

ТАРАСЕВИЧ Аркадий Викторович

**ФАЗОВЫЕ ПЕРЕХОДЫ ОПТИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СМЕСЕЙ
АМИНОКИСЛОТ:
ЭНАНТИООБОГАЩЕНИЕ, АСИММЕТРИЧЕСКИЕ ТРАНСФОРМАЦИИ,
СПОНТАННАЯ И ИНДУЦИРОВАННАЯ ДЕРАЦЕМИЗАЦИЯ**

Специальность 02.00.03 – Органическая химия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание учёной степени
кандидата химических наук

Новосибирск 2015

Работа выполнялась в отделе тонкого органического синтеза Института биоорганической химии и нефтехимии Национальной академии наук Украины, город Киев и в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институт катализа им. Г.К. Борескова Сибирского отделения Российской академии наук, город Новосибирск.

Научный руководитель: **Кухарь Валерий Павлович**
доктор химических наук, профессор, академик НАН Украины, заведующий отделом тонкого органического синтеза, почётный директор Института биоорганической химии и нефтехимии НАН Украины, г. Киев

Научный консультант: **Снытников Валерий Николаевич**
кандидат физико-математических наук, доцент
старший научный сотрудник
руководитель группы аэрозольного катализа
ФГБУН Институт катализа им. Г.К. Борескова СО РАН

Официальные оппоненты: **Сильников Владимир Николаевич**
доктор химических наук
заведующий лабораторией,
ФГБУН Институт химической биологии и
фундаментальной медицины СО РАН
Агафонцев Александр Михайлович
кандидат химических наук,
старший научный сотрудник,
ФГБУН Новосибирский институт органической химии им.
Н.Н. Ворожцова СО РАН

Ведущая организация: **ФГБУН Институт химической кинетики и горения им.
В.В. Воеводского СО РАН**

Защита состоится «26» февраля 2016 года в 09 часов 30 минут на заседании диссертационного совета Д 003.049.01 при ФГБУН Новосибирском институте органической химии им. Н.Н. Ворожцова СО РАН по адресу 630090, г. Новосибирск, пр. Акад. Лаврентьева, 9.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Новосибирского института органической химии им. Н.Н. Ворожцова СО РАН и на сайте: <http://web.nioch.nsc.ru>. Автореферат размещен на сайте Высшей аттестационной комиссии при Министерстве образования и науки Российской Федерации: <http://vak.ed.gov.ru>.

Отзывы на автореферат в 2-х экземплярах просим направлять по адресу: 630090, г. Новосибирск, пр. Акад. Лаврентьева, 9, ученому секретарю диссертационного совета Д 003.049.01; e-mail: dissovet@nioch.nsc.ru.

Автореферат разослан « » 2016 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор химических наук, профессор



Шульц Эльвира Эдуардовна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Получение хиральных веществ в энантиомерно чистом виде и исследование биологической активности всех оптических изомеров потенциальных лекарственных средств является одним из важнейших требований современной фармакологической промышленности и становится всё более весомым и для агрохимического сектора. Несмотря на многочисленные работы по асимметрическому синтезу и наличие целого ряда подходов для хирального разделения, фундаментальные исследования по методам разделения энантиомеров и обогащению нерацемических смесей не теряют своей актуальности. Имеющиеся методики пересматриваются в пользу перспектив создания безотходных и экологически чистых технологий. Сублимация смесей энантиомеров, как метод хирального обогащения, оказалась практически неисследованной. В первое десятилетие 2000-ых годов в литературе имелись лишь некоторые разрозненные факты изменения энантиомерного избытка в процессе сублимации, часто обнаруженные случайным образом, а существующие объяснения этого явления противоречат один другому. Полученные ранее результаты не позволяют судить о применимости сублимации для хирального разделения различных классов органических соединений.

Изучение изменения энантиомерного избытка в результате комбинации нескольких фазовых переходов, например, кристаллизации и сублимации, является не менее актуальным. Такая комбинация может позволить осуществить перенос энантиомерной чистоты от одного вещества, доступного в энантиомерно чистом виде, к другому рацемическому, которое необходимо разделить на энантиомеры. При этом можно обойти трудоёмкое и сопровождающееся отходами классическое разделение диастереомеров, которое включает их синтез и последующую стадию хроматографии или кристаллизации.

Для природных явлений, фазовые переходы смесей энантиомеров могут объяснить нарушение зеркальной симметрии биологически важных молекул (α -аминокислот, сахаров) и последующее усиление незначительного энантиомерного избытка, вызванного природными источниками асимметрии. Огромное количество различных гипотез на данную тему давно требует экспериментального моделирования с воссозданием реалистичного механизма энантиобогащения.

Целью диссертации является выяснение закономерностей изменения энантиомерного избытка α -аминокислот в процессе фазовых переходов: при сублимации, а также в результате комбинации сублимации и кристаллизации.

В работе решались следующие задачи:

1. Систематические исследования закономерностей изменения энантиомерного избытка индивидуальных нерацемических смесей протеиновых α -аминокислот аланина, валина, лейцина, пролина и фенилаланина в процессе их медленной частичной сублимации в вакууме, изменения энантиомерного избытка в оптически активных бинарных и трехкомпонентных смесях; исследование состава и структуры исходных и сублимированных смесей. Синтез и изучение поведения нерацемических фторпроизводных аминокислот в процессе их сублимации.
2. Исследования высокотемпературной дерацемизации и энантиомерного обогащения индивидуальных нерацемических и многокомпонентных оптически активных смесей природных α -аминокислот аланина, валина, изолейцина, лейцина, 2-аминобутановой кислоты, норлейцина, норвалина. Изучение механизма и причин спонтанного увеличения общей оптической чистоты системы.
3. Исследования комбинации кристаллизации и последующей сублимации оптически активных смесей природных аминокислот, где часть компонентов является нелетучими (аспарагин, треонин, серин, аспарагиновая и глутаминовая кислоты), а часть претерпевают возгонку (аланин, валин, лейцин, пролин) с варьированием соотношения между энантиомерночистыми и рацемическими компонентами.
4. Разработка метода получения хиральных кристаллов ахиральной аминокислоты глицина.

Научная новизна. Впервые были получены следующие результаты:

1. Установлено определяющее влияние кристаллической природы сублимируемой смеси энантиомеров на результирующий энантиомерный избыток аланина, валина, лейцина, пролина и фенилаланина. Показано, что нерацемические смеси с одним и тем же энантиомерным избытком, но образованные либо (а) из смеси истинного рацемического соединения (DL) и одного из энантиомеров или же (б) путём смешением чистых (L и D) энантиомеров, совершенно различно ведут себя в процессе установления равновесия в системе «твёрдая фаза — газ». А именно, смеси L+D энантиомеров во всём диапазоне начальных значений энантиомерного избытка в результате медленной частичной сублимации снижают свою оптической чистоту. Смеси, содержащие рацемическое DL соединение, способны как к энантиомерному обогащению, так и к обеднению. Увеличение энантиомерного избытка нерацемических смесей, содержащих DL форму, наблюдалось при низких значениях энантиомерного избытка в исходных смесях, а снижение — при высоких исходных значениях. Для DL+L смесей лейцина, фенилаланина и пролина в широком

диапазоне состава исходных смесей была обнаружена тенденция к постоянству энантиомерного избытка сублимата независимо от энантиомерного состава сублимируемой смеси.

