

Институт биоорганической химии и нефтехимии  
Национальная академия наук Украины  
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт катализа  
им. Г.К. Борескова Сибирского отделения Российской академии наук

на правах рукописи  
ТАРАСЕВИЧ Аркадий Викторович

**Фазовые переходы оптически активных смесей аминокислот:  
энантиобогащение, асимметрические трансформации, спонтанная и  
индуцированная дерацемизация**

Шифр 02.00.03  
Специальность «Органическая химия»

Диссертация на соискание учёной степени кандидата химических наук

Научный руководитель	КУХАРЬ Валерий Павлович, д.х.н., проф., академик
Научный консультант	СНЫТНИКОВ Валерий Николаевич, к.ф.-м.н., доц.

Новосибирск - 2015

# Оглавление

Введение.....	5
Глава 1. ХИРАЛЬНОСТЬ И РАЗДЕЛЕНИЕ ЭНАНТИОМЕРОВ (обзор литературы).....	13
1.1. Изучение хиральности в различных дисциплинах. Хиральность и фармакология.....	13
1.2. Подходы для разделения энантиомеров.....	15
1.3. Теоретические основы изменения энантиомерного избытка в процессе сублимации нерацемических смесей.....	17
1.4. Изменение энантиомерного избытка в результате медленной частичной сублимации нерацемических смесей.....	20
1.5. Изменение энантиомерного избытка $\alpha$ -аминокислот и их производных в процессе фазовых переходов.....	29
1.6. Изменение энантиомерного избытка нерацемических $\alpha$ -аминокислот в процессе высокотемпературной сублимации.....	33
1.7. Асимметрические трансформации конгломератов взаимопревращающихся энантиомеров и энантиоморфов.....	35
1.8. Недавние достижения в области применения хирально-модифицированных магнитных наночастиц.....	41
1.9. Заключение. Постановка задачи диссертационной работы.....	42
Глава 2. ЧАСТИЧНАЯ СУБЛИМАЦИЯ НЕРАЦЕМИЧЕСКИХ СМЕСЕЙ АМИНОКИСЛОТ ...	44
2.1. Сублимация индивидуальных нерацемических смесей аланина, валина, лейцина, пролина и фенилаланина.....	45
2.1.1. Сублимация индивидуальных нерацемических L+D смесей.....	48
2.1.2. Сублимация индивидуальных нерацемических L+DL смесей.....	55
2.1.3. Заключение.....	58
2.2. Сублимация многокомпонентных нерацемических и других оптически активных смесей .....	58
2.3. Синтез и сублимация фторпроизводных аминокислот.....	62
2.3.1. Синтез рацемической и энантиомерночистой 3-амино-4,4,4-трифторбутановая кислота.....	63
2.3.2. Исследование изменения энантиомерного избытка нерацемических смесей 3-амино- 4,4,4-трифторбутановой кислоты в процессе сублимации.....	66
2.3.3. Заключение. Обсуждение полученных результатов в свете недавних публикаций группы В.А. Солошника.....	67
Глава 3. ДЕРАЦЕМИЗАЦИЯ $\alpha$ -АМИНОКИСЛОТ ПОСРЕДСТВОМ КРИСТАЛЛИЗАЦИИ И СУБЛИМАЦИИ ИХ ОПТИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СМЕСЕЙ.....	70
3.1. Дерацемизация аланина, валина, лейцина и пролина с применением избытка других энантиомерночистых нелетучих аминокислот (аспарагина, аспарагиновой и глутаминовой кислот, серина и треонина).....	70
3.1.1. Сублимация бинарных смесей рацематов летучих аминокислот с чистыми энантиомерами нелетучих.....	73
3.2.2. Сублимация бинарных смесей нерацемических летучих аминокислот с чистыми энантиомерами нелетучих.....	74
3.1.3. Сублимация многокомпонентных смесей рацематов летучих аминокислот с чистыми энантиомерами нелетучих.....	76
3.2. Дерацемизация летучих аминокислот с использованием энантиомерночистых сахаров. .	78
3.3. Попытка дерацемизации других классов соединений.....	79
3.4. Сублимация смесей летучих аминокислот.....	81
3.5. Сублимация бинарных смесей рацематов летучих аминокислот с чистыми энантиомерами нелетучих. Феномен обращения энантиоселективности.....	82

3.6. Заключение.....	87
Глава 4. ВЫСОКОТЕМПЕРАТУРНАЯ СУБЛИМАЦИЯ $\alpha$ -АМИНОКИСЛОТ.....	89
4.1. Предварительные эксперименты по высокотемпературной сублимации нерацемического валина. Анализ обнаруженных несоответствий с литературными данными С. Viedma.....	89
4.2. Высокотемпературная сублимация индивидуальных нерацемических смесей аланина, лейцина и валина.....	92
4.3. Обсуждение возможных механизмов изменения энантиомерного избытка аланина, валина и лейцина в процессе высокотемпературной сублимации.....	94
4.4. Высокотемпературная сублимация многокомпонентных смесей энантиомерночистых и рацемических аминокислот.....	98
4.4.1. Дву- и трёхкомпонентные смеси аминокислот.....	98
4.4.2. Эксперименты по изучению механизма дерцемизации.....	103
4.4.3. Заключение.....	111
4.5. Высокотемпературная сублимация многокомпонентных смесей аланина, валина, лейцина, изолейцина, норлейцина, норвалина, 2-аминомасляная кислоты.....	113
4.6. Высокотемпературная сублимация смесей содержащих изовалин.....	118
4.7. Высокотемпературная дерцемизация и энантиобогащение в смесях с нерацемическим валином. Заключительные ремарки.....	121
Глава 5. АСИММЕТРИЧЕСКИЕ ТРАНСФОРМАЦИИ В ТВЁРДОЙ ФАЗЕ $\gamma$ -ГЛИЦИНА.....	123
5.1. Хиральность глицина.....	123
5.2. Кристаллизация $\gamma$ -глицина без перемешивания.....	124
5.3. Кристаллизация $\gamma$ -глицина при перемешивании.....	128
5.4. Дозревание $\gamma$ -глицина в условиях механического растирания.....	130
5.5. Дозревание $\gamma$ -глицина в присутствии энантиомерночистого аланина.....	132
5.6. Обсуждение возможного механизма энантиоселективного роста кристаллов $\gamma$ -глицина.....	132
5.7. Заключение.....	134
5.7. Заключение.....	135
Глава 6. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ.....	137
6.1. Физико-химические методы анализа.....	137
6.2. Используемые реактивы.....	141
6.3. Общая методика дериватизации аминокислот для хирального газ-хроматографического анализа.....	142
6.3.1. Дериватизация свободных аминокислот.....	143
6.3.2. Дериватизация гидрохлоридов аминокислот.....	144
6.3.3. Примеры газовых хроматограмм аминокислот.....	145
6.3.3.1. Пример хроматограммы дериватизированного D-энантиомернообогащённого аланина (56).....	145
6.3.3.2. Пример хроматограммы дериватизированного D-энантиомернообогащённого валина (57).....	146
6.3.3.3. Пример хроматограммы дериватизированного D-энантиомернообогащённого лейцина (58).....	147
6.3.3.4. Пример хроматограммы дериватизированного D-энантиомернообогащённого пролина (59).....	148
6.4. Низкотемпературная медленная сублимация индивидуальных нерацемических смесей аланина (31), валина (25) и пролина (33), содержащих DL фазу.....	149
6.4.1. Результаты сублимации нерацемических L+DL смесей аланина.....	151
6.4.2. Результаты сублимации нерацемических L+DL смесей валина.....	152
6.4.3. Результаты сублимации нерацемических L+DL смесей пролина.....	153

6.5. Низкотемпературная медленная сублимация индивидуальных D+L нерацемических смесей аланина (31), валина (25), лейцина (19), пролина (33).....	153
6.5.1. Результаты сублимации нерацемических L+D смесей аланина.....	154
6.5.2. Результаты сублимации нерацемических L+D смесей валина.....	154
6.5.3. Результаты сублимации нерацемических L+D смесей лейцина.....	154
6.5.4. Результаты сублимации нерацемических L+D смесей пролина.....	155
6.6. Эксперименты по количественной сублимации энантиомерночистых и рацемических (истинных рацематов и кинетических конгломератов) аланина (31), валина (25), лейцина (19), пролина (33) и фенилаланина (21).....	155
6.7. Эксперименты по сублимации нерацемических смесей нескольких аминокислот.....	156
6.8. Инфракрасные спектры смесей L-аланина и L-валина до и после сублимации.....	157
6.9. Низкотемпературная медленная сублимация нерацемических смесей 3-амино-4,4,4-трифторбутановой кислоты (61).....	159
6.10. Исследование смесей ибупрофена (88) и миндальной кислоты (11).....	162
6.11. Высокотемпературная сублимация и приготовления образцов для хирального газ-хроматографического анализа.....	164
6.11.1. Результаты высокотемпературной сублимации смесей аланина.....	165
6.11.2. Результаты высокотемпературной сублимации смесей валина.....	166
6.11.3. Результаты высокотемпературной сублимации смесей лейцина.....	166
6.11.4. Результаты высокотемпературной сублимации нерацемических смесей валина с энантиомерночистым лейцином.....	167
6.11.5. Результаты высокотемпературной сублимации смесей L-валина с DL-аланином и DL-лейцином в различной атмосфере.....	168
6.11.6. Результаты высокотемпературной сублимации смесей L-валина с различным количеством рацемических аминокислот.....	168
6.11.7. Результаты высокотемпературной сублимации многокомпонентных смесей аминокислот.....	169
6.11.8. Результаты высокотемпературной дерацемизация лейцина парой энантиомерночистых аминокислот.....	169
6.12. Камфановые производные лейцина с природным содержанием <sup>13</sup> C и изотопномеченные.....	170
6.13. Исследования продуктов сублимации с применением хиральной двумерной газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектором.....	176
6.13. Синтез и физические свойства DL-лейцина-2-d1 (106).....	177
6.14. Приготовление раствора глицина для кристаллизации $\gamma$ -полиморфной модификации.....	178
6.14.1. Кристаллизация без перемешивания. Выращивание монокристаллов.....	178
6.14.2. Кристаллизация при перемешивании.....	178
6.14.3. Дозревание $\gamma$ -глицина в процессе растирания.....	179
6.14.4. Дозревание $\gamma$ -глицина в присутствии энантиомерночистого аланина в процессе растирания.....	179
7. ВЫВОДЫ.....	181
8. СЛОВАРЬ ТЕРМИНОВ.....	183
БЛАГОДАРНОСТИ.....	185
9. СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	186

## Введение

**Актуальность темы.** Получение хиральных веществ в энантиомерночистом виде и исследование биологической активности **всех** оптических изомеров потенциальных лекарственных средств является одним из важнейших требований современной фармакологической промышленности и становятся всё более весомым и для агрохимического сектора [1]. Несмотря на многочисленные работы по асимметрическому синтезу [2][3][4] и наличие целого ряда подходов для хирального разделения [5][6][7][8], фундаментальные исследования посвящённые разделению 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 [9]. В первое десятилетие 2000-ых годов в литературе имелись лишь некоторые разрозненные факты изменения энантиомерного избытка в процессе сублимации, часто обнаруженные случайным образом [10][11][12], а существующие объяснения этого явления противоречат один другому [13][14][15]. Полученные ранее результаты не позволяют судить о применимости сублимации для хирального разделения различных классов органических соединений [9][14][16][17]. Вплоть до публикации результатов автора диссертации, Тарасевича А.В. [18][19][20], какие-либо систематические исследования закономерностей изменения энантиомерного избытка в зависимости от структуры субстратов и от условий возгонки фактически отсутствовали [15].

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 энантиомерночистом 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 ( $\alpha$ -аминокислот, сахаров) и последующее усиление незначительного энантиомерного избытка, вызванного природными источниками асимметрии [21]. Огромное количество различных гипотез на данную тему давно требует экспериментального моделирования с воссозданием реалистичного механизма энантиобогащения [15] [22][23][24][25][26].

**Целью данной диссертации является** установление закономерностей изменения энантиомерного избытка нерацемических смесей  $\alpha$ -аминокислот в процессе фазовых переходов: при сублимации и в результате комбинации кристаллизации и сублимации.

**В работе решались следующие задачи:**

1. Систематические исследования закономерностей изменения энантиомерного избытка индивидуальных нерацемических смесей протеиновых  $\alpha$ -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  $\alpha$ -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 смесей природных аминокислот, где часть компонентов является нелетучими (аспарагин, треонин, серин, аспарагиновая и глютаминовая кислоты), а часть претерпевают возгонку (аланин, валин, лейцин, пролин) с варьированием соотношения между энантиомерчистыми и рацемическими компонентами.

4. Разработка метода получения хиральных кристаллов ахиральной аминокислоты глицина.

**Научная новизна.** Впервые были получены следующие результаты:

1. Установлено определяющие 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  $^{13}\text{C}$  энантиомерночистых и дейтерированных  $\alpha$ -аминокислот (L-1- $^{13}\text{C}$ -лейцин, L-2- $^{13}\text{C}$ -лейцин и DL-2-d $^1$ -лейцин) был исследован механизм данного явления. Перевод сублимированных аминокислот в диастереомерные камфановые производные показал, что по спектрам  $^1\text{H}$ -ЯМР, а также основываясь на данных ахиральной ВЭЖХ с МСД и двумерной хиральной ГХ  $\times$  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  $\alpha$ -аминокислот, где часть компонентов является нелетучими (аспарагин, треонин, серин, аспарагиновая и глютаминовая 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 энантиобогащению аминокислот могут служить основой для разработки экологически чистой, основанной на сублимации, технологии получения энантиомерно чистых соединений.

Помимо большого объёма экспериментальной работы, автором работы были проведены теоретический анализ и обобщение новых потенциальных подходов к хиральному разделению и энантиоселективному синтезу, в частности с использованием магнитных асимметрически модифицированных наночастиц. Часть проделанной теоретической работы вышла в свет в журнале Королевского химического сообщества Великобритании в виде обзорной статье международного коллектива авторов [27].

#### **Положения, выносимые на защиту.**

1. Закономерности изменения энантиомерного избытка серии природных  $\alpha$ -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 неарацемических  $\alpha$ -аминокислот (аланин, валин, лейцин).

3. Закономерности дерацемизация в процессе высокотемпературной сублимации двух- и многокомпонентных смесей  $\alpha$ -аминокислот (аланин,  $\alpha$ -

аминомасляная кислота, валин, изовалин, лейцин, норвалин, норлейцин, трет-лейцин). Исследования механизма дерацемизации на примере искусственного рацемата лейцина, где один из энантиомеров является  $^{13}\text{C}$  изотопномеченным.

4. Способ дерацемизации летучих природных  $\alpha$ -аминокислот (аланин, валин, лейцин, пролин) в результате их кристаллизации с другими энантиомерночистыми  $\alpha$ -аминокислотами (аспарагиновая и глутаминовая 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  $\alpha$ -аминокислот (L- и D-аланин).

**Публикации и апробация.** По материалам диссертации опубликованы 5 статей в международных рецензируемых журналах:

- Journal of Organic Chemistry (American Chemical Society 2013);
- Nanoscale (Royal Society of Chemistry 2013);
- Origin of Life and Evolution of the Biosphere (Springer 2013);
- CrystEngComm (Royal Society of Chemistry 2015);
- Chemical Communication (Royal Society of Chemistry 2015);

и в 10 сборниках трудов конференций (7 устных докладов Тарасевича А.В., два доклада Guillemin J.-C., 4 постерных презентации Тарасевича А.В.):

- Astrobiology Science Conference 2015 (США, Чикаго) – устный доклад Guillemin J.-C.;
- the 2nd International Conference of D-Amino Acid Research (Япония, Уцуномия 2014) – устный доклад Тарасевича А.В.;
- 40th COSPAR (Committee on Space Research) Scientific Assembly (Россия, Москва, 2014) – устный доклад Тарасевича А.В.;
- Origins 2014, ISSOL - The International Astrobiology Society and Bioastronomy (IAU C51) Joint International Conference (Япония, Нага 2014) – устный доклад Тарасевича А.В., устный доклад Guillemin J.-C.;

- летние курсы "Impacts and their Role in the Evolution of Life" (Эстония, Курессааре 2013) – устный доклад и постерная презентация Тарасевича А.В.;
- 13th European Workshop on Astrobiology (Польша, Щецин 2013) – устный доклад Тарасевича А.В.;
- Гумбольдовская конференция "Chemistry and Life" (Украина, Полтава 2013) – постерная презентация Тарасевича А.В.;
- 12th European Workshop on Astrobiology (Швеция, Стокгольм 2012) – устный доклад и постерная презентация Тарасевича А.В.;
- 39th COSPAR (Committee on Space Research) Scientific Assembly (Индия, Майсур 2012) – устный доклад Тарасевича А.В.;
- Origins 2011, ISSOL - The International Astrobiology Society and Bioastronomy (IAU C51) Joint International Conference (Франция, Монпелье 2011) – постерная презентация Тарасевича А.В.

Работа выполнена 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. Во время работы над диссертацией в период с 2011 по 2014 год Тарасевич А.В. ежегодно проходил стажировку в Высшей национальной химической школе города Рен при Институте химических наук города Рен, Национального центра научных исследований Франции (общий период — 18 месяцев). Текст диссертации, а также две публикации 2015 года, были оформлены и подготовлены к печати во время работы Тарасевича А.В. в Институте катализа им. Г.К. Борескова Сибирского отделения Российской академии наук.

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).

## Глава 1. ХИРАЛЬНОСТЬ И РАЗДЕЛЕНИЕ ЭНАНТИОМЕРОВ (обзор литературы)

### 1.1. Изучение хиральности в различных дисциплинах. Хиральность и фармакология

Особое внимание химиков, биологов, физиков, а в последнее время и математиков, получили исследования молекулярной асимметрии биологически важных молекул, таких как сахара и аминокислоты. Уже со времён Луи Пастера, научную общественность интересовал вопрос асимметричного «использования» природой лево- и правовращающих изомеров. На сегодняшний день известно, что всё живое на Земле построено преимущественно из L-аминокислот и D-сахаров, которые, соответственно, образуют белки и полисахариды; пентозы входят в состав РНК и ДНК. Разнообразие биологических функций макромолекул образованных из аминокислот и углеводов – делает их наиболее важными структурными единицами для живых организмов, а их *гомохиральность* – отличительной чертой молекулярной биологии.

Следует отметить, что последние 10-15 лет ведутся интенсивные исследования в области биохимии D-аминокислот. Несмотря на то, что их содержание в живых тканях животных **существенно** меньше, чем L-изомеров (для подавляющего большинства протеиногенных аминокислот меньше или порядка 1%), они были обнаружены в мозговых, почечных и глазных тканях; содержатся в коже и волосах. В ряде работ была показана исключительная роль D-серина, D-аспарагина и D-глутамина для протекания нормальной мозговой и умственной деятельности, а процессы старения, целый спектр дегенеративных заболеваний и психических расстройств (напр. шизофрения, общие депрессии, слабоумие) связаны с изменением аминокислотного энантиомерного состава. Интересно, что D-аминокислоты образуются в процессе высокотемпературного приготовления пищи, содержатся в продуктах получаемых в результате брожения, квашения, ферментации: например молочнокислые продукты (в особенности сыры),

алкогольные напитки (вино, sake, сидр). В Японии ведутся разработки по использованию D-аминокислот в качестве пищевых добавок (т.к. они обладают более высокими вкусовыми качествами).

С другой стороны, вследствие необратимой рацемизации аминокислотных остатков после смерти организма, ещё 70-80 годах XX века был разработан метод аминокислотного датирования, который используется в археологии и геологии ископаемых. Зная полупериод рацемизации конкретной аминокислоты и проанализировав энантиомерный избыток образца, можно судить о его возрасте или же наоборот, дать оценку условий в которых он находился (т.к. скорость рацемизации зависит от температуры, pH, присутствия ионов переходных металлов).

Поиском нерацемических аминокислот вне Земли занимается такая дисциплина, как астробиология (или экзобиология). Нерацемические аминокислоты (обогащённые L-энантиомерами) и производные сахаров, содержащие избыток D изомеров, были обнаружены во многих углистых метеоритах. Целью нескольких космических миссий, стартовавших за последние годы, является проведение хирального анализа, направленного на выявление энантиомернообогащённых аминокислот во внеземных образцах. Считается, что их обнаружение может служить косвенным указанием на присутствие внеземных форм жизни.

Наиболее важная *практическая* задача связана с хиральностью фармакологических и сельскохозяйственных препаратов. Вследствие того, что львиная доля биохимических процессов протекающих в живых существах, является асимметрическими, эффективное лечение медицинскими субстанциями (или же применение агрохимических) зачастую требует их использования в энантиомерночистом виде. Так, один из зеркальных изомеров может обладать полезными фармакологическими (или агрохимическими) свойствами, а другой, либо не проявлять биологической активности заслуживающей внимания, либо напротив – быть токсичным. Трагичным примером игнорирования эффектов,

связанных с оптической изомерией фармпрепаратов, может служить история с Талидомидом, который назначали беременным с конца 50-ых вплоть до начала 60-ых годов для купирования проявлений токсикоза; а затем бесконтрольно в середине 90-ых годов для лечения лепры в странах третьего мира. Один из энантиомеров Талидомида обладает тератогенными свойствами; как результат использования его в рацемической форме, в 50-60-ых годах на свет появилось около 12 тысяч детей с врождёнными мутациями (фокомелия), из которых выжило около 40% (более поздние исследования выявили возможность рацемизации Талидомида *in vivo*). В 90-ые родилось ещё одно поколение детей с мутациями, ставших жертвами фармакологических компаний Великобритании.

Для справки можно упомянуть, что на данный момент уже около 50% всех используемых лекарств и более 90% новых разрабатываемых и внедряемых на рынок, составляют именно хиральные энантиомерночистые субстанции, а их годовой объем продаж в последние годы исчисляется десятками миллиардов долларов (Jóźwiak&Ivanova 2012) [1]. Вследствие этого, наряду с асимметрическим синтезом, вопросы получения энантиомерночистых веществ из их скалемических или рацемических смесей представляют огромный интерес.

## **1.2. Подходы для разделения энантиомеров**

Энантиомеры обладают одинаковыми физическими свойствами, за исключением их взаимодействия с асимметрической средой или поляризованным излучением. С другой стороны, в подавляющем большинстве случаев их рацемические смеси обладают отличными физико-химическими характеристиками. Поэтому, условно все методы разделения энантиомеров можно разделить на хиральные и нехиральные.

К хиральным можно отнести хроматографию с использованием хиральной стационарной фазы, разделением через диастереомеры, кинетическое разделение

с асимметрическим субстратом, энзиматическое разделение. Все эти подходы дают возможность разделения как рацематов, так и нерацемических смесей.

С другой стороны, благодаря различным гомо- и гетерохиральным взаимодействиям между энантиомерами (исключением являются только идеальные растворы энантиомеров, где этого различия нет), нерацемические смеси могут быть обогащены или полностью разделены на рацемат и чистый энантиомер (см. разд. 1.5). Классическим методом является перекристаллизация из растворов нерацемических смесей для увеличения их энантиомерного избытка. Следует понимать, что изменение происходит в результате разделения на энантиомернообогащённую и обеднённую фракции, а общий энантиомерный избыток при этом не меняет своего значения.

Из других подходов, позволяющих наблюдать разделение энантиомера и соответствующего рацемата, можно перечислить ахиральную жидкостную хроматографию высокого и среднего давлений, флэш и обычную колоночную хроматографию, сублимацию, дистилляцию, плавление, осаждение суспензий и ультрацентрифугирование. Следует отметить, что все эти феномены были обнаружены для веществ с ярко выраженными различиями в гомо- и гетерохиральных взаимодействиях; до сих пор эти подходы не нашли практического применения, а имели скорее научный интерес. *Из перечисленных методов, сублимация занимает особое место* (см. разд. 1.3, 1.4, 1.6).

Одними из наиболее заманчивых методов получения хиральных соединений являются ***асимметрические трансформации*** первого и второго рода для диастереомеров и второго рода для энантиомеров, позволяющие теоретически достичь полной конверсии смеси изомеров в целевой продукт (см. разд. 1.7). Основным требованием для осуществления трансформаций такого рода является возможность взаимопревращения между диастереомерами (эпимеризация) или энантиомерами (рацемизация) в одной из фаз системы и отдельная кристаллизация изомеров.

Из перспективных направлений в хиральном разделении и асимметрическом

синтезе, следует упомянуть недавние разработки по применению асимметрически-модифицированных магнитных наночастиц (см. разд. 1.8). Неоднократно отмечалось, что хотя каталитическая стадия и протекает на поверхности наночастиц, процесс, вследствие малых размеров частиц, очень напоминает гомофазные реакции, с преимуществом лёгкой регенерации иммобилизованного катализатора магнитным полем. Методология разделения также предполагает разделение рацемата за счёт наложения магнитного поля и отделением одного из энантиомеров, который имеет большее сродство к наночастицам.

### **1.3. Теоретические основы изменения энантиомерного избытка в процессе сублимации нерацемических смесей**

Первая систематизация, всех известных на тот момент экспериментальных данных о сублимации нерацемических смесей, и теоретическое обоснование причин изменения энантиомерного избытка была сделана в известной монографии «Enantiomers, Racemates, and Resolutions» в 1981 году [28]. В зависимости от типа рацемата (истинное рацемическое соединение, конгломерат или твердый раствор), авторами были детально рассмотрены три предельных случая термодинамического контроля фазового перехода «твёрдое тело - газ», предложены гипотетические диаграммы сублимации энантиомерных смесей с акцентом на изменении энантиомерного состава.

Авторы сделали важное предположение [28], что энантиомерный состав первых сублимационных фракций может соответствовать энантиомерному составу газовой фазы, которая находится в равновесии с твердой смесью (когда давление паров каждого из твёрдых компонентов соответствует насыщенному значению). Используя этот подход, были объяснены причины повышения или снижения энантиомерной чистоты сублимационных фракций нерацемических

смесей в зависимости от (1) кристаллической природы рацемата, (2) начального энантиомерного избытка. В идеальных условиях равновесия, когда каждый из компонентов установил своё равновесие с газовой фазой, ее состав остается постоянным независимо от энантиомерного соотношения в твёрдой смеси. Эта точка ко-насыщения может быть названа эвотмотической точкой (по аналогии с эвтектическими точками для расплавов или эвтоникой для растворов — см. Приложение). Смеси, имеющие эвотмотический состав будут иметь наименьшее давление паров или соответственно наименьшую температуру сублимации. Легко показать, что точка эвотмотики для конгломератов соответствует рацемическому составу (0%), а для истинных рацематов находится где-то в пределах  $0 < e_{\text{эватм}} < 100\%$  (что зависит от различия в гомо- и гетерохиральном взаимодействии между энантиомерами в кристаллической решётке и является индивидуальной характеристикой в каждом конкретном случае). Таким образом, первая сублимационная фракция смесей энантиомерночистых кристаллов (конгломератов), полученная в условиях идеального обоюдного насыщения газовой фазы, будет иметь рацемический состав ( $e_{\text{субл}} = 0\%$ ). Термодинамически-контролируемая сублимация смесей истинных рацематов с одним из энантиомеров, имеющих энантиомерный избыток **ниже** эвотмотического состава, будет проходить с **энантиобогащением** ( $e_{\text{начальное}} < e_{\text{сублимата}}$ ). Напротив, сублимация смесей с энантиомерным избытком **выше** состава газовой фазы в равновесном состоянии, будет вызывать их **энантиообеднение** ( $e_{\text{начальное}} > e_{\text{сублимата}}$ ). Это становится более понятно, если учесть, что оба случая приводят к первоочередной возгонке эвотмотической смеси. С другой стороны, можно утверждать, что сублимация идеальных твердых растворов энантиомеров, согласно их фазовыми диаграммами, будет давать сублимат без изменения оптической чистоты ( $e_{\text{начальное}} = e_{\text{сублимата}}$ ). Однако, на данный момент в литературе отсутствуют сведения о сублимации нерацемических смесей твердых растворов.

