ივანე ჯავახიშვილის სახელობის თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტი

ნინო ზაქაშვილი

ქირალური ბეტა-ბლოკატორების ენანტიომერული ნარევების დაყოფა შებრუნებულფაზიან სითხურ ქრომატოგრაფიაში პოლისაქარიდული სტაციონარული ფაზების გამოყენებით

ზუსტ და საბუნებისმეტყველო მეცნიერებათა ფაკულტეტი

ქიმიის მიმართულება

ნაშრომი შესრულებულია ქიმიის ბაკალავრის ხარისხის მოსაპოვებლად

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

თბილისი

2015

ანოტაცია

შრომაში წარმოდგენილია ქირალურ β- ბლოკატორების ენანტიომერების სითხურ ქრომატოგრაფიული დაყოფა პოლისაქარიდული ქირალური სტაციონარული ფაზებისა და პოლარული ორგანული მოძრავი ფაზების გამოყენებით. მოძრავ ფაზაში აგრეთვე გამოყენებული იყო ფუძე დანამატი. კვლევის მთავარი მიზანი იყო ორგანულ ფაზაში წყლის შემცველობის გაზრდით გამოწვეული ეფექტების შესწავლა.საკვლევი ნივთიერებები შესწავლილ იქნა 5 სტაციონარულ ფაზაზე, მოძრავ ფაზად გამოიყენებოდა პირველ ეტაპზე სუფთა აცეტონიტრილი, ხოლო შემდგომ აცეტონიტრილი/წყალი 95/5, აცეტონიტრილი/წყალი 90/10 და აცეტონიტრილი/წყალი 80/20. ფუძე დანამატად კი დიეთილამინი. მიღებულმა შედეგებმა აჩვენა,რომ მოძრავ ფაზაში წყლის მოცულობის გაზრდით სისტემატიურად ყველა ნივთიერებისათვის ყველა სტაციონალურ ფაზაზე ადგილი ჰქონდა შეკავების დროის შემცირებას.ეს მიუთითებს, რომ ქირალური დაყოფები ამ სისტემაში ხდება ჰიდროფილური და არა შებრუნებულფაზიანი ქრომატოგრაფიის მექანიზმით.

Summary

In the present study the separation of chiral β-blockers on polysaccharide-based chiral columns and aqueous mobile phase was performed. Decrease of retention times was observed with increasing water content in acetonitrile on all studied chiral columns. This indicates that commonly accepted reversed-phase mechanism is not involved in separation of enantiomers in this particular separation system and the separation follows to hydrophilic-interaction chromatographic separation (HILIC) mechanism.

შინაარსი

ანოტაცია 2

1. შესავალი 4

2. ლიტერატურული ნაწილი

2.1 ქრომატოგრაფიული მეთოდები 5

2.2 ენანტიომერების დაყოფა მაღალეფექტურ სითხურ ქრომატოგრაფიაში 6

2.3 შებრუნებულ ფაზიანი სითხური ქრომატოგრაფია 7

2.4 β-ბლოკატორები და მათი ფარმაკოლოგიური აქტივობა 8

2.5 პოლისაქარიდების ნაწარმების გამოყენება სითხურ ქრომატოგრაფიაში 9

3. ექსპერიმენტული ნაწილი

3.1 ექსპერიმენტში გამოყენებული ელუენტები 10

3.2 გამოყენებული ხელსაწყო 10

3.3 ანალიზის პირობები 11

3.4 გამოყენებული ქირალური სტაციონარული ფაზები 11

3.6 საკვლევი ბეტა-ბლოკატორები 13

4. შედეგები და განსჯა 14

5. დასკვნები 23

6. გამოყენებული ლიტერატურა 24

1. შესავალი

ქირალური ქიმიური ნივთიერებების ენანტიომერული ნარევების დაყოფა და ენანტიომერული სისუფთავის კონტროლი მნიშვნელოვანია ქიმიის სხვადასხვა დარგებისათვის, განსაკუთრებით კი ფარმაცევტული სფეროსთვის. ენანტიომერული ნარევების ანალიზური დაყოფის ძირითად მეთოდს წარმოადგენს მაღალეფექტური სთხური ქრომატოგრაფია.

ენანტიომერების დაყოფა აქირალურ გარემოში შეუძლებელია მათი ერთმანეთის იდენტური ფიზიკური და ქიმიური თვისებების გამო. მათი ერთადერთი განმასხვავებელი ფიზიკური ფაქტორი არის სინათლის პოლარიზაციის სიბრტყის ბრუნვის უნარი განსხვავებული ნიშნით. ენანტიომერების ერთმანეთისგან განსხვავება შესაძლებელია მხოლოდ ატომთა ან რადიკალთა განსხვავებული ორიენტაციით სივრცეში. მათი ერთნაირი შედგენილობის მიუხედავად მათი ბიოლოგიური მოქმედება მკვეთრად განსხვავებულია, ამიტომ მნიშვნელოვანია მათი ანალიზი სამკურნალო საშუალებებში, საკვებ დანამატებში, სასოფლო-სამეურნეო შხამქიმიკატებში და სხვა ობიექტებში.

პოლისაქარიდების საფუძველზე მომზადებული ქირალური სორბენტები ფართოდ გამოიყენება ენანტიომერული ნარევების დასაყოფად, მაღალეფექტურ სითხურ ქრომატოგრაფიაში, როგორც ნორმალურ/პირდაპირ ფაზიან ასევე შებრუნებულ ფაზიან და პოლარულ ორგანული მოძრავი ფაზების გამოყენებით.

დღესდღეობით ბოლომდე არ არის გარკვეული საკითხი იმ მოლეკულათაშორისი ძალების შესახებ, რომლებიც განაპირობებს ენანტიომერული ნარევების შეკავებას ქირალურ სელექტორზე და მათ ქირალურ გამოცნობას სხვადასხვა გარემოში. ენანტიომერების ელუირების რიგის ცვლილება ქირალურ გარემოში ნიშნავს ქირალური სელექტორის გამოცნობის შებრუნებას და ქირალური გამოცნობის თვისობრივ ცვლილებას. რადგანაც ქირალურ სელექტორსა და სელექტანდს შორის მოქმედი მოლეკულათაშორისი ძალები დამოკიდებულია გარემო პირობებზე, შესაბამისად ქირალური გამოცნობის მექანიზმიც განსხვავებულია მოძრავ ფაზაში სხვადასხვა მჟავა ან ფუძე დანამატების არსებობისას.

2.ლიტერატურის მიმოხილვა

2.1 ქრომატოგრაფიული მეთოდები

სითხური ქრომატოგრაფია XX საუკუნის 50-იანი წლებიდან ვითარდება. მოკლე დროში იგი გახდა ორგანულ ნივთიერებათა დაყოფისა და ანალიზის საყოველთაოდ აღიარებული მეთოდი. უფრო მოგვიანებით, განვითარება დაიწყო მაღალეფექტურმა სითხურმა ქრომატოგრაფიამ, რომელმაც გამოყენების ტემპით არა მხოლოდ შეცვალა კლასიკური სვეტური, თხელფენოვანი და ქაღალდზე ქრომატოგრაფია, არამედ საგრძნობლად ჩამოიტოვა უკან გაზური ქრომატოგრაფიაც. მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფიის სწრაფი განვითარება განაპირობა საკვლევი ნივთიერებების მოლეკულური მასების ფართო სპექტრმა. თუ გაზური ქრომატოგრაფიის გამოყენება შეიძლება 500-600 ნ.ე. მასის მქონე ნივთიერებების ნარევების დასაყოფად, სითხური ქრომატოგრაფიის გამოყენებისას ეს რიცხვი იზრდება რამდენიმე ასეულიდან მილიონამდე. მათ შორისაა პოლიმერების საკმაოდ რთული მაკრომოლეკულები, ცილები, ნუკლეინის მჟავები და სხვა რთული ნაერთები. ამასთანავე თითქმის ყველა დაყოფა შეიძლება ჩატარდეს ოთახის ტემპერატურასთან ახლოს, ჰაერთან კონტაქტის გარეშე, რაც ძალზე მნიშვნელოვანია 11 ლაბილური ნაერთების, კერძოდ, ბიოლოგიურად აქტიური ნივთიერებების და ბიოპოლიმერების კვლევისას.

აპარატურული გაფორმებისა და გამოყენებული უძრავი ფაზების ბუნების მიხედვით, თხევადი ქრომატოგრაფიული პროცესების კლასიფიკაცია შეიძლება შემდეგნაირად მოვახდინოთ: ერთისმხრივ პლანარული რომელიც მოიცავს თხელფენოვან ქრომატოგრაფიას და ქრომატოგრაფიას ქაღალდზე, ხოლო მეორეს მხრივ სვეტური ქრომატოგრაფია, რომელიც მოიცავს ადსორბციულ, აფინურს, თხევად-თხევად, იონმიმოცვლით და გელ-ქრომატოგრაფიას.

