქცეპტორულ ჩამნაცვლებლებს.

პოლისაქარიდებზე დაფუძნებული ქირალურ სტაციონალური ფაზებზე ქირალურიდ დაყოფების მექანიზმები შეისწავლებოდა ძირითადად ქრომატოგრაფიული ანალიზის საშუალებით. ამ მიდგომას შეუძლია მოგვცეს ბევრი ინფორმაცია, განსაკუთრებით მოძრავ ფაზასა და სტაციონალურ ფაზის თერმოდინამიკური პარამეტრები დაყოფების დროს. თუმცა ურთიერთქმედებების მოლეკულურ დონეზე შესასწავლად საჭიროა ასევე ბმრ მეთოდები და კომპიუტერული მოდელირებაც.

როგორც ზემოთ იყო აღნიშნული ქირალური გამოცნობა დამოკიდებულია ფენილის ჯგუფში ჩამნაცვლებლებზე, რამდენადაც ისინი მოქმედებენ კარბამატის ჯგუფის პოლარობაზე. ეს კი აჩვენებს, რომ ადსორბციის ყველაზე მნიშვნელოვანი ცენტრები ქირალური დისკრიმინაციისთვის ფენილკარბამატის ნაწარმებში არის კარბამატის ჯგუფები.

3.3 ქირალური სტაციონალური ფაზების ოპტიმიზაცია

ქირალური სელექტორისა და სარჩულის ვარირების უამრავი გზა არსებობს. თავდაპირველი მეთოდი იყო პოლისაქარიდული ნაწარმების დაფენა სარჩულზე, უმეტეს წილად ფოროვან სილიკაგელზე. ამ მეთოდის უპირატესობა არის ის, რომ პოლისაქარიდების ტრის ნაწარმები (როცა პოლისაქარიდის ფრაგმენტში სამივე ჰიდროქსილი დაკავშირებულია კარბამატი სანესტერის ჯგუფთან) შესაძლოა იყოს გამოყენებული, რადგან ქირალურის ელექტორსა და სარჩულს შორის კოვალენტური კავშირის გამყარების აუცილებლობა არაა. ამასთან, დაფენა ადვილი პროცესია და არმოითხოვს ნივთერების და არც სარჩულის ზედაპირის წინასწარ აქტივიზაციას და მომზადებას. ძალიან მარტივად ხდება ქირალური სელექტორის დატანა. დაფენილი პოლისაქარიდული ნაწარმი ინარჩუნებს მაღალ მოქნილობას. თუმცა ამ მეთოდის უმთავრესი ნაკლია გამხსნელების მიმართ შეზღუდული სტაბილურობა.

ქიმიური იმობილიზაციისასა უცილებელია ყურადღება გამახვილდეს სილიკაგელსა და პოლისაქარიდული ნაწარმს შორის ბმების რაოდენობაზე, რამაც შესაძლოა დაარღვიოს პოლისაქარიდების მოწესრიგებული სტრუქტურა, რაც მიჩნეულია მთავარ დადებით მომენტად ქირალური გამოცნობისთვის.

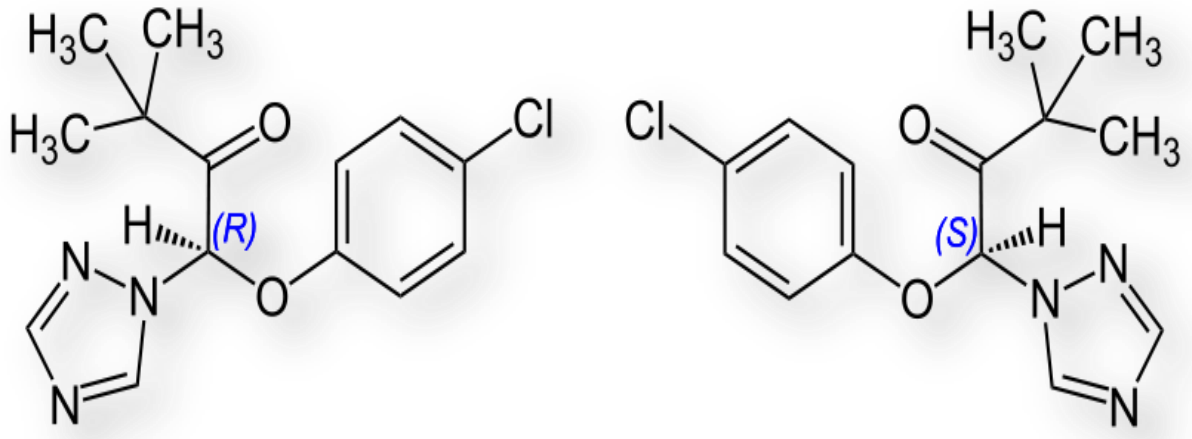
ბ. ჭანკვეტაძემ და მისმა გუნდმა შემოგვთავაზა იმობილიზაციის მეთოდი ცელულოზას ნაწარმებისთვის, რომელიც დაკავშირებულია მცირე რაოდენობა კარბამატში გარდაუქმნელი ჰიდროქსილის ჯგუფების დაკავშირებით სილიკაგელთან. ამ მეთოდის უპირატესობა არის ის, რომ კოვალენტურად იმობილიზებული ნაწარმები მიიღება მათი პლასტიკურობის დაკარგვის გარეშე. გარდა ამისა, მათი დამზადება არ საჭიროებს გაცხელებასა და გამშრალ გამხსნელებს.

ოკამოტომ განავითარა ეფექტური იმობილიზაციის მეთოდი მოლეკულათაშორისი პოლიკონდენსაციის 1-2% ტრი ეთოქსისილილ ჯგუფების დამატებით პოლისაქარიდულ ნაწარმებზე. ამ მეთოდის უპირატესობა არის ის, რომ პოლისაქარიდების მაღალ მოწესრიგებული სტრუქტურა შენარჩუნებულია, რადგან ეს ნაწარმები ეფექტურა და იმობილიზებული სილიკაგელზე მცირე რაოდენობა ტრი ეთოქსისილილ ჯგუფებით. ამასთან მოცემულმა იმობილიზებულმა სვეტებმა აჩვენა მაღალი ქირალური გამოცნობის უნარი, რაც აქამდე იმობილიზებული სვეტებზე იყო მიღწეული. ავტორების ცნობით, ასეთი სახის სვეტების მომზადება სხვადასხვა სახის პოლისაქარიდული ნაწარმებისთვის პრობლემას არ წარმოადგენს. იმობილიზებული სვეტებით შესაძლებელია ფართო ასორტიმენტის მოძრავ ფაზებთან მუშაობა, როგორც ნორმალურ, ისე შებრუნებულ ფაზიან ქრომატოგრაფიაში.