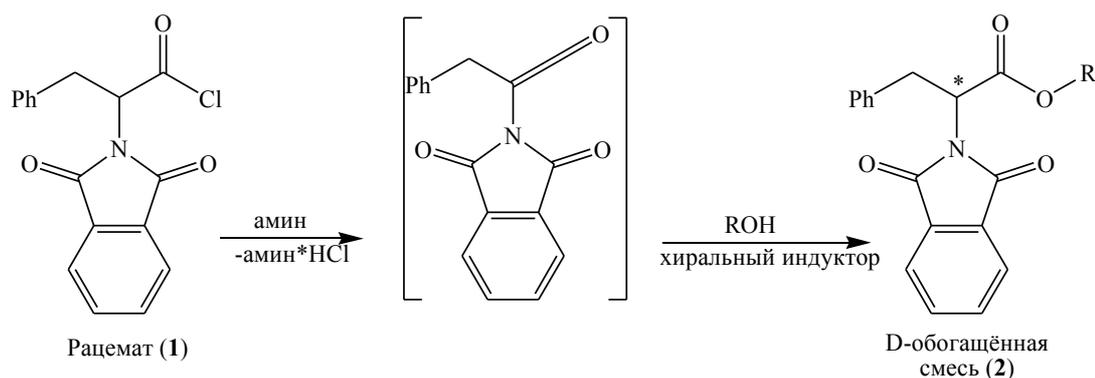
Используя несколько другой подход, М. Farina в 1987 году проводит теоретический анализ диаграмм состояния смесей энантиомеров в координатах

«давление - температура», особое внимание уделяя давлению насыщенных паров **конгломерата** и истинного **рацемического соединения** относительно соответствующего давления **чистых энантиомеров** [29][30]. Так, в случае конгломератов было показано, что при отсутствии взаимодействия в газовом состоянии между индивидуальными молекулами энантиомеров (поведение идеального газа), давление насыщенных паров конгломерата вдвое больше, чем для каждого из энантиомеров. Каждая из твердых энантиомерночистых фаз устанавливает с газовой фазой своё независимое равновесие и, как следствие  $p_{DL} = 2p_L$  или  $2p_D$  (принимая во внимание тот факт, что энантиомеры имеют одинаковые физические свойства, включая давление насыщенных паров:  $p_L = p_D$ ). Интересно, что к тому же выводу пришел один из основоположников физико-химического анализа смесей энантиомеров В. Майерхоффер еще в 1904 году в своих «Сtereoхимических заметках» [31].

Поскольку до недавнего времени любые систематические экспериментальные исследования сублимации энантиомерночистых смесей отсутствовали, рядом с вышеупомянутыми базовыми трудами, возникло несколько альтернативных гипотез, авторы которых также предлагают объяснение феномена изменения энантиомерного избытка. В частности, кинетическое объяснение для фторпроизводных  $\alpha$ -гидроксикислот основанное на сравнении скорости возгонки рацематов и чистых энантиомеров [32]; формирование «магических» кластеров на примере октамеров серина вследствие его гомохиральной организации в газовой фазе [13][33]; предпочтительная сублимация *эвтонического* состава природных аминокислот, значения которых были получены для соответствующих водных растворов [15].

#### 1.4. Изменение энантиомерного избытка в результате медленной частичной сублимации нерацемических смесей

Первое упоминание о факте изменения энантиомерной чистоты нерацемических смесей в результате сублимации встречается в химической литературе в конце 50-ых годов [34]. Автор изучала взаимодействие рацемических фталимидных производных хлорангидридов  $\alpha$ -аминокислот (**1**) со спиртами и фенолами ( $R = \text{Me, Et, n-Bu, i-Bu, Ph, Vz}$ ), индуцируемое хиральными природными аминами – алкалоидами бруцином и никотином (Схема 1.4-1). Предположительная энантиоселективность реакций (рассчитанная на основании измеренных углов вращения) составила около 10% ee.

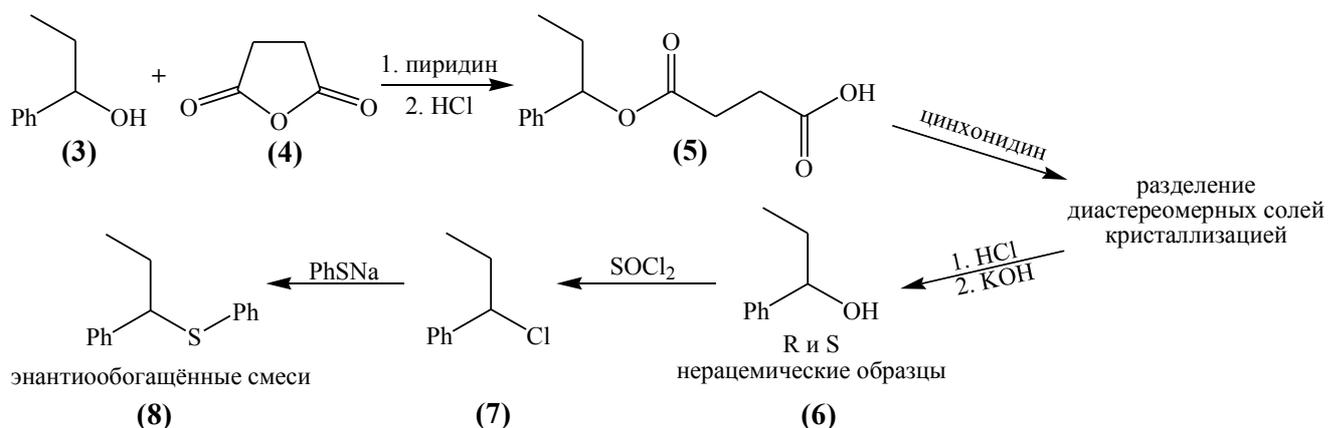


**Схема 1.4-1.** Асимметрический синтез сложных эфиров фталимидных производных 2-амино-3-фенил-пропионовых кислот (**2**).

С целью выделения продуктов (**2**) автор применила метод возгонки в вакууме. Однако, в зависимости от сублимационной фракции было обнаружено непостоянство угла вращения плоскости линейно-поляризованного света. В оригинальной работе 1959 года описание и интерпретация этого важного наблюдения сводится всего к двум предложениям. Сказано, что для первых фракций, по сравнению с последними, было зафиксировано значительное увеличение оптической активности: «Bei der *Sublimation der PPA-Ester* [N-

фталилил-β-фенилаланиловых эфиров (2) – примечание Тарасевича А.В.] beobachten wir, daß die ersten sauber Fraktionen wesentlich stärker optisch aktiv waren als die letzten, obgleich beide aus reinem Ester bestanden». Для объяснения данного феномена, было сделано предположение о различной летучести оптически чистого энантиомера и рацемической формы (сейчас мы можем перефразировать её слова в терминах «кинетики или энтальпии сублимации»), что по своей сути является абсолютно верным утверждением: «Offenbar ist also die optisch aktive Form leichter flüchtig als das Racemat, was wir auch durch Sublimation einer Mischung von reinem DL- mit reinem D-Ester nachweisen konnten». Более детальное описание можно найти в оригинальном тексте диссертации 1954 года [35].

Спустя примерно 10 лет американские учёные Kwart и Hoster опубликовали исследования связанные с изменением энантиомерного состава в результате процесса частичной «возгонки – депонирования» [36][37]. Также, как и в



**Схема 1.4-2.** Синтез энантиообогащённого α-этилбензилфенил сульфида (8).

предыдущем случае, открытие было сделано совершенно случайно. Синтезировав в соответствии с вышеприведенной **схемой 1.4-2** энантиообогащённый α-этилбензилфенил сульфид (8), они неожиданно обнаружили, что оптическая активность образцов значительно снижается в результате простой осушки под вакуумом в течении ночи. Серия экспериментов показала, что рацемическое соединение имеет значительно более низкую летучесть, по сравнению с чистыми

энантиомерами.

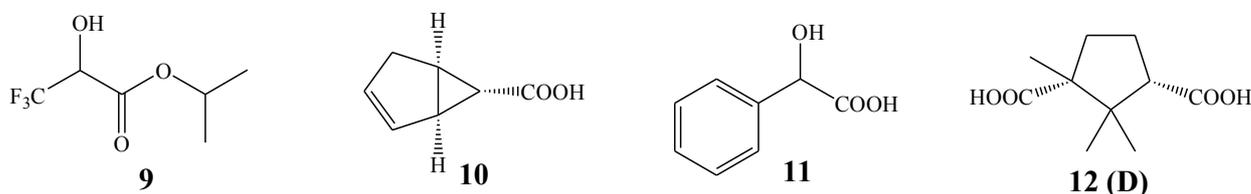
В статье приведены данные об изменении силы оптического вращения сублимационных фракций полученных в процессе возгонки при температуре несколько ниже температуры плавления смесей (при 35°C,  $t_{пл}$  рацемата и энантиомеров 39-42° и 32-35°, соответственно). На основании значения удельного угла вращения для энантиомерночистых образцов, авторы рассчитали значения энантиомерного избытка для некоторых из нерацемических смесей. Во всех опытах сублимируемая смесь изначально содержала незначительное количество энантиомерночистого компонента (6.5 – 11.9% ee). Собирая сублимат каждые 12 – 18 часов, в первых фракциях наблюдалось наибольшее энантиобогащение (вплоть до 75% ee). Затем значения оптической чистоты шли на спад, давая, в конечном итоге практически рацемический (0 – 1.7% ee) менее летучий остаток.

Анализируя данные, авторы верно сделали вывод о наличии более сильного гетерохирального взаимодействия в кристаллической решётке рацемата, по сравнению с чистыми энантиомерами. Как следствие, энантиомеры сульфида (**8**) имеют более низкую температуру плавления и энтальпию сублимации  $\Delta H_{subl}$ , чем соответствующее рацемическое соединение.

Примечателен тот факт, что сублимируя расплав (+)- $\alpha$ -этилбензилфенил сульфида (**8**) (3.1% ee), никакого изменения энантиомерного состава как остатка, так и сублимата не наблюдалось. Долгое время считалось, что в результате фазового перехода «жидкость - газ» добиться энантиобогащения (или энантиообеднения) невозможно (см. [28], С. 165-166), что в подавляющем большинстве случаев действительно так и есть. В жидком состоянии различие в гомо- и гетерохиральном взаимодействии, по причине кинетического движения молекул, намного меньше, чем в кристаллическом. Так, например, рассчитанная (на основании измеренной энтальпии смешения жидких энантиомеров в соотношении 1:1) разница в температурах кипения рацемического и энантиомерно чистого 2-октанола составляет около 0.15°C [38][39]. А для 2-бутанола это значение находится в пределах экспериментальной ошибки [40]. Ожидаемая

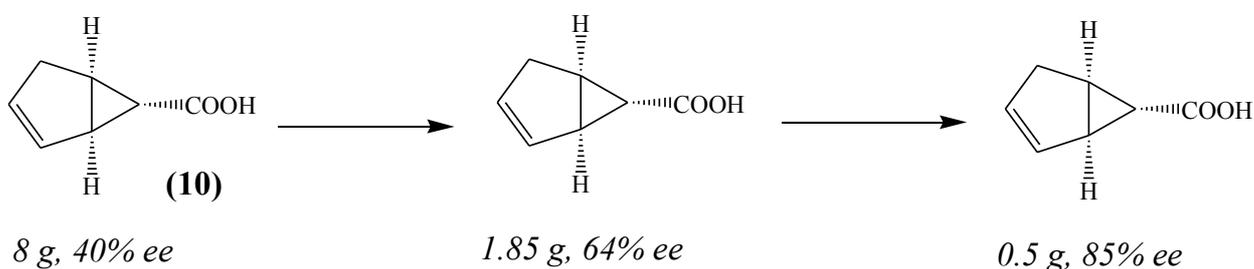
величина  $\Delta T_{\text{кип}}$  для 2-(*p*-нитрофенил)-бутана составляет менее трёх сотых градуса [41]. Не удивительно, что добиться сколь-нибудь заметного разделения энантиомера и рацемата достаточно сложно. Сравнительно недавно всё же была показана возможность энантиобогащения в процессе высоко-эффективной колоночной перегонки (требуется градиент температуры вдоль колонки) [42]. Исключение из этого общего правила было обнаружено около 20 лет назад группой японских учёных [43]. В то время, как рацемический изопропил трифторолактат (**9**) (Рисунок 1.4-1) кипит при 93°C, чистый *S* энантиомер имеет  $T_{\text{кип}}$  136°C и соответственно  $\Delta T$  составляет 43°C. Наличие сильной водородной связи в непосредственной близости около хирального центра создаёт экстраординарные условия для энантиоселективного образования гомохиральных димеров, тогда как рацемические гетерохиральные ассоциаты менее стабильны.

Возвращаясь к анализу работы [36] следует упомянуть заключительную серию экспериментов по фракционной кристаллизации нерацемического образца (**8**). Сравнивая результаты энантиобогащения методом сублимации и кристаллизации, преимущество сублимации становится очевидным. Так, начиная с 6.5% *ee* в результате трёх последовательных кристаллизаций можно достичь 33%-ого энантиомерного избытка; тогда как однократная сублимация той же смеси позволяет повысить чистоту до 75% *ee*. Однако, количественно, сублимация даёт меньший выход (около 6% по массе 73-75% *ee* образца сублимацией и ~16% смеси с *ee* 32.3% кристаллизацией), о чём авторы не упомянули.



**Рисунок 1.4-1.** Соединения, для которых описано изменение энантиомерного избытка в процессе перегонки (**9**) и сублимации (**10-12**).

Несмотря на призыв Н. Kwart с коллегами обратить внимание на перспективность метода [36], следующая работа на эту тематику появилась лишь спустя 10 лет, и вплоть до двухтысячных годов, кроме нескольких обзорных и теоретических работ [28][29][30][44], никаких экспериментальных исследований не проводилось; исключением являются две работы, связанных с масс-спектроскопическими наблюдениями феномена [45][46] и одного упоминания об изменении энантиомерного состава, обнаруженного случайным образом в процессе высушивания нерацемической смеси [47].



**Схема 1.4-3.** Изменение энантиомерного избытка бицикло[3.1.0]гекс-2-ен-8-эндо-карбоновой кислоты (**10**) в процессе фракционной сублимации.

Первая попытка объяснить процесс энантиообогащения (энантиообеднения) в результате сублимации с точки зрения термодинамики вышла в свет в 1977 году [48]. Группа учёных из США (D.L. Garin с коллегами) случайно, как и все предыдущие исследователи, столкнулась с обсуждаемым эффектом. В ходе детальных исследований, ими были проведены не только обычная фракционная сублимация синтезированного вещества (бицикло[3.1.0]гекс-2-ен-8-эндо-карбоновая кислота **10** (Рисунок 1.4-1) [49], но и показаны: а) применимость возгонки с градиентом температуры для энантиообогащения (так называемая «градиентная сублимация», не следует путать с зонной сублимацией); б) в качестве модели, сублимировали нерацемические смеси доступных оптически активных соединений (миндальная кислота **11**, камфорная кислота **12**), для нерацемических смесей которых ранее были детально изучены другие фазовые

переходы (в частности, плавление) и в) провели очевидную аналогию с процессами плавления и растворения.

Итак, сублимируя в стандартном сублимационном аппарате 8 г кислоты (**10**), с 40-процентным энантиомерным избытком (Схема **1.4-3**), было обнаружено, что первая фракция (1.85 г, 23% по отношению к изначальной массе) имеет оптическую чистоту 64% *ee*. Повторная частичная сублимация полученного образца позволила повысить энантиомерный избыток до 85% (0.5 г, выход после двух сублимаций 6.3%).

В качестве показательного примера, авторы сублимировали образец кислоты (**10**) с применением градиента температур: 100 мг нерацемической смеси (73% *ee*) были помещены в стеклянную трубку. При пониженном давлении (10 мм рт. ст.) на 40-сантиметровом отрезке был создан градиент температур от 54 до 38°C. В течении 26 часов исходный материал перераспределился на стенках трубки. В таблице **1.4-1** представлены значения *ee* в зависимости от расстояния (см) к положению исходной смеси. Хотелось бы сделать акцент на том, что это единственный известный пример применения градиента температур для

Образец	Масса*, мг	$[\alpha]^{23}_D$ , град <sup>†</sup>	Рассчитанные значения % <i>ee</i>
Исходная смесь	100	-310	73
28-39 см	14.2	-373	88
11-27 см	18.6	-361	85
5-10 см	28.2	-310	73
0-5 см	32.1	-239	56

**Таблица 1.4-1.** Градиентная сублимация нерацемического образца кислоты **10**.

\*Суммарный выход сублимационных фракций составил 93%. <sup>†</sup> $[\alpha]^{23}_D$  чистого энантиомера -425°.

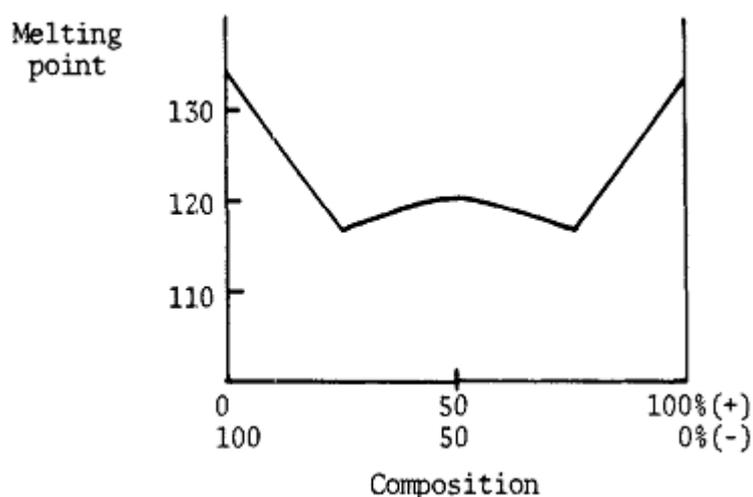
сублимации смесей оптических изомеров. Такие довольно редкие приёмы очистки органических соединений, как градиентная и зонная сублимация (чаще они

применяются в металлургии и электронике для получения сверхчистых металлов и полупроводниковых материалов), при подборе соответствующих условий, могли бы стать высокоэффективными методами для разделения нерацемических смесей энантиомеров на рацемат и чистый энантиомер. Как известно, около 90-95% рацематов – это как раз истинные рацемические соединения с отличающимися от чистых энантиомеров физическими свойствами (в том числе, теплотой сублимации, давлением насыщенных паров и, что возможно ещё более важно - скорости сублимации). Поэтому, поиск неравновесных условий, которые могли бы обеспечить полное отделение энантиомера от рацемата, является очень перспективным направлением. Вопрос находится уже скорее в плоскости технической реализации. Например, для зонной сублимации выбор температурного режима, длина сублиматора, скорость движения зоны повышенной температуры, количество зонных проходов – те параметры, варьированием которых можно добиться конечной цели – полного разделения. С другой стороны, современное насосное оборудование предоставляет возможность работы в условиях сверхвысокого вакуума ( $10^{-6}$  –  $10^{-10}$  Тор), что значительно повышает летучесть веществ с низким давлением паров без повышения температуры и значительно расширяет сферу применимости метода.

Основная заслуга группы D.L. Garin состоит в проведении очевидной аналогии между сублимацией и другими хорошо изученными фазовыми переходами смесей оптических изомеров (таких как плавление и растворение) [48], что позднее более детально было сделано в авторитетной монографии (см. [28], С. 159-162). К недостаткам же интерпретации исследуемого феномена можно отнести игнорирование различных кинетических параметров сублимации рацемата и чистого энантиомера.

Так, для миндальной кислоты (11) уже на момент исследования её сублимации [48] была построена фазовая диаграмма зависимости температуры плавления от энантиомерного состава (Рисунок 1.4-2). Точки минимума на диаграмме 1.4-2 имеют название точек эвтектики и соответствуют приблизительно

25 и 75% мольному составу (50% *ee* L или D). Идея Garin et coll. заключалась в сублимации образцов (11) имеющих энантиомерную чистоту ниже и выше эвтектического состава [48]. Несмотря на то, что авторы допустили ряд ошибок, как в постановке эксперимента (две смеси из четырёх были получены смешением L и D энантиомеров миндальной кислоты, а не L + DL, см. обсуждение ниже), так



**Рисунок 1.4-2.** Изменение температуры плавления смесей оптических изомеров миндальной кислоты (11) в зависимости от энантиомерного избытка (из оригинальной работы D.L. Garin et coll. 1977a) [48].

и в чрезмерной экстраполяции термодинамических характеристик одних фазовых переходов к сублимации (см. также ниже), можно прийти к заключению, что сублимируя миндальную кислоту с низким значением *ee* (20.7% *ee* L + DL, ниже эвтектического состава), газовая фаза (сублимат) является более энантиобогащённой (до 37.2% *ee*), чем остаток, энантиомерная чистота которого последовательно снижается, приближаясь к рацемическому составу. Напротив, сублимация более энантиобогащённой смеси (11) (60.2% *ee* L + DL, значение лежит выше эвтектического состава) даёт во всех случаях незначительное снижение *ee* сублимата, а остаток последовательно обогащается L-энантиомером.

Объясняя эти результаты, авторы предположили, что по аналогии с точками

эвтектики и эвтоники (см. словарь терминов и проложение), для фазового перехода «твёрдое вещество – газ» также существует смесь определённого состава (при данных температуре и давлении) имеющее наименьшее давление паров относительно любого другого состава, включая рацемическую смесь и чистые энантиомеры. В условиях термодинамического контроля, когда каждый из компонентов смеси находится в равновесии с газовой фазой, это утверждение абсолютно верно и, сублимируя **любую** нерацемическую смесь оптических изомеров, газовая фаза должна иметь постоянный состав. Однако, в условиях реального эксперимента добиться равновесия в системе «твёрдая фаза – газ» фактически очень сложно и в действительности состав сублимата определяется как термодинамическими, так и кинетическими характеристиками системы, вклад которых меняется в зависимости от многих факторов. Кроме того, депонирование газовой фазы в виде сублимата постоянно смещает равновесие и, как это наглядно показано в статье, энантиомерный состав и сублимата, и остатка являются функцией времени.

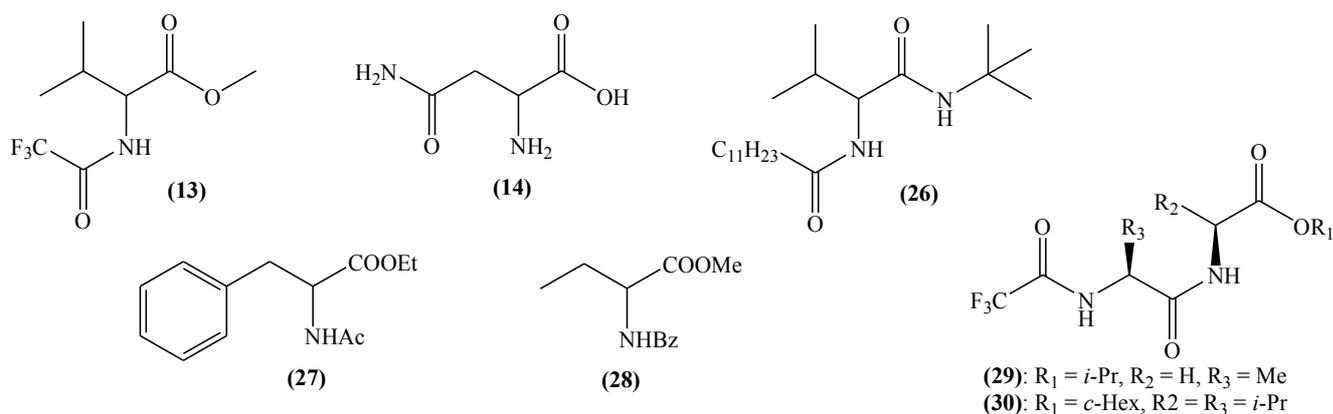
Не вдаваясь в глубокие теоретические рассуждения, Garin et coll. рассматривая кривые фазовых переходов «плавление» и «растворение» по наитию сделали утверждение о том, что эвтектическая смесь энантиомеров является наиболее летучей: «One obvious feature of this curve is that *the eutectic composition is predicted to preferentially sublime regardless of the initial composition unless it is pure racemate or pure enantiomer*» [48]. Однако, возникает логичный вопрос: почему соотношение энантиомеров в равновесной точке одного фазового перехода должно быть эквивалентным энантиомерному составу смеси находящейся в равновесии со второй фазой для фазового перехода совершенно другого рода? Энтальпия сублимации зависит от таких факторов, как температура и давление. Таким образом, эта гипотеза ошибочна. Так, хорошо известно, что точки эвтоники меняются от одного растворителя к другому и являются температурно зависимыми (параметр давления в данном случае менее важен). Можно ожидать, что точки равновесия «твёрдая фаза – газ», также зависят в той или иной мере от

температуры и давления. Уже спустя несколько лет, в монографии J. Jacques ([28], С. 161) можно найти следующие рассуждения: «Since the eutectic composition is related to the enthalpies of sublimation,  $\Delta H^s_A$  (примечание: имеется в виду энтальпия сублимации чистых энантиомеров) and  $\Delta H^s_R$  (и рацемата), which are different from the corresponding enthalpies of fusion, there is reason to expect the eutectics in the sublimation and fusion diagrams to have *precisely* the same compositions. By neglecting the influence of specific heats, we may write  $\Delta H^s \sim \Delta H^f + \Delta H^v$ , where  $\Delta H^f$  and  $\Delta H^v$  are enthalpies of fusion and vaporization, respectively. Since  $\Delta H^s_A$  and  $\Delta H^s_R$  have practically identical values,  $\Delta H^s_A - \Delta H^s_R \sim \Delta H^f_A - \Delta H^f_R$ . Consequently, the vapour eutectic and the liquid eutectic should be found in the same region of these diagrams». Единственная ремарка, которую следует сделать относительно данной цитаты – это использование неверной терминологии для описания равновесных точек, как в этом месте, так и на протяжении всей книги «Enantiomers, Racemates, and Resolutions». Как точки эвтоники, так и инвариантные точки равновесия «твёрдая фаза – газ» (эватмотика) неверно называются авторами эвтектическими [28]. Несмотря на огромное число публикаций и монографий по разделению энантиомеров [5][6][7][8][50][51], фактически, это единственная монография [28], столь обширно затрагивающая фундаментальные физико-химические аспекты сублимации (см. также [44], С. 179-183). Опубликованная впервые в 1981 году, книга [28] выдержала несколько переизданий и стала для многих химиков базовым учебником, не поддающимся сомнению.

### **1.5. Изменение энантиомерного избытка $\alpha$ -аминокислот и их производных в процессе фазовых переходов**

Ещё во второй половине XIX века были выдвинуты предположения, что рацемические смеси энантиомеров можно делить используя оптически активные вещества [28][31][52]. Энантиосегрегация без образования ковалентных связей,

возможная лишь за счёт межмолекулярного асимметрического взаимодействия, вызывает большой интерес связанный с возникновением биологической гомохиральности [13][15][21][22][23][24][25][26][53]. Сейчас известно, что хиральные поверхности ахиральных неорганических веществ или кристаллов могут индуцировать некоторый энантиомерный избыток [54], кристаллизация из оптически активного растворителя также приводит к частичному энантиоразделению [28].



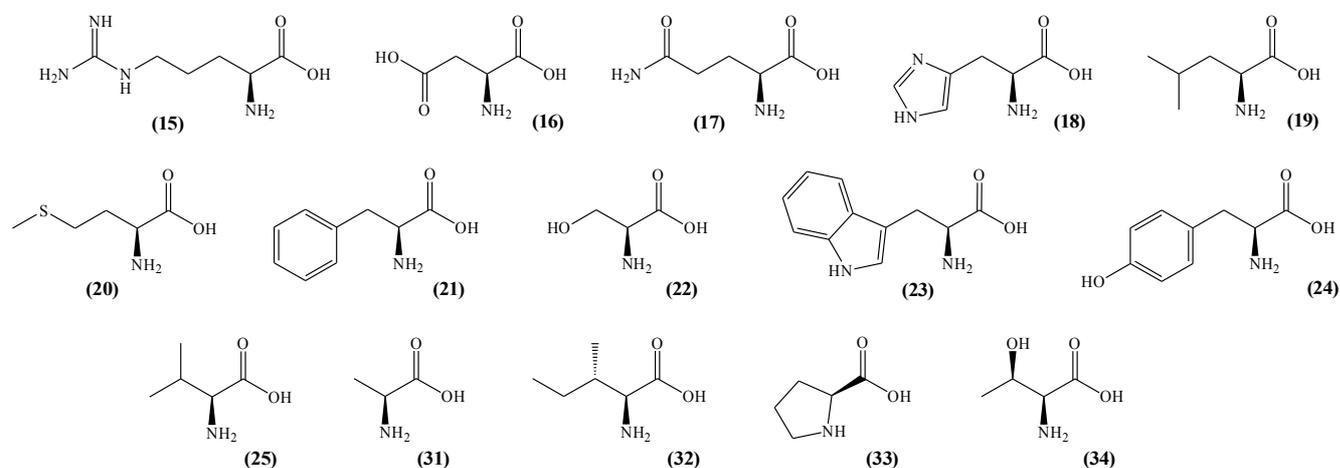
**Рисунок 1.5-1.** Производные аминокислот, для которых было обнаружено разделение рацемата и избытка энантиомера в нерацемических смесях.