2. Показано, что высокотемпературная сублимация как индивидуальных нерацемических смесей, так и сложных, состоящих из рацематов и чистых энантиомеров протеиновых (аланин, валин, изолейцин, лейцин) и других природных аминокислот (2-аминобутановая кислота, норлейцин, норвалин), вызывает спонтанное увеличение суммарной оптической чистоты. С использованием изотопномеченных ^{13}C энантиомерночистых и дейтерированных α -аминокислот (L-1- ^{13}C -лейцин, L-2- ^{13}C -лейцин и DL-2-d 1 -лейцин) был исследован механизм данного явления. Перевод сублимированных аминокислот в диастереомерные камфановые производные показал, что по спектрам ^1H -ЯМР, а также основываясь на данных ахиральной ВЭЖХ с МСД и двумерной хиральной ГХ x ГХ с МСД, увеличение энантиомерного избытка не происходит за счёт взаимопревращения энантиомеров в газовой фазе. Наблюдаемое общее энантиомерное обогащение протекает за счёт разложения гетерохиральных образований.

3. Синтезированы энантиомерночистые и рацемические фторпроизводные аминокислоты (3-амино-4,4,4-трифторбутановая кислота и 3,3,3-трифтораланин) и, для 3-амино-4,4,4-трифторбутановой кислоты установлена сублимационная диаграмма изменения энантиомерного избытка в зависимости от состава исходной смеси. Полученная зависимость выявила энантиомерное обогащение смесей с низкими исходными значениями и энантиомерное обеднение при частичной сублимации смесей с высокими значениями. В промежуточном диапазоне значений наблюдалось постоянство энантиомерного состава сублимата независимо от состава исходной смеси. В количественных сублимационных экспериментах был определён состав нерацемической смеси, обладающий наибольшей летучестью.

4. Обнаружено, что в комбинации кристаллизации и последующей сублимации оптически активных смесей природных α -аминокислот, где часть компонентов является нелетучими (аспарагин, треонин, серин, аспарагиновая и глутаминовая кислоты), а часть претерпевают возгонку (аланин, валин, лейцин, пролин), проявляется энантиоселективная сегрегация гомохиральных фракций, что является примером асимметричной супрамолекулярной самоорганизации. При варьировании соотношения между энантиомерночистой и рацемической компонентой обнаружен эффект обращения энантиоселективности.

5. Для хиральных кристаллов ахиральной аминокислоты глицин обнаружено, что

гетерофазная система «кристаллы — насыщенный раствор» спонтанно и случайным образом претерпевает нарушение зеркальной симметрии. Введение примесей другой хиральной аминокислоты (аланина) позволяет предопределять результирующую гомохиральность глицина. Разработан метод селективного получения (+) и (-) хиральных кристаллов глицина.

Практическая значимость. Полученные результаты позволяют проводить оценки применимости сублимации или комбинации фазовых переходов для хирального разделения смесей энантиомеров. Полученные результаты по энантиообогащению аминокислот могут служить основой для разработки экологически чистой, основанной на сублимации, технологии получения энантиомерночистых соединений.

Положения, выносимые на защиту.

1. Закономерности изменения энантиомерного избытка серии природных α -аминокислот (аланин, валин, лейцин, пролин, фенилаланин) и фторированных производных в процессе их медленной частичной сублимации.

2. Закономерности изменения энантиомерного избытка в результате высокотемпературной сублимации индивидуальных нерацемических α -аминокислот (аланин, валин, лейцин).

3. Закономерности дерацемизация в процессе высокотемпературной сублимации двух- и многокомпонентных смесей α -аминокислот (аланин, α -аминомасляная кислота, валин, изовалин, лейцин, норвалин, норлейцин, трет-лейцин). Исследования механизма дерацемизации на примере искусственного рацемата лейцина, где один из энантиомеров является ^{13}C изотопномеченным.

4. Способ дерацемизации летучих природных α -аминокислот (аланин, валин, лейцин, пролин) в результате их кристаллизации с другими энантиомерночистыми α -аминокислотами (аспарагиновая и глютаминовая кислоты, аспарагин, серин, треонин) и последующей сублимации.

5. Метод получения хирального глицина. Эффект возникновения оптической активности в твёрдой фазе глицина. Индуцирование хиральности с применением других энантиомерночистых α -аминокислот (L- и D-аланин).

Личный вклад автора. Тарасевич А.В. участвовал в постановке задач, решаемых в рамках диссертационной работы, самостоятельно проводил эксперименты (сублимация, дериватизация, синтез энантиомерночистых и рацемических фторированных аминокислот), аналитические исследования (хиральный хроматографический анализ) и большинство физико-химических измерений (ЯМР, ИКС, дифракция рентгеновских лучей, циркулярный дихроизм и др.), обрабатывал и принимал участие в интерпретации полученных данных,

осуществлял написание и подготовку к публикации статей и презентацию докладов, многократно представлял и обсуждал результаты экспериментов на международных конференциях и симпозиумах.

Публикации и апробация. По материалам диссертации опубликованы 5 статей в международных рецензируемых журналах Journal of Organic Chemistry (ACS 2013), Nanoscale (RSC 2013), Origin of Life and Evolution of the Biosphere (Springer 2013), CrystEngComm (RSC 2015), Chemical Communication (RSC 2015). Результаты диссертации прошли апробацию на конференциях (7 устных докладов и 4 постерных презентации диссертанта): the 2nd International Conference of D-Amino Acid Research (Япония, Уцуномия 2014), 40th COSPAR (Committee on Space Research) Scientific Assembly (Россия, Москва, 2014), Origins 2014 ISSOL - The International Astrobiology Society and Bioastronomy (IAU C51) Joint International Conference (Япония, Нага 2014), летние курсы "Impacts and their Role in the Evolution of Life" (Эстония, Курессааре 2013), 13th European Workshop on Astrobiology (Польша, Щецин 2013), Гумбольдовская конференция "Chemistry and Life" (Украина, Полтава 2013), 12th European Workshop on Astrobiology (Швеция, Стокгольм 2012), 39th COSPAR (Committee on Space Research) Scientific Assembly (Индия, Майсур 2012), Origins 2011 ISSOL - The International Astrobiology Society and Bioastronomy (IAU C51) Joint International Conference (Франция, Монпелье 2011).