4. ექსპერმიმენტის შედეგები და მათი განსჯა

4.1 გამოკვლეული ნივთიერება

$C_{14}H_{16}ClN_3O_2$



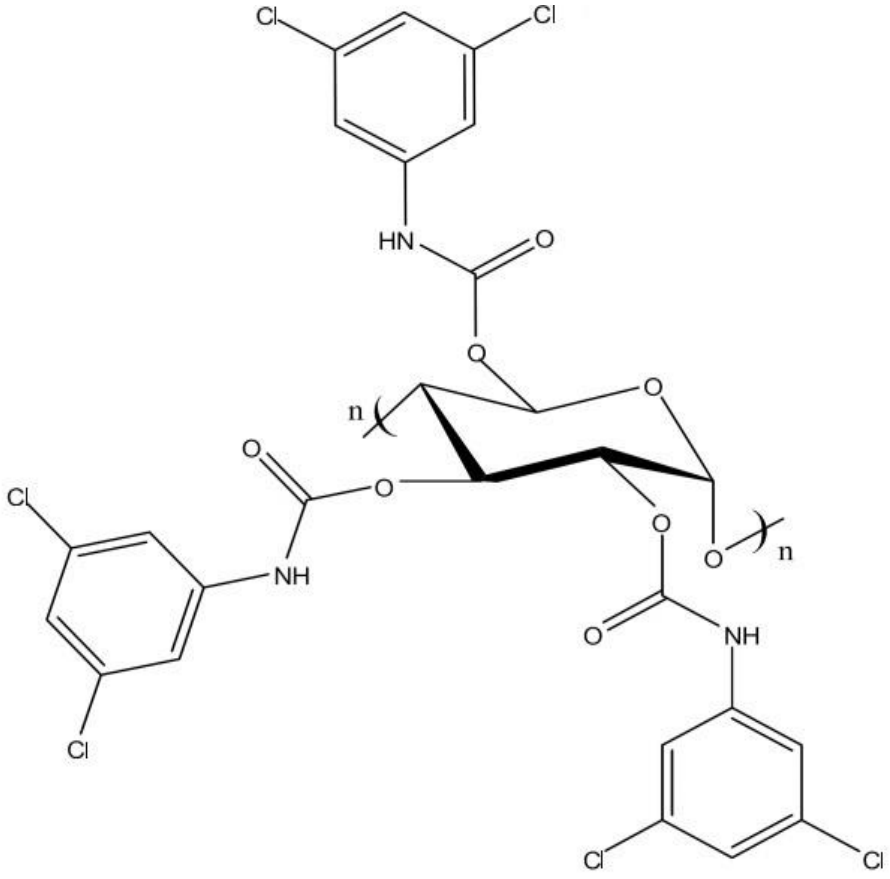
ტრიადიმეფონის სტრუქტურული და მოლეკულური ფორმულა

გამოკვლეულ იქნა ტრიადიმეფონის რაცემული ნარევი. აღნიშნული ნივთიერება წარმოადგენს ტრიაზოლების ნაწარმებს და ცნობილია როგორც სოკოვანი დაავადებების სამკურნალო საშუალება. ტრიდიმეფონი გამოიყენება მარცვლოვანების, ხილის, ბოსტნეულის, ბუჩქებისა და ხეების, სოკოვანი დაავადებების წინააღმდეგ. იგი არის ზომიერი ტოქსიკური ნაერთი.

4.2 სტაციონალური ფაზა

ნივთიერება გამოკვლეულ იქნა ამილოზა ტრის(3-ქლორ-5-მეთილფენილკარბამატის) სილიკაგელზე დაფენით მომზადებულ ქრომატოგრაფიულ სვეტებზე.

Amylose-1 – ამილოზა ტრის (3-ქლორ5-დიმეთილფენილკარბამატი)



4.3 გამოყენებული მოძრავი ფაზა

1. მეთანოლი + 0.1% დიეთილამინი

   მოძრავი ფაზის სიჩქარე : 0.5 მლ/წთ

   მოძრავი ფაზის ტემპერატურები: 15°C-70°C;70°C-15°C; Δ °C- 5 °C

4.4 გამოყენებული ხელსაწყო და რეაქტივები

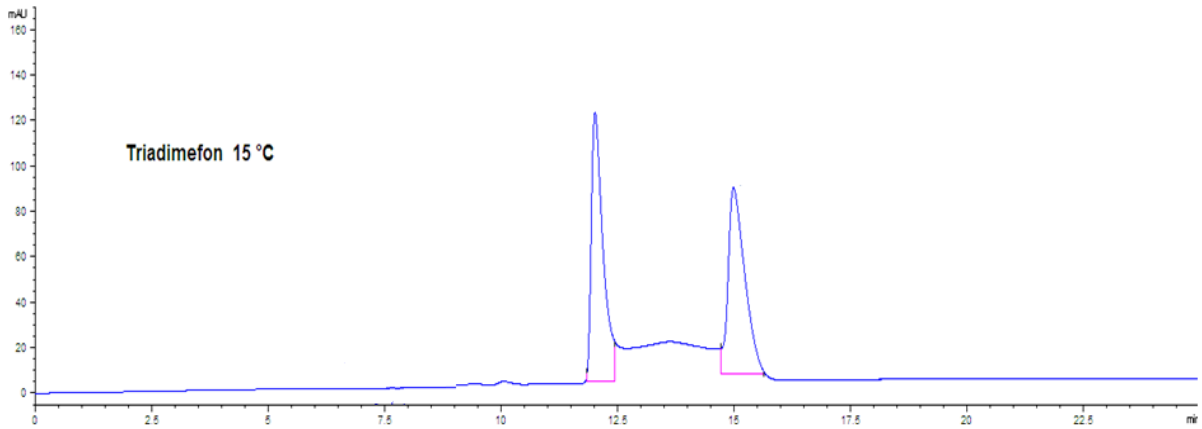
კვლევისთვის გამოყენებულ იქნა Agilent 1200 სერიის მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფი რომელიც აღჭურვილი იყო ბინარული ტუმბოთი, ნიმუშების ავტომატური მიწოდების სისტემით, სვეტების თერმოსტატითა და ულტრაიისფერ-ხილული ფოტოდიოდური დეტექტორით.

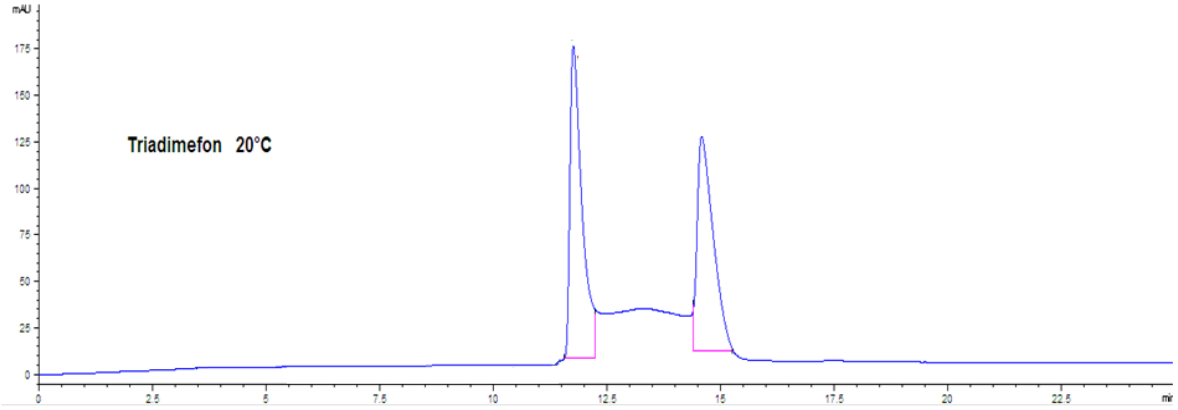
მოძრავი ფაზების დასამზადებლად გამოყენებულ იქნა ქრომატოგრაფიული სისუფთავის მეთანოლი და დიეთილამინი.