В последние годы интенсивно исследуются вопросы изменения энантиомерного состава как нерацемических, так и рацемических аминокислот в процессе фазовых переходов и других процессов в ахиральной среде. Энантиобогащение, обеднение или спонтанное разделение аминокислот или их производных может происходить:

- при фракционной *дистилляции* нерацемических метилового эфира фтроацетил-валина (13) (Рисунок 1.5-1) за счёт различной гетеро- и гомохиральной водородной связи [42];
- при *кристаллизации* рацемического DL-аспарагина (14) и его сложной смеси с 11 рацемическими аминокислотами (аргинин Arg (15), аспарагиновая кислота Asp (16), глутамин Gln (17), гистидин His (18), лейцин Leu (19), метионин

Met (20), фенилаланин Phe (21), серин Ser (22), триптофан Trp (23), тирозин Tyr (24), валин Val (25), Рисунок 1.5-2), вследствие конгломератной природы DL-аспарагина (14) и возможности энантиоселективного включения других аминокислот в его кристаллическую решётку [55][56][57];

– в процессе *хроматографии* производных аминокислот N-ацилированного трет-бутиламида валина (26) [58][59], этилового эфира N-ацетилфенилаланина (27) [60], метилового эфира N-бензоил аланина (28) [61], трифторацетильных производных (29-30) [58] на *ахиральных стационарных фазах* (Рисунок 1.5-1);



**Рисунок 1.5-2.** Природные α-аминокислоты для которых было исследовано изменение энантиомерного избытка в процессе кристаллизации. Представлены L-энантиомеры.

– при *насыщении* водной фазы нерацемическими смесями аланина Ala (31), гистидина His (18), изолейцина isoLeu (32), метионина Met (20), фенилаланина Phe (21), пролина Pro (33), серина Ser (22), валина Val (25) [62][63] [15] или их ко-кристаллов с двухосновными карбоновыми кислотами (M. Klussmann 2007) [64];

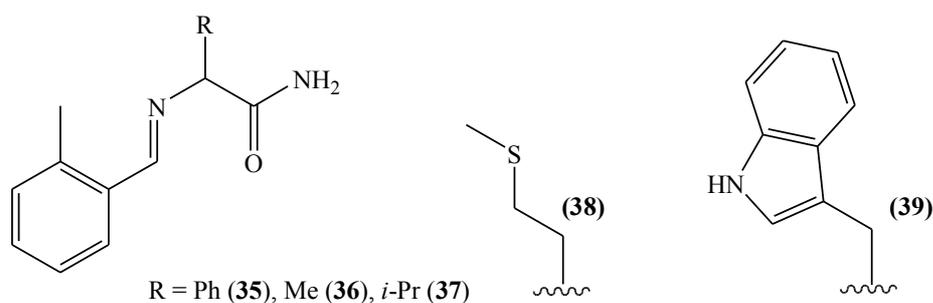
– в результате *перекристаллизации* фенилаланина Phe (21) [65].

Опубликованные несколько лет назад результаты по изменению

энантиомерного избытка в процессе *сублимации* индивидуальных нерацемических смесей аланина Ala (**31**), валина Val (**25**), метионина Met (**20**), серина Ser (**22**), треонина Thr (**34**) и фенилаланина Phe (**21**) [53][33] оказались плохо воспроизводимыми [66].

Группа голландских учёных показала возможность спонтанной дерацемизации толуил-иминовых производных фенилглицина (**35**), аланина (**36**), метионина (**38**), триптофана (**39**) и валина (**37**) (Рисунок 1.5-3) путём *асимметрической трансформации второго рода* и одновременной *ко-кристаллизации* аминокислотных гомологов в решётке конгломерата (**35**) [67].

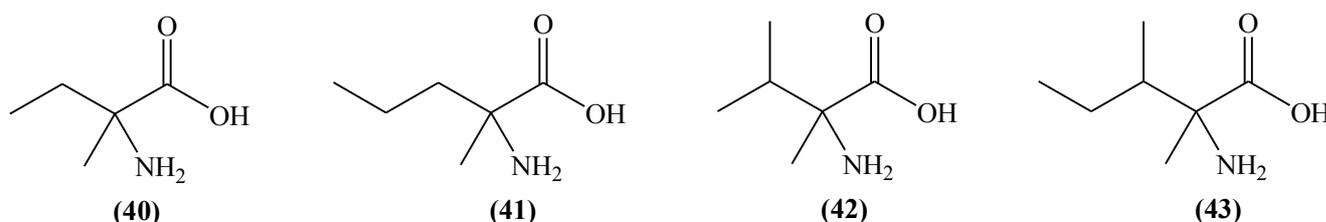
С другой стороны фундаментальные вопросы связанные с переносом хиральности и энантиомерной чистоты интересуют научное сообщество не в



**Рисунок 1.5-3.** Имины аминокислот способные к спонтанной дерацемизации.

меньшей степени. В частности, эти процессы рассматриваются как возможные пути инициирования и эволюции биологической гомохиральности. В ряде работ особое внимание уделяется роли нерацемических, так называемых, метеоритных аминокислот, как вероятных индукторов асимметрии. На сегодняшний день известно, что в углистых метеоритах найдено по меньшей мере около 50 тысяч всевозможных органических соединений [68][69], из них около сотни — это аминокислоты [70][71]. В свою очередь, лишь несколько из метеоритных аминокислот были найдены в нерацемическом состоянии (например метеориты Murchison, Murray, Orgueil, Tagish Lake), причём с избытком L-энантиомеров (из многочисленных работ см. например [72][73][74][75][76][77][78][79]). Интересно,

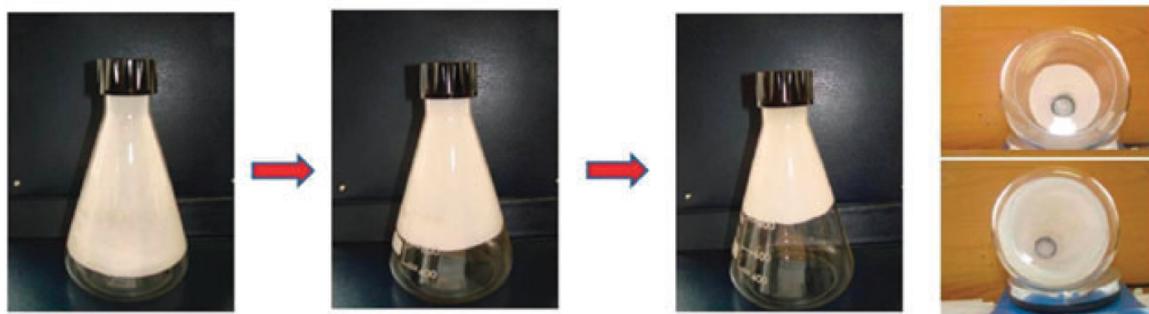
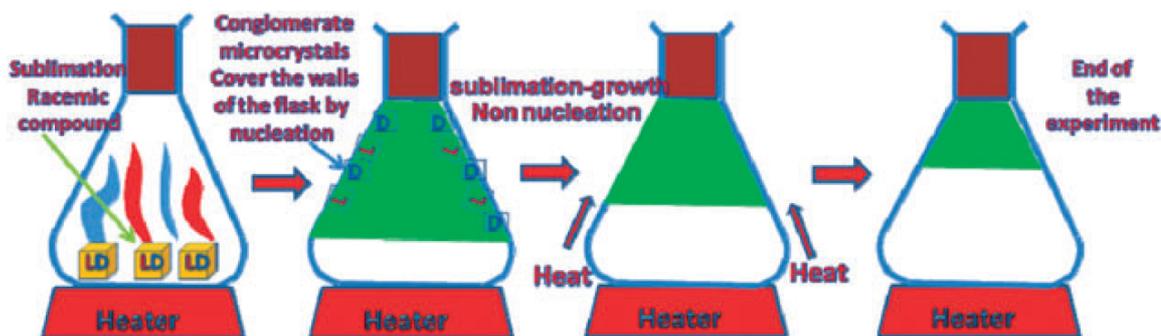
что за редким исключением, почти все нерацемические метеоритные аминокислоты являются четвертичными (Рисунок 1.5-4) и не входят в состав белков (непротеиногенные). Большое количество работ было посвящено изовалину (40) [80][81], среди других можно отметить  $\alpha$ -метилнорвалин (41)  $\alpha$ -метилвалин (42),  $\alpha$ -метилизoleyцин (43) [82].



**Рисунок 1.5-4.** Метеоритные аминокислоты найденные с энантиомерным избытком.

### 1.6. Изменение энантиомерного избытка нерацемических $\alpha$ -аминокислот в процессе высокотемпературной сублимации

Несколько лет назад группой испанских учёных (С. Viedma и Р. Cintas с коллегами) было обнаружено, что высокотемпературная сублимация нерацемических  $\alpha$ -алкил-аминокислот (валина (25) и изолейцина (19), Рисунок 1.5-2) приводит к некоторому росту энантиомерного избытка для смеси в целом. [83][84] Авторы оставили обнаруженный феномен практически без механистических объяснений, лишь предположив, что усиление оптической чистоты происходит за счёт околостеночной энантиомеризации. Ими, однако, были сделаны важные наблюдения полиморфных трансформаций истинных рацемических соединений в конгломераты, что оказалось критическим фактором для возможности асимметрического обогащения. Следует отметить, что несмотря на авторитетность журнала, где были опубликованы их статьи (Chemical Communications, Royal Society of Chemistry), у многих «классических» химиков-органиков их результаты вызвали большой скепсис. Из основных причин такого



**Рисунок 1.6-1.** Высокотемпературная сублимация нерацемических аминокислот в замкнутой системе.

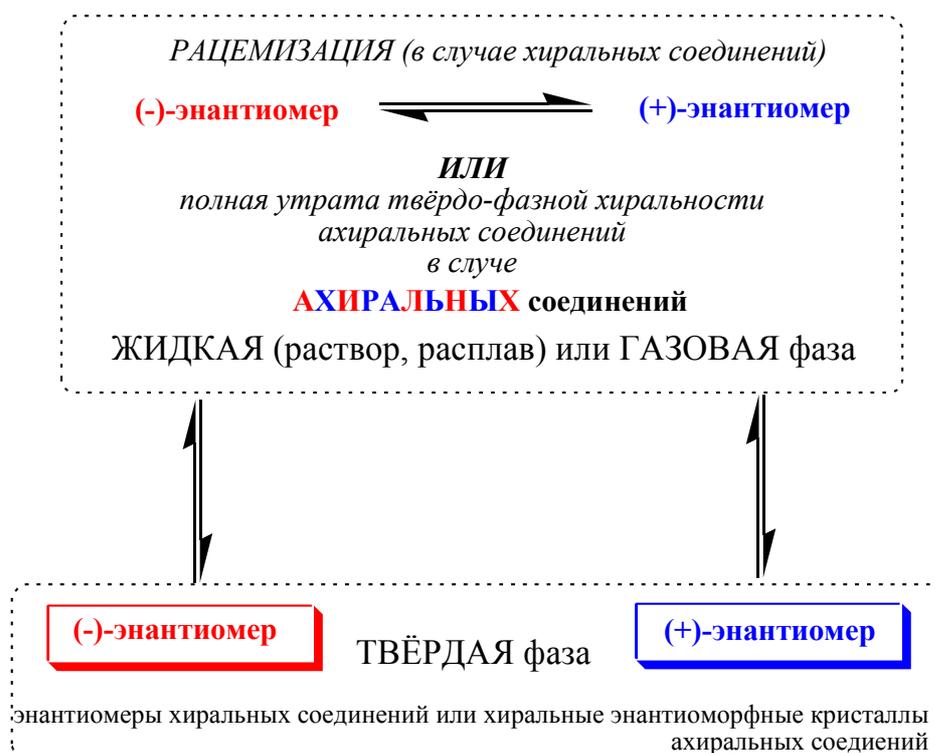
неприятя здесь, пожалуй, можно назвать как особенности проведения эксперимента (всыпание твёрдой смеси аминокислот в раскалённую до 430°C колбу, см. Рисунок 1.6-1), так и отсутствие анализа продуктов сублимации с использованием стандартного набора физико-химических методов (например, такие как, ЯМР, масс-спектрокопия). Хотя авторы и не провели очевидной аналогии, их результаты действительно могут быть интерпретированы в рамках асимметрических трансформаций второго рода для энантиомеров (см. раздел 1.7) в системе «твёрдая фаза — газ». До сих пор подобных примеров в литературе представлено не было, доказательством в пользу этого механизма могло бы послужить обнаружение рацемизации в газовой фазе.

## 1.7. Асимметрические трансформации конгломератов взаимопревращающихся энантиомеров и энантиоморфов

С практической точки зрения, асимметрические трансформации 2-ого рода конформационно стабильных органических соединений (в англоязычной литературе для 2nd order asymmetric transformations часто используется аббревиатура SOAT) являются одним из наиболее привлекательных подходов для получения чистых энантиомеров исходя из рацематов или их нерацемических смесей (см. [28], стр. 369-373; [44], стр. 315-322). В отличие от большинства классических методов разделения энантиомерных смесей, где, как правило вплоть до 50% являются отходы в виде второго ненужного антипода, асимметрические трансформации взаимодействующих энантиомеров теоретически могут давать 100-процентный выход (Схема 1.7-1, посредством рацемизации). Однако, одним из обязательных условий энантиобогащения является конгломератная природа рацемата.[85][86]. Следует отметить, что как это не парадоксально, именно рацемизация в одной из фаз (см. Схема 1.7-1), приводит к общему увеличению энантиомерного избытка в системе.

С другой стороны, исследование ещё менее изученного феномена спонтанного нарушения симметрии хиральных кристаллов ахиральных соединений (Схема 1.7-1, через потерю хиральности кристаллов в результате их фазовых переходов) может оказаться ключевым моментом для более глубокого понимания и моделирования тех же самых физических движущих сил, вызывающих спонтанную дерацемизацию хиральных органических соединений образующих конгломераты.

В кристаллическом состоянии, атомы или молекулы теоретически могут быть упакованы в одну из 230-ти пространственных групп, 65 из них (известные также как пространственные группы Зонке) представляют собой хиральные кристаллы. Из них, 22 (11 энантиоморфных групп) являются хиральными. Остальные 43 по существу являются ахиральными, однако кристаллы,



**Схема 1.7-1.** Асимметрические трансформации энантиомеров образующих конгломераты и спонтанное возникновение твёрдофазной гомохиральности энантиоморфных кристаллов.

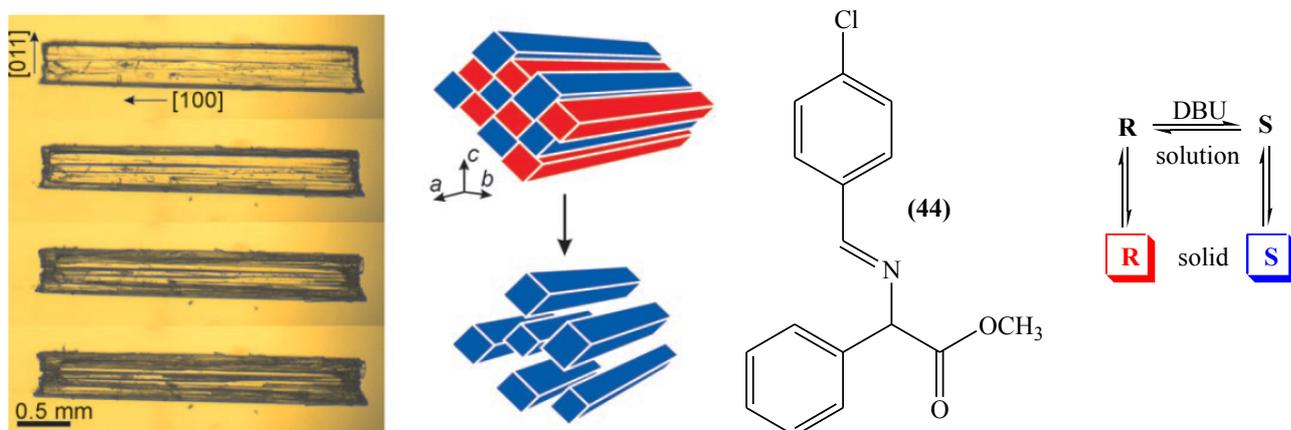
упакованные в одну из этих групп, всегда будут хиральными вследствие того, что их асимметрическая ячейка по определению должна быть хиральной — эти пространственные группы содержат только элементы симметрии первого рода (или собственные операции: трансляция, поворот и винтовой поворот) [87][88]. Чистые энантиомеры могут кристаллизоваться **исключительно** в одной из этих 65 групп.

С другой стороны, **ахиральные вещества** или даже рацематы, наряду с обычным образованием ахиральных кристаллов (165 пространственных групп), также **могут быть хиральными в одной из 65-ти групп Зонке, давая** такие образом *l* и *d* **энантиоморфные кристаллы**. Хотя, смесь содержащая эквивалентное количество «левых» и «правых» кристаллов является рацемической, в противоположность хиральным соединениям, эти смеси не могут быть названы конгломератами, что является распространённой ошибкой [87].

Следует отметить, что довольно часто бывает сложно провести точное различие между хиральными кристаллами ахиральных молекул и хиральными соединений с низким барьером рацемизации: многие органические вещества, считающиеся ахиральными, имеют конформеры соотносящиеся друг с другом как несовместимые зеркальные отражения. Эти хиральные конформеры могут быть стабилизированы в кристаллической фазе (например, бензофенон, дибензил и другие, см. например обзор [89]).

Двумя важными предусловиями для возможности динамического роста суммарного энантиомерного избытка или оптической чистоты в гетерогенной системе являются: (i) взаимопревращение энантиомеров или энантиоморфных кристаллов (рацемизация или полная потеря хиральности) в одной из фаз (чаще всего в растворе) (ii) отдельная кристаллизация энантиомеров (конгломератный тип рацематов) или энантиоморфных кристаллов. Недавно группа нидерландских исследователей продемонстрировала возможность асимметрических трансформаций даже в случае с эпитаксиальным конгломератом, индивидуальные кристаллы которого содержат оба энантиомера, но как чередующиеся домены, наложенный один на другой (Схема 1.7-2) [90].

В работе J.E. Hein с коллегами было показано, что в 24-ёх параллельных экспериментах по дерацемизации имида (45) 2 в твёрдой фазе в условиях его



**Схема 1.7-2.** Редкий пример эпитаксиального рацемического конгломерата (из статьи [90]) и его спонтанное усиление энантиомерного избытка в твёрдой фазе.

DBU катализируемой рацемизации в растворе, в 9 случаях был получен гомохиральный (R) изомер, 8 опытов дали энантиомерночистый (S), а 7 загрузок – так и остались рацемическими (Схема 1.7-3, график слева) [91].

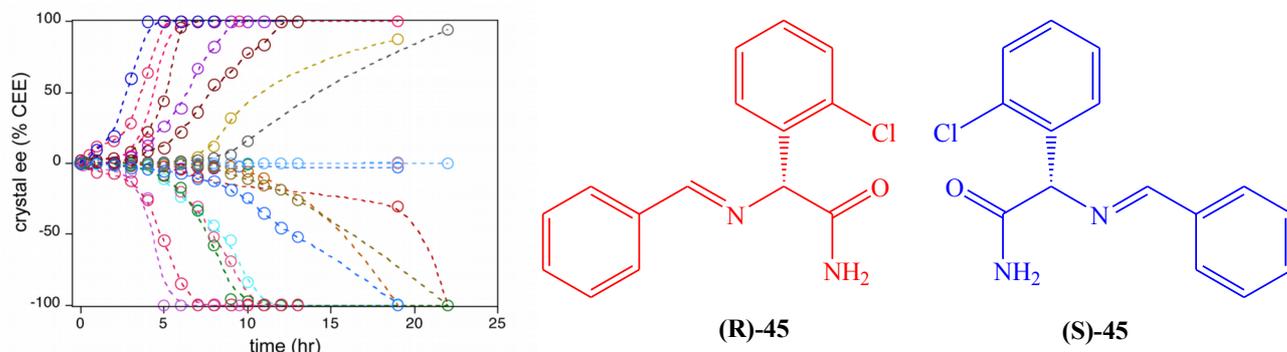


Схема 1.7-3. Пример спонтанной дерацемизации имида (45) [91].

Так, в случае с ахиральными соединениями, кристаллизующимися в виде энантиоморфных кристаллов, оба вышеуказанных требования выполнены: при растворении (или в результате какого-то иного фазового перехода - при плавлении, испарении), кристаллическая решётка разрушается и в растворе вещество теряет свои асимметрические свойства (так называемая «хиральная амнезия», термин был предложен D. Blackmond в 2007 году) [15]. Процесс обмена материи между двумя фазами ведущий к потере хиральности кристаллов можно сравнить с рацемизацией (Схема 1.7-1).

Одним из наиболее ярких и хорошо изученных примеров спонтанного нарушения симметрии является кристаллизация хлората и бромата натрия [92][93][94][95][96][97][98][99].  $\text{NaClO}_3$  и  $\text{NaBrO}_3$  кристаллизуются как хиральные кристаллы в кубической пространственной группе  $P2_13$ . Рост из водных растворов обычно приводит к хорошо оформленным, большим кристаллам, что позволяет проводить визуальное различие между их  $l$  и  $d$  формами, используя поляризационный микроскоп. Кристаллизация обеих солей при перемешивании происходит с нарушением зеркальной симметрии. Из недавних примеров дерацемизации энантиоморфных кристаллов ахиральных соединений также

можно упомянуть кристаллизацию 4,4'-диметилхалькона [100], этилендиаммоний сульфата, дифенил дисульфида, тетрафенилэтилена, гуанидин карбоната, гиппуровой кислоты, цитозина и аденозин динитрата и серия других органических соединений описанная в работе [101].

Для того, что бы понять причины спонтанного нарушения симметрии в процессе кристаллизации, рассмотрим для начала систему, где уже изначально есть некий избыток одного типа энантиомеров (или энантиоморфов) над другим. В результате потери хиральности в одной из фаз (например, в жидкой — рацемизация хиральных соединений или растворение хиральных кристаллов ахиральных) и так называемого Оствальдовского созревания в твёрдой фазе (рост больших кристаллов за счёт маленьких; применительно к хиральным веществам и кристаллам иногда используется также термин «Viedma ripening» созревание Виедмы) [102], кристаллы спонтанно увеличивают оптической чистоты, вплоть до энантиомерно- или энантиоморфночистого состояния. Теперь рассмотрим ситуацию, когда начальная смесь является рацемической. Как это было продемонстрировано экспериментально, всего есть 3 возможности: (i) твердая фаза либо остается рацемической без изменений или же (ii и iii) её состав случайным образом, с равной вероятностью начинает приобретать и постепенно увеличивать свою оптическую чистоту: в конце концов образуются (+) или (-) антиподы. Простые расчеты с использованием теории вероятности показывают, что в масштабе лабораторных загрузок вещества (скажем на 0.01 моль  $\sim 10^{21}$  молекул), в соответствии и нормальным распределением Гаусса, вероятность получить точно рацемический состав ничтожна [103][104][105]. Случайные флуктуации от идеального рацемического состава определяют результирующий эффект.

В заключение, следует отметить ещё один аспект интереса к получению энантиоморфночистых кристаллов ахиральных соединений. В литературе имеется ряд примеров показывающий возможность переноса хиральности кристаллической решётки на молекулярный уровень в процессе твёрдофазных

или гетерогенных реакций с участием хиральных кристаллов (Схема 1.7-4). Одно из первых превращений такого типа было описано в 1969 году [106]: ахиральный халькон (46) образует хиральные кристаллы, при обработки лево- или правовращающих монокристаллов (46) газообразным бромом образуется нерацемический дибромид (47) с энантиомерным избытком 6-25%. В 1989 году было показано, что фотохимическая циклизация ахирального diketона (48) (реакция Норриша, тип II) в хиральных кристаллах ( $P2_12_12_1$ ) даёт продукт (49) с высокой асимметрической индукцией (93% *ee*) [107]. На сегодняшний момент подобных примеров асимметрических фотохимических реакций в хиральных кристаллах описано уже значительное количество [22][108]. Особый интерес представляют хиральные металлоорганические соединения с асимметрическим центром на атоме металла. Так, например было обнаружено, что обычные реактивы Гриньяра, метилмагнийбромид (50а) и пара-толилмагний бромид (50б), при кристаллизации из 1,2-диметоксиэтана (DME), могут образовывать хиральные шестикоординированные комплексы (51), конфигурационно-

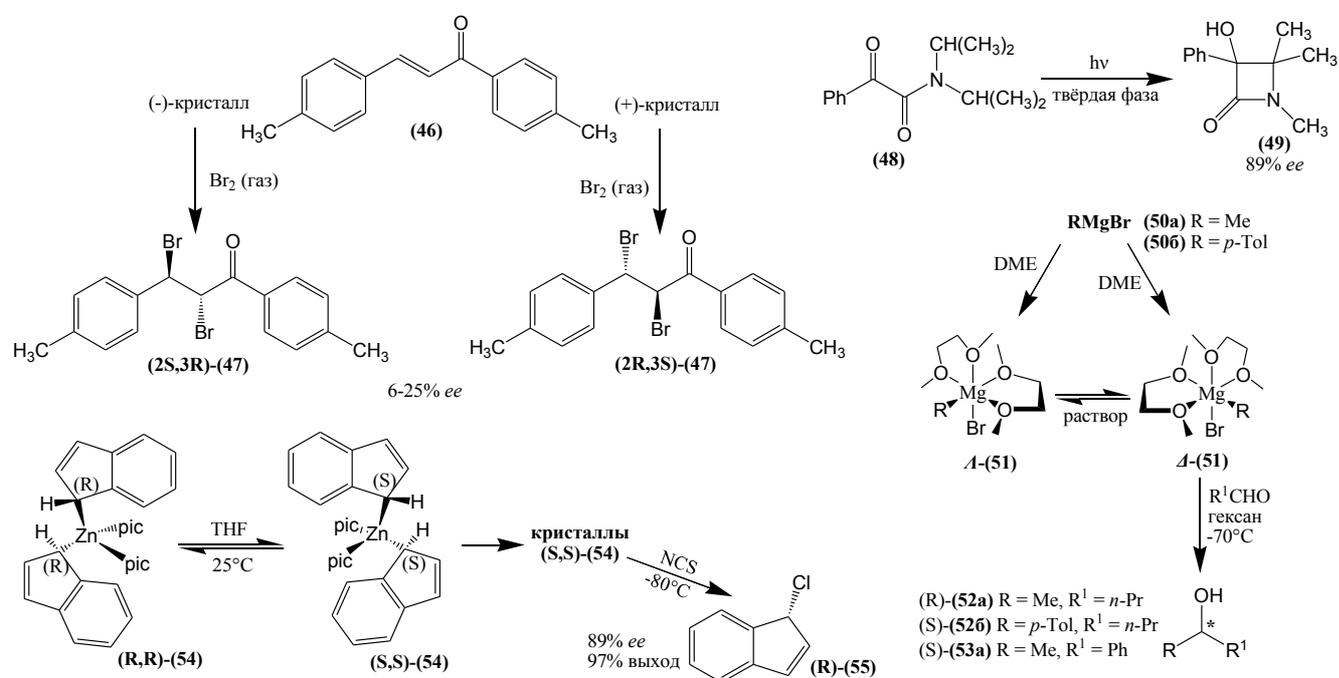


Схема 1.7-4. Примеры асимметрических реакций с участием хиральных кристаллов.