Объем и структура работы. Работа изложена на 199 страницах печатного текста и состоит из введения, первой главы с обзором литературных данных, посвящённой основным подходам для разделения энантиомеров и сублимации смесей энантиомеров, четырех глав основного текста, приложения с описанием экспериментальной части, выводов и списка цитируемой литературы (181 ссылка). Работа содержит 22 схемы, 34 таблицы и 56 рисунков.

Работа выполнена в соответствии с планами научно-исследовательских работ, проводимых в ИБОНХ НАНУ и ИК СО РАН при финансовой поддержке Национального центра научных исследований Франции (CNRS 2013-2014 гг, 28318QA), комитета Rennes Metropole (Франция 2013 г), Высшей национальной химической школы города Рен (Франция 2011-2014 гг), Французского центра университетского и научного сотрудничества (CFUCUS 2011-2012 гг), Международного сообщества по изучению D-аминокислот (IDAR 2014 г), Национального комитета Франции по изучению физики и химии межзвёздного пространства (2011 г), Международного сообщества по изучению происхождения жизни (ISSOL 2012 и 2014 гг), Европейской астробиологической ассоциации (EANA 2012 и 2013 гг), Комитета космических исследований (COSPAR 2014 г).

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

В первой главе рассматривается значение хиральности с точки зрения различных дисциплин, обосновывается необходимость её изучения, обрисовывается потребность в энантиомерно чистых соединениях и актуальность разработки новых экологически чистых способов хиральной очистки и разделения. Затем обсуждаются основные подходы для разделения энантиомеров и представлены литературные данные по сублимации смесей энантиомеров, асимметрическим трансформациям рацемизирующихся энантиомеров. В конце главы рассмотрены последние достижения в области асимметрически-модифицированных магнитных наночастиц для хирального разделения и асимметрического синтеза.

В главе 2, в разделе 2.1 описана медленная частичная сублимация нерацемических индивидуальных смесей **природных аминокислот** аланина (1), валина (2), лейцина (3), пролина (4) и фенилаланина (5) в вакууме (**Рисунок 1**). Условия возгонки подбирались

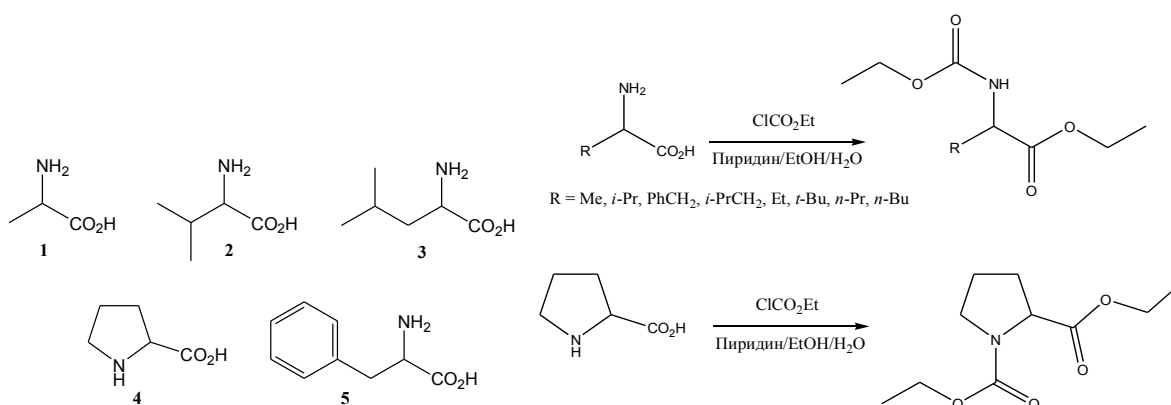


Рисунок 1. Модельные α-аминокислоты

Схема 1. Дериватизация для хирального газ-хроматографического анализа.

индивидуальным образом для каждой из аминокислот таким образом, что бы нерацемическая смесь заметно сублимировалась в вакууме при наименьшей возможной температуре. Таким образом, за фиксированный промежуток времени (от 4 до 16 часов) масса полученного сублимата составляла не более 5% от массы начальной смеси. Полученные сублимационные фракции дериватизировались этилхлорформиатом в щелочных условиях (**Схема 1**), что давало летучие производные (N-этоксикарбонил этиловые эфиры аминокислот **1-5**), пригодные для хирального газ-хроматографического анализа.

Было изучено два типа нерацемических смесей — так называемые кинетические конгломераты (механические смеси индивидуальных L и D энантиомеров (**Рисунок 2**) и нерацемические смеси состоящие из истинного рацемического соединения (DL форма) и

одного из энантиомеров, как правило — L (**Рисунок 3**). Ряд экспериментов с избытком D-энантиомеров подтвердил симметричное поведение исследуемых смесей. Как можно видеть, нерацемические смеси кинетических конгломератов (L+D) в процессе сублимации претерпевают энантиообоedнение во всём диапазоне энантиомерных избытков начальных смесей (**Рисунок 1**). В случае со смесями содержащих DL-форму (DL + L, **рисунок 2**), сублимация смесей с низким энантиомерным избытком вызывала энантиообогащение, тогда как смеси с высокими значениями *ee* уменьшали оптическую чистоту. Для ряда аминокислот наблюдалось относительное постоянство состава сублимата вне зависимости от состава начальной смеси (первоочередная возгонка так называемого эвотмотического состава).

Экспериментальные данные для L+D смесей аланина (1), валина (2), лейцина (3) и пролина (4) (**Рисунок 2**) явно указывают на стремление системы к достижению равновесия между твёрдой и газовой фазами. Причина снижения энантиомерного избытка при сублимации L+D смесей заключается в эквивалентности давления насыщенных паров энантиомеров. В гипотетическом, идеальном случае полного ко-насыщения газовой фазы обоими энантиомерами, для первой сублимационной фракции должен наблюдаться нулевой энантиомерный избыток. Однако, в реальном эксперименте, для установления равновесия, необходимо время, картина искажается вследствие наложения кинетических факторов. Ситуация с фенилаланином (5) (чёрная кривая, **рисунок 2**) становится ясной, учитывая возможность полиморфной « L + D → DL » трансформации, на что косвенно указывают количественные эксперименты по возгонке энантиомерночистых и рацемических смесей (L, L+D и DL).

