

«Люминесцентные свойства энантиомерночистых, рацемических и нерацемических смесей природных α -аминокислот допированных ионами лантаноидов — новый подход к хиральному анализу»

Баронский Марк Германович, Костюков Антон Иванович, Тарасевич Аркадий Викторович

Введение

Получение хиральных веществ в энантиомерночистом виде и исследование биологической активности всех оптических изомеров потенциальных лекарственных средств является одним из важнейших требований современной фармакологической промышленности, а также становится всё более весомым и для агрохимического сектора (Reddy&Mehvar, *Chirality in Drug Design and Development*, Marcel Dekker, Inc. **2004**). Для справки можно упомянуть, что на данный момент уже около 70-80% новых лекарственных составляют именно хиральные энантиомерночистые субстанции (отчёт компании DIACEL за **2015** г.), а их годовой объём продаж в последние годы исчисляется сотнями миллиардов долларов (Jóźwiak et al., *Drug Stereochemistry: Analytical Methods and Pharmacology*, 3rd ed. CRC Press **2006**; Shafaati Iran. *J. Pharm. Res.* **2007**, 6, 73). Среди подходов для получения энантиомерночистых веществ ключевую роль играют каталитические асимметрические реакции с применением (i) комплексов металлов с хиральными лигандами и (ii) хиральных органокатализаторов (см. напр.: Ojima, *Catalytic Asymmetric Synthesis*, 3rd ed. Wiley-VCH **2010**; Gruttadauria & Giacalone, *Catalytic Methods in Asymmetric Synthesis. Advanced Materials, Techniques, and Applications*, Wiley-VCH **2011**; Berkessel & Gröger, *Asymmetric Organocatalysis – From Biomimetic Concepts to Applications in Asymmetric Synthesis*, Wiley-VCH **2005**). Одними из наиболее широко используемых органокатализаторов являются природные аминокислоты и их производные.

Так как энантиомеры, как правило, проявляют совершенно различную биологическую активность, хиральный анализ продуктов является принципиальной стадией как при разработке асимметрических методов синтеза, так и на производстве. Классические физико-химические методы хирального анализа энантиомеров включают в себя: (i) оптические и спектральные измерения с помощью поляризованного излучения; (ii) проведения анализа в асимметричной среде или (iii) применение внешних хиральных вспомогательных реагентов (Busch, *Chiral Analysis*, Elsevier **2006**). Так, в случае с оптическими и спектральными методами, анализируется изменение поляризации излучения в зависимости от энантиомерного избытка (вращение плоскости поляризации света, дисперсия оптического вращения, циркулярный дихроизм); а в хроматографии используются хиральные носители; в ЯМР — оптически активные растворители или хиральные сдвигающие реагенты. Перевод энантиомеров в диастереомерные пары позволяет анализировать их ахиральными физическими методами (хроматография, ЯМР и т.д.).

По различным оценкам, около 90-95% всех рацематов кристаллизуются в форме истинных рацемических соединений, которые обладают физическими свойствами отличающимися от чистых энантиомеров (Jacques et al., *Enantiomers, Racemates and Resolutions*, Krieger **1994**). Среди физических методов, которые позволяют проводить отличие между энантиомерами и истинными рацематами *в твёрдой фазе*, можно упомянуть порошковую дифракцию рентгеновских лучей, ЯМР, инфракрасную (Jacques et al. *ibid.*), Рамановскую (Lima et al. *J. Raman Spectr.* **2010**, 41, 808) и терагерцовую спектроскопию THz-TDS (Yamaguchi et al. *Appl. Phys. Lett.* **2005**, 86, 053903), дифференциальную сканирующую калориметрию (DSC), термогравиметрию и др. В ряде случаев различие в гомо- и гетерохиральных взаимодействиях между энантиомерами настолько сильны, что это может быть обнаружено не только в твёрдой, но и *в газовой фазе* — масс-спектрометрически (Yang et al. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128, 17074), *в растворах* — методом ЯМР (Nieminen et al. *Org. Biomol. Chem.* **2009**, 7, 537; Hui et al. *Pharm. Biochem. Behav.* **1991**, 40, 491) и ахиральной хроматографией, что даже было использовано в препаративных целях (Soloshonok et al. *Chem. Soc. Rev.* **2012**, 41, 4180).