სითხური ქრომატოგრაფია წარმოადგენს ენანტიომერული ანალიზის ერთ-ერთ უძლიერეს მეთოდს, როგორც მათი ანალიზური ასევე პრეპარატული დაყოფის მიზნით. ენანტიომერული ანალიზი ასევე შესაძლებელია გაზურ ქრომატოგრაფიაშიც, მაგრამ სითხურ ქრომატოგრაფიას, გაზურ ქრომატოგრაფიასთან შედარებით გააჩნია უპირატესობა, გაზური ქრომატოგრაფიისგან განსხვავებით მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფია არააქროლადი და თერმოლაბილური ნივთიერებების ანალიზის საშუალებას იძლევა. ენანტიომერულ ანალიზში გამოიყენება როგორც ნორმალური/პირდაპირი, ისე შებრუნებულფაზიანი ქრომატოგრაფია და პოლარულ ორგანული მოძრავი ფაზები. დღეისათვის ქირალური უძრავი ფაზების დიდი არჩევანი არსებობს. ლიტერატურაში 200-

მდე ასეთი ფაზაა აღწერილი, ამის მიუხედავად ოპტიმალური სტაციონარული ფაზა არ არსებობს და ამა თუ იმ ქირალური ნივთიერების ენანტიომერების ქრომატოგრაფიული დაყოფა მოითხოვს უშუალოდ საკლვლევ კომპონენტზე სელექტორისა და მოძრავი ფაზის „მორგებას“ [1].

2.2 ენანტიომერების დაყოფა მაღალეფექტურ სითხურ ქრომატოგრაფიაში

მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფია ერთ-ერთი ყველაზე მძლავრი მეთოდია ენანტიომერების კვლევაში. ენანტიომერების ელუირების რიგი ქირალური ქრომატოგრაფიული ანალიზის ერთ-ერთ მნიშვნელოვან საკითხს წარმოადგენს, როგორც თეორიული, ისე პრაქტიკული თვალსაზრისით. ქირალური ნივთიერებების ენანტიომერული სისუფთავის დადგენის დროს სასურველია მინარევის სახით არსებული ენანტიომერი ელუირდეს ძირითად პიკზე ადრე, რათა არ მოხდეს მცირე მინარევის პიკის გადაფარვა ძირითადი პიკით. ენანტიომერული ნარევების პრეპარატული დაყოფების დროს სასურველი ენანტიომერი უნდა ელუირდეს როგორც პირველი პიკი, რათა მოხდეს დაყოფის ციკლის უმოკლესი დროის მიღწევა. იმ ფაქტორების დადგენა, რომლებიც აკონტროლებენ ენანტიომერების ელუირების რიგს საანალიზო სისტემაში, მნიშვნელოვანია აგრეთვე ქირალური გამოცნობის მექანიზმების კვლევის თვალსაზრისით [2].

ფარმაცევტულ მრეწველობაში ქირალური მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფია აღიარებულია, როგორც ძირითადი მეთოდი ქირალური სამკურნალწამლო საშუალებების კვლევასა და განვითარებაში: ფარმაკოკინეტიკის, ფიზიოლოგიური, ტოქსიკოლოგიური და მეტაბოლიტური აქტივობის დეტალური გამოკვლევაა საჭირო წამლის გამოყენებამდე. ამ ტენდენციის გამო ფარმაცევტულ ბაზარზე გაიზარდა წამლების რიცხვი, რომლებიც შეიცავენ მხოლოდ ერთ ენანტიომერს. ჯერ კიდევ 1998 წლისთვის ერთი ოპტიკური იზომერის შემცველი სამკურნალო პრეპარატების წლიური გაყიდვები 96,4 მილიარდ აშშ დოლარს შეადგენდა და მისი რაოდენობა დღემდე განუწყვეტლივ იზრდება და გააგრძელებს ზრდას მომავალშიც. დაყოფის ეფექტური და ენანტიომერთა დიდი რაოდენობის მომცველი ქირალური სტაციონარული ფაზების შემუშავება არის ქირალური მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფიის ერთ-ერთი ძირითადი ამოცანა. ქირალური სტაციონალური ფაზა ძირითადად შედგება ან მცირე ზომის ქირალური მოლეკულების, ან ქირალური პოლიმერებისაგან, რომლებიც მოთავსებულია შემავსებლებზე, როგორც წესი ეს არის მაღალი სისუფთავის სილიკაგელი. პოლიმერები შეიძლება ასევე გამოყენებულ იქნას, როგორც

ფორებიანი გელი. პოლისაქარიდ–ბენზოატისა და ფენილკარბამატის ნაწარმებზე 15 დამზადებული ქირალური სტაციონარული ფაზები ყველაზე ფართოდ გამოყენებულია ორგანულ, ბიოორგანულ და ფარმაცევტულ ქიმიაში[3-4].

2.3 შებრუნებულ ფაზიანი სითხური ქრომატოგრაფია

შებრუნებულფაზიანი ქრომატოგრაფია თხევადი ქრომატოგრაფიის ყველაზე უფრო გავრცელებული მეთოდია. ამ მეთოდის ასეთ პოპულარობას განაპირობებს შებრუნებულფაზიანი ქრომატოგრაფიის შემდეგი ძირითადი უპირატესობები: მეთოდი ძლიერ მოქნილია და მისაღებია მრავალი სხვადასხვა ნივთიერებათა ნარევების დასაყოფად. მეთოდი მაღალსელექტიურია ყველა სახის ნივთიერებათა მიმართ, ძლიერ პოლარული ნივთიერებების გარდა. შებრუნებულ ფაზიან რეჟიმში შეიძლება განხორციელდეს როგორც წყალში ხსნადი,ასევე რიგ ორგანულ გამხსნელებში ხსნად ნივთიერებათა დაყოფა. წყლიანი სისტემის გამოყენება საშუალებას იძლევა მოძრავ ფაზებად გამოყენებულ იქნას ბუფერული სისტემები,რაც აუმჯობესებს სელექტიურობას და ეფექტურობას.

შებრუნებულფაზიან ქრომატოგრაფიაში გამოყენებული სტაციონარული ფაზები (სილიკაგელის საფუძველზე მომზადებული ალკილის ჯგუფებით მოდიფიცირებული სორბენტები) იძლევა მოძრავი ფაზის pH-ის ცვლილების საშუალებას 2-დან 7-მდე ინტერვალში. pH-ის ასეთ ინტერვალში ძლიერი ფუძეები პრაქტიკულად მთლიანად პროტონირებულნი არიან,ამიტომ მათი დაყოფა უნდა მოხდეს იონების სახით იონ-წყვილური ან იონ-გაცვლითი ქრომატოგრაფიის მეთოდით. pH-ის ფართო დიაპაზონსი ვარგისი სტაციონარული ფაზების მიღებას ამის გამო დიდი მნიშვნელობა აქვს.

მოძრავი ფაზა. მოძრავი ფაზა შებრუნებულფაზიან ქრომატოგრაფიაში ჩვეულებრივად არის წყალი ან წყლიანი ბუფერული ხსნარის ნარევი სხვადასხვა წყალთან შერევად გამხსნელებთან. წყალი ძლიერი მაელუირებელი გარემოა ადსორბციულ ქრომატოგრაფიაში. წყალი ძლიერად ურთიერთქმედებს სილიკაგელთან ან ალუმინის ოქსიდის აქტიურ ცენტრებთან,რაც ხელს უშლის ნიმუშის მოლეკულების ადსორბციას და ისინი სწრაფად ელუირდება.სრულიად საწინააღმდეგო როლი ეკისრება წყალს შებრუნებულფაზიან ქრომატოგრაფიაში.წყალს არ შეუძლია დაასველოს არაპოლარული ალკილური ჯგუფები და არ შეუძლია ურთიერთქმედება მათთან. აქედან გამომდინარე, იგი ყველაზე უფრო სუსტი

მოძრავი ფაზაა და ნიმუშის ელუირების სიჩქარე ძალიან დაბალია.რაც უფრო მეტია წყლის შემცველობა ელუენტში,მით უფრო ხანგრძლივია შეკავების დრო.

შეკავების დრო მით მეტია, რაც უფრო მეტია ნახშირბადის ატომების რიცხვი მოლეკულაში.ზოგადი წესის მიხედვით,შეკავება იზრდება ნიმუშის მოლეკულებსა და სტაციონარულ ფაზას შორის საკონტაქტო ფართობის გაზრდით,რომელიც გამოთავისუფლდება ნივთიერების ადსორბციის დროს. განტოტვილი ჯაჭვის ნივთიერებები უფრო სწრაფად ელუირდება, ვიდრე მათი შესაბამისი ხაზოვანი იზომერები.

გამხსნელების პოლარობა მცირდება და მაელუირებელი ძალა იზრდება შემდეგი თანმიმდევრობით:

მეთანოლი → აცეტონიტრილი → ეთანოლი → იზოპროპანოლი → დიმეთილფორმამიდი →პროპან-1-ოლი → დიოქსანი → ტეტრაჰიდროფურანი.

შებრუნებულფაზიან ქრომატოგრაფიაში მოძრავი ფაზის შეცვლით შეიძლება შეკავების შეცვლა ძალიან დიდ დიაპაზონში, რადგანაც საანალიზო ნივთიერებების შეკავება ორგანულ გამხსნელებში (მეთანოლი,ეთანოლი,ტეტრაჰიდროფურანი,აცეტონიტრილი) ძალიან მცირეა,ხოლო წყალში კი მეტისმეტად დიდი, ამიტომ იყენებენ წყლისა და ორგანული მოდიფიკატორების ნარევებს.