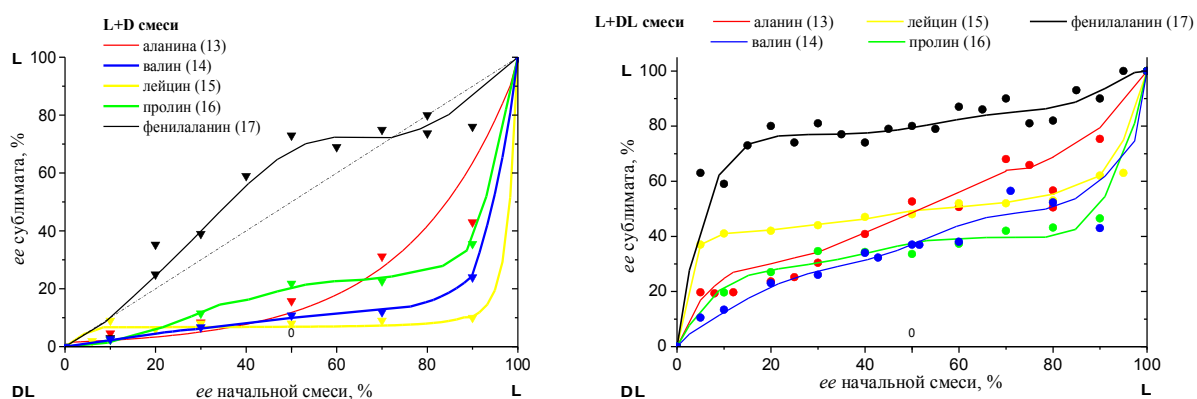


Рисунок 2 (слева) и **3** (справа). Сублимационные диаграммы изменения энантиомерного избытка L+D и L + DL смесей аланина, лейцина, пролина и фенилаланина.

Для всех исследуемых аминокислот истинные рацемические DL соединения являются менее летучими, чем энантиомерночистые L или D образцы, что было подтверждено количественными экспериментами. Напротив, механические смеси D + L (кинетические конгломераты) энантиомеров аланина, валина, лейцина и пролина оказались приблизительно в два раза (NB!) более летучими, чем чистые энантиомеры. Таким образом, так называемое эмпирическое правило двойной растворимости В. Майерхоффера для конгломератов выполняется и в случае сублимации: ещё в начале прошлого столетия им было обнаружено, что рацемические конгломераты имеют приблизительно вдвое большую растворимость, по сравнению с чистыми энантиомерами. Полученные экспериментальные данные являются второй опубликованной экспериментальной верификацией правила Майерхоффера для систем «твёрдое тело — газ».

Наиболее интересным наблюдением поведения L+DL смесей является тенденция к постоянству энантиомерного состава газовой фазы *независимо* от энантиомерного избытка в твердой смеси. Это ярко проявляется для лейцина (3), пролина (4) и фенилаланина (5): кривые изменения энантиомерного избытка имеют отчётливые плато. Следует отметить, что отрезки этих кривых расположены под некоторым углом к оси абсцисс. Непараллельность плато и наличие их только в определённом диапазоне значений *ее* характеризуют неидеальность термодинамического равновесия в системе.

Так, для фенилаланина (5), начиная уже с 15 и заканчивая 90% *ее*, наблюдается относительно постоянный состав первых сублимационных фракций, которые лежат в пределах 75-90% *ее*. Для лейцина (3) это плато расположено на уровне 42-52% и наблюдается в пределах 10-80% *ее* начальных смесей. Для пролина (4) ко-насыщения газовой фазы наблюдается в более коротком диапазоне начальных смесей: от 30 до 90% *ее*, а значение эвотмического состава лежит в пределах 34-46% *ее*.

Сублимация нерацемических L + DL смесей аланина (1) и валина (2) хотя и приводит, как правило, к некоторому *энантиообогащению* при низких значениях *ее* стартовой смеси и *энантиообеднению* смесей с преимущественным содержанием энантиомерночистой фазы, *полное отсутствие плато* говорит о том, что для этих аминокислот установления равновесия требует других условий. Более существенным в данном случае, очевидно, является вклад кинетического контроля процесса. Следует отметить, что принимая во внимание *только* различия в скорости сублимации между чистым энантиомером и соответствующим истинным рацематом (как это было сделано в недавних работах В.А. Солошонка), невозможно объяснить энантиообеднение. Как правило, рацемические соединения менее летучи, чем чистые энантиомеры и в гипотетических условиях полного

кинетического контроля, при отсутствии равновесия в системе, сублимация любой нерацемической смеси приводила бы исключительно к энантиобогащению. Таким образом, даже при отсутствии плато для аланина (1) и валина (2), наблюдаемое энантиобогащение и обеднение явно указывает на то, что система все же стремится к установлению равновесия, хотя и со значительным наложением кинетических факторов.

В качестве выводов, можно отметить, что в экспериментах по медленной сублимации нерацемических смесей различной природы, а именно (i) L + D, (ii) L или D + DL, отчетливо наблюдается тенденция к установлению равновесия между твердыми кристаллическими фазами и газовой фазой. *Смеси с одним и тем же энантиомерным избытком, могут проявлять существенно различное поведение в процессе фазовых переходов.* Проводя энантиомерную очистку (речь идет не обязательно только о сублимации), особое внимание необходимо обращать на кристаллическое строение рацемата (конгломерат или истинное рацемическое соединение).

Далее, в разделе 2.2 описаны результаты экспериментов по сублимации многокомпонентных нерацемических и других оптически активных смесей природных аминокислот (Рисунок 4). Механические смеси нерацемических аминокислот перед сублимацией были перекристаллизованы из воды. Анализируя полученные данные становится ясно, что для многокомпонентных смесей довольно трудно найти общую закономерность. Так, сублимация бинарной смеси аланина (1) и лейцина (3) с 10% энантиомерным избытком приводит к выразительному усилению оптической чистоты: 41% ee для аланина (1) и 61% ee для лейцина (3), что лежит гораздо выше полученных значений для

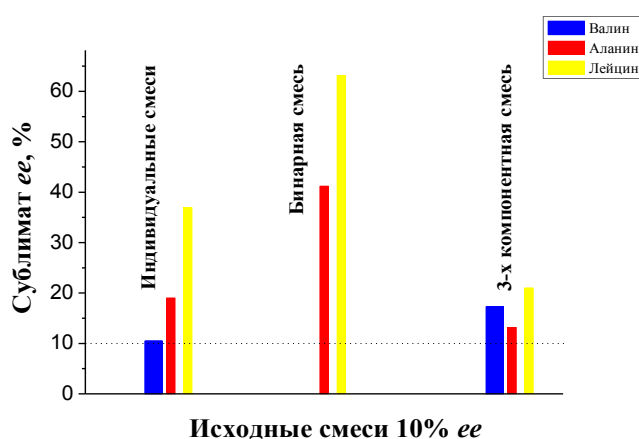


Рисунок 4. Поведение многокомпонентных нерацемических смесей аланина (1), валина (2) и лейцина (3) в процессе сублимации.

индивидуальных нерацемических смесей каждой из аминокислот. Однако, этот эффект нивелируется в трёхкомпонентной смеси, где уровень энантиобогащения является близким к индивидуальным смесям (для аланина (1) и валина (2)) или даже ниже, чем для 10% *ee* смеси лейцина (3) при её отдельной возгонке. С другой стороны, хотя и незначительное, но выразительное энантиобогащение лейцина (3) в бинарной смеси с аланином (1) (70% *ee* начальный состав обеих аминокислот) трудно поддается рациональному объяснению с точки зрения термодинамического контроля, наблюдаемого в опытах с индивидуальной нерацемической смесью.