стабильные в кристаллическом состоянии и претерпевающие очень быструю рацемизацию в растворе [109]. Авторы показали, что используя только ахиральные исходные (**50**), посредством асимметрической трансформации (**51**) в энантиомерно чистые кристаллы, гетерофазная реакция Гриньяра с альдегидами приводит к получению нерацемических вторичных спиртов (**52-53**). Подобные превращения известны в литературе под названием «абсолютного асимметрического синтеза» (асимметрический синтез без асимметрических индукторов или хиральных вспомогательных средств) [110]. Другой пример тех же автором касается цинкорганического соединения (**54**): хлорирование его твёрдой взвеси (кристаллов одной хиральности) N-хлорсукцинимидом (NCS) при  $-80^{\circ}\text{C}$  даёт продукт 1-хлоринден (**55**) практически с количественным выходом и энантиомерным избытком 89% [111].

### **1.8. Недавние достижения в области применения хирально-модифицированных магнитных наночастиц**

Асимметрически модифицированные магнитные наночастицы относятся к категории новых и многообещающих материалов для асимметрического катализа, хирального разделения, выделения и очистки протеинов, манипуляции с другими биологическими объектами. Необходимо отметить, что общее количество работ, посвящённых исследованиям в этой передовой области, не превышает нескольких десятков. Значительная часть опубликованных результатов как по ахиральным, так и на тему асимметрических **MNP**-катализируемых реакций, была недавно детально проанализирована М.В. Gawande с коллегами в обзоре о наноманитных регенерируемых катализаторах [112].

Диссертантом были детально рассмотрены подходы модификации магнитных наноносителей металлокомплексами, в т.ч. катализаторами асимметрического синтеза. Прделанный анализ литературы был опубликован

автором диссертации в соответствующем разделе обзора «Recent advances in surface chemistry strategies for the fabrication of functional iron oxide based magnetic nanoparticles» в журнале *Nanoparticles (RCS)* за 2013 год [S. Szunerits, A.V. Tarasevych, V.P. Kukhar, R. Boukherroub and K. Turcheniuk. Advances in surface chemistry strategies for the fabrication of functional iron oxide based magnetic particles. *Nanoscale*. – 2013. – Vol. 5. – № 22. – P. 10729-10752] [27]. Тарасевичем А.В. были рассмотрены возможности магнитного разделения энантиомеров, регенерации катализаторов асимметрического синтеза под воздействие магнитного поля и методы магнитного выделения и очистки протеинов.

### **1.9. Заключение. Постановка задачи диссертационной работы**

Таким образом, детальный анализ литературы показал, что среди многочисленных подходов получения хиральных веществ в энантиомерночистом виде, в настоящий момент есть направления исследованные в недостаточной мере. Так, несмотря на заявленную перспективность сублимации, как экологически чистого метода обогащения нерацемических смесей, основные физико-химические закономерности изменения энантиомерного избытка в результате этого процесса до недавнего времени в литературе отсутствовали. Более того, малочисленные экспериментальные результаты породили независимые гипотезы, во многом противоречащие одна другой. Среди основных причин, здесь можно отметить отсутствие экспериментальных серий в стандартных условиях.

Помимо этого, следует отметить, что большинство исследователей, обнаружив факты изменения энантиомерного избытка хиральных природных соединений (напр. аминокислот, сахаров) во время их фазовых переходов, незамедлительно утверждают, что их результаты имеют непосредственное отношение к происхождению биологической гомохиральности и к зарождению жизни. Подобное отношение привело к большому числу спекуляций на данную

тему.

Изначально данная работа планировалась как исследование сублимации серии природных  $\alpha$ -аминокислот в стандартных условиях, в полном диапазоне значений энантиомерного избытка начальных смесей и с учётом их кристаллической природы. Основным толчком к исследованиям по данному направлению послужили публикации [33] и [53]; эксперименты планировались в соответствии с методологией описанной в работе [113]. Далее, исходя из работ [55] и [56] возник вопрос возможности дерацемизации летучих  $\alpha$ -аминокислот посредством кристаллизации и сублимации. Опубликованные несколько лет назад провокационные результаты по высокотемпературной сублимации  $\alpha$ -алкил- $\alpha$ -аминокислот не могли остаться незамеченными и были перепроверены [83][84].

Детальный анализ литературы на тему хиральности природных  $\alpha$ -аминокислот показал, что простейшая ахиральная  $\alpha$ -аминокислота глицин способна образовывать хиральные кристаллы [114]; вместе с тем асимметрические трансформации глицина до сих пор изучены не были.

Изучая вопросы изменения энантиомерного избытка  $\alpha$ -аминокислот, как правило рассматриваются и аспекты происхождения их гомохиральности в живой природе [13][15][21][56][65][84]. В связи с этим, постановка задач и осуществление экспериментов по энантиообогащению и дерацемизации осуществлялись принимая во внимание имеющиеся гипотезы относительно пребиотической химии  $\alpha$ -аминокислот.

## Глава 2. ЧАСТИЧНАЯ СУБЛИМАЦИЯ НЕРАЦЕМИЧЕСКИХ СМЕСЕЙ АМИНОКИСЛОТ

В данном разделе описаны результаты экспериментов по изменению энантиомерного избытка в результате медленной частичной сублимации нерацемических индивидуальных смесей аланина (Ala, **31**), валина (Val, **25**), лейцина (Leu, **19**), пролина (Pro, **33**) и фенилаланина (Phe, **21**) (Рисунок 2.1-1), результаты количественной сублимации различных хиральных форм аминокислот (**13-17**) и результаты параллельной сублимации аминокислот (**31**), (**25**) и (**19**). Исследовано поведение фторированного производного (**61**), получены зависимости изменения их энантиомерного избытка. Результаты детально проанализированы, проведены аналогии с имеющимися литературными данными.

Эксперименты по сублимации нерацемических смесей в полном диапазоне энантиомерных избытков (**а**) L+D Ala, (**б**) L+DL Ala, (**в**) L+D Val, (**г**) L+DL Val, (**д**) L+D Leu, (**е**) L+D Pro, (**ё**) L+DL Pro, эксперименты по параллельной сублимации смесей (**ж**) L+DL Ala, (**з**) L+DL Val и (**и**) L+DL Pro в полном диапазоне энантиомерных избытков и эксперименты (**й**) по сублимации многокомпонентных смесей Ala, Val и Leu были проведены непосредственно диссертантом Тарасевичем А.В в лаборатории профессора Guillemin J.-C в городе Рен. Дериватизация сублиматов аминокислот и хиральный газ-хроматографический анализ также проводился Тарасевичем А.В во Франции.

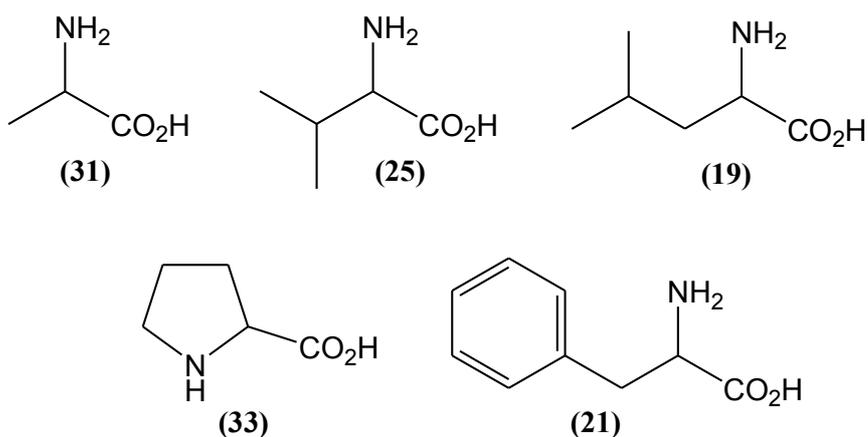
Эксперименты по количественной сублимации энантиомерночистых, истинных рацематов и кинетических конгломератов (**к**) Ala, (**л**) Val, (**м**) Leu, (**н**) Pro, (**о**) Phe осуществлялись Тарасевичем А.В. под руководством к.х.н. Сорочинский А.Е. в Киеве. Сублимацию отдельных смесей (**п**) L+DL Leu и серию (**р**) L+D и (**с**) L+DL Phe проводили французские студенты А. Bellec и А. Chollet.

Обработку и интерпретацию всех полученных данных (**а-р**), построение графиков и написание публикации [A.V. Tarasevych, A.E. Sorochinsky, V.P. Kukhar, A. Chollet, R. Daniellou, J.C. Guillemin. Slow Partial Sublimations of Enantioenriched

Amino Acids at Low Temperature. Is the Phase Transition Occurring via the Formation of a Eutectic Composition? *Journal of Organic Chemistry*. – 2013. – Vol. 78. – № 20. – P. 10530-10533.][19] проводились диссертантом Тарасевичем А.В. с руководством профессора Guillemin J.-С. Руководитель диссертации к.х.н. Сорочинский А.Е. вместе с д.х.н. Кухарем В.П. осуществляли научные консультации. Синтез фторированных производных (61-62) был осуществлён Тарасевичем А.В. под руководством Сорочинского А.Е. в ИБОНХ НАНУ; исследование сублимации (61) было проведено Тарасевичем А.В. в лаборатории Guillemin J.-С.

## 2.1. Сублимация индивидуальных нестереоизомерных смесей аланина, валина, лейцина, пролина и фенилаланина

Для исследования сублимации простых нестереоизомерных смесей, был использован подход описанный ранее в группе французских коллег [113][115]. В качестве объектов исследований были выбраны природные протеиновые  $\alpha$ -алкил аминокислоты аланин (Ala, 31), валин (Val, 25), лейцин (Leu, 19), циклическая аминокислота пролин (Pro, 33) и  $\beta$ -арил замещённая  $\alpha$ -аминокислота фенилаланин



**Рисунок 2.1-1.** Структуры аланина (31), валина (25), лейцина (19), пролина (33), фенилаланина (21).

(Phe, 21).  $\alpha$ -Алкил-аминокислоты являются термически очень стабильными органическими соединениями, могут быть нагреты до высоких температур без разложения и рацемизации. Например, энантиомерно чистые лейцин (19) и валин (25) (одни из наиболее стабильных) сублимируются при 500°C и атмосферном давлении **без** заметной **рацемизации** (хотя уже частично разлагаясь при этой температуре). Многие природные аминокислоты могут быть **количественно** просублимированы при относительно невысоких температурах в вакууме (около 150°C). Условия возгонки подбирались индивидуальным образом для каждой из аминокислот таким образом, что бы нерацемическая смесь медленно сублимировалась в вакууме при наименьшей возможной температуре. Продолжительность возгонки составляла от 4 до 16 часов. Температура устанавливалась таким образом, что бы в течении этого времени сублимировать несколько процентов от начальной массы (не более 2-3%). В каждой серии экспериментов использовался стандартный сублиматор, одно и то же начальное количество сублимируемой смеси. Вакуум масляного насоса контролировался манометром и составлял около 0.5 мм. рт. ст. Детальное описание проведения медленной сублимации описано в экспериментальной части (разд. 6.4-6.5).

Так как результирующий энантиомерный избыток зависит от кристаллической природы компонентов, приготовлению твёрдых смесей уделялось особое внимание. Нерацемические смеси с одним и тем же энантиомерным избытком могут быть приготовлены смешиванием истинного рацемического соединения DL (каковыми при нормальных условиях являются большинство протеиновых рацемических аминокислот, в том числе аланин, валин, лейцин, пролин и фенилаланин) и чистого энантиомера (L или D, в зависимости от желаемого избытка); либо смешиванием чистых энантиомеров (так называемый кинетический конгломерат, термин введён D.G. Blackmond в 2007 г.) [15]. Изначально, смеси основанные на DL (истинном рацемическом соединении) готовились тщательным растиранием компонентов в агатовой ступке. Однако, для лучшей воспроизводимости и исключения артефактов, предварительное

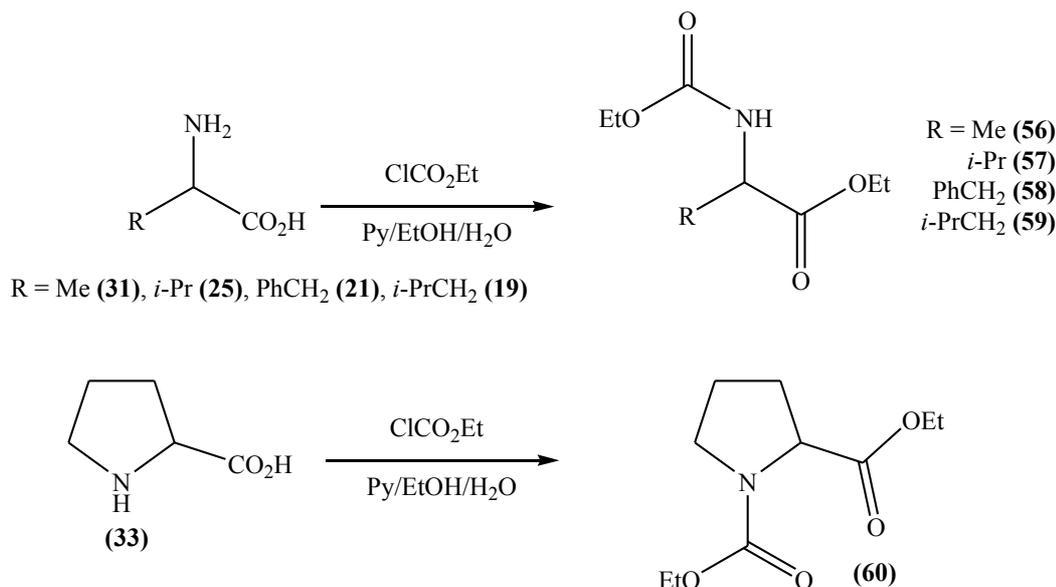
растворение в стандартном объёме растворителя, с последующим испарением раствора на роторе и досушиванием сухого остатка в вакууме масляного насоса при слабом нагревании (около 40-50°C), оказалось более уместным. Нерацемические смеси из чистых энантиомеров (L+D) готовились *исключительно* механическим растиранием, так как в процессе перекристаллизации происходит полиморфная трансформация в термодинамически более стабильные истинные рацематы (DL-форма). Все приведённые ниже данные были получены для смесей приготовленных вышеописанным образом. Также проводился контроль начального энантиомерного избытка.

Итак, серии нерацемических смесей аланина (**31**), валина (**25**), лейцина (**19**), пролина (**33**) и фенилаланина (**21**) с энантиомерным избытком от 5 до 95%, с интервалом между смесями в 5 - 10%, были сублимированы в стандартных условиях (начальная масса, температура, давление, время), используя обычный сублиматор. Наиболее летучим оказался пролин (**33**) (80° С); для сублимации фенилаланина (**21**) температура экспериментов была повышена до 140°C. Валин (**25**), аланин (**31**) и лейцин (**19**) сублимировались при 100°C.

Следует отметить, что в процессе сублимации при таких условиях, не происходит ни рацемизации, ни каких-либо других химических преобразований (разложение, полимеризация). Сублимация энантиомерночистых аминокислот не приводила к снижению их оптической чистоты, так и возгонка оптически неактивных рацемических смесей давала сублимат, ожидаемого рацемического состава. Изменение энантиомерного избытка является физическим процессом, что было подтверждено предыдущими исследованиями методом ЯМР с использованием радиоуглеродных меток [113].

Для определения соотношения между энантиомерами как в начальной смеси, так и в сублимате, образцы (> 1 мг) дериватизировались (см. раздел экспериментальной части **6.3**) и анализировались с помощью газ-хроматографа с хиральными капиллярными колонками (см. раздел **6.1**). Необходимость дериватизации обусловлена невозможностью газ-хроматографического анализа

свободных аминокислот. Общая схема образования более летучих, пригодных для



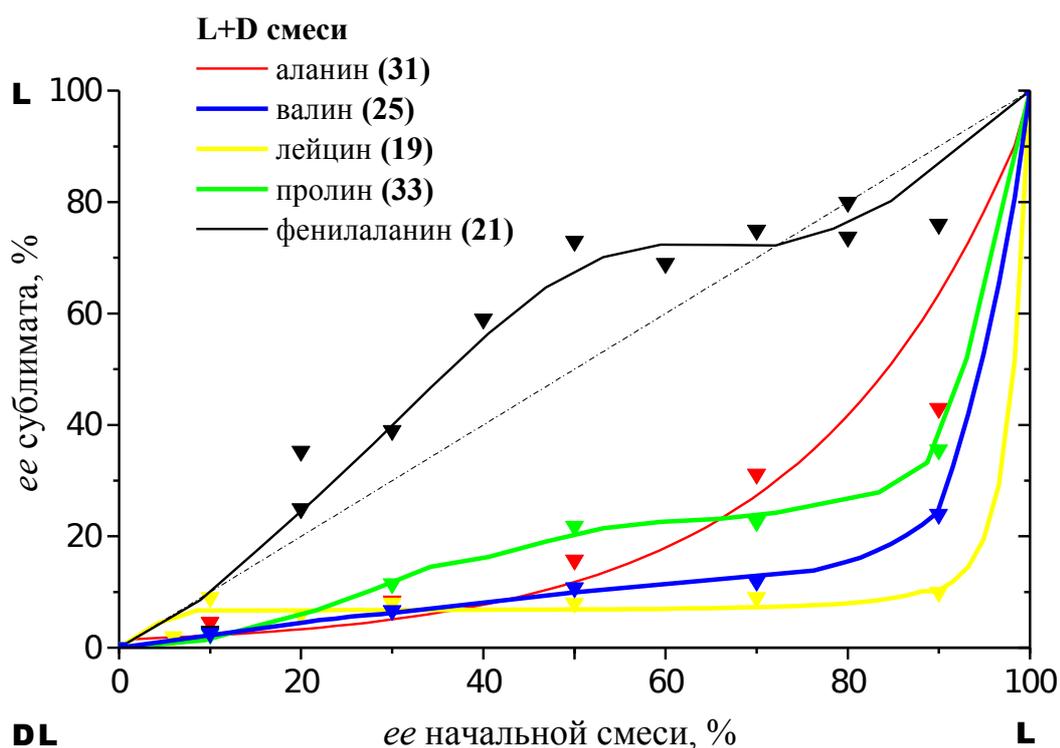
**Схема 2.1-1.** Получение летучих производных аминокислот для хирального газ-хроматографического анализа (см. разд. 6.3).

газ-хроматографического анализа N-этоксикарбонил этиловых эфиров аминокислот (56-60) приведена выше (Схема 2.1-1). Программы газового хроматографа для анализа энантиомеров производных аминокислот, времена удерживания на колонке и примеры газовых хроматограмм представлены в экспериментальной части.

### 2.1.1. Сублимация индивидуальных нерацемических L+D смесей

Рассмотрим и проанализируем результаты, полученные для «D + L» смесей вышеназванных α-аминокислот (19, 21, 25, 31, 33) (Рисунок 2.1-2, детальное описание проведения экспериментов и результаты хирального анализа приведены в экспериментальной части, разд. 6.5). На рисунке представлены результаты только для L обогащенных смесей, ряд результатов по сублимации смесей содержащих D-избыток представлены в экспериментальной части. Ось абсцисс соответствует энантиомерному избытку начальных смесей, ординат - сублиматов.

Как можно видеть, для подавляющего большинства нерацемических «L + D» смесей, частичная сублимация приводит к значительному энантиообеднению. Особым случаем является фенилаланин (21), который будет отдельно рассмотрен ниже. Основываясь на экспериментальных данных, можно утверждать, что медленная частичная сублимация механических смесей «L + D» аланина (31) (обозначен красным цветом), валина (25) (синим), лейцина (19) (желтым) и пролина (33) (зеленым) имеет четко выраженную тенденцию к ко-насыщения газовой фазы обеими энантиомерами в соотношении близким к рацемическому составу. Наиболее ярко выражено это наблюдается для валина (25) и лейцина (19). Например, сублимация 90% ее L-лейцина приводит к первоочередной сублимации смеси с энантиомерным избытком лишь 10%, а «L + D» смесь валина с 70-ым L



**Рисунок 2.1-2.** Изменение энантиомерного избытка нерацемических L + D смесей аланина (31) (красный), валина (25) (синий), лейцина (19) (желтый), пролина (33) (зеленый) и фенилаланина (21) (черный) в результате медленной частичной

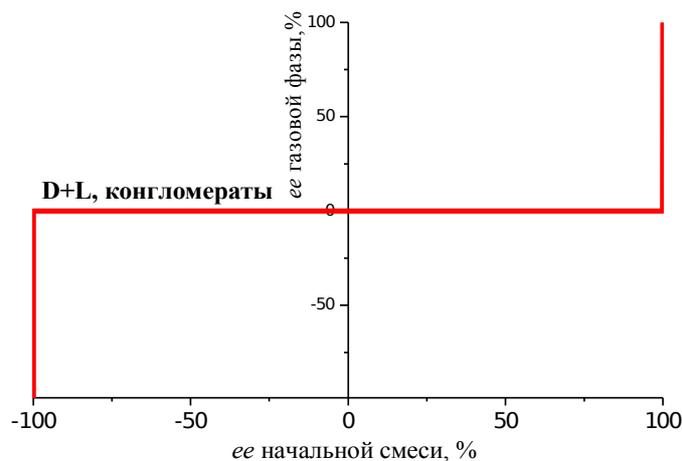
сублимации.

избытком - даёт сублимационную фракцию 12% ее. Нами также были проведены выборочные эксперименты с D-энантиомернообогащёнными «L + D» смесями (D-аминокислоты на порядок дороже, чем L, с чем была связана предпочтительная работа с L обогащёнными смесями). Само собой разумеется, что смеси с тем же абсолютным энантиомерным избытком (но с отрицательным значением) будут давать зеркально симметричные результаты. Из данных которые не представлены на графике, можно упомянуть сублимацию «L + D» 90% смесь D-энантиообогащённого валина, которая даёт 23% ее D-сублимат. Аналогично, 70% «L + D» D-Ala сублимируется с 25% D-избытком.

Для наглядности на графике представлена пунктирная линия, которая отображает гипотетический процесс, когда изменение энантиомерного избытка не происходит. Таким образом, все точки расположенные ниже этой линии — отображают процесс энантиообеднения, а выше — энантиообогащение. Снижение оптической чистоты для «L + D» смесей аланина и пролина несколько менее выражено, чем для валина (25) и лейцина (19), но, тем не менее, данные укладываются в общую концепцию независимого насыщения газовой фазы каждой из твёрдых энантиомерночистых фаз, которые по определению имеют эквивалентное давление насыщенных паров.

Рассмотрим идеальный случай равновесного насыщения газовой фазы смесью L и D энантиомеров. На рисунке 2.1-3 представлен график, отображающий постоянство состава газовой фазы независимо от энантиомерного избытка твёрдой смеси. Понятно, что помимо вопроса достижения равновесия, в реальных условиях при очень низких, так и при высоких значениях энантиомерного избытка, количества второй твёрдой фазы может попросту не хватить, для достижения насыщения газовой фазы. Экспериментальные данные, отображённые на графике 2.1-2, явно указывает на стремление системы к достижению равновесия для аланина (31), валина (25), лейцина (19) и пролина (33). Ситуация с фенилаланином (21) становится ясной, учитывая возможность

полиморфной «  $L + D \rightarrow DL$  » трансформации, на что косвенно указывают



**Рисунок 2.1-3.** Гипотетический идеальный случай равновесного ко-насыщения газовой фазы смесью L и D энантиомеров образующих конгломерат.

количественные эксперименты по возгонке энантиомерночистых и рацемических смесей (L+D и DL), обсуждаемые ниже.

Причина снижения энантиомерного избытка при сублимации L+D смесей заключается в эквивалентности давления насыщенных паров энантиомеров. В идеальном случае полного ко-насыщения газовой фазы обоими энантиомерами, для первой сублимационной фракции должен наблюдаться нулевой энантиомерный избыток (Рисунок 2.1-3). Однако, в реальном эксперименте, для установления равновесия, необходимо время. Интересно отметить, что сублимация смесей аланина (31), валина (25), лейцина (19) и пролина (33) занимала 16 часов, а фенилаланина (21) — 4 часа. Во-вторых, хотя энантиомеры и имеют одинаковую скорость испарения по определению, их площадь поверхности в нерацемических смесях являются различными.

В этом месте уместно упомянуть одну из работ В. Солошонка с соавторами [116]. Исследуя кинетику сублимации рацемического и энантиомерночистого изопропил 3,3,3-(трифтор)лактата, исследователями было отмечено, что испарение твердых кристаллов из чашки Петри (вещество является уже

достаточно летучим при атмосферном давлении и при комнатной температуре) может быть описано уравнением скорости фазового перехода первого порядка. То есть, скорость испарения прямо пропорционально зависит от площади кристаллов. Напротив, проводя сублимацию из ампулы, скорость сублимации не зависела от количества твердого тела, и кинетика фазового перехода описывается в данных условиях уравнением нулевого порядка.

Принимая во внимание эти интересные экспериментальные наблюдения В. Солошонка с сотрудниками, рассмотрим теоретическую сублимацию L + D смесей в рамках полного кинетического контроля при полном отсутствии равновесия между твердой и газовой фазами. Скорость сублимации каждой из твердых фаз (L и D) в этом случае прямо пропорционально зависит от площади с которой происходит испарение. Константы скорости сублимации для обоих энантиомеров по определению одинаковы:

$$(i) \quad k_{\text{subl L}} = k_{\text{subl D}}$$

Однако, разная площадь поверхности  $S_L$  и  $S_D$  твердых фаз в нерацемических смесях будет приводить к тому, что скорости испарения энантиомеров будут разными:

$$(ii) \quad v_L \neq v_D, \text{ где } v_L = k_{\text{subl L}} \times S_L, \quad v_D = k_{\text{subl L}} \times S_D.$$

Так как соотношение скоростей испарения равно соотношению площадей фаз:

$$(iii) \quad v_L / v_D = S_L / S_D,$$

а площади кристаллов энантиомеров связаны соответственно с их мольными долями в нерацемической смеси, то сублимация нерацемических L + D смесей в неравновесном состоянии должна происходить **без изменения энантиомерного избытка**. На Рисунке 2.1-2, гипотетический график такого процесса показан пунктирной линией.

Диссертантом были проведены количественные исследования сублимации различных хиральных форм (L, D и DL) аминокислот (19, 21, 25, 31, 33). Так как во время стандартных экспериментов возгонки нерацемических смесей, количество сублимированного материала составляло обычно несколько

миллиграммов, для проведения количественных исследований температура была повышена таким образом, чтобы сублимировать количество, достаточное для более точного взвешивания. Результаты приведены в экспериментальной части (раздел 6.6).

Проанализируем полученные данные, и сравним их с результатами сублимации нерацемических смесей. Первая закономерность, которая обращает на себя внимание: истинные рацемические DL соединения всех исследованных аминокислот (19, 21, 25, 31, 33) являются менее летучими чем энантиомерночистые L или D образцы. Напротив, механические смеси D + L (кинетические конгломераты) энантиомеров аланина (31), валина (25), лейцина (19) и пролина (33) оказались приблизительно в два раза (NB!) более летучими, чем чистые энантиомеры. Фактор  $\alpha\chi$  представляет собой соотношение между количеством сублимата полученного из кинетических конгломератов и сублимированных чистых энантиомеров.