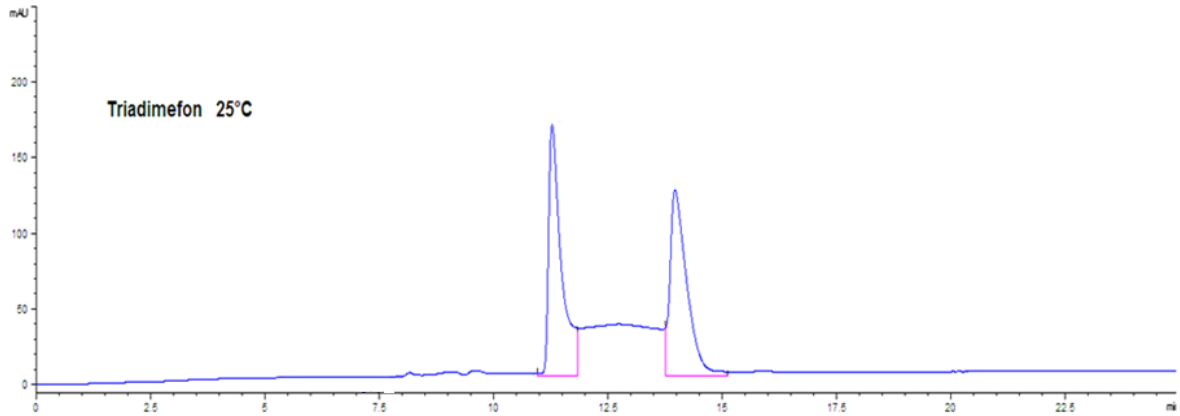
4.5 შედეგები

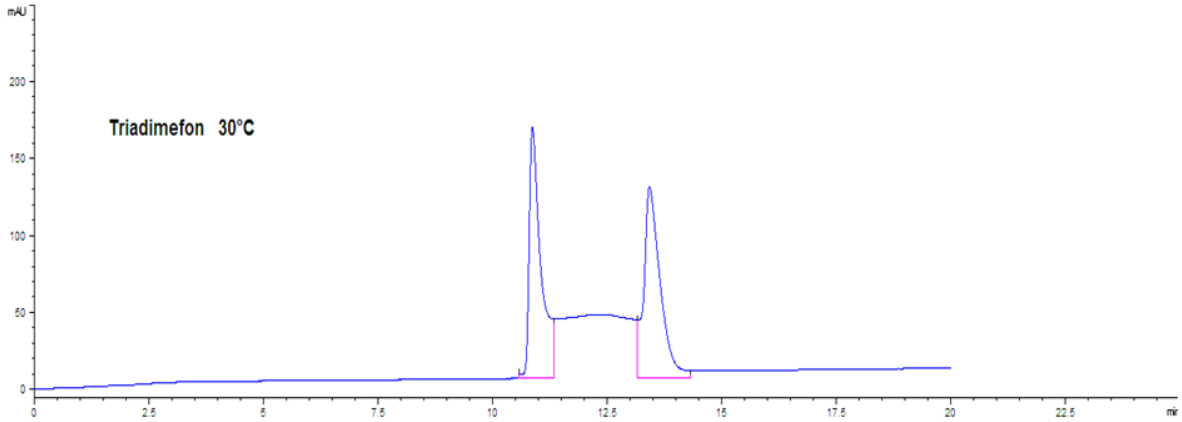
ექსპერიმენტი დავიწყეთ ამილოზა ტრის(3-ქლორ-5-მეთილფენილკარბამატის) სილიკაგელზე დაფენით მომზადებულ ქრომატოგრაფიული სვეტით, მეთანოლის მოძრავ ფაზად გამოყენების პირობებში.

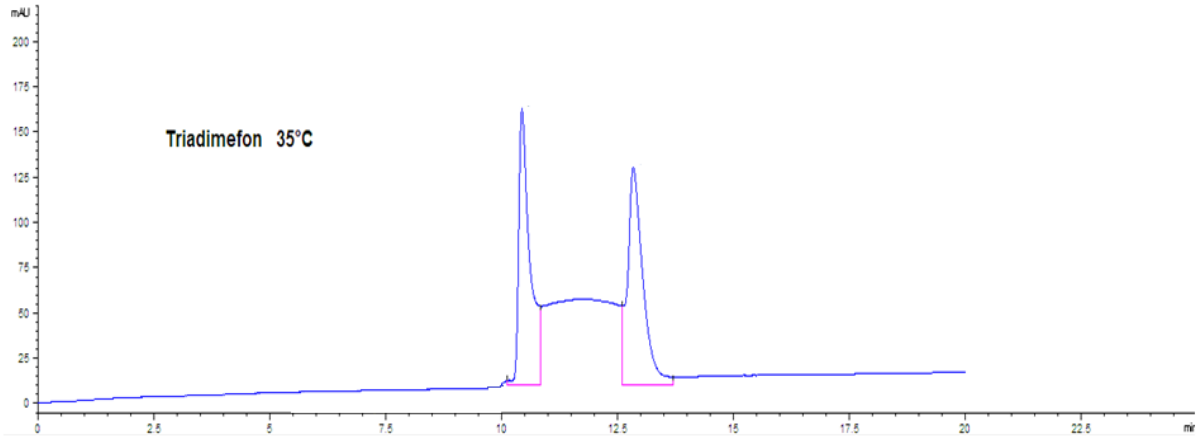
სვეტის ტემპერატურა 15°C-დან 70°C-მდე. Δ°C=5°C