Продолжая исследования медленной частичной сублимации в вакууме, в разделе 2.3 описан синтез модельных соединений: рацемических и энантиомерночистых 3-амино-4,4,4-трифторбутановой кислоты (**triF-BABA**) и 3,3,3-трифтораланина (**triF-Ala**) (Рисунок 5). Вещества были синтезированы в соответствии с описанными в литературе методиками. Фторзамещённый аланин (**triF-Ala**) оказался конфигурационно-нестабильным и претерпевает медленную рацемизацию уже при комнатной температуре, в связи с чем его сублимация далее не изучалась. Сублимация образцов нерацемической смеси **triF-BABA** были исследованы аналогично вышеописанным опытам. Как и для ряда природных аминокислот (4-5), сублимационная диаграмма **triF-BABA** (Рис. 6) показала наличие хорошо

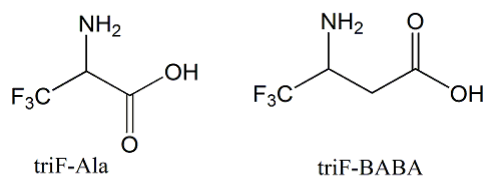


Рисунок 5. 3,3,3-трифтораланин и 3-амино-4,4,4-трифторбутановая кислота.

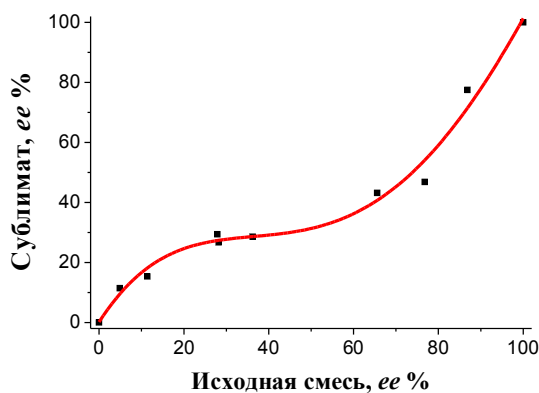


Рисунок 6. Изменение энантиомерного избытка нерацемических смесей 3-амино-4,4,4-трифторбутановой кислоты.

выраженного плато на уровне 35% *ee* в достаточно широком диапазоне состава начальных смесей. Смеси примерно от 25 до 65% *ee* давали сублимат близкого энантиомерного состава (35% *ee*). Эти данные подтверждают наличие эвотмического состава, который имеет наибольшее давление насыщенных паров при данных условиях.

В главе 3 представлены результаты экспериментов по переносу энантиомерной чистоты от энантиомерночистых или нерацемических *менее летучих* аминокислот АК₁ (аспарагин (6), аспарагиновая (7) и глютаминовая кислоты (8), серин (9), треонин (10), Рис. 7) к рацемическим АК₂: аланину (1), валину (2), лейцину (3) и пролину (4). Смесь, содержащую избыток L или D энантиомерночистой (или нерацемической) нелетучей аминокислоты АК₁ (или смеси нескольких энантиомерночистых аминокислот) с некоторым количеством рацемических летучих аминокислот DL-АК₂, была растворена в воде при нагревании и перемешивании. После охлаждения до комнатной температуры растворитель был удален испарением на роторе. Полученный твёрдый остаток досушивали и сублимировали в вакууме в течение 14 часов при 100 - 105°C. Сублимат, состоящий из летучих компонентов начальной смеси дериватизировали (Схема 1) и анализировали с помощью хиральной газовой хроматографии.

Как показали многочисленные эксперименты с применением этого подхода, все сублиматы состоят из *нерацемических* аминокислот АК₂ (1-4). Энантиомерный избыток лежит в пределах от одного процента вплоть до 47% *ee*. Величина дерацемизации зависит от природы исходной смеси. Смеси приготовлены из L-нелетучих аминокислот АК₁ (6-10) в каждом из экспериментов давали D-энантиомернообогащённый сублимат алифатических АК₂ (1-4), и наоборот: используя избыток D энантиомеров АК₁ (6-10) в качестве энантиомерночистой компоненты, газ-хроматографический анализ показал, что возогнанные смеси представляют собой L-обогащенные АК₂ (1-4). Другие физико-химические исследования сублимата и остатка показали, что никаких химических реакций в процессе кристаллизации — сублимации не происходит. Эти данные демонстрируют, что между

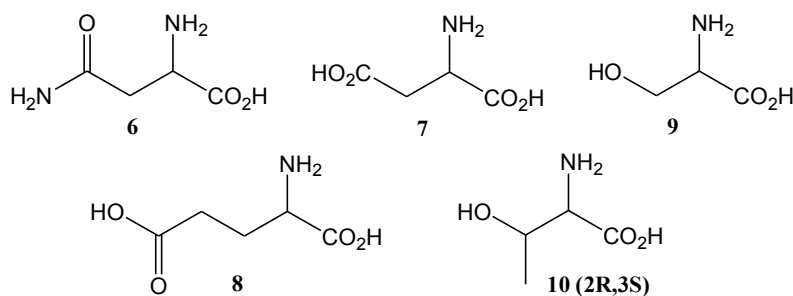
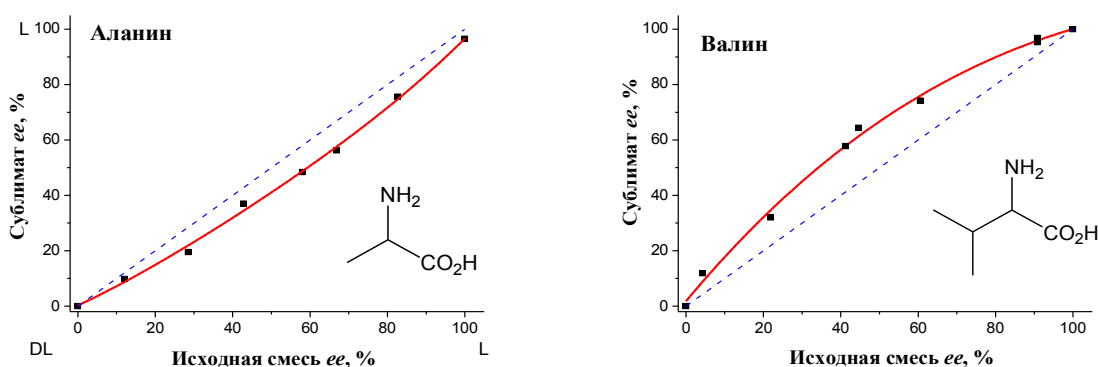


Рисунок 7. Нелетучие аминокислоты, использованные для дерацемизации.

энантиомерами различных аминокислот преимущественно доминирует L-L или D-D гомохиральное нековалентное взаимодействие в твёрдой фазе.