Отдельно разрабатываются чувствительные и сверхчувствительные методы анализа низкого энантиомерного избытка (меньше или значительно меньше 1% *ee*), такие как: двумерная газовая хроматография GCxGC-ToFMS (Meinert&Meierhenrich *Ang. Chem. Int. Ed.* **2012**, 51, 10460); индуцированный циркулярный дихроизм в спиральных полимерах (Nonokawa&Yashima *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, 125, 1278); обнаружение «криптохиральности» может быть осуществлено с использованием реакции Соаи, являющейся примером феноменального асимметрического автокатализа (Sato et al. *Ang. Chem.*

Int. Ed. **2003**, 42, 315; Kawasaki&Soai *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **2011**, 84, 879). Среди недавних трендов в области физической сегрегации энантиомера от истинного рацемата интересно отметить применение магнитной левитации (Yang et al. *Chem. Commun.* **2014**, 50, 7548), сублимации (Soloshonok et al. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, 129, 12112; Tarasevych et al. *Orig. Life Evol. Biosph.* **2013**, 43, 129; Tarasevych et al. *J. Org. Chem.* **2013**, 78, 10530; Tarasevych et al. *Chem. Comm.* **2015**, 51, 7054), гравитационных полей (Mastai et al. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, 130, 2426).

Несмотря на значительный прогресс по данным направлениям, эффективные методы хирального анализа, основанные на различных физических свойствах энантиомерно чистого и рацемического соединений, до сегодняшнего дня отсутствуют.

Цель работы:

Разработка простого и эффективного метода хирального анализа, основанного на физических различиях истинного рацемического соединения и чистого энантиомера. Исследование энантиомерно чистых, рацемических и нерацемических смесей модельных хиральных соединений — природных α -аминокислот, методом люминесцентного зондирования ионами переходных металлов, в частности лантаноидами.

Основные задачи:

Оптическая спектроскопия гомо- и гетерохиральных взаимодействий между энантиомерами индивидуальных α -аминокислот и смесей допированных ионами редкоземельных элементов. Изучение электронной структуры, локального строения и симметрии окружения лантаноидного зонда в нерацемических смесях индивидуальных хиральных соединений с помощью люминесцентных методов. Выявление зависимости характеристик спектров от энантиомерной чистоты образца. Определение порога чувствительности метода. Сравнение полученных результатов с классическими подходами хирального анализа (хиральная газовая хроматография). Оценка потенциального использования метода для рутинного хирального анализа и изучения механизмов каталитических асимметрических реакций.

Предполагаемые подходы к решению задач (этапы исследований):

Допирование различных гомо- и гетерохиральных смесей α -аминокислот ионами переходных металлов и последующее изучение их люминесцентных характеристик. Основное внимание планируется уделять допированию ионами лантаноидов. Предлагаемый метод основан на хорошо известной способности ионов лантаноидов координировать со многими функциональными группами органических соединений, являющихся основаниями Льюиса. Данный подход, например, широко используется в спектроскопии ЯМР: *in situ* комплексообразование приводит к значительному изменению в ^1H и ^{13}C спектрах, что во многих случаях существенно облегчает их анализ и интерпретацию. Соответствующие асимметрические лантаноидные сдвигающие реагенты применяются и для хирального ЯМР анализа. С другой стороны, большинство ионов лантаноидов, в силу особенностей электронной структуры, обладают поразительными люминесцентными характеристиками, меняющимися в зависимости от окружения иона (кристаллическая решётка, координационное число, тип лигандов, симметрия), что и планируется нами использовать в данной работе. В последнее время люминесцентные особенности переходных металлов используются для исследования объёмной и поверхностной структуры (Rastorguev, Baronskiy, Kostyukov et al. *RSC Advances* **2015**, 5, 5686; Rastorguev, Baronskiy, Kostyukov et al. *Inorg. Mat. Appl. Res.* **2014**, 5, 476). Ультрочувствительность метода позволяет получать ценную информацию, зачастую недоступную другими физическими методами исследования. Подбор пары « $4f$ -ион — аминокислота», во-первых, может не только выявить и расшифровать электронную структуру комплекса за счет эффекта “тяжелого катиона”, но по электронным переходам определить место и симметрию локализации катиона, эффективный заряд окружения, структуру прототропного таутомера. Не исключено, что высокая чувствительность люминесцентных методов исследования, основанная на использовании в качестве зонда комплексов $4f$ -элементов может способствовать в решении, как прикладных, так и фундаментальных задач связанных с хиральностью, в частности послужить инструментом для разгадки происхождения биологической гомохиральности (В.Н. Пармон, *Доклады РАН* **2001**, 377, 510; *Журн. Физ. Хим.* **2002**, 76, 142; *Наука в Сибири*, **2003**, 47-48, 2433; В.Н. Пармон, *Химия и Жизнь*, **2005**, 5).