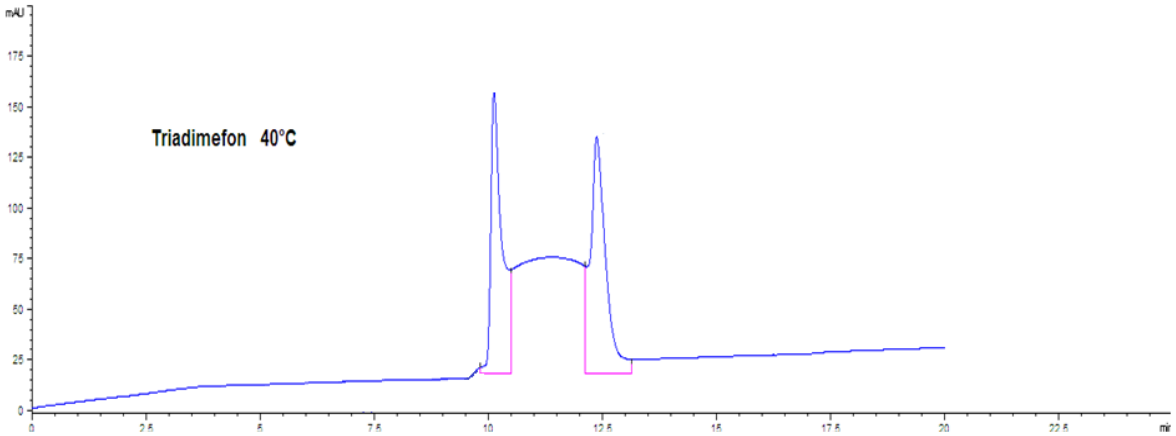


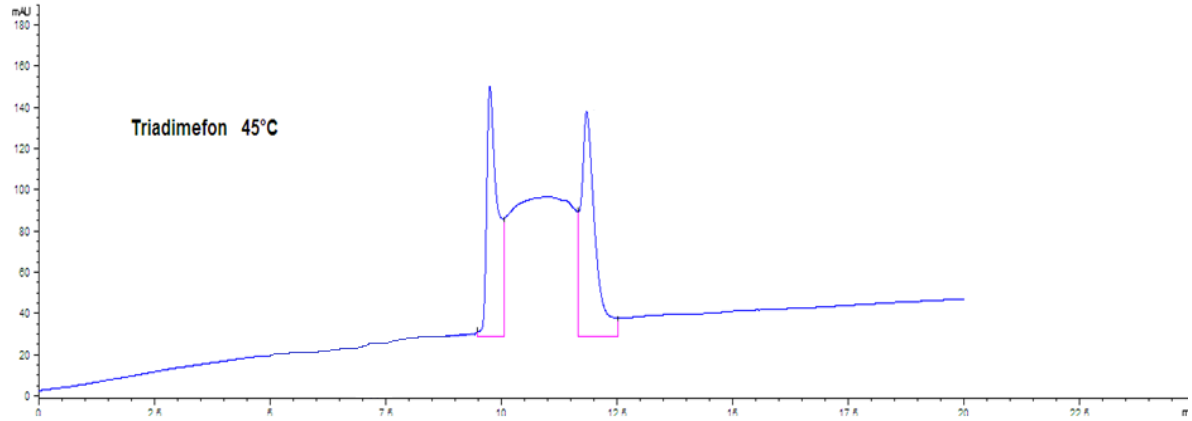

mAU
Triadimefon 20°C

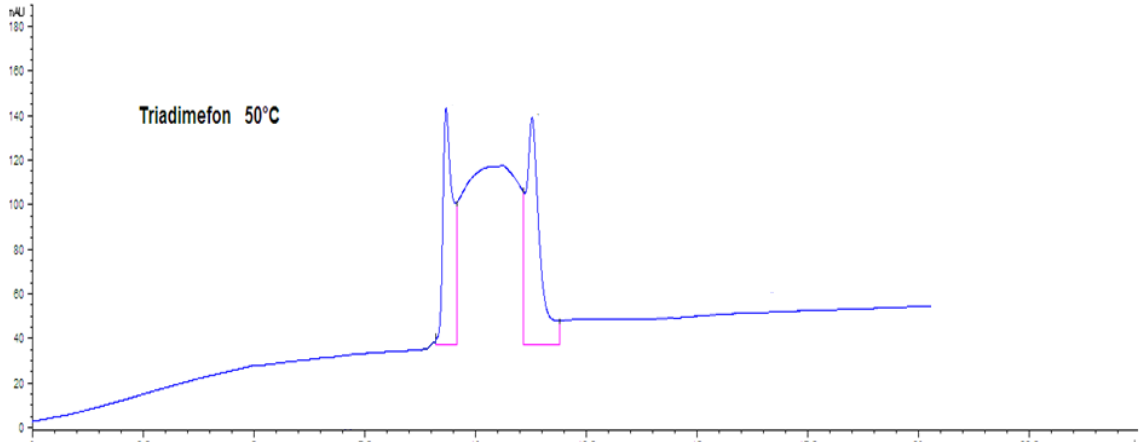

mAU
Triadimefon 25°C

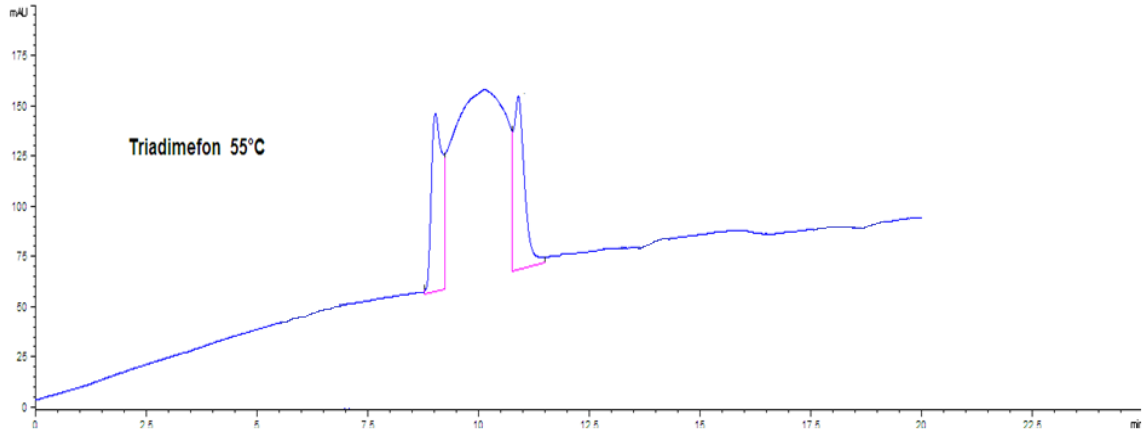

mAU
Triadimefon 30°C

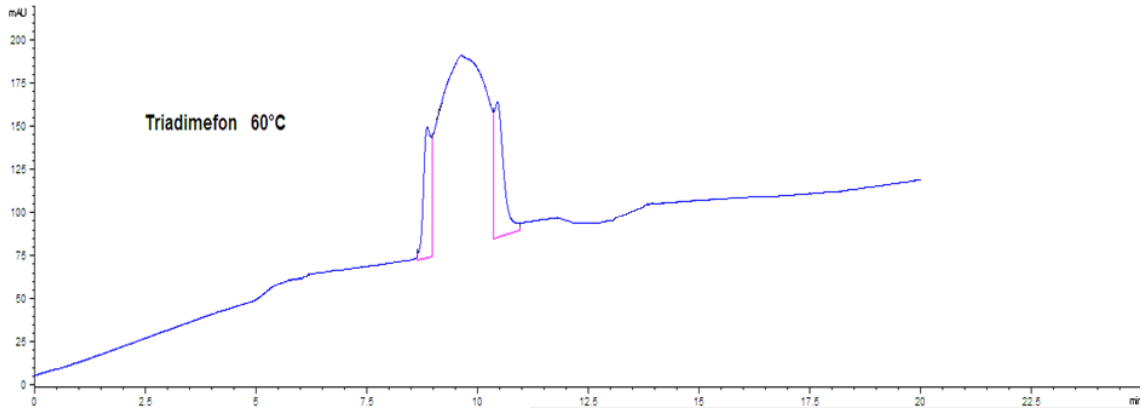

mAU
Triadimefon 35°C

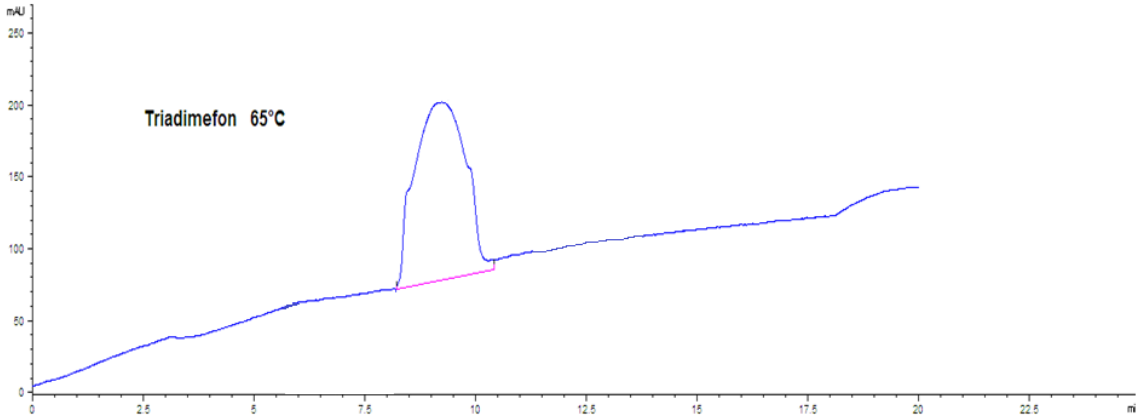

mAU
Triadimefon 40°C

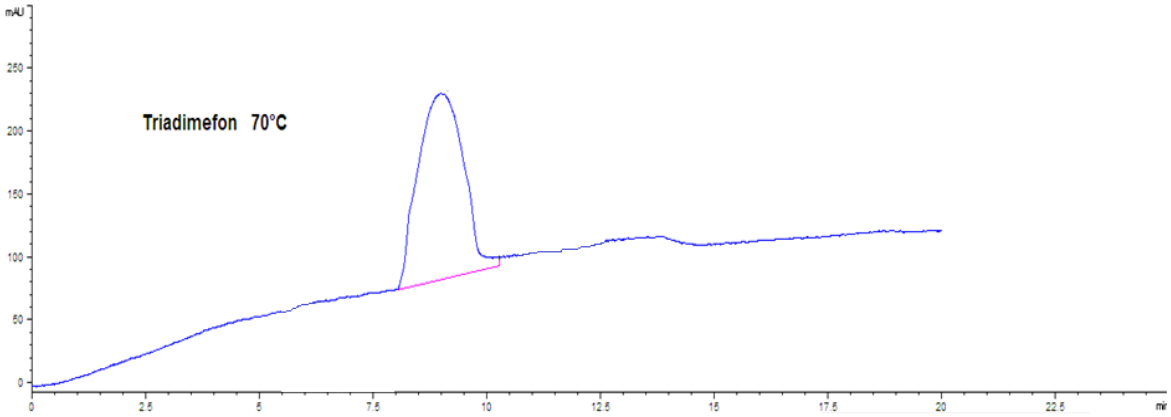