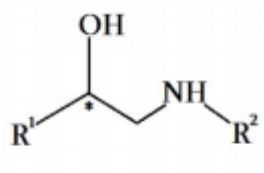
შებრუნებულფაზიანი ქრომატოგრაფია თავსებადია წყლიან ნიმუშებთან, ისეთებთან როგორიცაა გარემოს ნიმუშები,ფარმაცევტული პრეპარატები, სასმელები. რადგანაც წყალი არის ყველაზე სუსტი ელუენტი, წყალხსნარები შეიძლება შევიყვანოთ პირდაპირ წინასწარი დამუშავების გარეშე (თუმცა ფილტრაცია და ცენტრიფუგირება აუცილებელია).[5].

2.4 β-ბლოკატორები და მათი ფარმაკოლოგიური აქტივობა

პირველი ცნობები β-ბლოკატორების შესახებ ვრცელდებოდა მე-XX საუკუნის შუახანებში. 1958 წელს სინთეზირებულ იქნა პირველი β-ბლოკატორი დიქლოროიზოპროტერენოლი (ელაი-ლილის ლაბორატორიაში). 1962 წელს ჯეიმს ბლექი იყო პირველი, ვინც β-ბლოკატორები კლინიკური მნიშვნელობით გამოიყენა. მან შექმნა პროპრანოლოლი და პრონეტალოლი, რამაც რევოლუცია მოახდინა სტენოკარდიის მკურნალობაში. სწორედ პროპრანოლოლის გამოგონებისთვის 1988 წელს ჯეიმს ბლექს მიენიჭა ნობელის პრემია.

β-ბლოკატორების კლინიკური თვალსაზრისით გამოყენებამ მნიშვნელოვანი წვლილი შეიტანა მე-XX ს-ის კლინიკურ მედიცინასა და ფარმაკოლოგიაში.

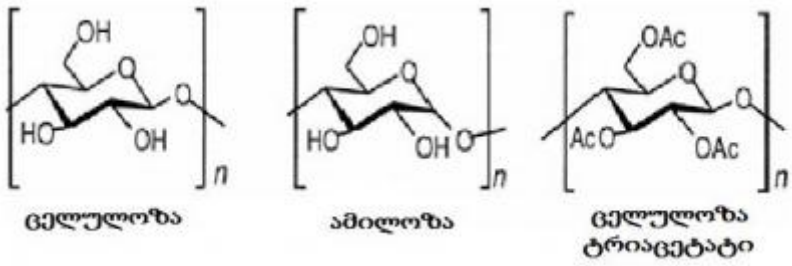
β-ბლოკატორებს აქვთ არილოქსი-ამინო-სპირტების ჩონჩხი, რომელიც ძირითადად განაპირობებს მათ ფარმაკოლოგიურ მოქმედებას. ცნობილია, რომ β-ბლოკატორების უმეტესობის S -ენანტიომერი ფარმაკოლოგიურად უფრო აქტიურია, ვიდრე R-ენანტიომერი.



β-ბლოკატორები ცნობილია ასევე, როგორც ბეტა-ადრენერგული მაბლოკირებელი აგენტები. ისინი არიან წამლები, რომლებიც ურთიერთქმედებენ ადრენალინისა და ნორადრენალინისადმი მგრძნობიარე β-რეცეპტორებთან [6].

2.5 პოლისაქარიდების ნაწარმების გამოყენება სითხურ ქრომატოგრაფიაში

სითხურ ქრომატოგრაფიაში გამოსაყენებლად პოლისაქარიდული ქირალური ფაზები პირველად დასინთეზებულ იყო ჰესესა და ჰაგელის მიერ 1973 წელს მიკროკრისტალური ცელულოზის ტრიაცეტატის სახით. (ცელულოზის ტრიაცეტატი), თუმცა ლიტერატურაში მოხსენიებულია ადრეული მცდელობები ენანტიომერული ნარევების დასაყოფად სვეტური და პლანარული/ქაღალდის ქრომატოგრაფიის მეთოდების გამოყენებით სხვადასხვა ტიპის ბუნებრივ პოლისაქარიდებზე.



აღნიშნულმა ქირალურმა სტაციონალურმა ფაზამ აჩვენა ენანტიომერების დაყოფის საინტერესო თვისებები, რის გამოც ბევრი არომატული და ალიფატური ენანტიომერების დაყოფა გახდა შესაძლებელი.

ენანტიომერების დასაყოფად პოლისაქარიდებზე დაფუძნებული ქირალური სელექტორების ოპტიმიზაცია, მაღალეფექტურ სითხურ ქრომატოგრაფიაში პირველად ჩატარდა 1980-იან წლებში. ძირითადი კვლევები მიმდინარეობდა იაპონიაში, ოკამოტოს (Y.Okamoto) ჯგუფის მიერ ოსაკას უნივერსიტეტში და კომპანია დაიცელის მიერ.

3.ექსპერიმენტული ნაწილი

3.1 ექსპერიმენტში გამოყენებული მოძრავი ფაზები

ექსპერიმენტში გამოყენებული იყო აცეტონიტრილი , რომელშიც თანდათან ვზრდიდით წლის შემცველობას.

გარდა ამისა გამხსნელს დამატებული ქონდა ფუძე ნივთიერება (დიეთილამინი).

1. აცეტონიტრილი + 0.1% დიეთილამინი
2. აცეტონიტრილი/წყალი 95/ 5 +0.1% დიეთილამინი
3. აცეტონიტრილი/წყალი 90/10 +0.1% დიეთილამინი
4. აცეტონიტრილი/წყალი 80/20 +0.1% დიეთილამინი.

3.2 გამოყენებული ხელსაწყო

ექსპერიმენტში გამოყენებული იყო ,,Agilent Technologies" ფირმის მაღალეფექტური სითხური სისტემა,რომელიც შედგება:

ბინარული ტუმბო

ნიმუშების მიწოდების ავტომატური სისტემა

სვეტის თერმოსტატი

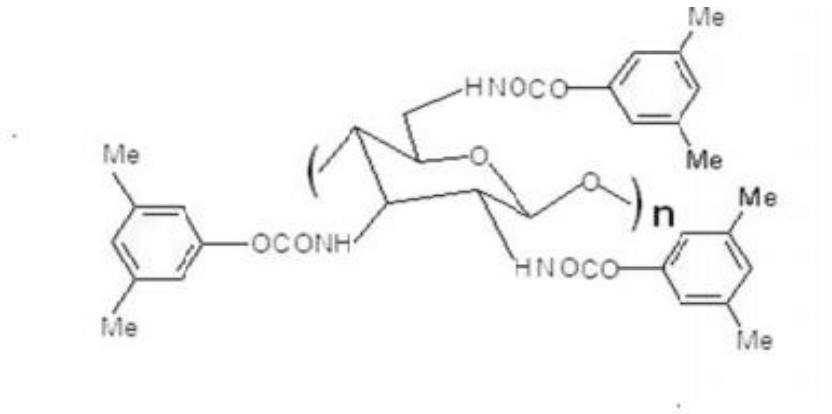
დიოდური დეტექტორი

ხელსაწყოს მართვისა და შედეგების დამუშავების სისტემა, Agilent LC Chemistation B.03.02'' 9(Agilent Inc., Santa Clara, CA, USA)

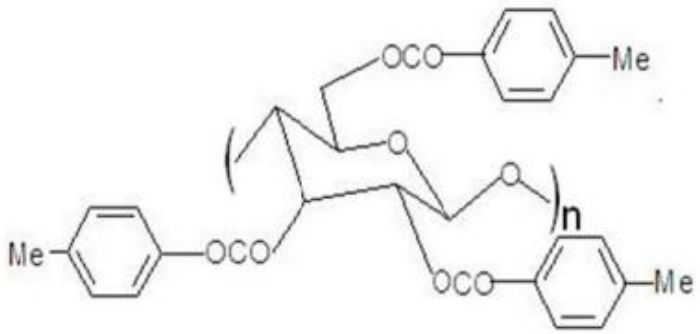
3.3 ანალიზის პირობები

ელუენტის ნაკადი იყო 1 მლ/წთ, დეტექტირება ხდებოდა 220 ნმ და 254 ნმ ტალღის სიგრძეზე. ექსპერიმენტები ტარდებოდა ოთახის ტემპერატურაზე.