Для большей наглядности предпочтительности L-L/D-D гомохиральной аффинности была проведена серия сублимационных экспериментов с нерацемическими смесями аланина и энантиомерночистым аспарагином. Было обнаружено, что сублимируя гетерохиральные смеси L-Asn (**6**) и D-обогащенного Ala (**1**) или D-Asn (**6**) и L-обогащенного Ala (**1**), во всех случаях происходит увеличение оптической чистоты аланина (**1**) в сублимате. С другой стороны, в экспериментах с изначально гомохиральными смесями L-Asn (**6**) и L-обогащенного Ala (**1**) наблюдалось *исключительно* снижение энантимерного избытка сублимата. Аналогичным образом было исследовано поведение сложных многокомпонентных смесей. Основываясь на полученных экспериментальных данных, можно предложить две гипотезы происхождения гомохиральности: эндогенную случайностную, вследствие локального нарушения симметрии, и панспермическую преддетерминированную с участием внеземных асимметричных индукторов первичного энантиомерного избытка.

В главе 4, выясняя механизм общего увеличения энантиомерного избытка в процессе высокотемпературной сублимации, были обнаружены существенные расхождения с литературными данными (С. Viedma 2011, 2012). Используя описанный подход (быстрая сублимация при 430-500°C) были проведены систематические исследования серии нерацемических аминокислот — аланина (**1**), валина (**2**), лейцина (**3**) (Рис. 8). Показано, что смеси валина (**2**), DL составляющая которых при нагревании трансформируется в D+L конгломерат, только энантиообогащаются, а менее конфигурационно стабильный аланин (**1**), неспособный к такой трансформации — снижает начальные значения *ee*. Лейцин (**3**),



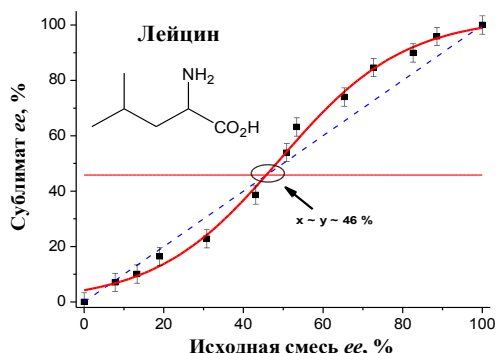


Рисунок 8. Результаты высокотемпературной сублимации нерацемических аминокислот аланина (1), лейцина (2) и валина (3).

рацемизирующий в газообразном состоянии и стабильный в кристаллическом, при высоких значениях *ee* увеличивает оптическую чистоту, а при низких — снижает. Высокие значения энантиомерного избытка соответствует доминирующему содержанию энантиомерночистой фазы, и соответственно наоборот, низкие *ee* — низкому содержанию энантиомера.

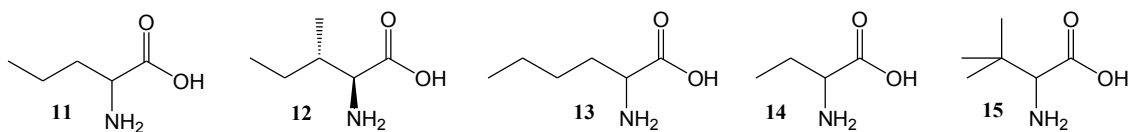


Рисунок 9. Структуры α -аминокислот, для которых были исследованы закономерности поведения в ходе высокотемпературной сублимации.

Опыты по высокотемпературной сублимации многокомпонентных смесей аланина (1), валина (2), норвалина (11), лейцина (3), изолейцина (12), норлейцина (13) и 2-аминобутановой кислоты (14) и трет-лейцина (15) (Рис. 1, 9) показали, что независимо от природы рацемата, энантиомерночистые аминокислоты способны дерацемизовать другие рацемические. Был обнаружен ярко выраженный синергетический эффект — наблюдалась прямая связь между количеством компонентов в исходной смеси и результирующим энантиомерным избытком. Так, в бинарных смесях, при молярном соотношении между рацемической и энантиомерночистой компонентами 1.5 : 1, сублимация вызывала очень слабую дерацемизацию на уровне 1-2% *ee*. Тогда как, сублимация семи-компонентной смеси с тем же суммарным молярным соотношением между рацематами и энантиомерночистым индуктором (1.5 : 1) приводила к энантиомерному избытку вплоть до 60%.

Обширная серия экспериментов, в том числе с изотопномеченными энантиомерами

(L-1- ^{13}C -лейцин, L-2- ^{13}C -лейцин и DL-2-d 1 -лейцин), даёт возможность рассматривать новую гипотезу механизма, чем предложенная в предыдущих работах. ^1H ЯМР спектроскопия дериватизированных сублиматов L-изотопномеченных (16-17) и D-лейцина (18) с применением хирального дериватизирующего реагента (хлорангидрида камфановой кислоты 19, Схема 2) и параллельные исследования на жидкостном хроматографе (ахиральная колонка) с масс-спектрометрическим детектором обнаружили, что несмотря на

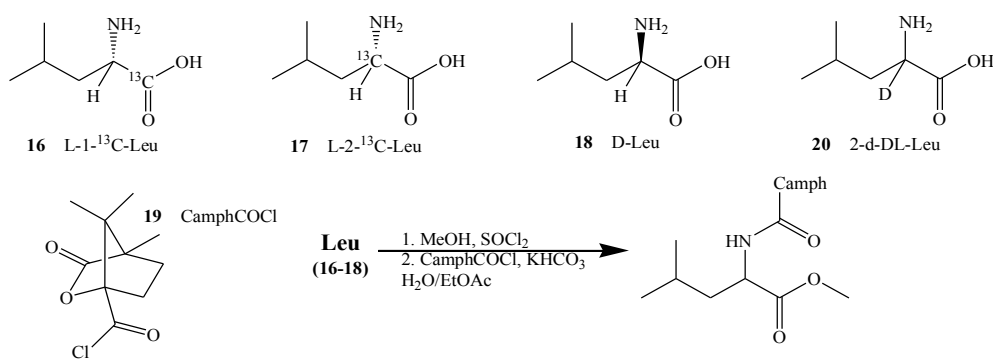


Схема 2. ^{13}C -меченные изомеры лейцина и их хиральная дериватизация для анализа методами ^1H -ЯМР и жидкостной хроматографией с масс-детектором.

существенный энантиомерный избыток (30.3% *ee*), образующийся в результате сублимации (измеренный с помощью хиральной газовой хроматографии), распределения углеродной метки между энантиомерами не произошло. Параллельные исследования с применением хиральной двумерной газовой хроматографии с времяпролётным масс-спектрометрическим детектором (GCxGC-TofMS) привели к аналогичным выводам: обнаруженная энантиомеризация составила не более 4-5%, в то время как индуцированный энантиомерный избыток достигал 27%. Опыты с α -дейтерированным лейцином (20) показали отсутствие обмена α -протонов на дейтерий (и наоборот) в аналогичных условиях сублимации.