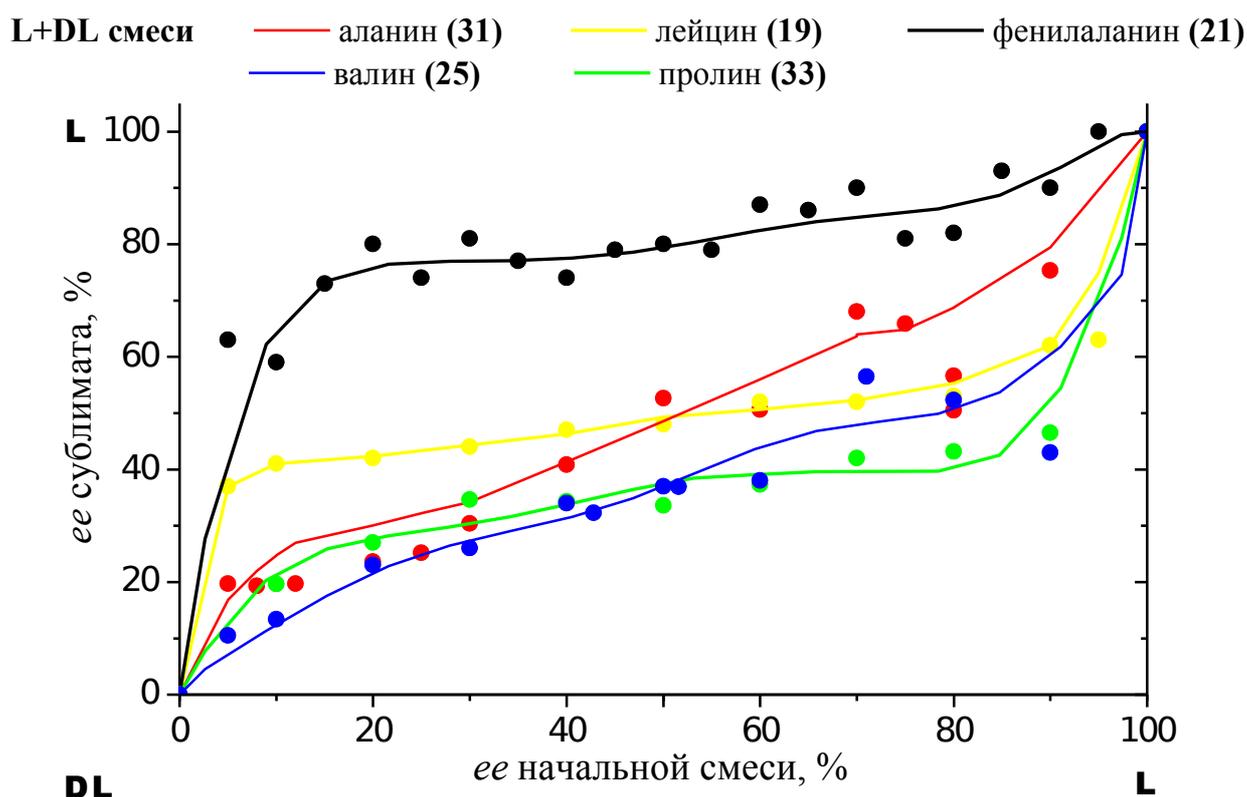
Таким образом, так называемое эмпирическое правило двойной растворимости В. Мейерхоффера для конгломератов [31][29], является справедливым и в случае сублимации. Ещё в начале прошлого столетия В. Мейерхоффером было обнаружено, что рацемические конгломераты имеют приблизительно **вдвое большую растворимость**, по сравнению с чистыми энантиомерами. Феномен имеет следующее объяснение — каждый из энантиомеров независимо друг от друга устанавливает своё равновесие с раствором. Таким образом, в идеальном случае — при отсутствии каких-либо взаимодействий между энантиомерами в растворе — общая растворимость рацемических D+L смесей должна быть ровно в два раза выше, чем для каждого из энантиомеров по отдельности. Отклонение от  $\alpha\chi = 2$ , характеризует диссоциацию в растворе, степень сольватации. Интересно, что в 1904 году В. Мейерхоффером было сделано предположение, что вакуум можно рассматривать как идеальный растворитель, который не взаимодействует с молекулами газа (см. обсуждение в монографии [28], стр. 183). Следовательно между системами

растворов оптических изомеров «твердая фаза — раствор» и соответствующими равновесными процессами с газовой фазой, можно проводить прямые аналогии (единственное, принимая во внимание тот факт, что в экспериментальных условиях насыщение растворов достигается гораздо быстрее). Наиболее важный вывод из результатов количественной сублимации D + L смесей, приведенных в данной диссертационной работе, заключается в том, что каждая из твердых энантиомерночистых фаз действительно пытается установить своё независимое равновесие с газовой фазой, что приводит к удвоению количества сублимата и к энантиообеднению при сублимации нерацемических D + L смесей. Хотелось бы отметить, что **приведенные экспериментальные данные (см. разд. 6.6) являются второй опубликованной верификацией правила Мейерхоффера для систем «твёрдое тело — газ».** Впервые аналогичные измерения были проведены в 90-ых годах для 2,3-дибромбутан-1,4-диола, который является конгломератом; для сравнения поведения с истинным рацемическим соединением был выбран диметил O,O'-диацетилтарtrat [117].

Иное поведение проявляет фенилаланин (21): в большинстве из экспериментов, сублимация D + L механических смесей его энантиомеров приводила к незначительному повышению оптической чистоты, а количественные исследования обнаружили, что, хотя кинетический конгломерат и является несколько более летучим, чем истинное рацемическое DL соединение, вычисленный фактор  $\alpha_{\chi}$ , характеризующий относительную летучесть кинетического конгломерата, имеет значение лишь 0.59. Кроме того, кривая изменения энантиомерного избытка (Рисунок 2.1-2, черный цвет) имеет выраженное плато примерно от 50 до 90% ее начальных смесей на уровне 70%. Наиболее вероятное объяснение такого поведения - частичная полиморфная трансформация искусственной D + L смеси в термодинамически стабильную DL форму.

## 2.1.2. Сублимация индивидуальных нерацемических L+DL смесей

Рассмотрим сублимацию нерацемических смесей аминокислот (19, 21, 25, 31, 33), содержащих две твердые фазы с различными физическими свойствами, а именно энантиомерночистую (L или D) и истинное рацемическое соединение DL. Результаты изменения энантиомерного избытка представлены на рисунке 2.1-4. Детальное описание проведения сублимации и результаты хирального газ-хроматографического анализа приведены в экспериментальной части (разд. 6.4). Большинство опытов были проведены с L обогащенными смесями, однако выборочная сублимация D-обогащённых нерацемических смесей дала

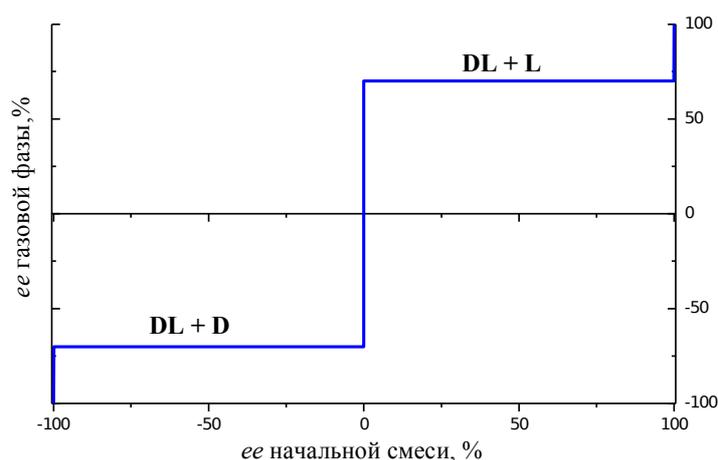


**Рисунок 2.1-4.** Изменение энантиомерного избытка нерацемических DL + L смесей  $\alpha$ -аминокислот (19, 21, 25, 31, 33) в результате медленной частичной сублимации.

абсолютные значения энантиомерного избытка, соответствующие данным для аналогичных L + DL смесей.

Первое наглядное отличие от D + L смесей (Рисунок 2.1-2) — сублимация смесей с низким энантиомерным избытком происходит с энантиообогащением, и наоборот, нерацемические смеси с незначительным содержанием DL фазы дают энантиообеднённый сублимат.

Наиболее интересным является наблюдение тенденции к постоянству энантиомерного состава газовой фазы независимо от энантиомерного избытка в твердой смеси. Это очень ярко проявляется для лейцина (19), пролина (33) и фенилаланина (21): кривые изменения энантиомерного избытка имеют выразительные плато (рис. 2.1-4, жёлтая, зелёная и чёрная кривые, соответственно). Следует отметить, что отрезки этих кривых расположены под некоторым углом к оси абсцисс. Отсутствие параллельности плато и наличие постоянства только в определённом диапазоне значений характеризуют неидеальность термодинамического равновесия в системе. Гипотетический



**Рисунок 2.1-5.** Гипотетический случай равновесного ко-насыщения газовой фазы твёрдой смесью, содержащей рацемическое DL соединение и чистый энантиомер (L или D).

график зависимости состава газовой фазы в условиях полного равновесия с твёрдой фазой, содержащей рацемическое DL соединение, представлен на рисунке 2.1-5.

Исходя из рисунка 2.1-4, можно видеть, что для фенилаланина (21), начиная уже с 15 и заканчивая 90% ее, наблюдается относительно постоянный состав первых сублимационных фракций, которые лежат в пределах 75-90% ее. Для лейцина (19) это плато расположено на уровне 42-52% и наблюдается в пределах 10-80% ее начальных смесей. Для пролина ко-насыщение газовой фазы наблюдается в более коротком диапазоне начальных смесей: от 30 до 90% ее и значение эвотмического состава лежит в пределах 34-46% ее.

Сублимация нерацемических L + DL смесей аланина (31) и валина (25) хотя и приводит, как правило, к некоторому энантиобогащению при низких значениях ее стартовой смеси и энантиообеднению смесей с преимущественным содержанием энантиомерночистой фазы, полное отсутствие плато говорит о том, что для этих аминокислот установление равновесия требует других условий (в частности, что наиболее вероятно, больше времени). Для этих аминокислот аланина (31) и валина (25) более существенным является вклад кинетического контроля процесса. Следует отметить, что, принимая во внимание только различия в скорости сублимации между чистым энантиомером и соответствующим истинным рацематом, невозможно объяснить энантиообеднение. Рацемические соединения, как правило, менее летучи, чем чистые энантиомеры (данные в разд. 6.6) 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 и валина, можно утверждать, что система все же стремится к установлению равновесия, хотя и со значительным наложением кинетических факторов.

### 2.1.3. Заключение

Подводя промежуточные итоги, можно отметить, что в экспериментах по медленной сублимации индивидуальных нерацемических смесей  $\alpha$ -аминокислот различной природы, а именно (i) L + D, (ii) L или D + DL аланина (31), валина (25), лейцина (19), пролина (33) и фенилаланина (21) отчетливо наблюдается тенденция к установлению равновесия между твердыми кристаллическими и газовой фазой. Смеси с одним и тем же энантиомерным избытком, могут проявлять существенно различное поведение в процессе фазовых переходов.

## 2.2. Сублимация многокомпонентных нерацемических и других оптически активных смесей

Диссертантом была исследована сублимация нескольких многокомпонентных смесей аминокислот с близкой температурой возгонки: аланин (Ala, 31), валин (Val, 25), лейцин (Leu, 19). Результаты приведены в Таблице 2.2-1. Механические смеси нерацемических  $\alpha$ -аминокислот (31, 25, 19) прежде сублимации были перекристаллизованы из воды (см. экспериментальную часть, раздел 6.7).

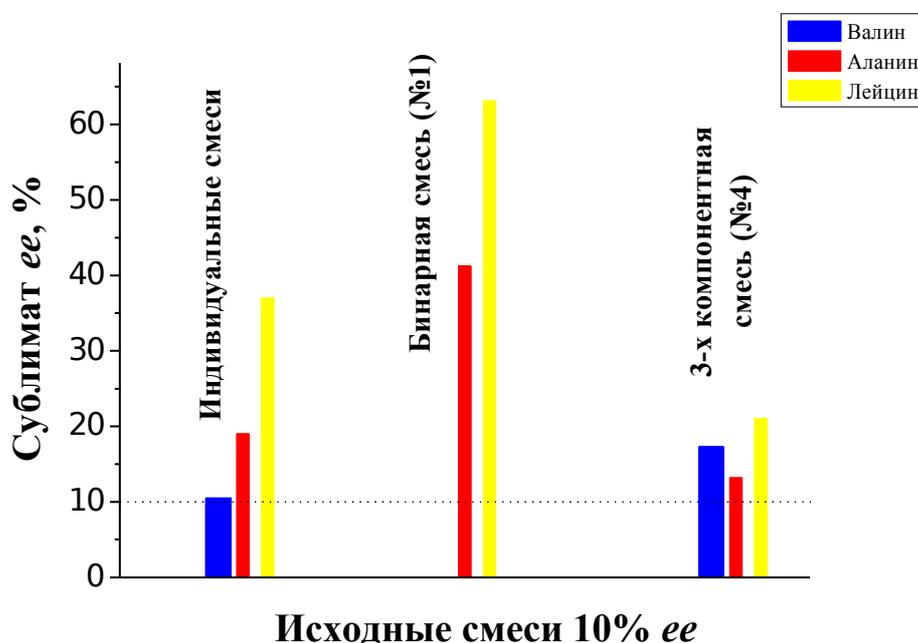
Таблица 2.2-1. Результаты сублимации бинарных и трёхкомпонентных смесей.

№	Начальная смесь <sup>a</sup> , % ee	Сублимат, % ee
1	10 L-Ala, 10 L-Leu	41.2 L-Ala, 61.3 L-Leu
2	70 L-Ala, 70 L-Leu	60.4 L-Ala, 78.4 L-Leu
3	70 L-Ala, 10 L-Leu	63.7 L-Ala, 46.1 L-Leu
4	10 L-Ala, 10 L-Leu, 10 L-Val	13.2 L-Ala, 20.9 L-Leu, 17.3 L-Val
5	70 L-Ala, 70 L-Leu, 70 L-Val	55.9 L-Ala, 67.2 L-Leu, 62.9 L-Val

<sup>a</sup>Одинаковые количества аминокислот в каждом из экспериментов. Суммарная масса 1 г. Условия сублимации: 14 часов, T = 95-100°C, давление ~0.5 мм рт. ст.

Анализируя данные Таблицы 2.2-1 довольно трудно найти общую закономерность. Так, сублимация бинарной смеси аланина (31) и лейцина (19) с 10% энантиомерным избытком приводит к выразительному усилению оптической чистоты (опыт №1): 41% ее для аланина (31) и 61% ее для лейцина (19), что лежит гораздо выше полученных значений для индивидуальных нерацемических смесей каждой из аминокислот. Однако, этот эффект нивелируется в трёхкомпонентной смеси (опыт №4), где уровень энантиобогащения является близким к индивидуальным смесям (для аланина (31) и валина (25)) или даже ниже, чем для 10% ее смеси лейцина (19) при её отдельной возгонке (Рисунок 2.2-1).

Сублимация смесей №3 и №5 даёт прогнозируемые результаты: энантиобогащение лейцина, имеющего изначально низкий энантиомерный избыток (10% ее); и энантиообеднение компонентов с 70% энантиомерным избытком (аланин (31), валин (25), лейцин (19)). С другой стороны, хотя и незначительное, но выразительное энантиобогащение лейцина (19) в опыте №2 с



**Рисунок 2.2-1.** Сравнительные диаграммы изменения энантиомерного избытка для индивидуальных и многокомпонентных смесей аланина, валина и лейцина.

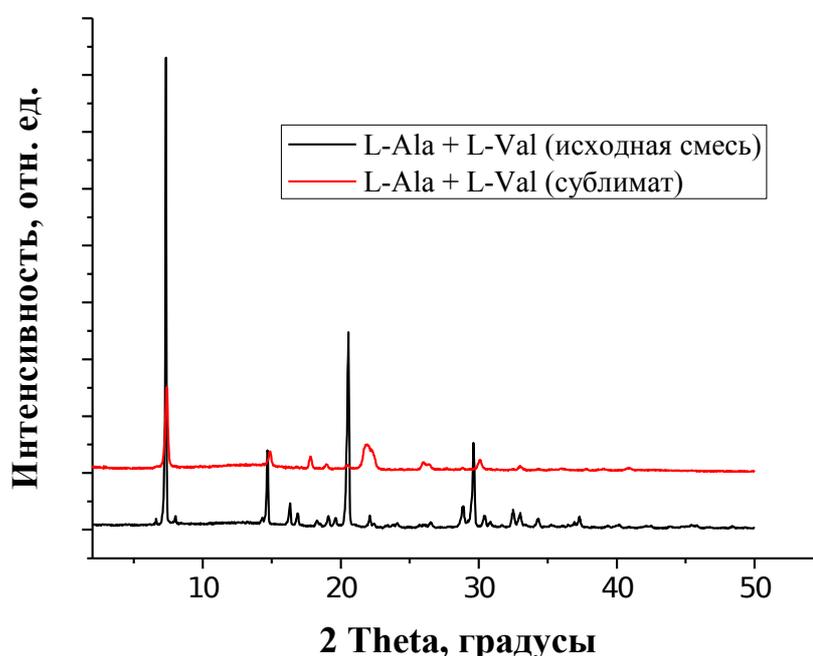
70 до 78% ее трудно поддается рациональному объяснению с точки зрения термодинамического контроля, наблюдаемого в опытах с индивидуальной нерацемической смесью. Очевидно, в случае с многокомпонентными смесями, во внимание следует принять феномен энантиоселективного включения одних аминокислот в кристаллические решетки других. Интересно, что энантиоселективная окклюзия и адсорбция была впервые обнаружена и детально исследована еще в восьмидесятых годах группой израильских учёных при изучении роста кристаллов аминокислот из растворов, содержащих энантиомерные смеси других аминокислот [22][118][119][120][121]. Это свойство значительно усложняет предсказания изменения энантиомерного избытка в процессе фазовых переходов аминокислот.

В самом простейшем случае, бинарная смесь нерацемических аминокислот изначально содержит 4 твердые фазы (две DL и, например, две L). В результате фазового перехода смесь может иметь уже в первом приближении восемь фаз: DL-АК<sub>1</sub> с включением L-АК<sub>2</sub> (5), DL-АК<sub>2</sub> с включением L-АК<sub>1</sub> (6), L-АК<sub>1</sub> с включением L-АК<sub>2</sub> (7) и L-АК<sub>2</sub> с включением L-АК<sub>1</sub> (8). Нельзя исключать также частично смешанные рацемические ко-кристаллы. Понятно, что такое усложнение физико-химической природы твердых смесей может приводить к значительным изменениям в определяющих факторах формирования энантиомерного избытка сублиматов.

Недавно группой американских ученых под руководством G. Cooks путём масс-спектрометрических исследований было показано, что большинство из  $\alpha$ -аминокислот существуют в газовой фазе в виде нековалентно-связанных олигомерных кластеров [13][122][123]. Особое место занимает серин, обладающий удивительным свойством гомохиральной самоорганизации в октамеры. Количество молекул в различных аминокислотных кластерах может достигать 12-ти единиц. Используя изотопно-меченные энантиомеры авторы обнаружили, что кластеры преимущественно имеют гомохиральное строение, то есть предпочтительным оказалось формирование (L)<sub>i</sub> и (D)<sub>i</sub>, чем гетерохиральных

образований типа  $(L)_x(D)_y$ . Сублимация смесей аминокислот привела к энантиоселективному встраиванию других молекул в кластеры: например, авторами была продемонстрирована замена  $L-AA_1$  на  $L-AA_2$ . Эти данные следует учесть при дальнейших исследованиях сублимации смесей нескольких соединений.

Для качественной демонстрации иной кристаллической природы смесей аминокислот, диссертантом была проведена совместная сублимация



**Рисунок 2.2-1.** Дифракция рентгеновских лучей порошка механической смеси L-Ala и L-Val (чёрный), после сублимации (красный).

энантиомерночистых аланина (**31**) и валина (**25**). На рисунке **2.2-1** представлены дифрактограммы рентгеновских лучей полученного сублимата и начальной смеси. Как можно видеть, помимо изменения интенсивностей, происходит и трансформация дифракционных рефлексов, появляется ряд новых пиков. В приложении приведены аналогичные ИК спектры смесей аланина (**31**) и валина (**25**), в которых также можно наблюдать изменения полос отвечающих валентным

C=O колебаний ( $1580 - 1630 \text{ cm}^{-1}$ ) и существенные изменения в области отпечатков пальцев (см. экспериментальную часть, раздел **6.8**).

Несмотря на неоднозначность выводов относительно структуры ко-кристаллов, метод дифракции рентгеновских лучей с порошков позволяет легко зафиксировать формирование новых фаз, полиморфные трансформации. Зная углы дифракции рентгеновских лучей чистых валина (**25**) и аланина (**31**), появление пика усложненной формы при  $2\theta$  21.3 - 22.9° и многих минорных сигналов, говорит о том, что сублимат состоит преимущественно из исходного валина и новой (или новых) фаз, соответствующих ко-кристаллам неизвестной строения. ИК спектроскопия также подтвердила эти выводы: сигналы C = O карбоксильных групп сублиматы более усложненными и многокомпонентными по сравнению с исходной смеси, что говорит об изменении окружения в кристаллических решетках аланина и валина.

Таким образом, фазовые переходы многокомпонентных смесей нерацемических аминокислот являются комплексными процессами, протекающими с образованием новых кристаллических фаз. Прогнозирование изменения энантиомерного избытка необходимо делать принимая во внимание физико-химические свойства новых ко-кристаллов. Исследование их строения является нетривиальной задачей и требует дальнейших как тщательных экспериментальных исследований, так и квантово-химических расчетов кристаллической решётки предполагаемых ко-кристаллов. В рамках данной работы эта задача поставлена не была.

### **2.3. Синтез и сублимация фторпроизводных аминокислот**

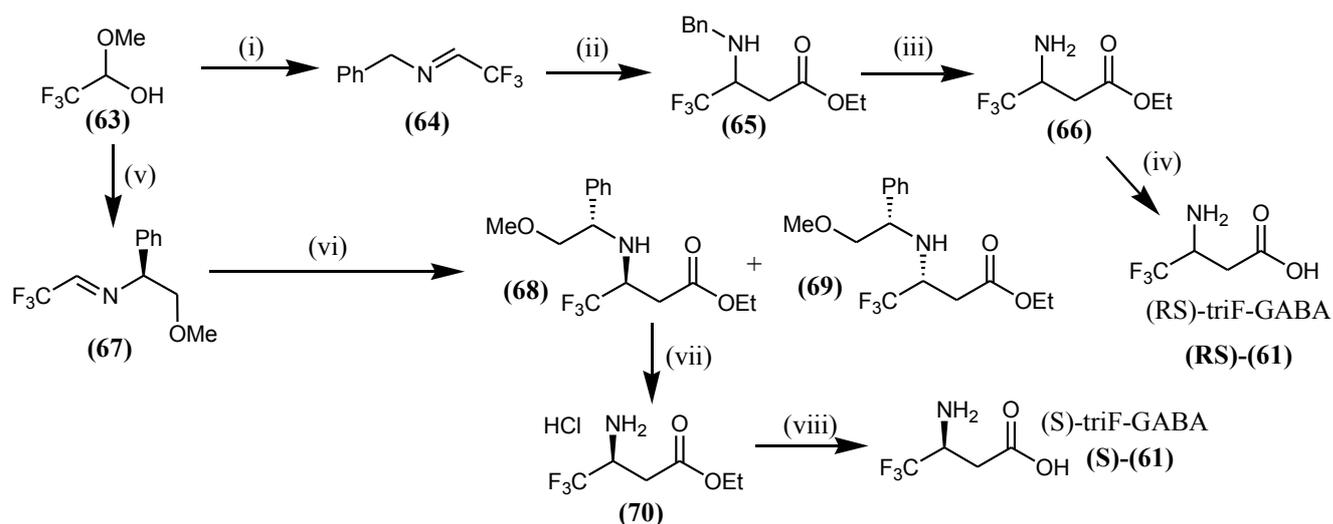
Продолжая исследования медленной частичной сублимации в вакууме, были синтезированы модельные соединения: рацемические и энантиомерночистые 3-амино-4,4,4-трифторбутановая кислота (**61**) (triF-BAVA,  $\beta$ -aminobutyric acid) и

3,3,3-трифтораланин (**62**) (triF-Ala). С целью демонстрации более общего применения подхода сублимации для энантиобогащения нерацемических смесей и поисков эвотмического состава мы провели серию экспериментов на более летучих фторпроизводных аналогах аминокислот. Известно, что зачастую фторорганические соединения имеют большую летучесть по сравнению со своими незамещенными аналогами. Фтор является наиболее электроотрицательным элементом, он имеет один из самых маленьких радиусов, и, как следствие, наименьшую поляризуемость. Это в свою очередь приводит к ослаблению межмолекулярных дисперсионных взаимодействий (силы Лондона) и к резкому изменению физических свойств фторорганических соединений. С другой стороны, в случае с аминокислотами, введение атома фтора в непосредственной близости к атому углерода, несущему аминогруппу, будет вызывать снижение электронной плотности на атоме азота, и, следовательно, стабилизировать больший вклад канонической нецвиттерионной структуры, что также может способствовать повышению летучести.

### **2.3.1. Синтез рацемической и энантиомерночистой 3-амино-4,4,4-трифторбутановая кислота**

Ниже приведена схема **2.3-1** синтеза (RS)- и (S)-triF-BAVA (**61**) в соответствии с описанными методиками [124][125][126][127][128]. В качестве исходного соединения в обоих случаях нами был использован метилполуацеталь трифторацетальдегида (**63**). Ключевой стадией синтеза рацемической формы (RS)-triF-BAVA является реакция Реформатского — присоединение цинкорганического интермедиата, который образуется *in situ* с эфира  $\alpha$ -бромуксусной кислоты, к N-бензилимину (**64**). Снятие бензильной группы с интермедиата (**65**) осуществлялось каталитическим гидрированием на палладиевом катализаторе (Pd на активированном угле). Дальнейший солянокислый гидролиз сложноэфирной

группы продукта (66) и трансформация гидрохлорида в свободную кислоту дал рацемическую аминокислоту (RS)-triF-BABA (RS)-(61). Для синтеза энантиомерно чистого фторированного аналога β-аминобутировой кислоты (S)-(61) был использован (S)-2-метокси-1-фенилэтиламин, который реагируя с исходным фторзамещённым полуацеталем (63) даёт хиральный имин (67).

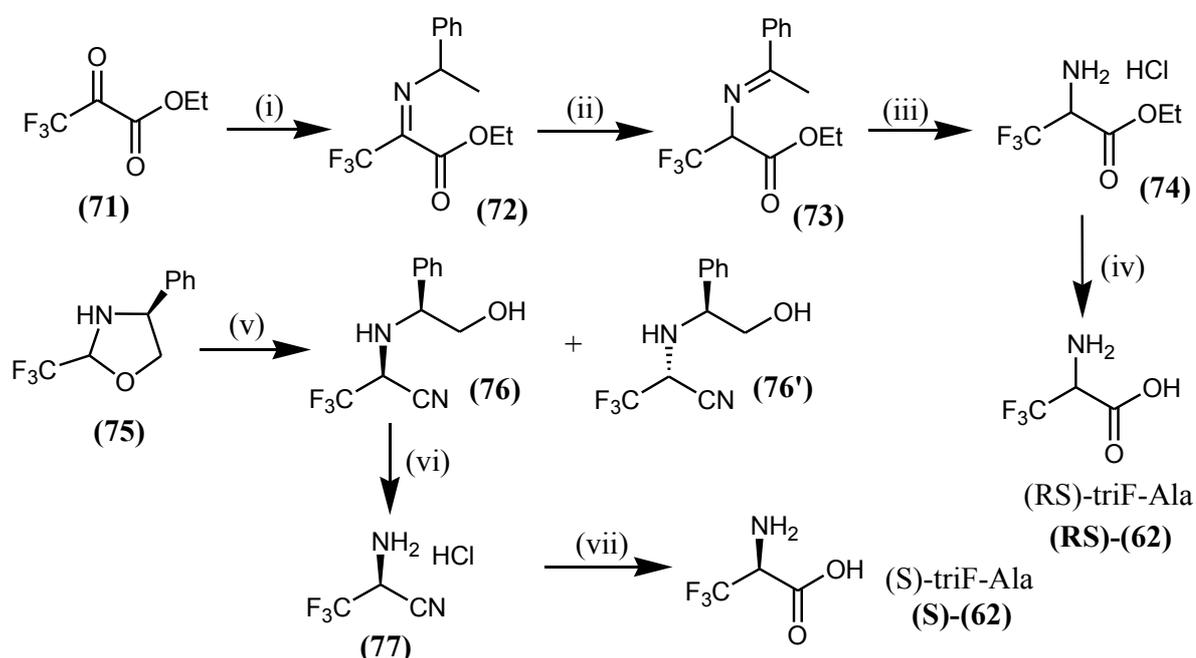


**Схема 2.3-1.** Синтез рацемической (RS)- и энантиомерно чистой (S)-3-амино-4,4,4-трифторбутановой кислоты (61). Условия, реагенты: (i) бензиламин, *p*-TsOH, кипячение в толуоле с насадкой Дина-Старка; (ii) реакция Реформатского, TMS-Cl (кат.), DMF; (iii) H<sub>2</sub>, Pd/C (iv) окись пропилена в MeOH; (v) (S)-2-метокси-1-фенилэтиламин, Ru·*p*-TsOH (кат.), толуол, кипячение, 12 часов; (vi) реакция Реформатского, THF; (vii) BBr<sub>3</sub>, затем Pb(OAc)<sub>4</sub>, HCl (3 M); (iv, viii) кипячение в HCl aq. (6 M), 12 часов, затем перемешивание при комнатной температуре с избытком окиси пропилена в метаноле.