mAU
Triadimefon 45°C


mAU
Triadimefon 50°C

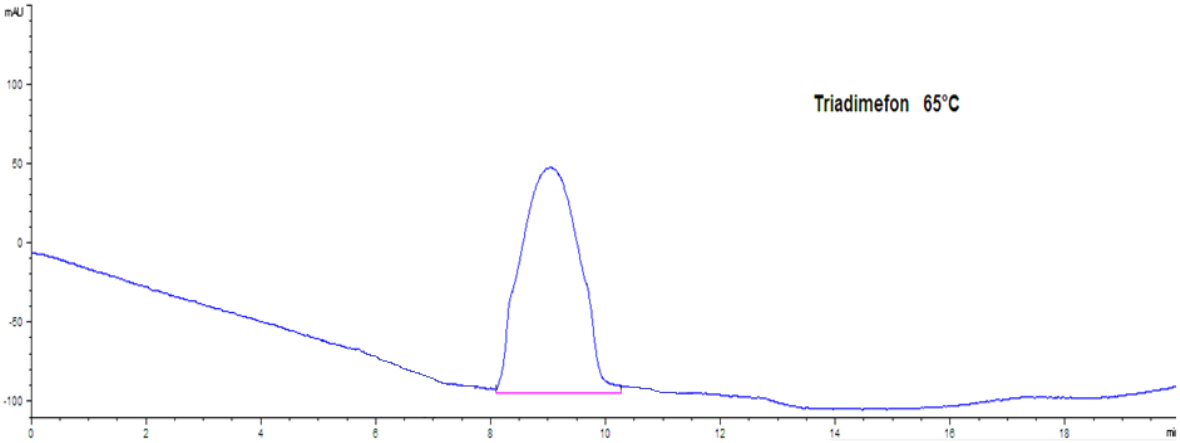

mAU
Triadimefon 55°C

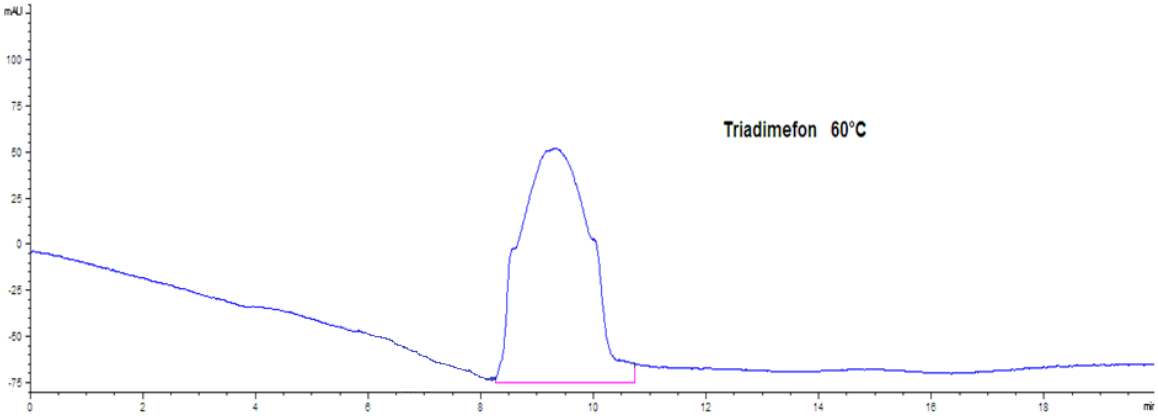

mAU
Triadimefon 60°C

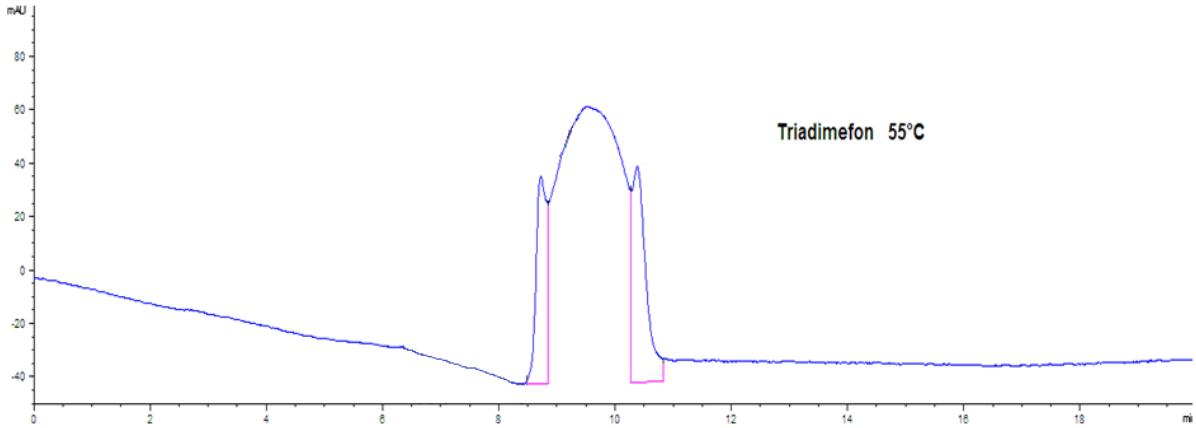

mAU
Triadimefon 65°C

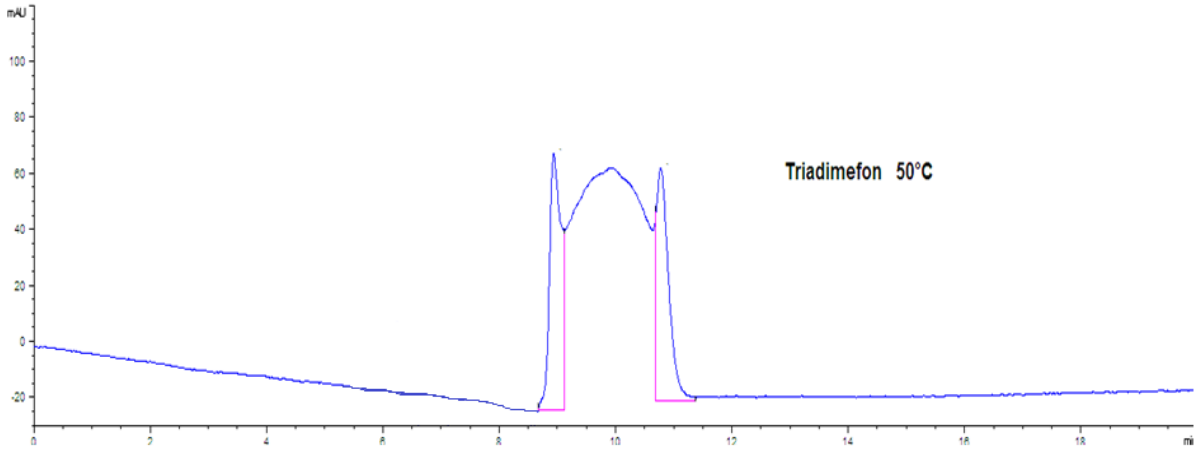

mAU
Triadimefon 70°C

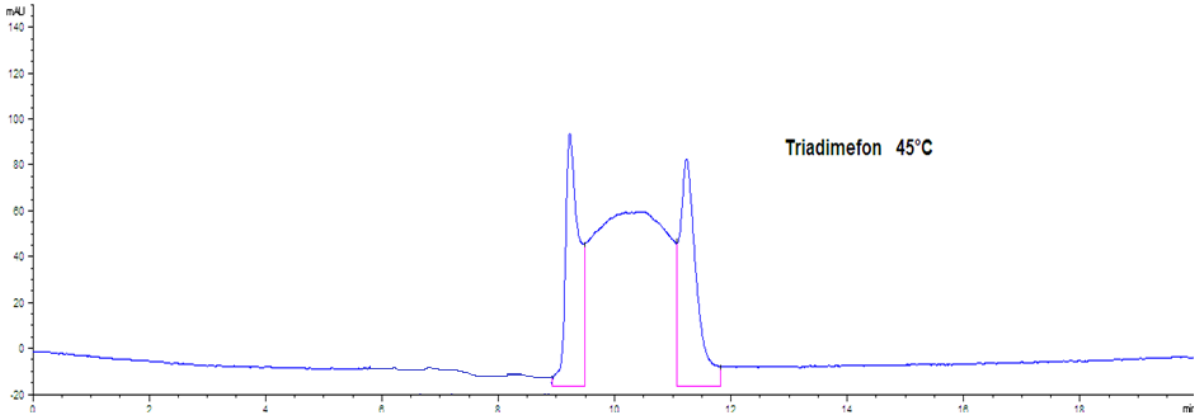
სვეტის ტემპერატურა 70°C -დან 15°C-მდე. Δ°C=5°C