В главе 5 представлены эксперименты по возникновению оптической активности в твёрдой фазе γ -глицина ($\text{H}_2\text{NCH}_2\text{COOH}$) с применением метода кругового дихроизма. Введение содержит литературные данные на тему асимметрических трансформаций рацемизирующихся конгломератов и хиральных кристаллов ахиральных соединений. Рассмотрен механизм и суть феномена спонтанного возникновения асимметрии с участием Оствальдовского дозревания. На примере γ -глицина было показано, что при медленной кристаллизации раствора глицина из водного NaCl *без перемешивания*, большинство полученных монокристаллов обладали оптической активностью, со случайным распределением лево- и правовращающих энантиоморфных форм. Серия независимых

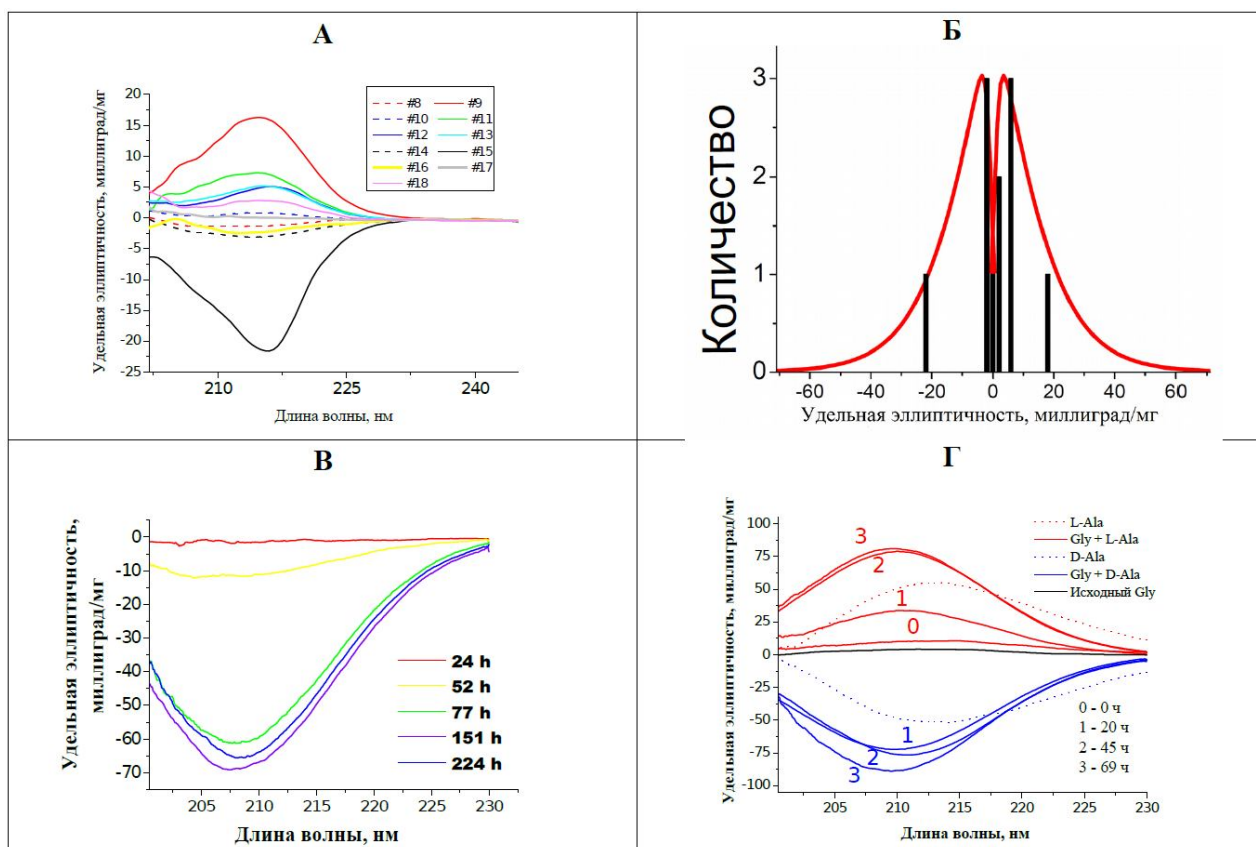


Рисунок 10. Результаты экспериментов с хиральными кристаллами глицина.

кристаллизаций *при интенсивном перемешивании* раствора дала мелкокристаллические образцы γ -Gly с вероятностным распределением энантиоморфного обогащения (**Рис. 10А**). Зависимость частоты результата от наблюдаемой удельной эллиптичности описывается слабовыраженным биномиальным распределением Больцмана (**Рис. 10Б**). Параллельные эксперименты в условиях дозревания при механическом растирании кристаллов стеклянными шариками в течении нескольких суток (224 часа) дали гомохиральные образцы γ -глицина (**Рис. 10В**). При этом, эволюция гомохиральности и выбор энантиоморфной формы носят стохастический характер. Добавка небольшого количества другой хиральной аминокислоты – L- или D-аланина, вызвало направленную асимметрическую индукцию в кристаллической фазе в процессе дозревания γ -глицина (**Рисунок 10Г**).

ВЫВОДЫ

1. В ходе систематических исследований, на примере природных α -аминокислот (аланин, валин, лейцин, пролин, фенилаланин, изолейцин, 2-аминобутановая кислота, норлейцин, норвалин и др.) и фторпроизводной аминокислоты (3-амино-4,4,4-трифторбутановая кислота), были определены ключевые закономерности изменения энантиомерного избытка в процессе сублимации при различных условиях: показано, что сублимация нерацемических и оптически активных смесей действительно позволяет значительно увеличить начальный энантиомерный избыток. Построены сублимационные диаграммы, которые являются основанием для разработки экологически чистого метода энантиомерной очистки и хирального разделения, подразумевающего (а) полное разделение нерацемических смесей на энантиомер и рацемат, (б) дерацемизацию рацематов в присутствии чистых энантиомеров. **Полученные экспериментальные результаты и их интерпретация имеют фундаментальное значение для стереохимии органических соединений.**
2. На примере аланина, валина, лейцина, пролина и фенилаланина были изучены общие закономерности изменения энантиомерного избытка в процессе медленной частичной сублимации: показано, что смеси с низким энантиомерным избытком, содержащие в своём составе истинное рацемическое соединение претерпевают энантиообогащение, а смеси с высокими значениями ее — энантиообеднение. Нерацемические смеси, состоящие из чистых энантиомеров, дают сублиматы с составом, близким к рацемическому.
3. Высокотемпературная сублимация индивидуальных нерацемических и многокомпонентных оптически активных смесей α -аминокислот аланина, валина, лейцина, изолейцина, норвалина, норлейцина, α -аминомасляной кислоты приводит в большинстве случаев к росту общей оптической чистоты. Изучение механизма с применением изотопномеченного ^{13}C -лейцина показало отсутствие энантиомеризации. В процессе высокотемпературной сублимации многокомпонентных смесей α -аминокислот был обнаружен синергетический эффект усиления энантиомерного избытка при повышении числа компонентов системы.
4. Обнаружена дерацемизация летучих α -аминокислот аланина, валина, лейцина и пролина посредством их кристаллизации и сублимации с аспарагином, аспарагиновой кислотой, глутаминовой кислотой, треонином и/или серином. При варьировании соотношения между энантиомерночистыми и рацемическими компонентами обнаружен эффект обращения энантиоселективности.