Аналогично первому методу, присоединение цинкорганического интермедиата к (67), с последующим гидролизом промежуточного соединения, даёт смесь диастереомеров (68) и (69), которые были разделены методом колоночной хроматографии. Окислительное расщепление фенилглицинового фрагмента соединения (68) реакцией с тетраацетом свинца и дальнейший

гидролиз эфира (70) дал соответствующий гидрохлорид энантиомерно чистой (S)-triF-ВАВА (S)-(61). Выделение аминокислоты (S)-(61) в свободном состоянии было осуществлено реакцией с пропиленоксидом. Конечная очистка обоих продуктов ((RS)- и (S)-(61)) осуществлялась сублимацией в вакууме масляного насоса при 100°C.

Перед началом серии сублимационных экспериментов с 3,3,3-трифтораланином (62) (Схема синтеза 2.3-2), его энантиомерная чистота была перепроверена с помощью хиральной газовой хроматографии и измерения угла

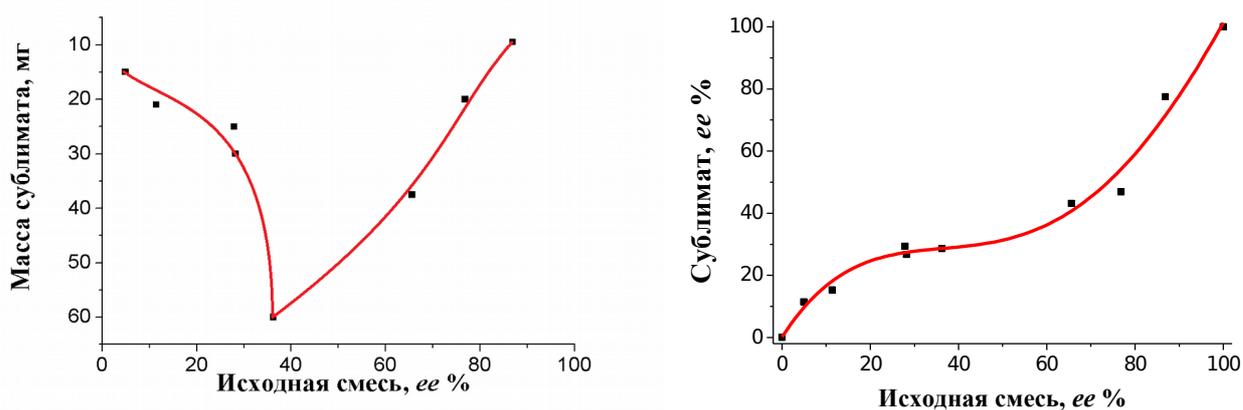


**Схема 2.3-2.** Синтез рацемического (RS)-(62) (V.A. Soloshonok 1997) [129] и энантиомерно чистого (S)-3,3,3-трифтораланина (62) (F. Huguenot 2006) [128]. (i) 1-фенилэтиламин, *p*-TsOH (1%), кипячение в толуоле; (ii) триэтиламин, 6 часов, RT; (iii) 1 М водн. HCl в смеси с диэтиловым эфиром, RT; (iv) кипячение в конц. водн. HCl, 12 ч; (v) TMS-CN, дихлорометан, BF<sub>3</sub>\*OEt<sub>2</sub>, выход 90%, dr 83:17, с последующим разделением диастереомеров (76) и (76') колоночной хроматографией; (vi) Pb(OAc)<sub>4</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> : MeOH (2:1); (vii) кипячение в водн. конц. HCl, 4 ч, общий выход 70% за две стадии. Свободные аминокислоты (62) получал обработкой гидрохлорида оксидом пропилена в MeOH.

вращения плоско-поляризованного света (автор диссертации проводил синтез RS- и S-triF-Ala (**62**) в Киеве, а сублимационные эксперименты в Рене с временным перерывом в несколько недель). Оказалось, что фторзамещённый аланин (S)-(**62**) является конфигурационно-нестабильным и претерпевает рацемизацию уже при комнатной температуре. Подтверждения рацемизации трифтораланина были найдены позже в литературе, об этом упоминают Т. Brigaud и М. Zanda с соавторами [130][131]. В связи с этим изменение энантиомерного избытка в процессе сублимации нерацемических смесей трифтораланина (**62**) не проводились.

### 2.3.2. Исследование изменения энантиомерного избытка нерацемических смесей 3-амино-4,4,4-трифторбутановой кислоты в процессе сублимации

Сублимация нерацемических смесей 3-амино-4,4,4-трифторбутановой кислоты (**61**) проводилась в соответствии с процедурой описанной в экспериментальной части (раздел 6.9). В каждом из экспериментов начальная



**Рисунок 2.3.2-1.** Слева: изменение энантиомерного избытка нерацемических смесей 3-амино-4,4,4-трифторбутановой кислоты (**61**) (S-энантиомерно-обогащённой triF-ВАВА); справа: зависимость количества сублимата от первоначального состава нерацемической смеси.

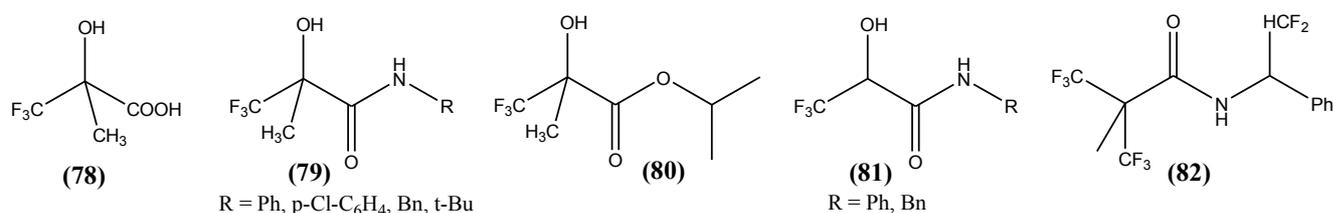
масса смеси составляла около 100 мг. Примерный энантиомерный избыток исходной смеси соответствовал массе энантиомерно чистой компоненты в миллиграммах. Для определения точного значения состава как сублиматов, так и сублимируемых смесей, образцы (~100 мкг) были продериватизированы (см. экспериментальную часть, раздел 6.9) и проанализированы методом хиральной газовой хроматографии. На рисунке 2.3.2-1 (слева) представлена зависимость энантиомерного избытка сублимата от состава исходной смеси. Как и для природных аминокислот рассмотренных выше (лейцин (19), фенилаланина (21)) можно наблюдать хорошо выраженное плато на уровне 35% *ee* в достаточно широком диапазоне состава начальных смесей: смеси примерно от 25 до 65% *ee* давали сублимат почти одного и того же состава. Эти данные подтверждают наличие некоего эватомотического состава, который имеет наибольшее давление насыщенных паров при данных условиях. Одновременно с изменением энантиомерного избытка, по разнице масс была вычислена масса каждого из сублиматов: нижняя часть сублимационного аппарата, содержащего смесь, взвешивалась до и после сублимации. График зависимости летучести (количество сублимата) от энантиомерного избытка исходной смеси представлен на рисунке 2.3.2-1 справа. Необходимо отметить, что эти экспериментальные данные отражают только половину теоретической фазовой диаграммы, а свойства смесей, содержащих избыток R энантиомера, должны быть зеркально симметричны. Резкий скачок повышения массы сублиматы наблюдался для смесей с энантиомерным избытком около 37%.

### **2.3.3. Заключение. Обсуждение полученных результатов в свете недавних публикаций группы В.А. Солошника**

Таким образом, как экспериментальные данные по определению энантиомерного избытка с характерным плато около 35% *ee*, так и результаты,

отражающие давление паров смесей, явно указывает на наличие состава (35 — 37% *ee*), который имеет наибольшее давление паров или соответственно наименьшую температуру сублимации. Данный состав, по аналогии с фазовыми диаграммами топки (эвтектика) или растворения (эватмотика), может быть назван эватмотической смесью.

Следует отметить, что в опубликованной за последние годы серии работ В.А. Солошонка, посвящённой изменению энантиомерного избытка трифторметил-молочной кислоты (**78**), сложного эфира (**80**) и амидов (**79**, **81**, **82**) (Рисунок 2.3.3-1) в процессе их сублимации, для объяснения феномена рассматривались исключительно кинетические факторы [9][16][14][17][32][116][132][133][134]. Авторами были исследованы  $\alpha$ -(трифторметил)молочная кислота и её производные (серия ароматических амидов и изопропиловый эфир). В зависимости от природы соединения было обнаружено, что относительная летучесть чистого энантиомера и соответствующего рацемата может менять свой порядок (для сравнения, все исследованные до сих пор примеры были описаны для веществ с большим давлением паров чистых энантиомеров, по сравнению с рацематами). Интересно отметить, что хотя чистый энантиомер имеет большую скорость возгонки, рацемат имеет более высокую плотность (что соответствует правилу Валлаха [135] (см. также [28], стр. 28-31).



**Рисунок 2.3.3-1.** Трифторметил-молочные кислоты и их производные.

На основании полученных результатов, В.Солошонок с сотрудниками в своих работах настаивают на ошибочности выводов, сделанных в фундаментальной монографии J. Jacques [28], с чем в свою очередь не могут

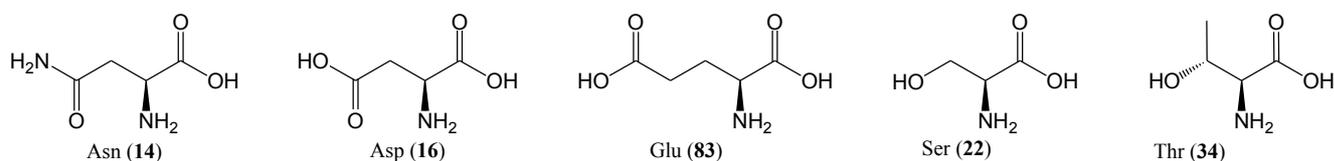
*полностью* согласиться диссертант и профессор J.-C. Guillemin. Неоднократные дискуссии, взаимные визиты, совместные семинары не привели к какому-либо консенсусу относительно этого ключевого вопроса. Мы полагаем, что кинетические факторы могут играть ключевую роль для ограниченного класса соединений и лишь в некоем диапазоне условий. В большинстве же случаев, исследователи сталкиваются с наложением обеих крайних форм контроля (кинетика versus термодинамика). Необходимо признать, что на сегодняшний день в литературе существуют существенные разногласия; общепризнанная теория объясняющая изменение энантиомерного избытка в процессе сублимации — отсутствует. Как уже было отмечено прежде, работы D.G. Blackmond предлагают ещё одно объяснение, основанное на точках эвтоники [15], а G. Cooks вообще говорит об особой роли кластеров в газовой фазе (которые, однако, были зафиксированы лишь для  $\alpha$ -аминокислот) [13][122][123].

### Глава 3. ДЕРАЦЕМИЗАЦИЯ $\alpha$ -АМИНОКИСЛОТ ПОСРЕДСТВОМ КРИСТАЛЛИЗАЦИИ И СУБЛИМАЦИИ ИХ ОПТИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СМЕСЕЙ

Все эксперименты, описанные в данном разделе были проведены непосредственно диссертантом Тарасевичем А.В в лаборатории проф. Guillemin J.-С. Интерпретация всех полученных данных, построение графиков и написание публикации [A.V. Tarasevych, A.E. Sorochinsky, V.P. Kukhar, J.C. Guillemin. Deracemization of Amino Acids by Partial Sublimation and via Homochiral Self-Organization. *Orig. Life. Evol. Biosph.* – 2013. – Vol. 43. – № 2. – P. 129-135] [18] проводились диссертантом Тарасевичем А.В. с руководством к.х.н. Сорочинского А.Е. и проф. Guillemin J.-С. Д.х.н. Кухарь В.П. осуществлял научные консультации.

#### 3.1. Дерацемизация аланина, валина, лейцина и пролина с применением избытка других энантиомерночистых нелетучих аминокислот (аспарагина, аспарагиновой и глутаминовой кислот, серина и треонина)

В данном разделе диссертации, рассматриваются процессы переноса гомохиральности, где в качестве индукторов используются энантиомерночистые аминокислоты. Для исследований, были выбраны пять  $\alpha$ -аминокислот — аспарагин (Asn **14**), аспарагиновая и глутаминовая кислоты (Asp **16**, Glu **83**), серин (Ser **22**), треонин (Thr **34**) (Рисунок 3.1-1). Выбор данных соединений был сделан по следующим параметрам: отсутствие заметной сублимации при рабочей температуре наших экспериментов, и что более важно — способность их рацемических смесей к гомохиральной самоорганизации. Две из них (аспарагиновая и глутаминовая кислоты **16** и **83**) недавно были найдены в углистом метеорите (Tagish Lake метеорит, «метеорит озера Тагиш») с очень



**Рисунок 3.1-1.** Аминокислоты использованные в энантиомерночистом виде для дерацемизации (приведены L-энантиомеры).

высоким энантиомерным избытком [136].

Следует отметить, что среди всех протеиногенных аминокислот существует лишь несколько, которые способны к формированию гомохиральных агрегатов: рацемические аспарагин (14) и треонин (34) кристаллизуются из водных растворов в виде обычных конгломератов [28]; смесь рацемических аспарагиновой (16) и глутаминовой кислот (83) даёт энантиомерночистые кристаллы в процессе кристаллизации из перенасыщенных растворов, например в пористом материале [137]; рацемической серин (22) способен к формированию гомохиральных олигомерных нековалентно-связанных кластеров в газовой фазе [123] и, более того, даёт практически энантиомерночистый водный раствор (> 99% ee) в эвтоничной точке, соответствующей состоянию равновесия и одновременного ко-насыщения водной фазы любой нерацемической смесью серина [62][63].

В наших исследованиях были использовали эти 5 аминокислот (АК<sub>1</sub>) (14, 16, 22, 34, 83) для демонстрации переноса их энантиомерной чистоты на другие хиральные летучие аминокислоты (АК<sub>2</sub>)— аланин (Ala 31), лейцин (Leu 19), валин (Val 25), пролин (Pro 33) (Рисунок 2.1-1). В стандартном эксперименте смесь, содержащую энантиомерночистую компоненту АК<sub>1</sub> (одна или несколько из 5 нелетучих аминокислот) и рацемическую АК<sub>2</sub> составляющую (одну или несколько летучих аминокислот Ala, Leu, Pro, Val), растворяли в воде, затем удаляли растворитель при пониженном давлении, а твёрдый остаток был медленно частично просублимирован. Общая схема процесса, отображающая комбинацию двух фазовых переходов — кристаллизацию и сублимацию,



**Рисунок 3.1-2.** Общая схема сегрегации энантиомеров рацемических летучих аминокислот DL-AK<sub>2</sub> (Ala 13, Leu 15, Pro 16, Val 14) и посредством ко-кристаллизации и сублимации с нелетучими энантиомерночистыми AA<sub>1</sub> (Asn 46, Asp 61, Glu 62, Ser 63, Thr 64). На рисунке, для примера показан вариант с D-AA<sub>1</sub>: процедура даёт L-энантиомернообогащённый сублимат АК<sub>2</sub>.

представлена на Рисунке 3.1-2.

В обычном эксперименте, смесь, содержащую около 1 грамма L или D энантиомерночистой нелетучей аминокислоты АК<sub>1</sub> (14, 16, 22, 34, 83) (или смеси этих нескольких энантиомерночистых аминокислот) с некоторым количеством рацемических летучих аминокислот АК<sub>2</sub> (19, 25, 31, 33) (см. Таблицы 3.1-1, 3.1-2 и 3.1-3), была растворена в 25 мл воды при нагревании и перемешивании. После охлаждения до комнатной температуры (на этой стадии не наблюдалось образования кристаллов), растворитель был удален испарением на роторе при температуре водяной бани около 40°C. Полученный твёрдый остаток был досушен в вакууме масляного насоса при небольшом нагреве (на тёплой водяной бане ~50°C) в течение 2-3 часов. После измельчения порошок был помещён в сублиматор всыпанием через воронку с длинным горлышком (тщательно избегая

попадания аминокислотной пыли на стенки аппарата). Возгонку проводили в течение 14 часов контролируя температуру масляной бани (100 - 105 ° С), при фиксированном вакууме масляного насоса (0.3 - 0.7 мм рт. ст.). Полученный таким образом сублимат растворяли в разведённой соляной кислоте (10 мл, 1 М). Солянокислый раствор испаряли на роторном испарителе, твердый остаток досушивали при 70°C в сушильном шкафу в течение нескольких часов до постоянной массы. Полученные твердые гидрохлориды, взвешивали и дериватизировали, как это описано в экспериментальной части (раздел 6.3).

Большинство данных хирального анализа отображены в нижеприведенных таблицах: в таблице 3.1-1 собраны данные по сублимации бинарных смесей, результаты сублимации бинарных смесей энантиомерного аспарагина с нерацемическим аланином (31) представлены в Таблице 3.1-2; данные по многокомпонентным смесям аминокислот приведены в Таблице 3.1-3.

### **3.1.1. Сублимация бинарных смесей рацематов летучих аминокислот с чистыми энантиомерами нелетучих**

Рассмотрим сублимацию бинарных смесей (Таблица 3.1-1). Как можно видеть, все сублимат состоят из нерацемических алифатических аминокислот АК<sub>2</sub> (19, 25, 31, 33). Энантиомерный лежит в пределах от одного процента вплоть до 47% ее. Величина дерацимизации зависит от природы исходной смеси. Смеси приготовленные из L-нелетучих аминокислот АК<sub>1</sub> (14, 16, 22, 34, 83) в каждом из экспериментов давали D-энантиомернообогащённый сублимат алифатических АК<sub>2</sub> и наоборот, используя избыток D энантиомеров АК<sub>1</sub> в качестве энантиомерно чистой компоненты, газ-хроматографический анализ показал, что возогнанные смеси представляют собой L-обогащенные АК<sub>2</sub>. Эти данные демонстрируют, что между энантиомерами различных аминокислот преимущественно доминирует L-L или D-D гомохиральное нековалентное

взаимодействие в твёрдой фазе. Анализ значений энантиомерного избытка показывает, что самые низкие показатели были получены для смесей серина (**22**) с валином (**25**) и лейцином (**19**) (эксперименты 8, 9), а лучшие при использовании треонина для дерацемизации аланина (**31**) и лейцина (**19**) (эксперименты 11,12,14).

**Таблица 3.1-1.** Результаты сублимации бинарных смесей.<sup>a</sup>

#	Начальная смесь <sup>b</sup>	Энантиомерный избыток сублимата, % (масса, мг <sup>c</sup> )
1	L-Asn + DL-Ala	9.1 – 13.6 D (1-2) <sup>d</sup>
2	D-Asn + DL-Ala	10.9 – 15.2 L (1-2) <sup>d</sup>
3	L-Asn + DL-Val	7.6 D (3)
4	L-Asn + DL-Leu	5.5 ± 4 D (1.5) <sup>d</sup>
5	L-Asn + DL-Pro	10.7 ± 2.0 D (6) <sup>d</sup>
6	D-Asn + DL-Pro	10.8 ± 4.7 L (9) <sup>d</sup>
7	L-Ser + DL-Ala	18.5 D (4.9)
8	L-Ser + DL-Val	1.1 D (5)
9	L-Ser + DL-Leu	0.4 D (3.5)
10	L-Ser + DL-Pro	8.9 D (12)
11	L-Thr + DL-Ala	38.2 D (<1)
12	D-Thr + DL-Ala	45.7 L (<1)
13	L-Thr + DL-Val	13.9 ± 3.6 D (2) <sup>d</sup>
14	L-Thr + DL-Leu	47.1 D (<1)
15	L-Thr + DL-Pro	8.1 D (6)
16	L-Glu + DL-Ala	14.0 D (<1)
17	L-Glu + DL-Val	13.4 D (4)
18	L-Glu + DL-Leu	9.4 D (2)
19	L-Glu + DL-Pro	3.7 D (9)

<sup>a</sup>T ~ 100 – 105°C, t = 14 часов; <sup>b</sup>Масса энантиомерно чистой нелетучей аминокислоты – 975 мг, летучей рацемической – 25 мг в каждом из опытов; <sup>c</sup>Масса гидрохлоридов; <sup>d</sup>Результаты основанные на 2 или 3 экспериментах.

### 3.2.2. Сублимация бинарных смесей нерацемических летучих аминокислот с чистыми энантиомерами нелетучих

Для большей наглядности предпочтительности L-L/D-D гомохиральной

аффинности была проведена серия сублимационных экспериментов с *нерацемическими* смесями аланина (31), пролина (33) и энантиомерночистым аспарагином (14) (Таблица 3.2-2). Было обнаружено, что сублимируя гетерохиральные смеси L-Asn и D-обогащенного Ala (эксперименты 1,2,4,5,7) или D-Asn и L-обогащенного Ala (эксперименты 3,6), во всех случаях происходит увеличение оптической чистоты аланина в сублимате. В процентном выражении значение прироста энантимерного избытка лежит в диапазоне от 7 до 28%. С другой стороны, в экспериментах с изначально гомохиральными смесями L-Asn и L-обогащенного Ala наблюдалось исключительно снижение энантимерного избытка сублимата. Следует отметить, что в связи с очень низким содержанием аланина в смеси с аспарагином в остатке после сублимации, проанализировать его энантиомерный избыток не представлялось возможным. Однако, можно с

**Таблица 3.1-2.** Частичная сублимация смесей L и D-аспаргина (14) с нерацемическим аланином (31) и пролином (33)<sup>a</sup>

#	Начальная смесь <sup>b</sup>	Начальный ее (Ala), %	Энантиомерный избыток сублимата, (Ala), %
1	L-Asn + Ala	12 D	24.8 ± 1.0 D <sup>c</sup>
2	L-Asn + Ala	35 D	63.2 D
3	D-Asn + Ala	35 L	60.8 L
4	L-Asn + Ala	62 D	69.9 D
5	L-Asn + Ala	64 D	71.0 ± 1.9 D <sup>c</sup>
6	D-Asn + Ala	64 L	72.0 ± 3.0 L <sup>c</sup>
7	L-Asn + Ala	80 D	89.8 D
8	L-Asn + Ala	13 L	4.3 L
9	L-Asn + Ala	25 L	12.4 ± 3.0 L <sup>c</sup>
10	L-Asn + Ala	80 L	72.9 L
		Начальный ее (Pro), %	
11	L-Asn + Pro	20 D	24.2 D
12	L-Asn + Pro	80D	90.7 D

<sup>a</sup>T ~ 100 – 105°C, t = 14 часов; <sup>b</sup>975 мг Asn, 25 мг Ala или Pro; <sup>c</sup>Результаты 2 – 3 экспериментов.

уверенностью утверждать, что во всех случаях значение *ee* невозогнанного аланина меняется в сторону энантиомерно чистого аспарагина.

Аналогичные результаты были получены с нерацемическими смесями пролина с начальными значениями энантиомерного избытка 20 и 80% D-изомера (эксперименты 11 и 12). Кристаллизация и последующая сублимация этих смесей с энантиомерно чистым L-аспарагином вызвала увеличение энантиомерного избытка пролина в сублимате до 24.2 и 90.7% для каждой из смесей, соответственно.

### **3.1.3. Сублимация многокомпонентных смесей рацематов летучих аминокислот с чистыми энантиомерами нелетучих**

Следующий вопрос, который был рассмотрен - поведение сложных многокомпонентных смесей. Следует подчеркнуть, что большинство существующих экспериментальных моделей пытающихся описать возможные процессы гомохирогенезиса не учитывают факторы связанные с взаимовлиянием веществ в смесях. Поведение отдельных чистых веществ, наблюдаемое в искусственных лабораторных опытах, зачастую не отражает реальных свойств тех же вещества, но в многокомпонентных смесях под действием широкого спектра физических сил в естественных условиях окружающей среды. Диссертантом была проведена серия опытов со смесями аминокислот (19, 25, 31, 33, 14, 16, 22, 34, 83). Данные представлены в таблице 3.1-3. Основной вывод, который можно сделать — сохранение общей тенденции дерацемизации, как это наблюдалось для более простых смесей. Однако, результирующий энантиомерный избыток сложным образом меняет своё значение для каждой из аминокислот и в ряде случаев наблюдается обращённое энантиомерное обогащение (эксперименты 9, 13, 14). Прогнозирование степени дерацемизации с повышением числа компонентов значительно усложняется.

**Таблица 3.2-3. Сублимация многокомпонентных смесей.<sup>a</sup>**

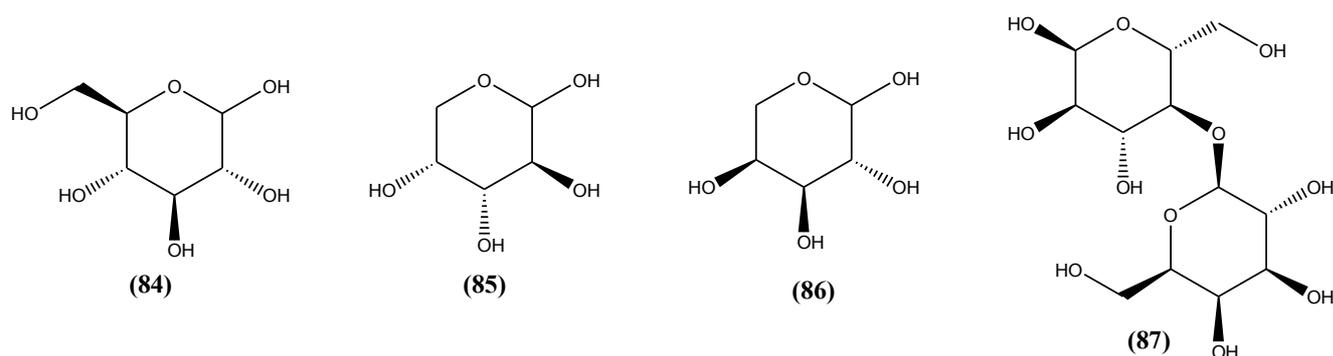
#	Начальная смесь <sup>b</sup>	ее сублимата, % (масса, мг <sup>c</sup> )
1	L-Asn (950), DL-Ala (29), DL-Val (23)	D-Ala 13.7, D-Val 6.1 (5)
2	L-Asn, DL-Ala, DL-Val, DL-Pro	D-Ala 25.8, D-Val 10.2, D-Pro 11.2 (18)
3	L-Asn, DL-Ala, DL-Val, DL-Pro	L-Ala 34.9, L-Val 15.5, L-Pro 7.1 (15)
4	D-Asn, DL-Ala, DL-Val, DL-Leu, DL-Pro	L-Ala 18.9, L-Val 11.4, L-Pro 1.9, L-Leu 3.9 (21)
5	DL-Asn, DL-Ala, DL-Val, DL-Leu, DL-Pro	~0% ее для всех аминокислот
6	L-Asp (450), L-Glu (450), DL-Ala, DL-Val, DL-Leu, DL-Pro	D-Ala 33.9 ± 3.4, D-Val 30.1 ± 4.7, D-Leu 17.3 ± 9.7, D-Pro 11.7 ± 0.9 (≤1) <sup>e</sup>
7	L-Glu, DL-Ala, DL-Val, DL-Leu, DL-Pro	D-Ala 25.1 ± 2.2, D-Val 4.6 ± 3.4, L, D-Leu 2 ± 1.50, D-Pro 6.9 ± 1.0 (1-2) <sup>e</sup>
8	L-Asn, L-Asp, L-Glu, L-Ser, L-Thr (200 x 5), DL-Ala, DL-Val, DL-Leu, DL-Pro	D-Ala 21.2, D-Val 15.3, D-Leu 2.7, D-Pro 4.7 (4)
9	L-Asn (981), DL-Ala (18), DL-Val (27), DL-Leu (23), DL-Pro (25), DL-Phe (21), DL-Met (26)	D-Ala 22, D-Val 5.3, L-Leu 7.3, D-Pro 2.2, Met – следовые кол-ва, Phe – не обнаружен (14)
10	L-Asn (775), Gly (200), DL-Ala (25)	D-Ala 15.4 (ND)
11	L-Asn (775), L-Ser (200), DL-Ala (25)	D-Ala 34.2 (ND)
12	L-Asn (200), Gly (775), DL-Ala (25)	D-Ala 1.1 (ND)
13	L-Ser, DL-Ala, DL-Val, DL-Leu, DL-Pro	D-Ala 17, D-Val 4.3, L-Leu 2.9, D-Pro 13.7 (20)
14	D-Ser, DL-Ala, DL-Val, DL-Leu, DL-Pro	L-Ala 4.3, L-Val 13.2, L-Leu 7.9, D-Pro 2.9 (15)
15	D-Thr, DL-Ala, DL-Val, DL-Leu, DL-Pro	L-Ala 5.9, L-Val 8, L-Leu 19.7, L-Pro 3.7 (6)

<sup>a</sup>100 – 105°C, 14 часов; <sup>b</sup>Если не указано, масса энантиомерно чистой аминокислоты составляет 975 мг, каждой из рацемических — 25 мг; <sup>c</sup>Гидрохлориды; <sup>d</sup>Диапазон значений полученный в 3 - 4 параллельных экспериментах.