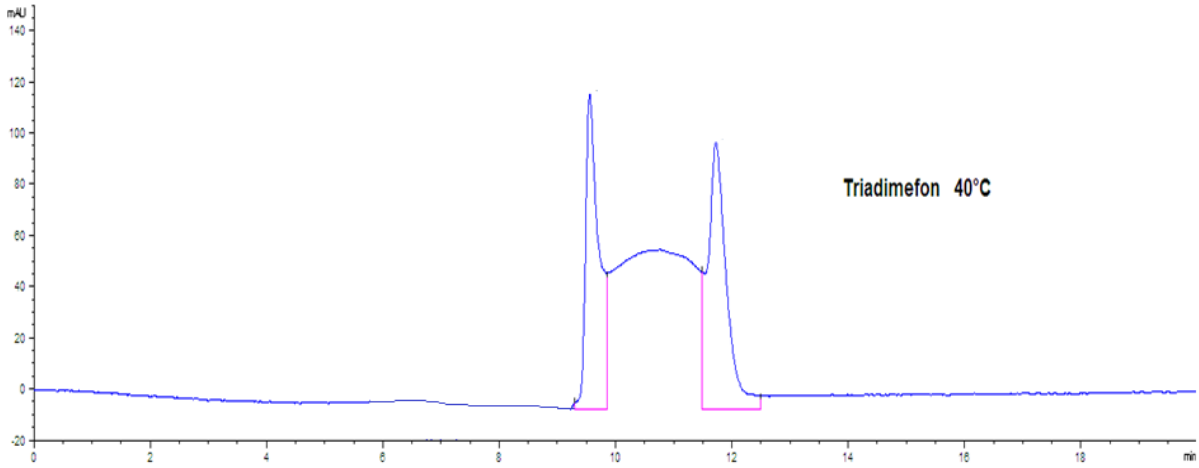


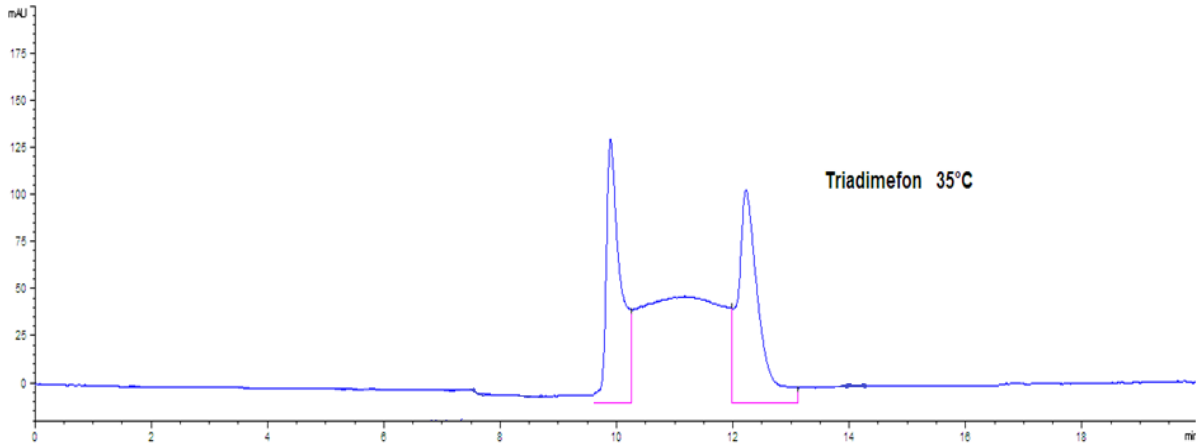


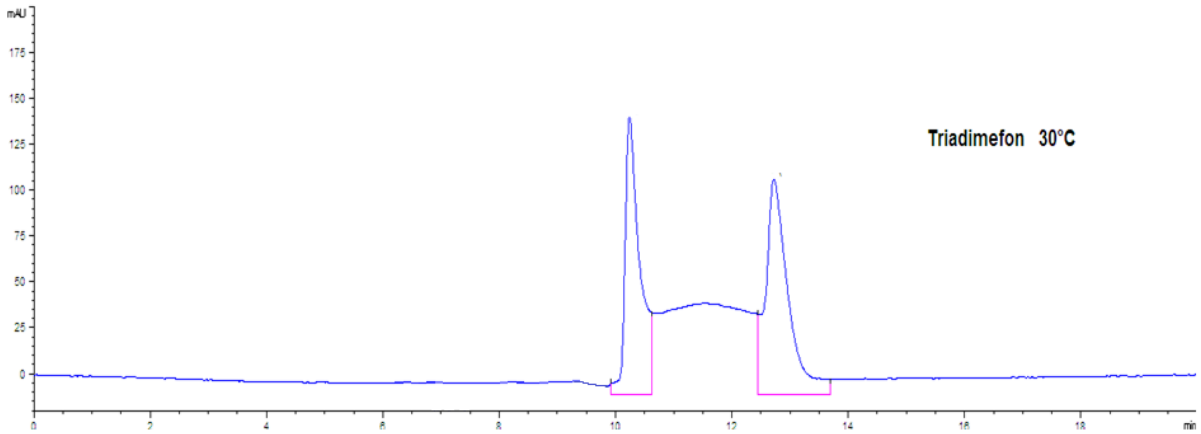


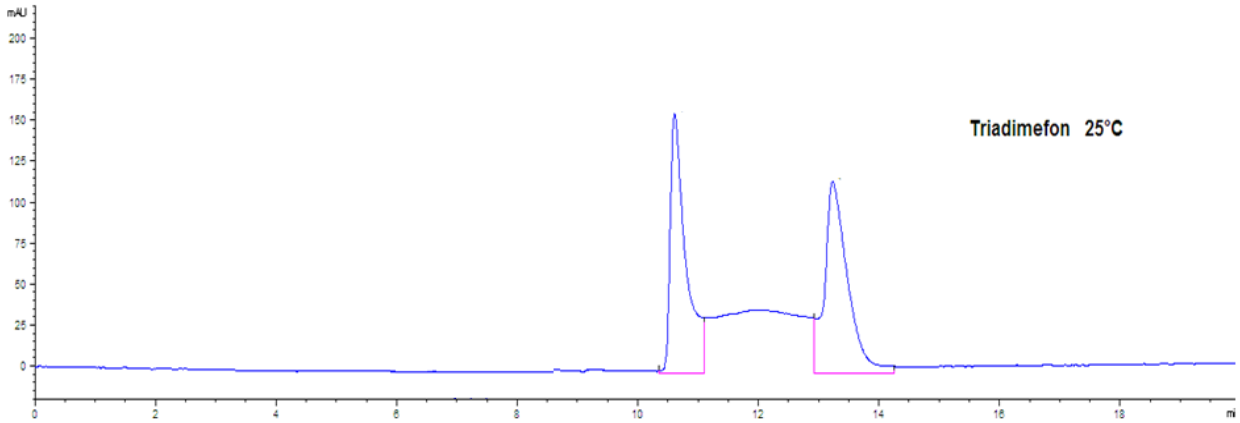

mAU
Triadimefon 50°C
min

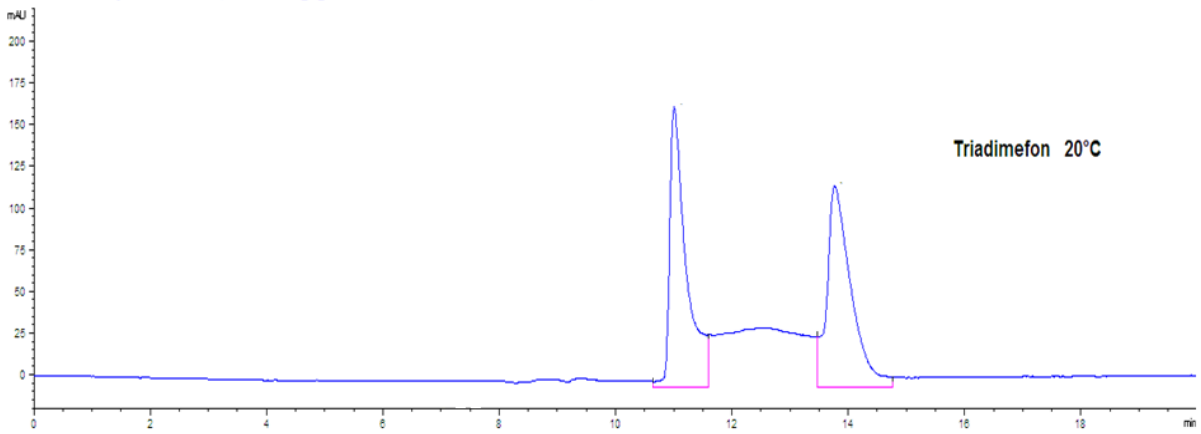

mAU
Triadimefon 45°C
min

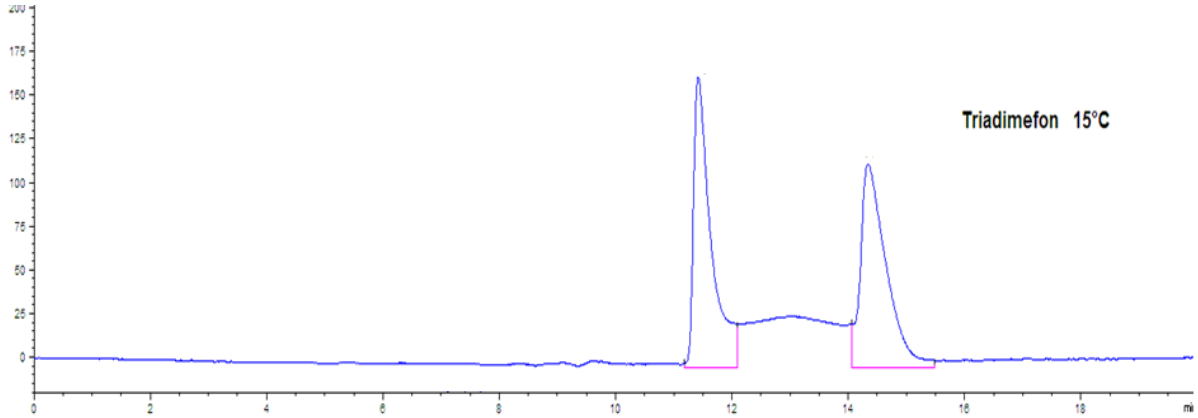

mAU
Triadimefon 40°C
min


mAU
Triadimefon 35°C
min


mAU
Triadimefon 30°C
min


mAU
Triadimefon 25°C


mAU
Triadimefon 20°C
min


Triadimefon 15°C

კინეტიკა

პროფესორი ვილანის მიერ გამოთვლილი რეაქციის სიჩქარის მუდმივები:

ცხრილი№1

T (°C)	T (K)	k12s წთ$^{-1}$	k21s წთ$^{-1}$	k12ap წთ$^{-1}$	k21ap წთ$^{-1}$	1/T (K^{-1})	ln(k12ap/T)	ln(k21ap/T)
15	288.2	0.0104	0.0068	0.0386	0.0309	0.0035	-8.9180	-9.1405