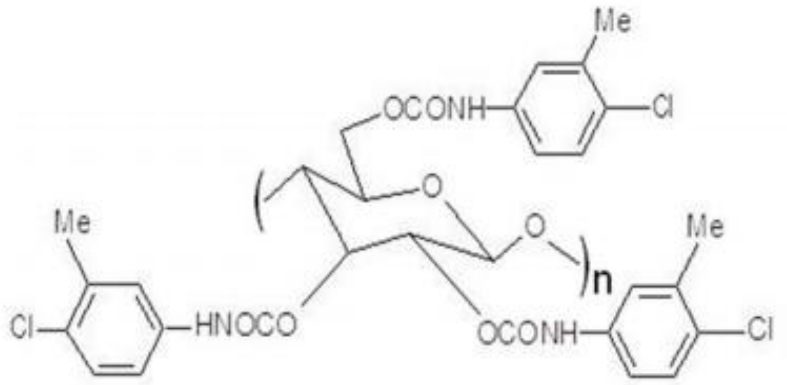
3.4 გამოყენებული ქირალური სტაციონარული ფაზები



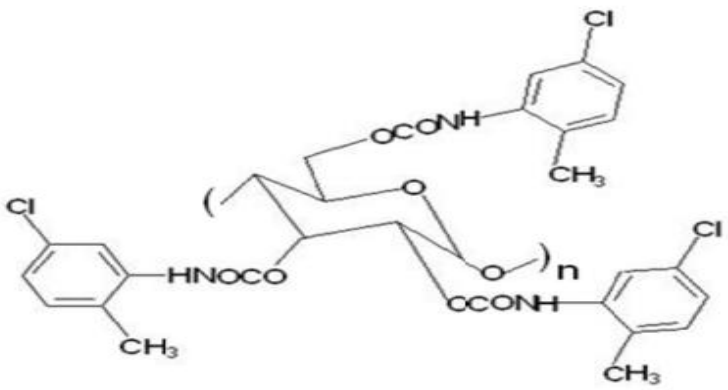
ცელულოზა-1 ცელულოზა ტრის (3,5-დიმეთილფენილკარბამატი



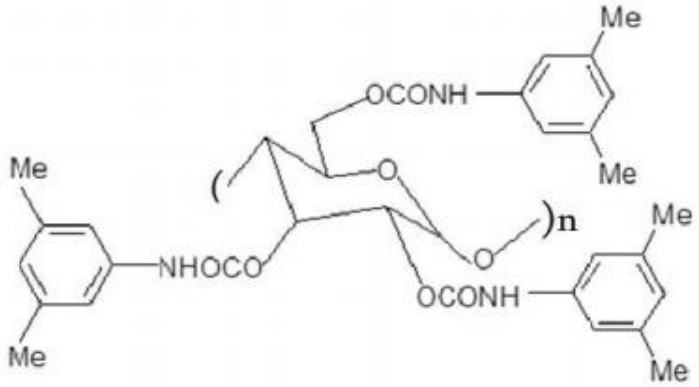
ცელულოზა-3 ცელულოზა ტრის (4-მეთილბენზოატი)



ცელულოზა-4 ცელულოზა ტრის (4-ქლორ-3-მეთილფენილკარბამატი)



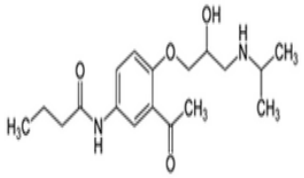
ამილოზა-2 ამილოზა ტრის (2-ქლორ-5-მეთილფენილკარბამატი)

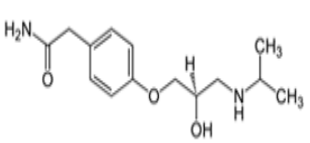


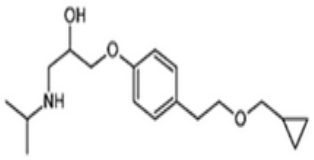
სპ-6 ამილოზა ტრის (3,5-დიმეთილფენლიკარბამატი)

3.6 საკვლევი ბეტა-ბლოკატორები

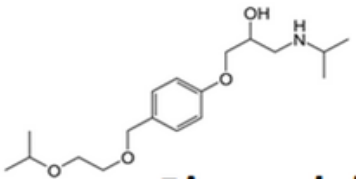
ექსპერიმენტში გამოყენებული იყო 22 ქირალური ბეტა-ბლოკატორი:ატენოლოლი, აცებუტოლოლი, ბეტაქსოლოლი, ბისოპროლოლი, ბოპინდოლოლი, ბუნიტროლოლი, ბუპრანოლოლი, ესმოლოლი, კარაზოლოლი, ლაბეტალოლი, მაბუტეროლი, მეტოპროლოლი, მეტიპრანოლოლი, ნადოლოლი, ნიფენალოლი, ოქსპრენალოლი, პინდოლოლი, პროპრანოლოლი, ცელიპროლოლი, სოტალოლი, ფენეტეროლი, ტერტატოლოლი

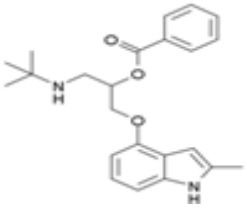


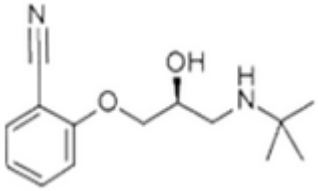




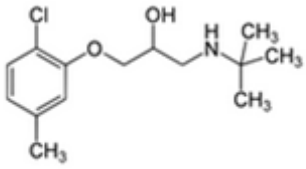
აცებუტოლოლი ატენოლოლი ბეტაქსოლოლი

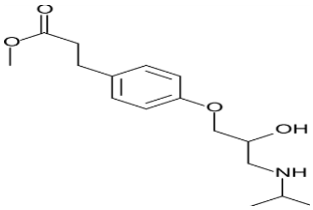


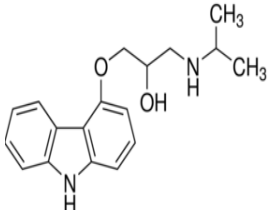




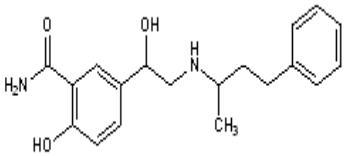
ბისოპროლოლი ბოპინდოლოლი ბუნიტროლოლი

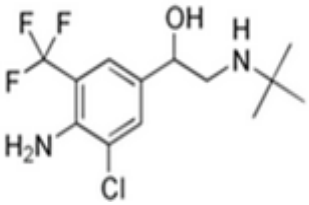


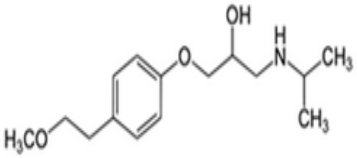




ბუპრანოლოლი ესმოლოლი კარაზოლოლი

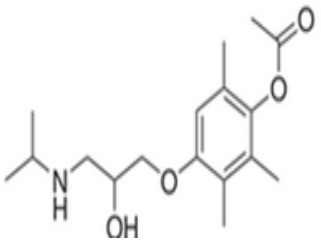




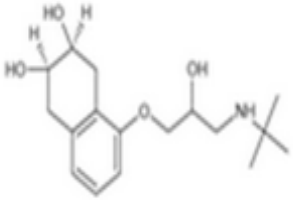


ლაბეტალოლი მაბუტეროლი

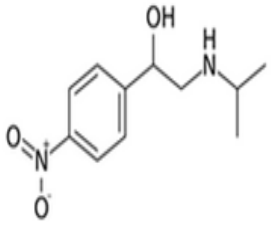
მეტოპროლოლი



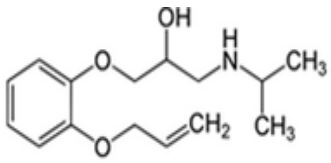
მეტიპრანოლოლი



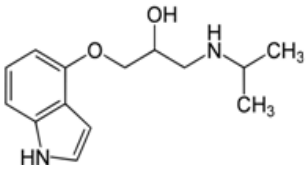
ნადოლოლი



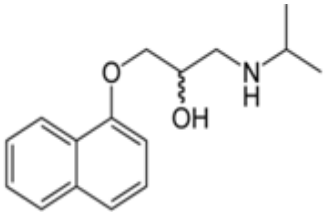
ნიფენალოლი



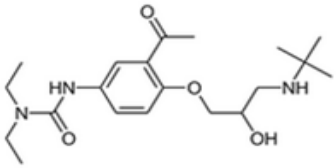
ოქსპრენალოლი



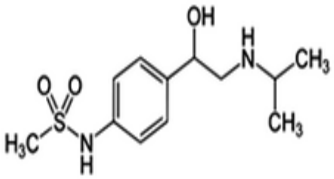
პინდოლოლი



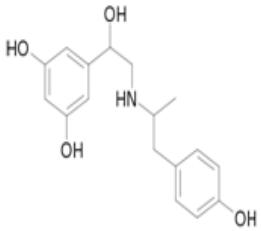
პროპრანოლოლი



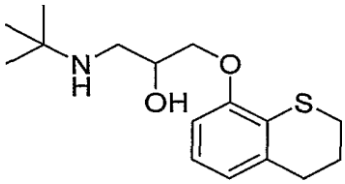
ცელიპროლოლი



სოტალოლი



ფენეტეროლი



ტერტატოლოლი

5.შედეგები და განსჯა

თავდაპირველად ექსპერიმენტს ვატარებდით სუფთა აცეტონიტრილი + 0.1% დეა ფაზაში. შემდეგ კი აცეტონიტრილში თანდათან ვზრდიდით წყლის მოცულობას.