### 3.2. Дерацемизация летучих аминокислот с использованием энантиомерночистых сахаров

Недавно в работе G. Cooks с соавторами масс-спектрометрически было показано, что серин способен к энантиоселективной агрегации в газовой фазе с образованием кластеров с глюкозой [123].

По предложению профессора J.-C. Guillemin, диссертантом была предпринята попытка осуществления дерацемизации тех же летучих аминокислот, с использованием той же процедуры совместной кристаллизации и последующей сублимации, но с использованием в качестве энантиомерночистой компоненты ряда сахаров: D-глюкозы (**84**), D-арабинозы (**85**), L-арабинозы (**86**) и D-лактозы (**87**) (Рисунок 3.2-1).



**Рисунок 3.2-1.** Сахара использованные в качестве энантиомерночистой компоненты.

Несмотря на частичную карамелизацию сахаров при температуре сублимации аминокислот, нам удалось провести серию экспериментов. Как видно из Таблицы 3.2-1, глюкоза и лактоза практически не вызывают заметного появления энантиомерного избытка; указанные значения *ee* лежат на грани обнаружения газ-хроматографическим анализом с пламенно-ионизационным детектором. Вместе с тем, арабиноза (**86**) вызвала значительную дерацемизацию валина (**25**) (9.7-9.8% *ee*); при этом знак энантиомерного избытка коррелирует с

хиральностью арабинозы: L-арабиноза (86) вызывает сублимацию D-энантиомернообогащённого валина (25), а D-(85) наоборот, L-нерацемической смеси валина (25). С другой стороны, как D, так L-арабиноза (86) индуцирует сегрегацию D-аланина (31) и L-лейцина (19). При использовании L-арабинозы (86) пролин (33) сублимируется из смеси с 15% энантиомерным избытком L-энантиомера, тогда как D-арабиноза вызывает сублимацию практически рацемического состава пролина.

Очевидно, наблюдаемые результаты связаны с наличием нескольких стереоцентров в энантиомерных молекулах, а также с одновременным разложением смесей в процессе их нагрева.

**Таблица 3.2-1.** Сублимация<sup>a</sup> смесей рацемических аминокислот с энантиомерными сахарами (65-68).

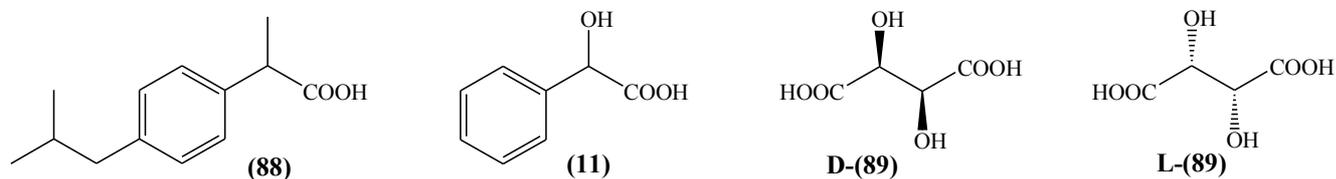
#	Начальная смесь (мг)	Энантиомерный избыток сублимата, % (масса, мг)
1	D-глюкоза (952) + DL-Ala (29) + DL-Val (22)	Ala ~0, D-Val 2.3 (10)
2	L-(-)-арабиноза (1021) + DL-Ala (26), DL-Val (20), DL-Leu (38), DL-Pro (15), DL-Phe (44), DL-Met (44)	D-Ala 19.5, D-Val 9.7, L-Leu 6.5, L-Pro 15.3, Phe и Met – не обнаружены (11)
3	D-(+)-арабиноза (1078) + DL-Ala (26), DL-Val (19), DL-Leu (39), DL-Pro (16), DL-Phe (53), DL-Met (63)	D-Ala 4.1, L-Val 9.8, L-Leu 2.6, D-Pro 1.2, Phe и Met – не обнаружены (13)
4	D-(+)-лактоза (1003) + DL-Ala (25), DL-Val (20), DL-Leu (39), DL-Pro (14), DL-Phe (46), DL-Met (58)	D-Ala 1.3, L-Val ~1, L-Leu 1.9, L-Pro 1 (16)

<sup>a</sup> 100 – 105°C, 14 часов

### 3.3. Попытка дерацемизации других классов соединений

Один из вопросов, который был рассмотрен в ходе экспериментов по дерацемизации, заключался в возможности переноса энантиомерной чистоты между соединениями различных классов. В частности, были предприняты

попытки дерацемизации ибупрофена (Ibu, **88**) и миндальной кислоты (MA, **11**). (Рисунок 3.3-1). Ибупрофен и миндальная кислота легко могут быть сублимированы в вакууме при невысоких температурах (35-40°C) [115].



**Рисунок 3.3-1.** Структуры ибупрофена (**69**), миндальной кислоты (**70**), L- и D-винных кислот (**71**).

Для экспериментов был использован описанный выше подход «кристаллизации — сублимации». Кристаллизацию исходных смесей осуществляли из смеси воды с метанолом с медленно сублимировали (14 ч) при в вакууме. Детальное описание приготовления смесей, условия сублимации и хирального газ-хроматографического анализа приведены в экспериментальной части (разд. 6.10).

**Таблица 3.3-1.** Сублимация рацемических ибупрофена (**88**) и миндальной кислоты (**11**) из смесей с энантиомерночистыми (**19**, **25**, **31**, **33**, **14**, **89**) и рацемическими компонентами (**19**, **25**, **31**, **33**).

#	Начальная смесь
1	L-Asn (975) + DL-MA (25)
2	D-Asn (975) + DL-MA (25)
3	L-Asn (975) + L-Ala, L-Leu, L-Pro, L-Val (25 каждой) + DL-MA (25)
4	L-Asn (975) + DL-Ala, DL-Leu, DL-Pro, DL-Val (25 каждой) + DL-MA (25)
5	L-TA (975) + DL-MA (25)
6	D-TA (975) + DL-MA (25)
7	L-Asn (975) + DL-Ibu (25)
8	D-TA (975) + DL-Ibu (25)

В качестве энантиомерночистых компонент были испробованы L- и D-аспарагин (Asn, **14**), L-аспарагин с добавками энантиомерночистых и рацемических аминокислот (**19**, **25**, **31**, **33**), L- и D-винные кислоты (TA, **89**). Состав исходных смесей представлен в Таблице **3.3-1**. Как миндальная кислота (**11**) (смеси 1-6), так и ибупрофен (**88**) (смеси 7-8) во всех случаях сублимировались без изменения энантиомерного состава, т.е. в исходном рацемическом состоянии.

### 3.4. Сублимация смесей летучих аминокислот

Диссертантом были изучены закономерности дерацемизации в бинарные смеси, где как рацемическая, так и энантиомерночистая компонента являются летучими аминокислотами. В частности, эксперименты проводились со смесями аланина (**31**) и валина (**25**). Условия приготовления образцов аналогичны для вышеописанных экспериментов (Раздел **2.2**). Результаты представлены в Таблице **3.4-1**.

Отличительная особенность результатов, по сравнению с рассмотренными в разделах **3.1.1** и **3.1.3**, заключается в изменении направлении дерацемизации в зависимости от соотношения между энантиомерночистой и рацемической

**Таблица 3.4-1.** Сублимация бинарных смесей аланина и валина.

#	Начальная смесь	Энантиомерный избыток сублимата, % (масса, мг)
1	L-Val (700), DL-Ala (300)	L-Val, D-Ala 5.9 (9.6)
2	L-Val (800), DL-Ala (200)	L-Val, D-Ala 6.0 (74)
3	L-Ala (700), DL-Val (300)	L-Ala, L-Val 9.2 (9.7)
4	L-Ala (950), DL-Val (50)	L-Ala, D-Val 6.8 (12)
5	D-Ala (700), DL-Val (300)	D-Ala, D-Val 6.5 (14)
6	D-Ala (950), DL-Val (50)	D-Ala, L-Val 6.7 (14)

<sup>a</sup> 100 – 105°C, 14 часов

компонентами. Избыток энантиомерно чистого валина (25) вызывает первоочередную сублимацию аланина (31) с D-избытком (эксперименты 1 и 2). При наличии большого избытка энантиомерно чистого аланина по отношению к рацемическому валину (опыты 4 и 6) направление дерацемизации сохраняется — в первую очередь происходит сублимация смеси, содержащей нерацемический валин обогащённый противоположным энантиомером, чем исходный аланин. Однако, при изменении соотношения между аминокислотами (эксперименты 3 и 5), сублимируется гомохиральная смесь аланина и валина. Этот интересный результат заставил нас пересмотреть результаты сделанные в разделах 3.1.1 и 3.1.3, на основании которых была опубликована работа Тарасевича А.В. с соавторами [18].

### **3.5. Сублимация бинарных смесей рацематов летучих аминокислот с чистыми энантиомерами нелетучих. Феномен обращения энантиоселективности.**

Изначально, эксперименты по дерацемизации летучих аминокислот (19, 25, 31, 33), описанные в разделах 3.1.1 и 3.1.3, проводились с использованием большого избытка энантиомерно чистых аминокислот (14, 16, 22, 34, 83). Исследование смесей, содержащих примерно одинаковые количества летучего рацемата и нелетучего энантиомерно чистого соединения, не показали образование заметного энантиомерного избытка в сублимате. После получения результатов по дерацемизации валина различным количеством энантиомерно чистого аланина (предыдущий раздел 3.4), аналогичные опыты с варьированием соотношения аминокислот были проведены и для нелетучих аспарагина (14), аспарагиновой кислоты (16) и треонина (64).

Рассмотрим результаты кристаллизации и последующей сублимации различных смесей энантиомерно чистого аспарагина (14) с аланином (31) в

различном соотношении (Таблица 3.5-1). Большой избыток энантиомерно чистого аспарагина вызывает сублимацию нерацемического аланина с избытком противоположного энантиомера, чем исходный аспарагин (эксперименты 5,6). Снижение содержания аспарагина в исходной смеси (смесь 4) привело к сублимации практически рацемического аланина. Опыты 1 и 2 с избытком рацемического аланина показали, что дерацемизация протекает с незначительным энантиомерным избытком (4.2 — 4.8%), но хиральность аланина в сублимате соответствует исходному аспарагину: L-аспарагин индуцирует сегрегацию L-аланина, а D-аспарагин — D-аланина, т.е. изменение соотношения между исходными компонентами привело к обращению энантиоселективности процесса.

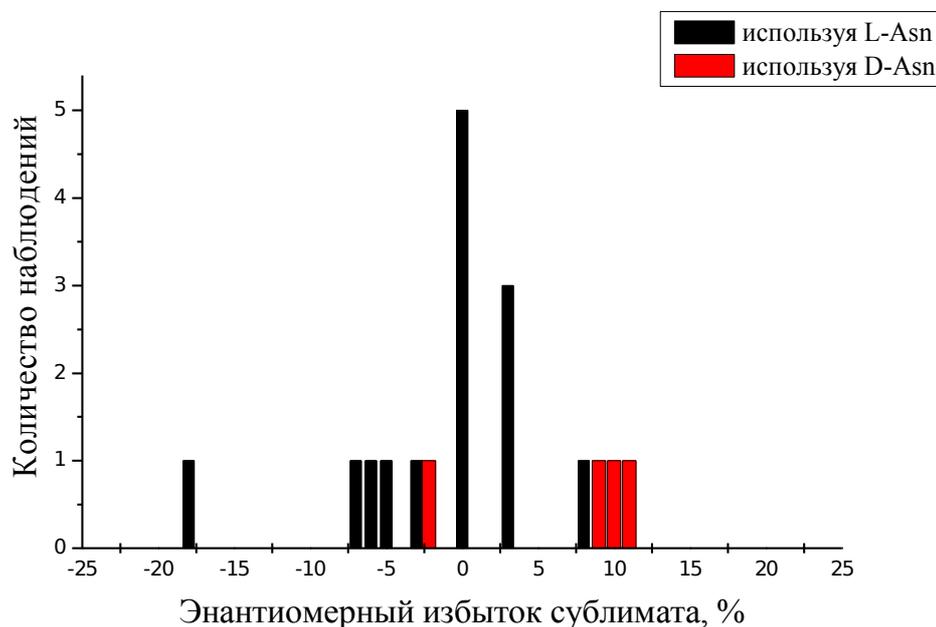
**Таблица 3.6-1.** Сублимация<sup>a</sup> аланина (31) из смесей с аспарагином (14).

#	Начальная смесь	Энантиомерный избыток сублимата, % <sup>b</sup>
1	D-Asn (100), DL-Ala (900)	D-Ala 4.8
2	L-Asn (100), DL-Ala (900)	L-Ala 4.2
3	D-Asn (330), DL-Ala (670)	D-Ala 6.6
4	D-Asn (670), DL-Ala (330)	DL-Ala ~0
5	L-Asn (975), DL-Ala (25)	D-Ala 9.1 – 13.6 <sup>c</sup>
6	D-Asn (975), DL-Ala (25)	L-Ala 10.9 – 15.2 <sup>c</sup>
7	L-Asn (597), DL-Ala (403) <sup>d</sup>	D-Ala 17.5
8	L-Asn (597), DL-Ala (403)	L-Ala 1.3
9	L-Asn (597), DL-Ala (403)	D-Ala 6.7
10	L-Asn (597), DL-Ala (403)	D-Ala 5.6
11	L-Asn (597), DL-Ala (403)	L-Ala 0.8
12	L-Asn (597), DL-Ala (403)	L-Ala 1.3
13	L-Asn (597), DL-Ala (403)	L-Ala 3.2
14	L-Asn (597), DL-Ala (403)	D-Ala 3.0
15	L-Asn (597), DL-Ala (403)	L-Ala 3.4
16	L-Asn (597), DL-Ala (403)	L-Ala 1.4
17	L-Asn (597), DL-Ala (403)	L-Ala 1.0
18	L-Asn (597), DL-Ala (403)	L-Ala 2.8
19	L-Asn (597), DL-Ala (403)	D-Ala 4.6
20	L-Asn (597), DL-Ala (403)	D-Ala 2.2

<sup>a</sup>T ~ 100 – 105°C, t = 14 часов; <sup>b</sup>Масса сублимата составляла 3-5 мг; <sup>c</sup>Результаты основанные на 3-ёх независимых экспериментах; <sup>d</sup>Молярное соотношение Asn : Ala = 1 : 1.

Тщательный анализ литературы показал, что феномен обращения энантиоселективности при изменении либо соотношения между исходными субстратами, либо при варьировании других условий протекания процесса, является очень редким. Схожие наблюдения можно найти в работах [138] и [139]. Стохастический выбор энантиомерного избытка при определённом соотношении между катализаторами, описанный в работе [138], навёл на мысль провести серию многократных экспериментов с эквимольным соотношением аспарагина и аланина (опыты 7-20). Для большей наглядности результаты 7-20 представлены в виде диаграммы зависимости частоты результата от энантиомерного избытка (Рисунок 3.5-1).

Эксперименты по варьированию соотношения между компонентами также были проведены для смесей треонина с валином (эксперименты 1-6, Таблица 3.5-2) и аспарагиновой кислоты с аланином (опыт № 7), лейцином (№ 8-10) и валином



**Рисунок 3.5-1.** Вероятностное распределение энантиомерного избытка при сублимации аланина из смеси с энантиомерночистым аспарагином (Asn:Ala 1:1).

(№ 11). Как можно видеть, при сублимации смесей валина с треонином, со значительным содержанием рацемической фазы (опыты №1-2, 4-6), происходит сублимация нерацемического валина той же хиральности, что и исходный треонин (L-треонин приводит к сегрегации L-обогащённого валина). Опыт с избытком энантиомерно чистого треонина (№3) дал рацемический сублимат (энантиомерный избыток в пределах ошибки хроматографа). В параллельных экспериментах с эквимольной смесью треонина и валина (№4-6) наблюдался разброс значений *ee*, что также может свидетельствовать о случайном характере процесса при данном соотношении аминокислот.

Таким образом, на основании полученных данных можно утверждать, что при наличии энантиомерно чистой фазы в избытке, в неё происходит энантио-селективная окклюзия или встраивание другой аминокислоты с той же хиральностью [140]; как следствие, в сублимате наблюдается энантиомерный избыток противоположного энантиомера. Например, избыток L-Asn служит «абсорбентом» для L-Ala (см. напр. опыт №1, Таблица 3.1-1; опыты №1-2, 4-5, 7-

**Таблица 3.5-2.** Сублимация<sup>a</sup> смесей с использованием для дерацемизации треонина и аспарагина.

#	Начальная смесь, мг	Энантиомерный избыток сублимата, % <sup>b</sup>
1	L-Thr (100), DL-Val (900)	L-Val 37.7
2	L-Thr (330), DL-Val (670)	L-Val 8
3	L-Thr (670), DL-Val (330)	~ DL-Val 0
4	L-Thr (504), DL-Val (496) <sup>c</sup>	L-Val 25.2
5	L-Thr (504), DL-Val (496)	L-Val 5.2
6	L-Thr (504), DL-Val (496)	L-Val 18.4
7	L-Asp (100), DL-Ala (900)	L-Ala 7.7
8	L-Asp (100), DL-Leu (900)	D-Leu 36.5
9	D-Asp (100), DL-Leu (900)	L-Leu 10.7
10	L-Asp (975), DL-Leu (25)	D-Leu 51.2
11	L-Asp (100), DL-Val (900)	~ DL-Val 0

<sup>a</sup>T ~ 100 – 105°C, t = 14 часов; <sup>b</sup>Массы сублиматов валина составляли 10-12 мг, аланина 5.1 мг, лейцина 1-2 мг; <sup>c</sup> Молярное соотношение Asn : Ala = 1 : 1.

10, Таблица 3.1-2) или D-Ala для D-Val (опыт №6, Таблица 3.4-1). Фактически то же происходит и при избытке рацемической фазы: можно предположить, что в этом случае молекулы энантиомерно чистой аминокислоты вытесняют гомохиральным образом другую аминокислоту из её рацемической фазы; таким образом результирующий энантиомерный избыток, наблюдаемый в сублимате, имеет ту же хиральность, что и исходная энантиомерно чистая аминокислота. Например, L-Asn замещает L-Ala в кристаллической решётке DL-Ala (опыт №2, Таблица 3.5-1), как результат сублимат является нерацемической смесью, обогащённой L-аланином. Аналогичное обращение знака хиральности наблюдается в опыте №3 (Таблица 3.4-1) для смеси L-аланина и DL-валина (сублимат — L-валин), в опытах №1 и 3 (Таблица 3.5-1) для D-аспарагина и DL-аланина (сублимат — D-аланин).

Более сложная ситуация очевидно имеет место при кристаллизации аминокислот с противоположными свойствами заместителей у  $\alpha$ -атома углерода, аспарагиновая кислота и лейцин. Лейцин имеет один из самых высоких индексов гидрофобности (3.8), а аспарагиновая кислота — один из самых низких (-3.5). Как лейцин, так и аспарагиновая кислота являются одними из наименее растворимых аминокислот. Лейцин имеет лиофильный алкильный заместитель, а аспарагиновая кислота — полярный кислотный. Сублимация смеси D-аспарагиновой кислоты с DL-лейцином (опыт № 9, Таблица 3.5-2) даёт необычный результат по сравнению со всеми другими [такими как, L-треонин с избытком DL-валина (эксперименты № 1-2, Таблица 3.5-2), L- и D-аспарагин с избытком DL-аланина (смеси 1-3, Таблица 3.5-1); L- и D-аланин с DL-валином (смеси №3 и 5, Таблица 3.4-1)], то же результат, хотя и с другим энантиомерным избытком наблюдается при использовании L-аспарагиновой кислоты для дерацемизации избытка DL-лейцина (опыт № 8, Таблица 3.5-2).

Для выяснения поведения аспарагиновой кислоты было дополнительно исследовано её поведение в смесях с рацемическими аланином (эксперимент №7, Таблица 3.5-2) и валином (эксперимент №11, там же). В этом случае результат

оказался ожидаемым и коррелирующим с данными по треонину и аспарагину: хиральность аминокислоты в сублимате соответствовала исходной энантиомерно чистой аминокислоте.

### 3.6. Заключение

Подводя итоги, можно отметить, что используя комбинацию нескольких фазовых переходов, впервые было осуществлена дерацимизация природных  $\alpha$ -аминокислот. Энантиомерное обогащение и энантиомерное обеднение, которое мы наблюдали в экспериментах как с рацемическими, так и с нерацемическими смесями летучих аминокислот, явно демонстрирует преимущественное гомохиральное сродство между энантиомерами различных аминокислот в кристаллической фазе. Выбор хиральности всегда коррелирует с исходной энантиомерно чистой аминокислотой.

На сегодняшний день был предложен целый ряд механизмов природного гомохирогенезиса, что, как предполагается, могло создать необходимые предпосылки для зарождения жизни. До сих пор, единственным экспериментально зарегистрированным источником энантиомерного избытка остаются аминокислоты и сахара, которые были найдены в углистых метеоритах. Существует несколько гипотез, что именно эти нерацемические соединения внеземного происхождения могли вызвать первичную асимметрию в «предбиологическом супе». Последние результаты по анализу энантиомерного состава Tagish Lake метеорита (тип углистый C2) показали неожиданно высокий энантиомерный избыток аспарагиновой и глутаминовой кислот [136], которые были использованы в наших исследованиях.

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 избытке.

Способность конгломератов к спонтанному хиральному разделению в неравновесных условиях является уникальным свойством рацематам этого типа. Используемые в данной работе пять аминокислот (**14, 16, 22, 34, 83**), способные к гомохиральной самоорганизации, могут вызывать локальное нарушение симметрии и давать энантиомернообогащённую микросистему [141], как отправную точку для возникновения микрогомохиральности с её последующей эволюцией. В соответствии с классификацией теорий происхождения гомохиральности, предлагаемой в книге «The Origin of Chirality in the Molecules of Life» [142], этот механизм можно рассматривать как случайностный. Напротив, гипотеза асимметрической индукции нерацемическими аминокислотами внеземного происхождения относится к преддетерминированным.

## Глава 4. ВЫСОКОТЕМПЕРАТУРНАЯ СУБЛИМАЦИЯ $\alpha$ -АМИНОКИСЛОТ

Все эксперименты, описанные в данном разделе были проведены непосредственно диссертантом Тарасевичем А.В. Анализ данных по высокотемпературной сублимации, построение графиков и диаграмм проводились диссертантом Тарасевичем А.В. Работу над статьёй [A.V. Tarasevych, A.E. Sorochinsky, V.P. Kukhar, J.C. Guillemin. High Temperature Sublimation of  $\alpha$ -Amino Acids: A Realistic Process for the Origin of Homochirality on The Primitive Earth. *Chemical Communications*. – 2015. – Vol. 51. – № 32. – P. 7054-7057] [20] осуществляли Тарасевич А.В., Сорочинский А.Е. и Guillemin J.-C. Кухар В.П. осуществлял научные консультации.

### 4.1. Предварительные эксперименты по высокотемпературной сублимации нерацемического валина. Анализ обнаруженных несоответствий с литературными данными С. Viedma

В данном разделе описана высокотемпературная сублимация нерацемических смесей валина (25). Приведены исследования механизма превращения. Существенное отличие от предыдущих экспериментов (Разделы 2 и 3), на которое следует обратить внимание — сублимация всей смеси, с её последующим анализом, тогда как в предыдущих опытах сублимация проводилась частично, и речь шла о фракционировании.

В первую очередь диссертантом были воспроизведены опыты описанные в оригинальной работе [83] (см. также разд. 1.6), детальное описание эксперимента и последующий хиральный анализ сублимированной смеси можно найти в экспериментальной части (раздел 8.11). Вкратце, стандартный подход заключается в сублимации смеси в замкнутой системе — обычной плоскодонной колбе Эрленмейера объёмом 1 л, которая размещалась на раскалённой поверхности.

Отработка воспроизводимости проводилась на смеси 40% ee L-Val, масса 50 мг. Смесь всыпают в предварительно разогретый сосуд и быстро закрывают пробкой. В процессе разогрева вдоль стенок колбы создаётся градиент температур — от горячего дна, до более холодной верхушки. Твёрдая смесь при соприкосновении с горячим основанием претерпевает сублимацию: в течении первых 2-3 минут происходит циркуляция хлопьев аминокислот в колбе, которые затем депонируют на всей поверхности за исключением наиболее горячего дна. В течении последующих 10-15 минут (время контролировалось) за счёт нагрева стенки становятся более горячими и граница сублимационного слоя за счёт многократных актов «сублимации — депонирования» медленно двигается от основания к более холодному верху колбы. Через 15 минут весь сублимат занимает приблизительно  $\frac{1}{3}$  от высоты колбы.

Первое отличие, с которым нам пришлось столкнуться — рабочая температура нагревательной поверхности. Используемый нами нагреватель имел индикатор температуры со встроенной термопарой. Однако, эксперименты при температуре 430°C, как это указано в работах C. Viedma et coll. [83][84][83], не позволили: (а) «поднять» сублимационный слой до указанной высоты, (б) в пределах ошибки газового хроматографа зафиксировать заметное энантиобогащение. Температура была повышена до (i) 500 и (ii) 540°C. Действительно, при этих температурах описанные результаты оказались воспроизводимыми и соответствовали данным испанцев: вводя в опыт нерацемическую смесь валина с энантиомерным избытком 40% L, вся результирующая смесь имела избыток около 58% L (T = 500°C, общее время сублимации 15 минут). Для сравнения, в работе [83]: T = 430°C, t = 12 минут, 40% ee → 56% ee L-Val. Интересно, что при увеличении температуры или при более продолжительном нагреве энантиомерный избыток продолжает расти (до 69% при 540°C, 20 минут).

Второе, более существенное несоответствие с работами испанцев, которое было обнаружено, заключается в частичной потере массы в каждом из

экспериментов — в большинстве случаев выход составлял около 70%. Авторы же указали, что сублимация проходит количественно без потерь и без разложения [83]. Из личных бесед с С. Viedma (визит в его лабораторию в Мадриде профессора J.-C. Guillemin, 2011) и из переписки Тарасевича А.В., стало ясно, что масса сублимата рассчитывалась по растворимости, а не взвешиванием (эти данные опубликованы не были). Таким образом, *ключевое* утверждение испанских исследователей, что увеличение энантиомерного избытка не может происходить за счёт селективного разложения следует, по крайней мере, поставить под вопрос. Энантиомеры имеют одинаковые физические свойства и, конечно же, предположение о селективном разложении одного из них — не имеет смысла. Однако, селективное разложение рацемата (как истинного, так и конгломерата), который имеет иные свойства, чем чистые энантиомеры — **исключать нельзя**. Несложные расчёты показывают, что для того, что бы из 50 мг 40% нерацемической смеси получить 56% *ee*, достаточно «убрать» 14 мг DL составляющей:

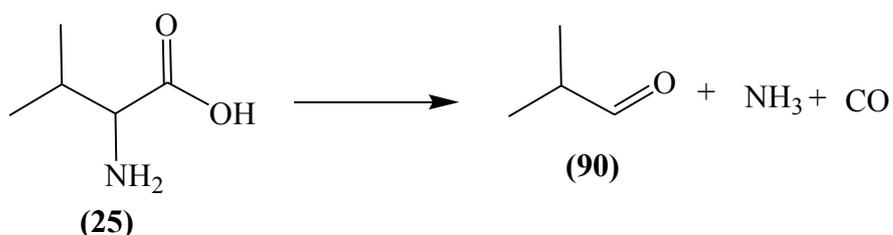
$$50 \text{ мг } 40\% \text{ ee L-Val} = 20 \text{ мг L-Val} + 30 \text{ мг DL-Val}$$

$$x \text{ мг } 56\% \text{ ee L-Val} = 20 \text{ мг L-Val} + (y) \text{ мг DL-Val, где } x = 20 + y, \text{ а } 20/x = 0,56$$

$$x = 20/0.56 = 36 \text{ мг}, y = 16$$

$$\Delta = 50 - 36 = 14 \text{ мг}$$

Следовательно, разложение, как одно из возможных объяснений энантиобогащения, следует оставить для дальнейшего рассмотрения. Для выяснения, за счёт чего происходит потеря массы, смесям валина до и после сублимации были записаны  $^1\text{H}$  ЯМР спектры (в  $\text{D}_2\text{O}$ ) — примечательно, что наличие примесей или продуктов разложения в сублимате обнаружено не было. При проведении сублимации в аналогичной системе, но позволяющей собрать в ловушку ( $-196^\circ\text{C}$ ) газовую фазу (с последующим растворением конденсата в  $\text{CDCl}_3$ ), было зафиксировано присутствие изомасляного альдегида (**90**), что свидетельствует об одновременном термическом дезаминировании и декрабонилировании валина (Схема **4.1-1**). Также примечательно, что сублимация



**Схема 4.1-1.** Разложение валина (25) в процессе высокотемпературной сублимации.

энантимерночистого валина не приводит к заметной рацемизации даже при 540°C — полученный материал, является по существу энантимерночистым, не смотря на частичное разложение.