20	293.2	0.0872	0.0577	0.0464	0.0374	0.0034	-8.7511	-8.9668
25	298.2	0.0116	0.0075	0.0603	0.0486	0.0034	-8.5060	-8.7217
30	303.2	0.0145	0.00938	0.07475	0.0605	0.0033	-8.3078	-8.5193
35	308.2	0.0172	0.0109	0.0903	0.0733	0.0032	-8.1352	-8.3438
40	313.2	0.0206	0.013	0.1123	0.0917	0.0032	-7.9333	-8.1359
45	318.2	0.0228	0.142	0.136	0.111	0.0031	-7.7576	-7.9607
50	323.2	0.0373	0.0223	0.166	0.137	0.0031	-7.5739	-7.7659
55	328.2	0.0294	0.017	0.216	0.178	0.0030	-7.3259	-7.5194
60	333.2	0.038	0.0234	0.2368	0.1994	0.0030	-7.2491	-7.4210

$k12_s$ - პირველი ენანტიომერის მეორეში გარდაქმნის სიჩქარის მუდმივა უძრავ ფაზაში

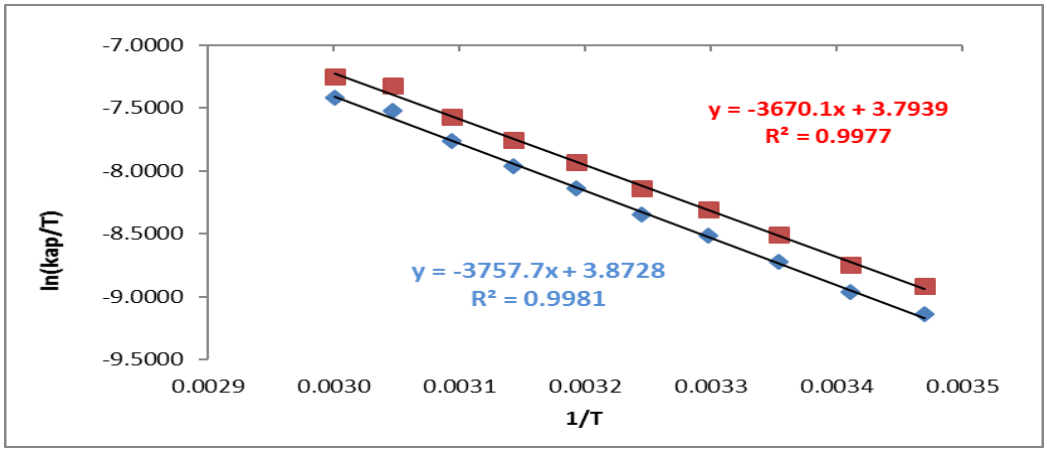
$k12_{ap}$ - პირველი ენანტიომერის მეორეში გარდაქმნის სიჩქარის მუდმივების ჯამური მნიშვნელობა