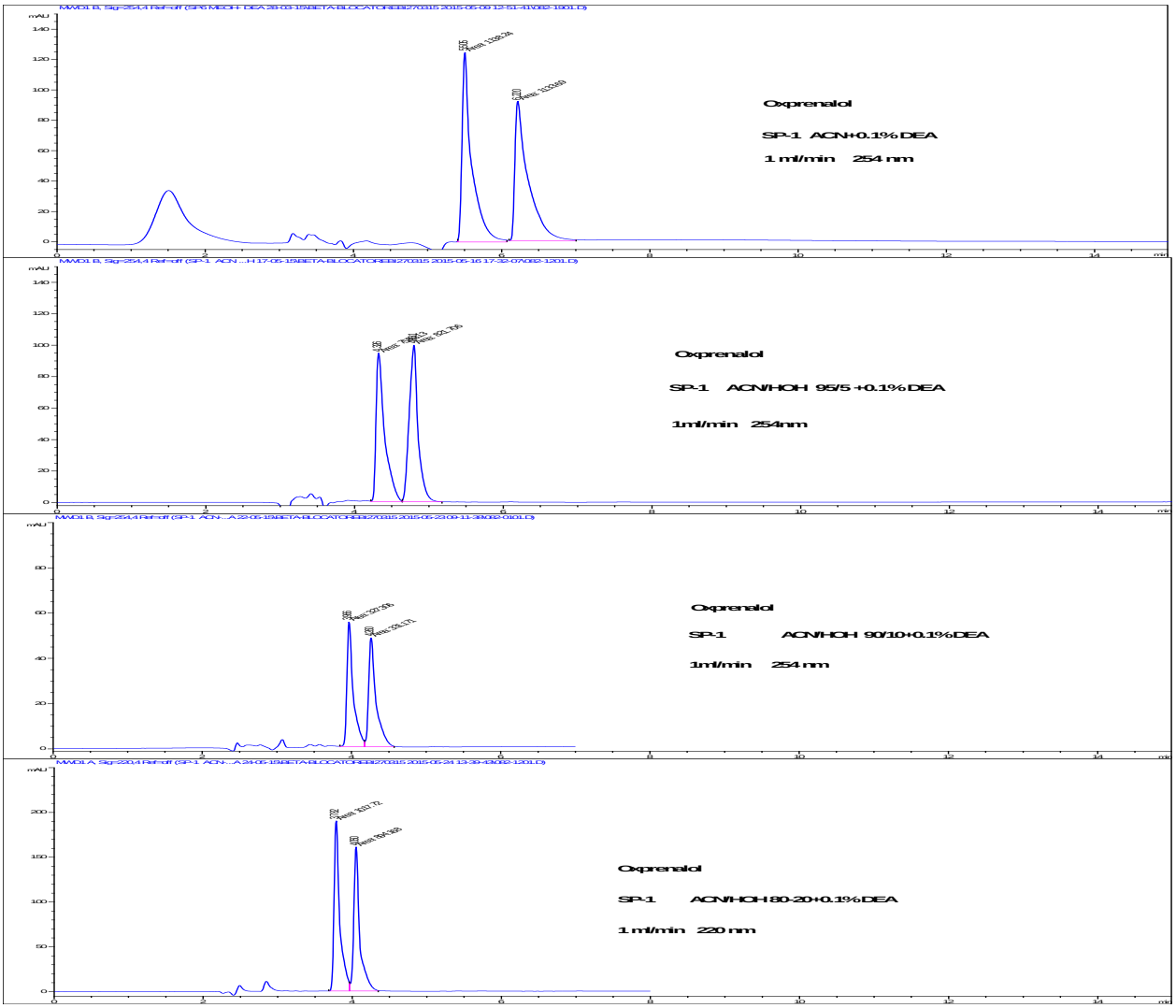
SP-1 სვეტზე რამდენიმე ბეტა-ბლოკატორის ენანტიომერული ნარევების დაყოფა შემდეგი თანმიმდევრობით მოძრავ ფაზებში:

აცეტონიტრილი +0.1% დეა

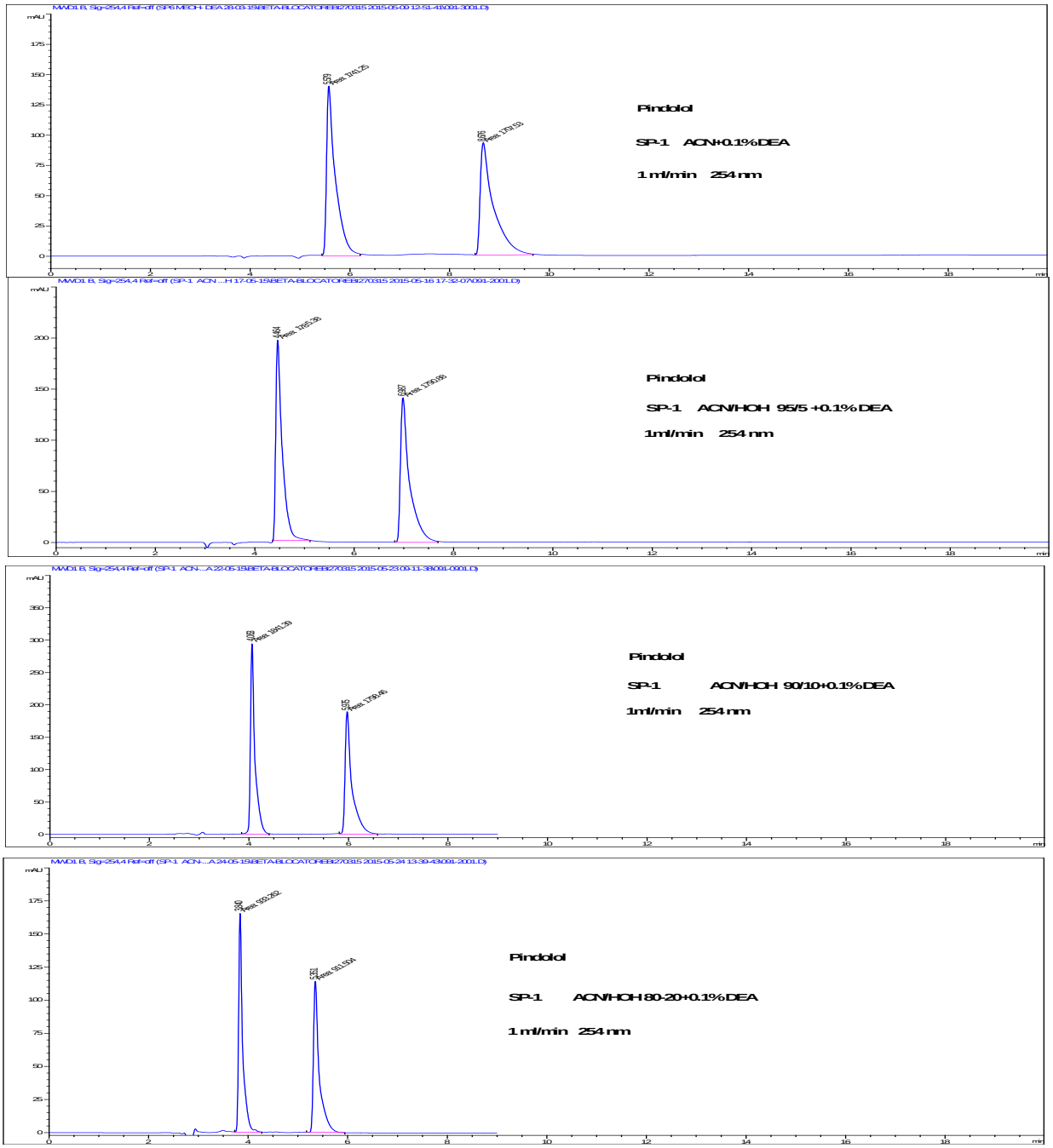
აცეტონიტრილი/წყალი 95/5 +0.1% დეა

აცეტონიტრილი/წყალი 90/10 +0.1% დეა

აცეტონიტრილი/წყალი 80/20 +0.1% დეა

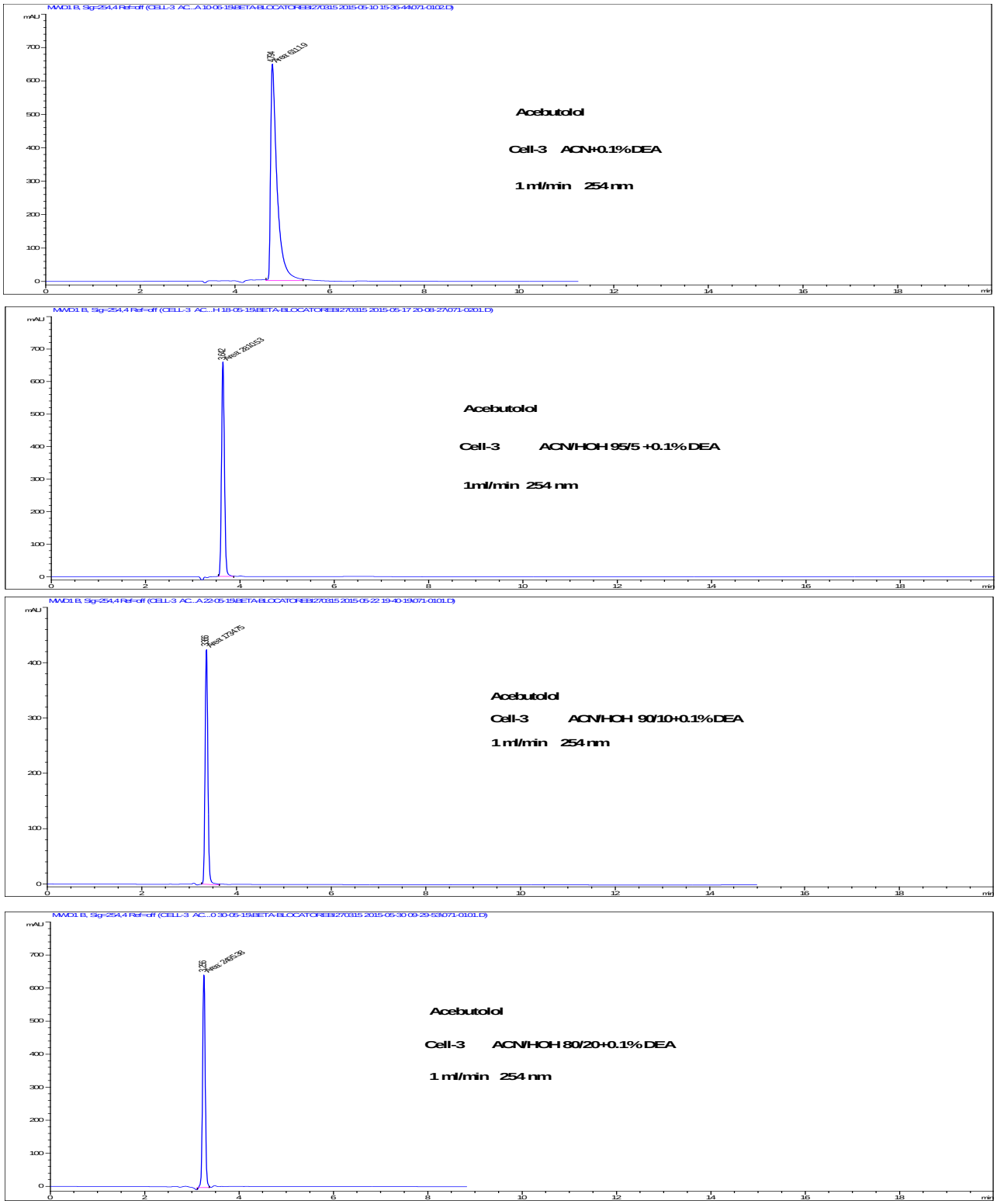


ნახ.1 ოქსპრენალოლი, წყლის მოცულობის გაზრდით მცირდება შეკავების დრო.



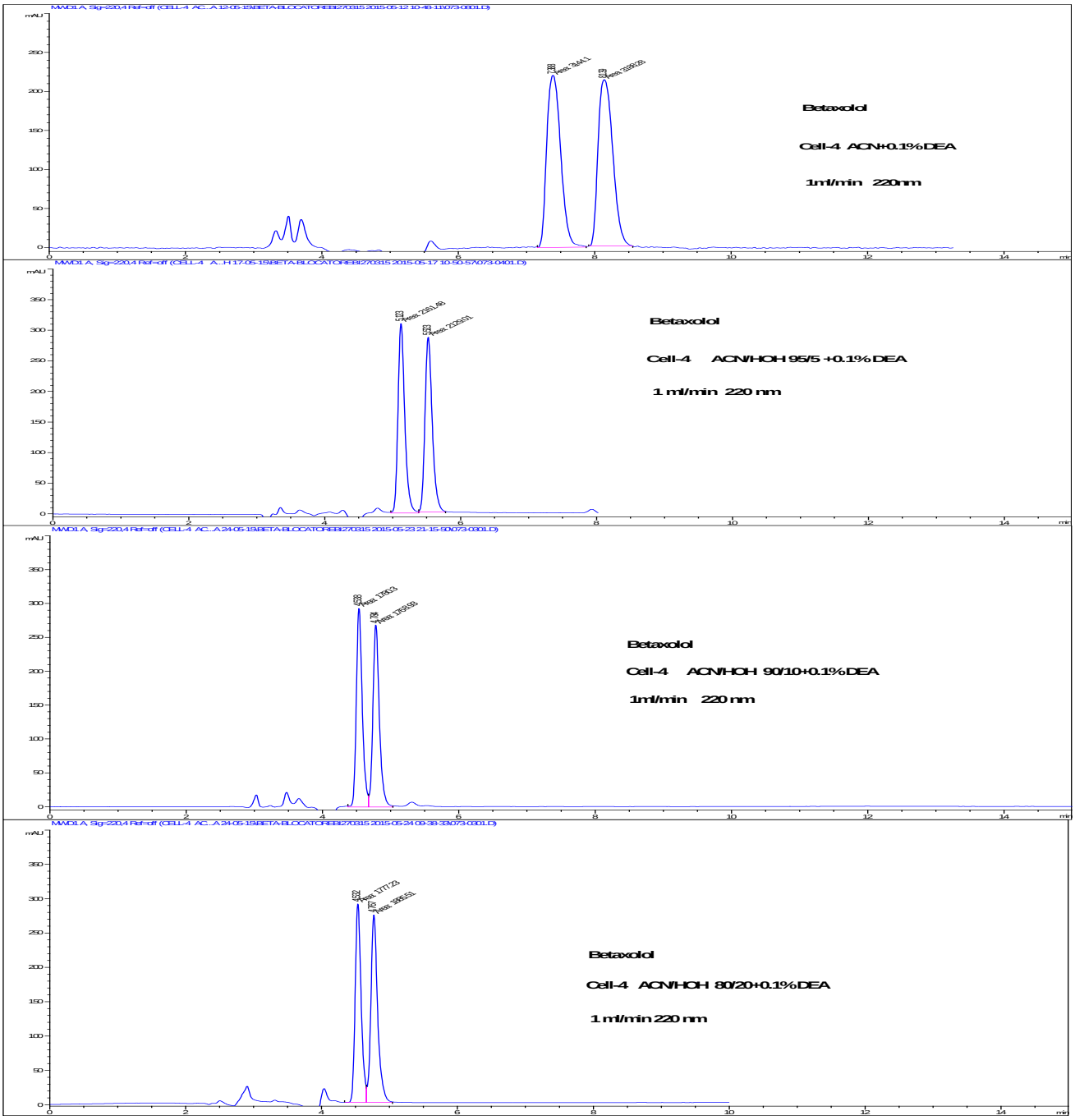
ნახ.2 პინდოლოლი. წყლის მოცულობის გაზრდით მცირდება შეკავების დრო.

ცელულოზა-3 სვეტზე აცეტონიტრილიან ფაზაში ბეტა-ბლოკატორების ენანტიომერულმა ნარევებმა დაყოფა არ მოგვცა. ნიმუშების შეკავების დროის შემცირება კვლავ აღინიშნებოდა:



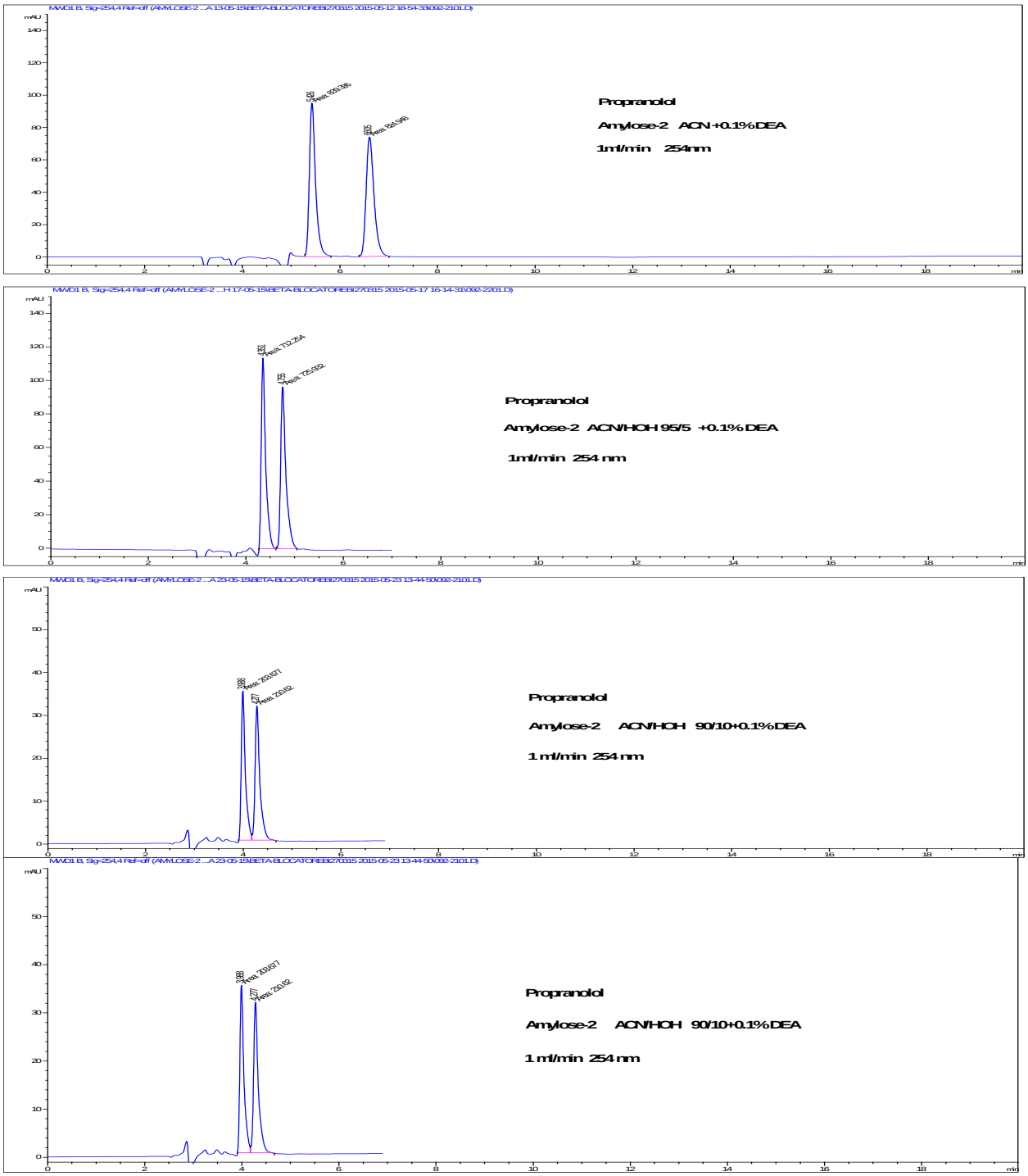
ნახ.3

ცელულოზა-4 სვეტზე რამდენიმე ბეტა-ბლოკატორის ენანტიომერული ნარევების დაყოფა:



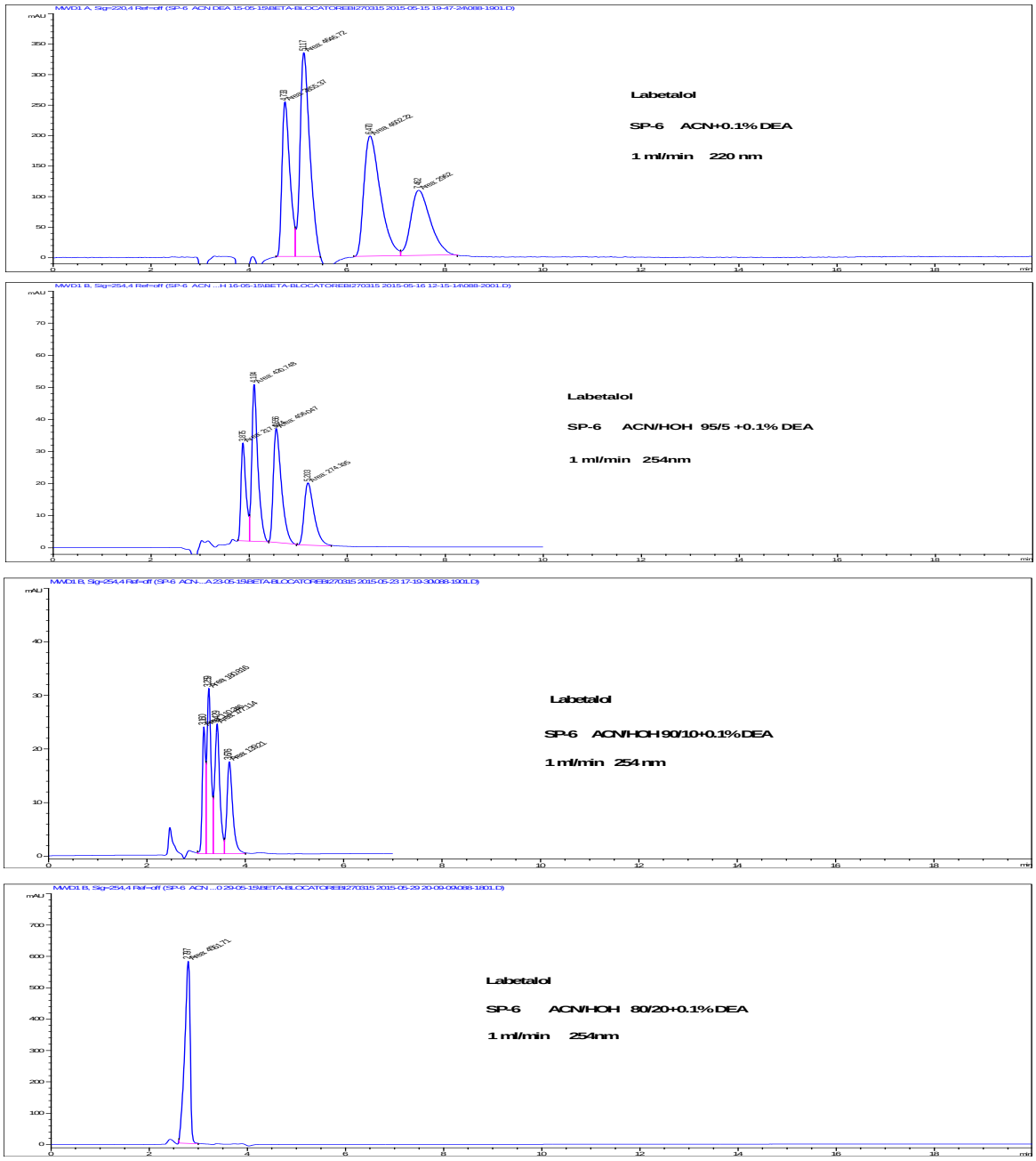
ნახ.4 ბეტაქსოლოლი. ცელულოზა-4 სვეტზე მოძრავ ფაზაში წყლის მოცულობის გაზრდის შედეგად, გარდა შეკავების დროის შემცირებისა გამოიკვეთა კიდევ ერთი ეფექტი. კერძოდ, გარჩევითობის შემცირება.

ამილოზა-2 სვეტზე, მოზრავ ფაზაში წყლის მოცულობის გაზრდით შეკავების დროის შემცირებასთან ერთად ადგილი ჰქონდა გარჩევითობის შემცირებას.



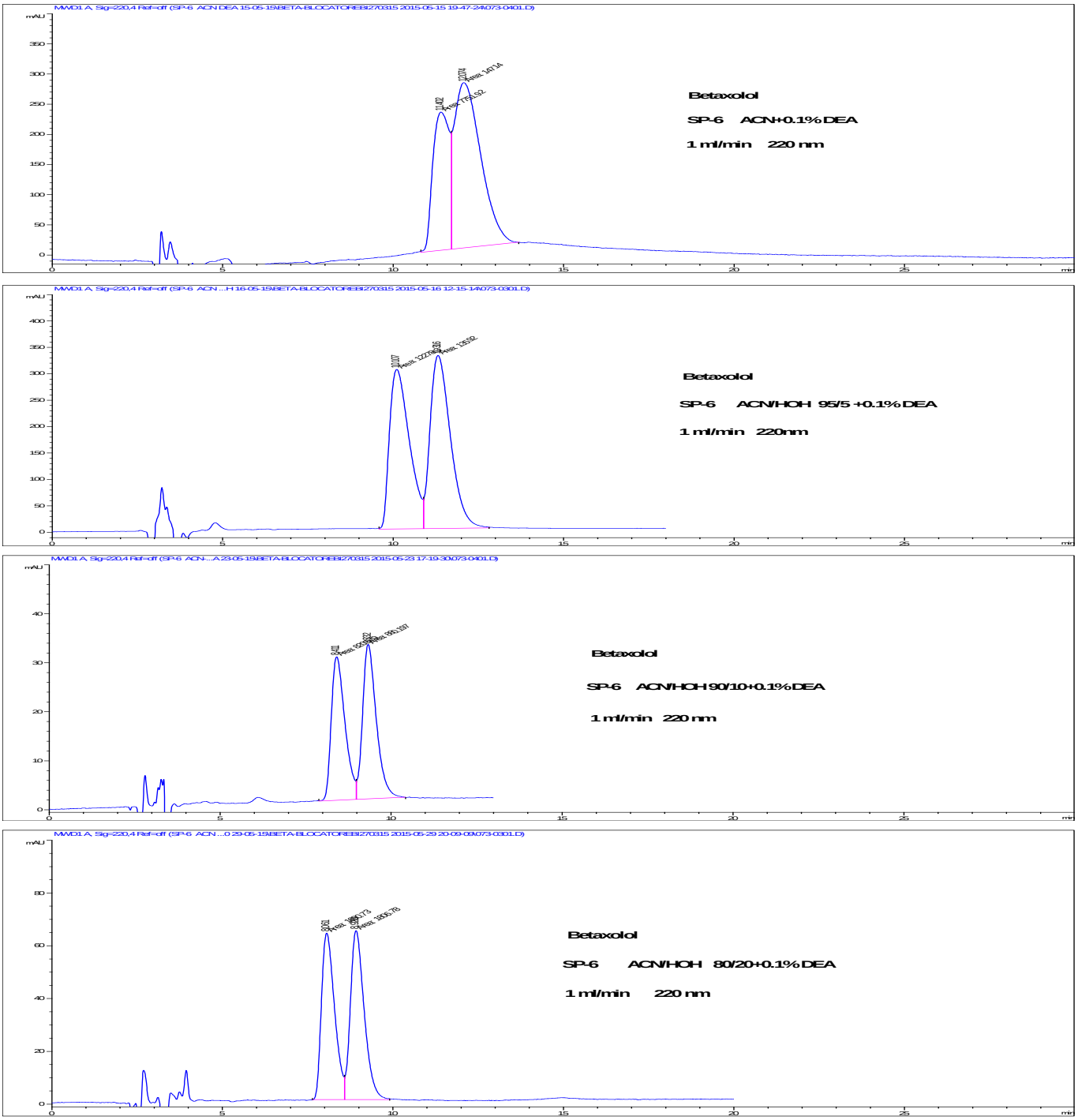
ნახ.6 პროპრანოლოლი. შემცირდა შეკავების დრო, შემცირდა გარჩევითობა.