В рамках данной работы планируются люминесцентные исследования различных хиральных форм (i) чистых аминокислот и (ii) аминокислот допированных ионами переходных металлов. По

мере необходимости возможно привлечение и других физических методов анализа (ЭПР, КРС, ИКС, РФА и др.). Большой интерес также представляют низкотемпературные спектральные исследования, позволяющие на порядок повысить чувствительность метода. Сравнение полученных характеристик, позволит получить информацию о том, каким образом осуществляется координация ионов металлов в каждом конкретном случае [всего известно четыре возможности комплексообразования с аминокислотами (Золин&Коренева, *Редкоземельный зонд в химии и биологии*, Наука **1980**, стр. 183-198)]. Будет проведена оценка применимости метода для рутинного хирального анализа и для изучения механизмов каталитических асимметрических реакций.

Имеющийся научный задел:

Начиная с 2010 года Тарасевичем А.В. были проведены обширные исследования фазовых переходов (сублимация, кристаллизация) нерацемических смесей α -аминокислот (Tarasevych, Guillemin et al. *Orig. Life Evol. Biosph.* **2013**, 43, 129; Tarasevych, Guillemin et al. *J. Org. Chem.* **2013**, 78, 10530; Tarasevych, Guillemin et al. *Chem. Comm.* **2015**, 51, 7054). Основная поставленная задача заключалась в выяснении фундаментальных физико-химических закономерностей изменения энантиомерного избытка в процессе сублимации. Было показано, что сублимация нерацемических аминокислот с низким энантиомерным избытком может приводить к значительному увеличению оптической чистоты. Были рассмотрены вопросы термодинамического контроля процесса и выявления так называемых эватомотических точек; вместе с тем, показано наложение кинетических факторов. Однозначно было обнаружено разительное отличие в фазовых диаграммах в зависимости от кристаллической природы рацемата, что не было учтено в предыдущих работах по сублимации зарубежных авторов (Petty et al. *Chem. Comm.* 2007; Yang et al. *Chem. Comm.* **2007**). Также Тарасевичем А.В. были предприняты исследования возгонки многокомпонентных смесей аминокислот, содержащих энантиомерно чистые и рацемические компоненты. Варьирование летучести позволило провести частичную дерацемизацию в результате фракционирования при низких температурах в вакууме или напротив, достичь общего энантиобогащения всех компонентов смеси при высоких температурах. В случае высокотемпературной сублимации, был обнаружен поразительный синергетический эффект, указывающий на возможность переноса гомихиральности между различными α -аминокислотами в жёстких неселективных условиях. Предполагается, что процесс имеет сложный автокаталитический характер с участием нековалентно-связанных олигомерных кластеров в газовой фазе (Cooks et al. *JACS* **2006**, 128, 17074).

Аспиранты Костюков А.И. и Баронский М.Г. в рамках работы над диссертационными работами занимаются вопросами применения люминесцентных зондов для характеристики различных катализаторов (Rastorguev, Baronskiy, Kostyukov et al. *RSC Advances* **2015**, 5, 5686; Rastorguev, Baronskiy, Kostyukov et al. *Inorg. Mat. Appl. Res.* **2014**, 5, 476). Будучи по образованию физиками, Антон и Марк уже обладают значительным опытом по измерению, математическому и физическому анализу, и интерпретации спектров люминесценции конденсированных систем.

В настоящий момент, нами проведены предварительные эксперименты по допированию различных форм аланина ионами Gd^{3+} , Eu^{3+} и Tb^{3+} (Ala : Ln³⁺ = 1000 : 1 молярн. N.B.!). По спектрам фотолюминесценции и спектрам возбуждения обнаружены *разительные* отличия в спектральных характеристиках энантиомерно чистых (L и D-Ala) и рацемического DL-Ala. Авторы уже приступили к аналогичным исследованиям нерацемических смесей допированного аланина с различными значениями энантиомерного избытка. Проведен ряд низкотемпературных измерений. Предварительные данные являются очень обнадеживающими и указывают на перспективность подхода для хирального анализа.

Оборудование: газовые хроматографы (2 шт.) с пламенно-ионизационными детекторами Кристалл 5000.2; газовый хроматограф Кристалл 5000.2 с масс-спектрометрическим детектором Thermo ISQ Single Quadrupole MS; широкий набор капиллярных колонок для газовой хроматографии, в том числе и для хиральной хроматографии (Agilent CP-Chirasil-Dex CB); интегрирующая сфера AvaSphere-30-REFL для спектрофлуориметрических измерений мелкодисперсных порошков; стенд спектроскопических измерений на базе автоматизированного спектрально-вычислительного комплекса UV-vis открытой архитектуры; стандартные спектрофлуориметры Cary Eclipse (Agilent, США), FLS920 (Edinburgh Instruments, Англия); спектрофотометр UV-2501 PC (Shimadzu) с приставкой диффузного отражения ISR-240 A; оптический люминесцентный микроскоп ЛЮМАМ Р-1; стенд лазерно-индуцированной люминесцентной спектроскопии.