$k21_s$ - მეორე ენანტიომერის პირველში გარდაქმნის სიჩქარის მუდმივა უძრავ ფაზაში

$k21_{ap}$- მეორე ენანტიომერის პირველში გარდაქმნის სიჩქარის მუდმივების ჯამური მნიშვნელობა

მუდმივათა დამოკიდებულება შებრუნებულ ტემპერეტურაზე :

გრაფიკი №1



აქტივაციის ენერგიის გამოთვლა

პროფესორი ვილანის მიერ დათვლილ შედეგებზე გამოთვლილი აქტივაციის ენერგია:

აქტივაციის ენერგიის მიახლოებით შეფასებისათვის საკმარისია ორ ტემპერატურაზე რეაქციის სიჩქარის მუდმივას მნიშვნელობათა განსაზღვრაჩავწეროთ არენიუსის განტოლება რომელიმე T1 და T2 ტემპერატურების მიმართ(13) და (14):

$$k_{(T1)} = A \cdot e^{-E/RT_1} \quad (13);$$

$$k_{(T2)} = A \cdot e^{-E/RT_2} \quad (14);$$

მეორე გამოსახულება შევაფარდოთ პირველთან და ავიღოთ ლოგარითმი

$$\ln\frac{k_{(T2)}}{k_{(T1)}} = \frac{E}{R} \cdot \left(\frac{1}{T_1} - \frac{1}{T_2}\right) \quad (16);$$

მიღებული ტოლობიდან ადვილად განისაზღვრება აქტივაციის ენერგიის

მნიშვნელობა

$$E = R \left(\frac{T_1 \cdot T_2}{T_2 - T_1}\right) \ln \frac{k_{(T_2)}}{k_{(T_1)}} \quad (15);$$

ცხრილი№2

აქტივაციის ენერგიათა მნიშვნელობები ერთი ენანტიომერის მეორეში გარდაქმნის დროს (k_1) და მნიშვნელობები მეორე ენანტიომერის პირველში გარდაქმნის დროს (k_{-1}):

k12ap წთ$^{-1}$	T (K)	Eჯოული/მოლი	Eკჯოული/მოლი	k21ap წთ$^{-1}$	T (K)	Eჯოული/მოლი	E, კჯოული/მოლი
0.0386	288.2	25847.45	25.85	0.0309	288.2	26811.92	26.81
0.0464	293.2	31859.19	31.86	0.0374	293.2	32342.50	32.34
0.0603	298.2	31993.87	31.99	0.0486	298.2	32525.89	32.53
0.07475	303.2	31365.91	31.37	0.0605	303.2	31879.61	31.88
0.0903	308.2	32041.74	32.04	0.0733	308.2	32637.16	32.64
0.1123	313.2	31991.79	31.99	0.0917	313.2	32483.87	32.48
0.136	318.2	32319.13	32.32	0.111	318.2	32935.07	32.94
0.166	323.2	33838.67	33.84	0.137	323.2	34408.56	34.40
0.216	328.2	32167.41	32.17	0.178	328.2	33064.64	33.06
0.2368	333.2			0.1994	333.2		

ექსპერიმენტული აქტვაციის ენერგიის ზუსტი განსაზღვრისთვის

გრაფიკი №1 -ის მიხედვით წრფის განტოლება k12ap ის მნიშვნელობებისთვის:

y = -3670,1x + 3,7939
R² = 0,9977

ამ ფორმულებიდან გამომდინარეობს, რომ
y=lnk lnA=-3670,1

$\frac{E}{R}$ = 3.7939 სადაც R =8.31 ჯოული/(კელვინი*მოლზე)

აქედან გამომდინარე აქტივაციის ენერგია:

$$E_{k_{12}} = \frac{3670.1 * 8.31}{1000} = 30.49$$ კილოჯოული/მოლი

გრაფიკი №1 -ის მიხედვით წრფის განტოლება k21ap ის მნიშვნელობებისთვის:

y = -3757,7x + 3,8728
R² = 0,9981

ამ ფორმულებიდან გამომდინარეობს, რომ
y=lnk lnA=-3757.7

$\frac{E}{R}$ = 3.8728 სადაც R =8.31 ჯოული/(კელვინი*მოლზე)

აქედან გამომდინარე აქტივაციის ენერგია:

$$E_{k_{12}} = \frac{3757.7 * 8.31}{1000} = 31.22$$ კილოჯოული/მოლი

დასკვნები:

1. ჩვენს მიერ შესწავლილ ქრომატოგრაფიულ სვეტზე და ქრომატოგრაფიული ანალიზის პირობებში ტრიადიმეფონის ენანტიომერები განიცდის ურთიერთგარდაქმნას.
2. ქრომატოგრაფიული პროფილის ტემპერატურული დამოკიდებულების შესწავლით გამოთვლილი იქნა ენანტიომერიზაციის პროცესის პირდაპირი და შებრუნებული რეაქციების სიჩქარის მუდმივები, ისევე როგორც მისი მდგენელები მოძრავ და სტაციონარულ ფაზებში.
3. ყოველი ორი ტემპერატურისთვის აქტივაციის ენერგიების რიცხვითი მნიშვნელობები და ექსპერიმენტული აქტივაციის ზუსტი მნიშვნელობები თითქმის ერთნაირია.
4. ტემპერატურის მომატებასთან ერთად დაყოფა გაუარესდა და ენანტიომერიზაციის პროცესი გაუმჯობესდა.

5. გამოყენებული ლიტერატურა

[1]. T. Khatiashvili, R. Kakava, I. Matarashvili, H. Tabani, C. Fanali, A. Volonterio, T. Farkas, B. Chankvetadze, Separation of enantiomers of selected chiral sulfoxides with cellulose tris(4-chloro-3-methylphenylcarbamate)-based chiral columns in high-performance liquid chromatography with very high separation factor, J. Chromatogr. A, 1545 (2018) 59-66.

[2].B. Chankvetadze, Recent developments on polysaccharide-based chiral stationary phases for liquid-phase separation of enantiomers, J. Chromatogr. A, 1269 (2012) 26-51.

[3].სასწავლო კურსი: ფიზიკური ქიმია – 2; ბეჟან ჭანკვეტაძე, გიორგი ბეზარაშვილი. 2013 წელი.

[4]. A. Mskhiladze, M. Karchkhadze, A. Dadianidze, S. Fanali, T. Farkas, B. Chankvetadze, Separation of enantiomers of selected chiral antimycotic drugs on polysaccharide-based chiral columns and polar organic mobile phases with the emphasis on the enantiomer elution order, Chromatographia, 76, (2013) 1449-1458.

[5]. გიორგი ჯიბუტის დისერტაცია: „ქირალური ნივთიერებების დაყოფის ოპტიმიზაცია მაღალეფექტურ სითხურ ქრომატოგრაფიაში პოლისაქარიდული ქირალური სტაციონარული ფაზები სგამოყენებით“. 2014 წელი.

[6]. M. Rickhaus, L. Jundt, M. Mayor. Determining Inversion Barriers in Atropisomers – A Tutorial for Organic Chemists Physical Organic chemistry doi:10.2533/chimia.2016.192 Chimia 70 (2016) 192–202.