SP-6 სვეტზე მოძრავ ფაზაში წყლის მოცულობის გაზრდით სხვადასხვა ეფექტი მივიღეთ. კერძოდ, ზოგიერთ ნივთიერებაზე შეკავების დროის შემცირების გარდა ადგილი ჰქნოდა ენანტიომერული დაყოფის გაუმჯობესებას, რიგ შემთხვევაში კი პირიქით.



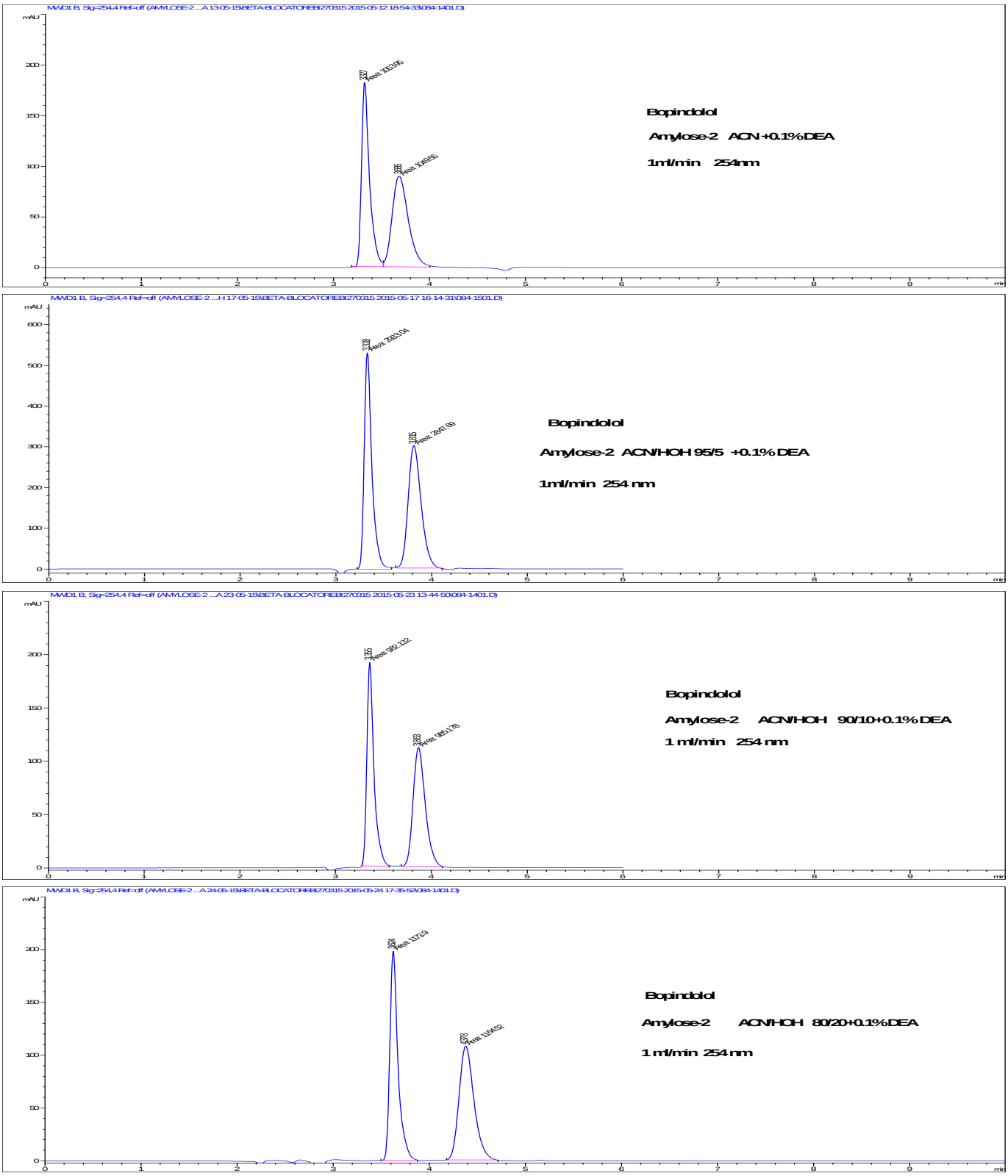
ნახ.7 ლაბეტალოლი (გააჩნია 2 ქირალური ცენტრი) აცეტონიტრილი/წყალი 90/10 თანაფარდობის დროს ჯერ კიდევ ადგილი ჰქონდა ენანტიომერების ნაწილობრივ დაყოფას მაინც. ხოლო წყლის მოცულობის 20%-მდე გაზრდის შემთხვევაში ენანტიომერულ დაყოფას ადგილი აღარ ჰქონდა. შეკავების დრო სხვა ნივთიერებების მსგავსად შემცირებულ იქნა წყლის მოცულობის გაზრდით.

საწინააღმდეგო ეფექტი გამოიკვეთა SP-6 სვეტზე ნადოლოლის შემთხვევაში:



ნახ.8 ბეტაქსოლოლი. მოძრავ ფაზაში წყლის დამატებამ შეკავების დროის შემცირებასთან ერთად გააუმჯობესა ენანტიომერული დაყოფა.

აღსანიშნავია ბოპინდოლოლის შემთხვევა. ექსპერიმენტში გამოყენებულ ყველა სტაციონარულ ფაზაზე, მოზრავ ფაზაში წყლის მოცულობის გაზრდით აჩვენა საპირისპირო შედეგი,ვიდრე სხვა დანარჩენმა საკვლევმა ბეტა-ბლოკატორმა.



ნახ.9 ბოპინდოლოლი.ამილოზა-2 სვეტზე მოზრავ ფაზასი წყლის მოცულობის გაზრდამ უმნიშვნელოდ, მაგრამ მაინც გამოიწვია შეკავების დროის გაზრდა.

დასკვნები:

ჩატარებული ექსპერიმენტების შედეგები გვიჩვენებს,რომ მოძრავ ფაზაში წყლის მოცულობის გაზრდა რიგ შემთხვევაში აუმჯობესებს ენანტიომერების დაყოფას,რიგ შემთხვევაში კი აუარესებს. ეს ეფექტი შეიმჩნეოდა როგორც სვეტიდან -სვეტზე, ისე თითოეულ სვეტზე სუფთა აცეტონიტრილიდან აცეტონიტრილი/წყალი ფაზაზე გადასვლისას.

გარდა ამისა, აღსანიშნავია წყლიანი ფაზის გავლენა ენანტიომერების გარჩევითობასა და შეკავების დროზე . წინამდებარე ნაშრომში ნაჩვენები იყო, თუ როგორ მცირდებოდა მოძრავ ფაზაში წყლის მოცულობის გაზრდით შეკავების დრო. რაც ეწინააღმდეგება ლიტერატურიდან ცნობილ ფაქტს, კერძოდ, რაც უფრო მეტია წყლის შემცველობა ელუენტში,მით უფრო ხანგრძლივია შეკავების დრო.შებრუნებულფაზიანი ქრომატოგრაფიის მექანიზმით. ამ შედეგებიდან გამომდინარე ცხადია, რომ პოლისაქარიდულ ქირალურ სტაციონარულ ფაზებზე ენანტიომერების დაყოფა მოძრავ ფაზად აცეტონიტრილი-წყლის ნარევის გამოყენებისას წყლის შემცველობისას 1-20%-ის ფარგლებში არ ემორჩილება შებრუნებულფაზიანი ქრომატოგრაფიის მექანიზმს.

6.გამოყენებული ლიტერატურა:

1. ქ. ლომსაძე, ენანტიომერული ნარევების დაყოფის ფიზიკურ-ქიმიური მექანიზმები კაპილარულ ელექტროფორეზში და ამ მეთოდების გამოყენება ბიოსამედიცინო და ფარმაცევტულ ანალიზში; ქიმ. მეცნ. კანდ. დისერტაცია. თბილისი, 2005.

2. A. Ceccato, P. Chiap, Ph. Hubert, J. Crommen, J. Chromatogr. B 698 (1997) 161

3. G. Blaschke, Chromatographic Resolution of Racemates. New analytical methods Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 19 (1980) 13-24.

4. D.R. Taylor, K. Maher, J. Chromatogr. Sci. 30 (1992) 67

5. ლ. ჭანკვეტაძე „სითხური ქრომატოგრაფია“-სალექციო კურსი

6. http://en.wikipedia.org/wiki/Beta_blocker