5. Обнаружен эффект спонтанного возникновения оптической активности в кристаллах простейшей ахиральной α -аминокислоты — глицина. Осуществлено индуцирование хиральности глицина с применением других энантиомерно чистых α -аминокислот (L- и D-аланин).

Основное содержание диссертации опубликовано в журналах, включённых в Перечень рецензируемых научных изданий, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Министерстве образования и науки Российской Федерации для опубликования основных научных результатов диссертаций, в библиографические базы Web of Science и Scopus:

1. Tarasevych, A.V. Slow Partial Sublimations of Enantioenriched Amino Acids at Low Temperature. Is the Phase Transition Occurring via the Formation of a Euatmotic Composition? / **A.V. Tarasevych**, A.E. Sorochinsky, V.P. Kukhar, A. Chollet, R. Daniellou, J.C. Guillemin // **Journal of Organic Chemistry**. – 2013. – Vol. 78. – № 20. – P. 10530-10533.
2. Tarasevych, A.V. Deracemization of Amino Acids by Partial Sublimation and via Homochiral Self-Organization / **A.V. Tarasevych**, A.E. Sorochinsky, V.P. Kukhar, J.C. Guillemin // **Orig. Life. Evol. Biosph.** – 2013. – Vol. 43. – № 2. – P. 129-135.
3. Szunerits, S. Advances in surface chemistry strategies for the fabrication of functional iron oxide based magnetic particles / S. Szunerits, **A.V. Tarasevych**, V.P. Kukhar, R. Boukherroub and K. Turcheniuk // **Nanoscale**. – 2013. – Vol. 5 – № 22. – P. 10729-10752.
4. Tarasevych, A.V. Attrition-induced spontaneous chiral amplification of the γ polymorphic modification of glycine / **A.V. Tarasevych**, A.E. Sorochinsky, V.P. Kukhar, L. Toupet, J. Crassous, J.-C. Guillemin // **CrystEngComm**. – 2015. – Vol. 17. – № 7. – P. 1513-1517.
5. Tarasevych, A.V. High Temperature Sublimation of α -Amino Acids: A Realistic Process for the Origin of Homochirality on The Primitive Earth / **A.V. Tarasevych**, A.E. Sorochinsky, V.P. Kukhar, J.C. Guillemin // **Chemical Communications**. – 2015. – Vol. 51. – № 32. – P. 7054-7057.

Основные результаты диссертации доложены на международных конференциях и семинарах:

1. Guillemin J.C., ^{*,#} **Tarasevych A.V.** Sublimation of α -alkyl amino acids for segregation of enantiomers and enantioenrichment // *AbSciCon2015, Astrobiology Science Conference, NASA, Chicago, Illinois, USA, 2015.*
2. **Tarasevych A.V.**, ^{*,#} Guillemin J.C. Sublimation of alpha-amino acids as a plausible model of segregation of D- and prebiotic homochirogenesis of L-amino acids // *IDAR-2014, the 2nd International Conference of D-Amino Acid Research, Utsunomiya, Tochigi, Japan, 2014.* DOI: 10.13140/2.1.4006.7848.

3. Tarasevych A.V.,^{*,#} Guillemin J.C. Sublimation of Natural Amino Acids and Induction of Asymmetry by Meteoritic Amino Acids // *40th COSPAR (Committee on Space Research) Scientific Assembly*, Moscow, Russia, **2014**.

4. Tarasevych A.V.,^{*,#} Guillemin J.C. Enantioenrichment by sublimation of proteinogenic and non-natural amino acids as a plausible model of prebiotic homochirogenesis // *Origins 2014, ISSOL - The International Astrobiology Society and Bioastronomy (IAU C51) Joint International Conference*, Nara, Japan, **2014**.

5. Guillemin J.C.,^{*,#} Tarasevych A.V. "Contagious" Enantioenrichment of α -Amino Acids by Reiterative High Temperature Sublimation (RHTS) // *Origins 2014, ISSOL - The International Astrobiology Society and Bioastronomy (IAU C51) Joint International Conference*, Nara, Japan, **2014**.

6. Tarasevych A.V.^{*,#§} Homochirogenesis of natural amino acids based on crystallization and sublimation. The inflow of extraterrestrial matter as an initial inductor of the enantiomeric disparity // *Summer course "Impacts and their Role in the Evolution of Life"*, Kuressaare and the Kaali impact crater site on the island of Saaremaa, Estonia, **2013**.

7. Tarasevych A.V.,^{*,#} Sorochinsky A.E., Kukhar V.P., Guillemin J.C. Phase transitions of natural amino acids: a path towards homochirality. Induction of asymmetry by meteoritic amino acids // *EANA 2013, 13th European Workshop on Astrobiology*, Szczecin, Poland, **2013**.

8. Tarasevych A.V.,^{*,§} Sorochinsky A.E., Kukhar V.P., Guillemin J.C. Phase transitions of natural amino acids: a path towards homochirality // *Humboldt-Conference "Chemistry and Life"*, Poltava, Ukraine, **2013**.

9. Tarasevych A.V.,^{*,#§} Guillemin J.C. Crystallization and sublimation of non-racemic mixtures of natural amino acids: a path towards homochirality // *EANA 2012, 12th European Workshop on Astrobiology*, Stockholm, Sweden, **2012**.

10. Tarasevych A.V.,^{*,#} Guillemin J.C. Crystallization and sublimation of non-racemic mixtures of natural amino acids: a path towards homochirality // *39th COSPAR (Committee on Space Research) Scientific Assembly*, Mysore, India, **2012**.

11. Tarasevych A.V.,^{*,#} Guillemin J.C. Phase transitions of optical active mixtures of natural amino acids // *Joint seminar of COS/ICMV/PNSCM groups, University of Rennes*, France, **2012**.

12. Tarasevych A.V.,^{*,§} Bellec A., Chollet A., Guillemin J.C. Phase Transitions of Non-Racemic Mixtures of Enantiomers: A Path towards Homochirality? // *Origins 2011, ISSOL - The International Astrobiology Society and Bioastronomy (IAU C51) Joint International Conference*, Montpellier, France, **2011**.

^{*} автор, представлявший работу, [#] усный доклад, [§] постерная презентация