Следует отметить, что в литературе можно найти серию статей посвящённую вопросам пиролиза природных аминокислот [143][144][145][146]. Обнаружено, что в зависимости от заместителя у α-углеродного атома, сублимация конкурирует с частичным разложением, которое является сложным набором химических превращений (декарбоксилирование, дезаминирование и декрабонилирование, циклизация в дикетопиперазины, олигомеризация). Для алифатических аминокислот при высоких температурах (в частности для лейцина при 400-600°C) сублимация является доминирующим процессом, что в целом согласуется с нашими данными. Константа скорости разложения увеличивается в ряду Val (25) – Leu (19) – Ala (31) [146].

#### **4.2. Высокотемпературная сублимация индивидуальных нерацемических смесей аланина, лейцина и валина**

В работе С. Viedma и соавторов [83] была исследована лишь одна нерацемическая смесь единственной аминокислоты валин (25) (40% ее L-Val). **Ниже приведены экспериментальные результаты диссертанта по изучению серии нерацемических аминокислот — аланина (31), лейцина (19) и валина (25)**



энантиомеров (L). Несколько экспериментов с избытком D энантиомеров, показали результаты аналогичные L-обогащённым смесям. Следует отметить, что во второй работе испанских коллег [84] сказано, что аланин (31) и лейцин (19) не претерпевают высокотемпературной полиморфной трансформации истинных рацемических соединений в конгломераты и, как следствие, для них **невозможно** увеличение энантиомерного избытка. Полученные данные Тарасевича А.В, по крайней мере частично, свидетельствуют об обратном — нерацемические смеси лейцина (19) с высокими значениями энантиомерного избытка претерпевают энантиобогащение (приблизительно свыше 45-46% *ee*); однако, с другой стороны, все смеси аланина действительно в результате высокотемпературной сублимации снижают свою оптическую чистоту. Валин же, напротив, во всём диапазоне значений энантиомерного избытка начальных смесей повышает относительное содержания энантиомера, который был изначально взят в избытке. Интересно так же отметить, что наибольшее обогащения для нерацемических смесей валина наблюдается при средних значениях *ee* и достигает своего максимума в районе 40-45% *ee* (то есть, именно та единственная смесь валина, результаты сублимации которой и были опубликованы группой испанских исследователей).

#### **4.3. Обсуждение возможных механизмов изменения энантиомерного избытка аланина, валина и лейцина в процессе высокотемпературной сублимации**

Проанализируем графики приведенные на рисунке 4.2-1 и сделаем основные выводы. Несмотря на сопутствующее частичное разложения (порядка 30%), есть несколько важных особенностей, которые могут объяснить полученные результаты: (а) в отличие от аланина (31), при сублимации в энантиомерночистой форме валин (25) и лейцин (19) не претерпевает рацемизации, (б) все 3 аминокислоты (19, 25, 31) при нормальных условиях являются истинными

рацематами, однако валин при нагревании превращается в конгломерат, аланин и лейцин — нет. Данные обобщены в Таблице 4.3-1.

Нерацемические смеси валина (14), DL составляющая которых при нагревании трансформируется в D+L, **только энантиобогащаются**. Как уже упоминалось, это может соответствовать классическим асимметрическим трансформациям 2-ого рода для конгломерат-образующих энантиомеров (см. Раздел 5.1). В этом месте следует сделать оговорку — движущей силой известных асимметрических трансформаций является рацемизация в одной из фаз (например в жидкой — в растворе или расплаве). Если предположить, что в исследуемой системе может протекать два типа рацемизации — в твёрдой фазе и в газообразной, то все три графика могут быть интерпретированы следующим образом: вследствие конфигурационной нестабильности аланина **в твёрдой фазе** — его нерацемические смеси снижают энантиомерный избыток. Валин и лейцин, по крайней мере в твёрдой энантиомерночистой фазе — стабильны. Однако газовая фаза находится в контакте с наиболее разогретой частью сосуда — поэтому допустим, что **в газовой фазе** эти аминокислоты всё же способны к рацемизации (все эти предположения **справедливы** в случае с аналогичными конгломератными системами энантиомеров, рацемизирующимися в жидкой фазе:

**Таблица 4.3-1.** Зависимость энантиобогащения или обеднения нерацемических смесей от возможности (i) рацемизации чистых энантиомеров и (ii) полиморфной трансформации истинных рацематов в конгломераты (экспериментальные данные диссертанта).

Аминокислота	Стабильность чистых энантиомеров	Полиморфная «DL → D + L» трансформация	Результаты высокотемпературной сублимации*
аланин	—	—	↓
лейцин	+	—	↑↓
валин	+	+	↑

\* ↑ - энантиобогащение, ↓ - энантиообеднение

энантиомерночистая твёрдая фаза несмотря на рацемизацию, например в растворе, будет оставаться энантиомерночистой — система «заперта»). И так, лейцин, 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. Не вдаваясь в детали, на самом деле сложного физического явления спонтанного роста энантиомерной чистоты, включающего как Оствальдовское дозревание так и асимметрические автокаталитические процессы на разделе фаз (см. Раздел 5.1), можно утверждать, что та твёрдая фаза лейцина, которая находится в избытке — будет определять «движение» системы — то ли в сторону энантиомерной чистоты, то ли к рацемическому состоянию.

С другой стороны, для понимания возможного механизма асимметрической трансформации, рассмотрим возможные пути рацемизации  $\alpha$ -аминокислот, описанные в литературе для растворов (Схема 4.3-1). Механизм и кинетика

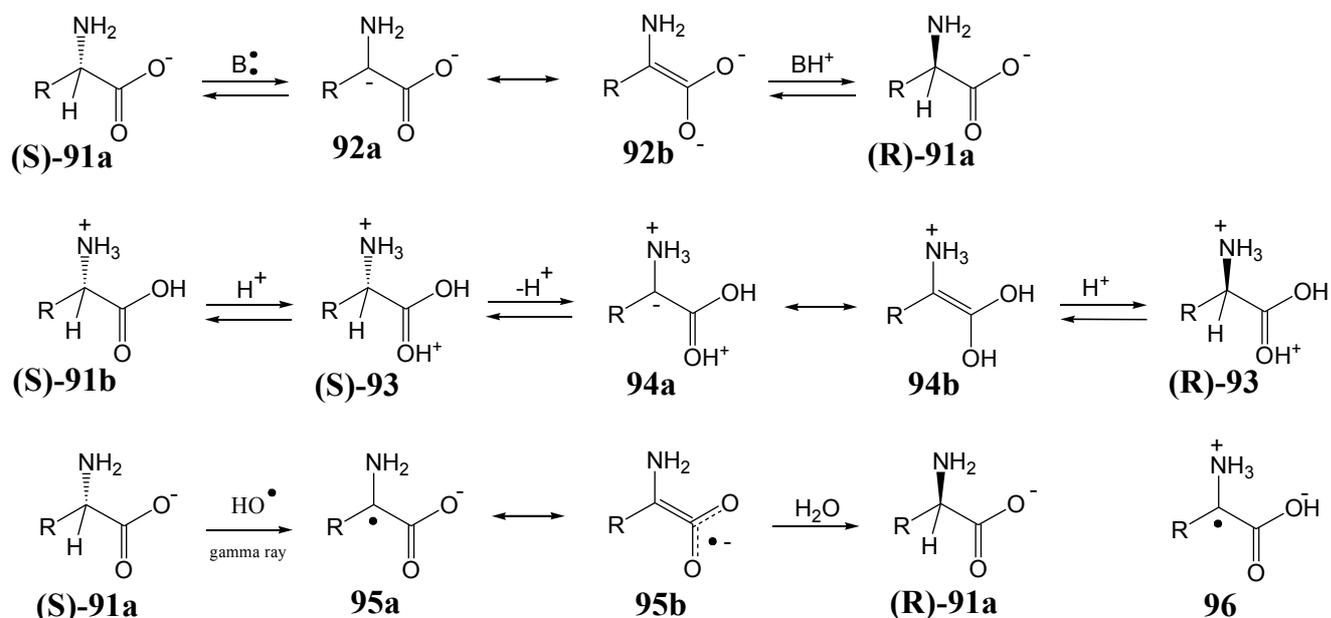


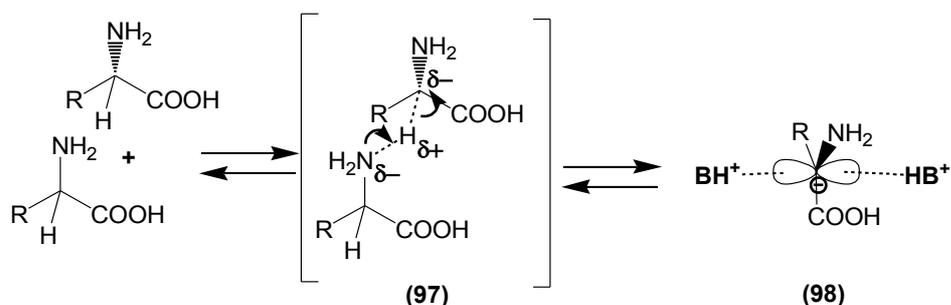
Схема 4.3-1. Описанные в литературе механизмы рацемизации  $\alpha$ -аминокислот.

рацемизации  $\alpha$ -аминокислот детально изучались в щелочных и кислых растворах, а также под воздействием  $\gamma$ -радиации, что связано в том числе и с разработкой метода аминокислотного датирования ископаемых [147][148][149][150]. Реакционная схема 1 (Схема 4.1-1, верхняя) описывает общепринятый механизм рацемизацией солей аминокислот (91a) в щелочных растворах. На первой стадии под воздействием основания происходит отрыв  $\alpha$ -протона и образование ахирального карбаниона (92a), который стабилизирован плоской резонансно формой (92b). При проведении рацемизации в D<sub>2</sub>O, одновременно происходит включение дейтерия в  $\alpha$ -положение. Эквивалентность между степенью рацемизации и конверсией в дейтерированный продукт говорит о сольватно-разделенном (рыхлом) типе образующейся ионной пары (карбанион и противоион).

В кислой среде (схема 4.1-1, средняя) ионизации асимметрического  $\alpha$ -углеродного центра способствует образование бис-протонированной структуры (93). Полярный карбанион (94a) стабилизируется резонансной енольной формой (94b).

Радиорацемизация в слабощелочных растворах, вызванная например либо внешним  $\gamma$ -облучением, или внутренним распадом изотопной метки (<sup>14</sup>C, или трития), предположительно протекает по радикальному механизму (схема 4.1-1, нижняя). Образовавшийся анион-радикал (95a) находится в резонансе с высоко-симметричным гибридом (95b). В кислой среде, из-за нестабильности катион-радикала (96), природные аминокислоты являются гораздо более устойчивы к воздействию радиации. Как отмечается, в твердом состоянии механизм может быть гораздо сложнее [148].

Следующий важный вопрос — в какой форме находятся аминокислоты в газовом состоянии? Многочисленные исследования методом микроволновой спектроскопии подтверждают, что в отличие от твердого состояния и растворов, где аминокислоты представляют собой цвиттер-ионы, в газовой фазе единственным стабилизированным состоянием является нейтральная



**Схема 4.3-2.** Один из возможных механизмов рацемизации в газовой фазе.

каноническая форма [151][152][153][154]. В качестве механизма образования нейтральной формы из цвиттер-ионной был предложен внутримолекулярный перенос протона [155]. С другой стороны, следует принять во внимание недавние масс-спектрометрические исследования аминокислот в группе R. G. Cooks: большинство из природных протеиновых аминокислот находится в газовой фазе в виде нековалентно-связанных олигомеров (от димеров до октамеров, для некоторых вплоть до 12 единиц в агрегатах) [13]. Один из возможных путей рацемизации в газовой фазе предложен на схеме 4.3-2, когда одна молекула аминокислоты выступает в качестве основания по отношению к другой, что вызывает поляризацию  $\alpha$ -C-H связи (переходное состояние 97), с последующим образованием стабилизированного плоского карбаниона (98) (гипотетически — в кластерах). С другой стороны, при столь высоких температурах (500-540°C) полностью исключать радикальный механизм рацемизации в газовой фазе также не следует.

#### 4.4. Высокотемпературная сублимация многокомпонентных смесей

##### энантиомерночистых и рацемических аминокислот

##### 4.4.1. Дву- и трёхкомпонентные смеси аминокислот

Основываясь на наших предыдущих данных по *низкотемпературной* сублимации смесей энантиомерночистых аминокислот с другими рацемическими

(L или D-АК<sub>1</sub> + DL-АК<sub>2</sub>, см. Раздел 3.1) было выдвинута гипотеза, что *высокотемпературная* сублимация аналогичных смесей может приводить к общему увеличению оптической чистоты системы. В данном разделе приведены данные по высокотемпературной сублимации бинарных и многокомпонентных смесей аминокислот, приведены дальнейшие исследования механизма превращения.

В работе [84] авторы показали возможность увеличения энантимерного избытка в бинарных смесях нерацемических аминокислот, для обоих компонентов, при условии, что по крайней мере один из них претерпевает «DL → D + L» полиморфную трансформацию. **В данном разделе, приведены экспериментальные данные, показывающие, что независимо от природы рацемата, энантиомерночистые летучие аминокислоты способны дерацемизовать другие рацемические в процессе их совместной высокотемпературной сублимации.**

Рассмотрим полученные результаты для ряда бинарных и трёхкомпонентных смесей энантиомерночистых аминокислот с рацемическими смесями (Таблица 4.4.1-1). Диссертантом были исследованы смеси аланина (31, Ala), валина (25, Val) и лейцина (19, Leu). Смеси готовились тщательным растиранием аминокислот в агатовой ступке истинных рацематов и чистых энантиомеров. Предварительная перекристаллизация смесей из воды не вызывает существенного изменения результирующего энантиомерного избытка. Приготовление смесей из чистых L и D энантиомеров также не влияет на степень дерацемизации. Сублимация исследуемых смесей и дериватизация полученных образцов для хирального газ-хроматографического анализа детально описаны в экспериментальной части (см. разд. 6.11 и 6.3).

Как можно видеть из данных таблицы 4.4.1-1, совместная сублимация энантиомерночистой аминокислоты (L или D) вместе с рацемической смесью аминокислот вызывает их дерацемизацию с обогащением теми же энантиомерами, что и исходная энантиомерночистая компонента. Так, сублимация

**Таблица 4.4.1-1.** Результаты дерацемизации двух- и трёхкомпонентных смесей.

#	Начальная смесь, % <i>ee</i>	Состав смеси после сублимации, % <i>ee</i>
1	<b>D-Leu</b> 40 мг + DL-Val 10 мг	<b>100 D-Leu</b> , 26.7 D-Val
2	<b>L-Leu</b> 40 мг + DL-Val 10 мг	<b>100 L-Leu</b> , 26.6 L-Val
3	<b>D-Leu</b> 40 мг + L-Val 10 мг	100 обе <sup>1</sup>
4	<b>D-Ala</b> 40 мг + L-Val 10 мг	<b>97.3 D-Ala</b> , 100 L-Val
5	<b>L-Ala</b> 100 мг + DL-Val 25 мг + DL-Leu 25 мг	<b>86.2 L-Ala</b> , 8.5 L-Val, 20.7 L-Leu
6	<b>L-Leu</b> 100 мг + DL-Val 25 мг + DL-Ala 25 мг	<b>99.5 L-Leu</b> , 52 L-Val, 53.1 L-Ala
7	<b>L-Val</b> 100 мг + DL-Leu 25 мг + DL-Ala 25 мг	<b>100 L-Val</b> , 56.8 L-Ala, 53 L-Leu <sup>2</sup>
8	<b>L-Val</b> 100 мг + DL-Leu 25 мг + DL-Ala 25 мг	<b>100<sup>1</sup> L-Val</b> , 62 L-Ala, 57 L-Leu <sup>3</sup>
9	<b>L-Val</b> 50 мг + DL-Leu 100 мг + DL-Ala 100 мг	<b>98.1 L-Val</b> , 4 L-Ala, 3.7 L-Leu
10	<b>D-Val</b> 50 мг + DL-Leu 100 мг + DL-Ala 100 мг	<b>94 D-Val</b> , 4.7 D-Ala, 2.1 D-Leu
11	<b>L-Val</b> 25 мг + DL-Leu 100 мг + DL-Ala 100 мг	<b>100<sup>1</sup> L-Val</b> , 4.3 D-Ala, 4.4 D-Leu (i)
12	<b>L-Val</b> 25 мг + DL-Leu 100 мг + DL-Ala 100 мг	<b>100 L-Val</b> , 5.1 D-Ala, 3.1 D-Leu (ii)

<sup>1</sup>Едва заметные сигналы противоположных энантиомеров (на грани ошибки измерения). <sup>2</sup>Время сублимации 20 минут. <sup>3</sup>Время сублимации 35 минут.

4-кратного избытка D- или L-лейцина с рацематом DL-валина вызывает его дерацемизацию: полученные сублиматы содержат избыток D или L валина, соответственно. Величина *ee* колеблется в пределах от 27 до 52% *ee* (опыты 1, 2 и 6).

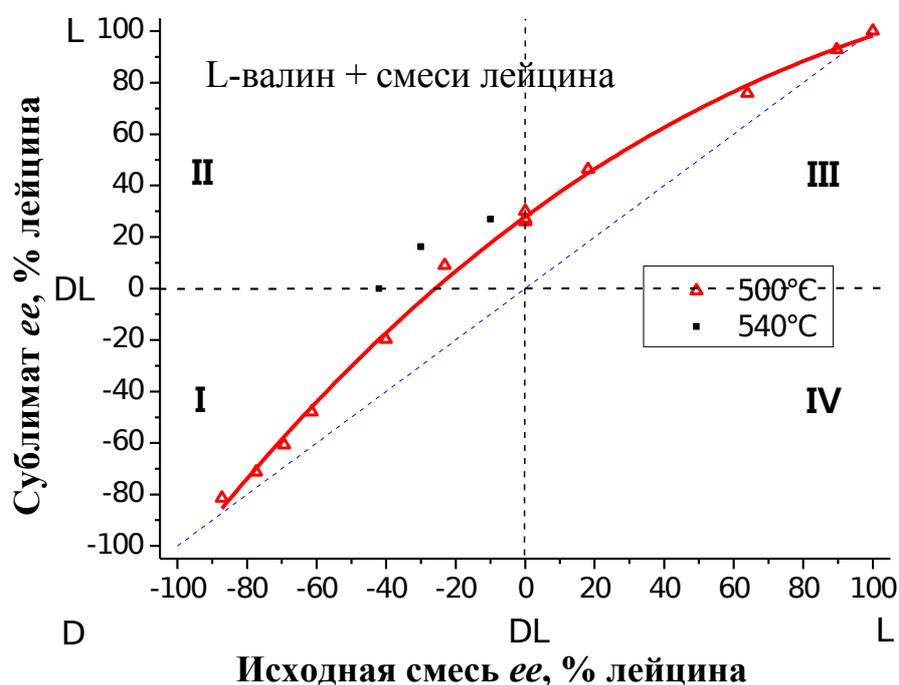
Энантиомеры лейцина и валина оказались хорошими инициаторами дерацемизации смесей с двумя рацемической аминокислотами во время их совместной сублимации. Серия параллельных экспериментов с L и D валином (опыты 7-12) показала, что изменение соотношения между парой рацемических аминокислот и энантиомером валина является определяющей для степени дерацемизации. При соотношении «энантиомерночистая аминокислота (L-валин или L-лейцин как индукторы)» - рацемат<sub>1</sub> - рацемат<sub>2</sub> 2:1:1 были получены наиболее высокие показатели энантиомерного обогащения (в данной серии) за счет совместной сублимации. В двух независимых экспериментах нам удалось достичь энантиомерного избытка 53-62% *ee* аланина и лейцина при сублимации смеси их рацематов с энантиомерночистым L-валином. При этом валин возгонялся фактически без рацемизации (опыты 7,8). Увеличение времени нагрева почти в два раза (опыт 8; 35 минут) привело к некоторому повышению эффективности дерацемизации.

Использование L-аланина в качестве индуктора дерацемизации также вызывает энантиообогащения рацемических аминокислот, но с меньшей эффективностью (опыт 5), чем при использовании энантиомерночистого валина или лейцина. Интересно, что хотя энантиомерный избыток и значительно ниже, дерацемизация лейцина проходит почти в три раза глубже (20.7%), чем для валина (8.5%). Следует отметить, что при этом происходит и частичная рацемизация самого L-аланина, что уже наблюдалось для его индивидуальных смесей (см. Рисунок 4.3-1, Таблица 8.11.1).

В случае существенного уменьшения соотношения между индуктором (валином) и парой рацемических аминокислот и до 1:2:2 и 1:4:4, дерацемизация рацематов также идет, но с значительно более низкой результативностью (опыты 9-12). Кроме того, была зафиксирована незначительная рацемизация исходного D- или L-валина (опыты 9-10), чего не наблюдалось при других соотношениях компонентов сублимации. Во всех экспериментах валин не проявил существенной предпочтительности в дерацемизации рацематов лейцина и аланина. Следует

подчеркнуть, что смеси энантиомерностистых аминокислот с противоположной хиральностью сублимируются почти без рацемизации (опыты 3,4).

На рисунке 4.4.1-1 представлены результаты для серии экспериментов с бинарными смесями нерацемического лейцина с энантиомерностистым валином (соотношение компонентов 0.25 : 1 экв.) (см. экспериментальную часть, данные в разд. 6.11.4). Для более корректного анализа всех последующих результатов, в дальнейшем смеси готовились в пересчёте на эквиваленты (1 эквивалент = 100



**Рисунок 4.4.1-1.** Изменение энантиомерного избытка смесей лейцина при его высокотемпературной сублимации с энантиомерностистым L-валином (Leu:Val = 1:4 экв.). Температура сублимации: 500°C (красные точки), 540°C (чёрные).

мг валина). Помимо экспериментальных данных (чёрные и красные точки и красная кривая), на графике есть пунктирная голубая линия отображающая гипотетическое отсутствие изменения энантиомерного избытка. Для удобства анализа, график разделён на 4 равных сектора (I, II, III и IV) чёрными пунктирными линиями. В частности, все точки расположенные в верхнем левом

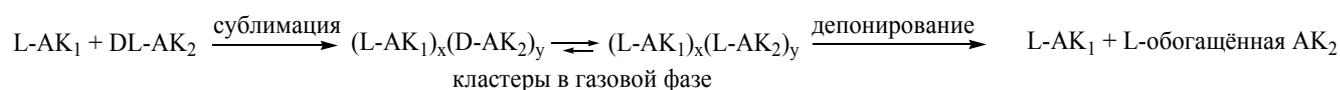
секторе II соответствуют D-энантиомернообогащённым смесям лейцина, которые в результате сублимации претерпевают изменение избытка на противоположный - L.

Как уже было показано выше (Таблица 4.4.1-1), результирующая хиральность изначально рацемической аминокислоты предопределяется энантиомерночистой компонентой. Этот эффект явно просматривается и на рисунке 4.4.1-1 — смешивая нерацемические смеси лейцина с L-валином, все они либо претерпевают уменьшение D-энантиомерного избытка (сектор I), или меняют свой знак с D на L (II), или же увеличивают свой L-энантиомерный избыток (III). Отсутствие точек в секторах I, III и IV ниже голубой пунктирной линии свидетельствует об изменении состава сублимата исключительно в направлении гомохирального состава L-валином.

В качестве убедительного примера, можно рассмотреть точки в секторе II: начиная с L-Val и 23% ее D-Leu в соотношении 4:1, был получен сублимат содержащий 9% нерацемическую смесь L-Leu. При повышении температуры вплоть до 530-540°C (3 эксперимента обозначенные чёрными точками), мы наблюдали ещё более резкий скачок энантиомерного избытка, например от 30% ее (D) до 16% ее (L) для нерацемической состоящей лейцина, в то время как L-валин сублимировался без рацемизации.

#### 4.4.2. Эксперименты по изучению механизма дерцемизации

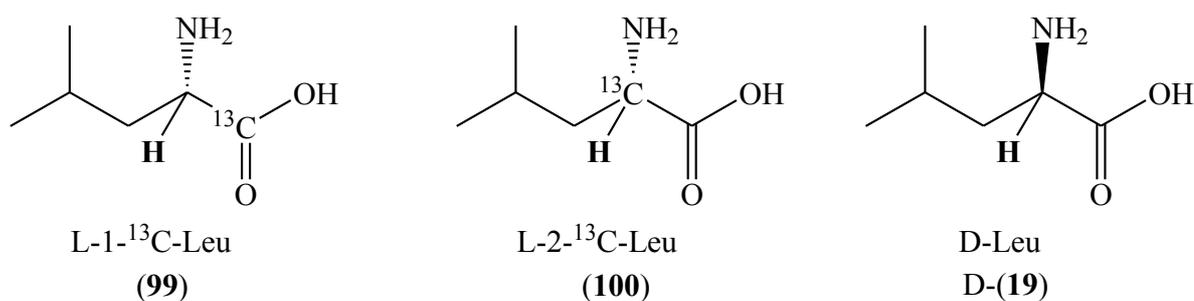
Одним из возможных объяснений причин дерацемизации под влиянием хирального индуктора может быть специфическое стереохимическое строение кластеров аминокислот (АК), которые формируются в газовой фазе в процессе



**Схема 4.4.2-1.** Один из возможных механизмов дерацемизации.

сублимации. Несмотря на отсутствие глубокого понимания природы и строения кластеров,[13] в целом механизм дерацемизации аминокислот DL-АК<sub>2</sub> путем высокотемпературной ко-сублимации с энантиомерночистыми L-АК<sub>1</sub> мог бы быть представлен Схемой 4.4.2-1, что соответствует классической асимметрической трансформации второго рода для диастереомеров способным к эпимеризации по одному из стереоцентров [156].

Для подтверждения или опровержения данной гипотезы о рацемизации одной из аминокислот в газовой фазе, как движущей силы дерацемизации в твёрдой, диссертантом были приготовлены и исследованы несколько смесей, где один из энантиомеров рацемического лейцина содержал радиоуглеродные метки (Рисунок 4.4.2-1). В частности были использованы меченные лейцины L-1-<sup>13</sup>C-Leu



**Рисунок 4.4.2-1.** Энантиомеры лейцина, изотопномеченные L-лейцины использованные для изучения механизма.

(99) и L-2-<sup>13</sup>C-Leu (100). Смесии были приготовлены из энантиомерночистого D-Val, 1 экв. с D-Leu (D-19), 0.125 экв. и изотопномеченными L-Leu\* (99 или 100), 0.125 экв. После проведения в стандартных условиях сублимации и обычной дериватизации с использованием этил хлорформиата (Схема 2.1-1 и разд. 6.3), хиральный газ-хроматографический анализ показал энантиомерный избыток лейцина 30.3% D-Leu для смеси с L-1-<sup>13</sup>C-Leu (99) и 25.3% D-Leu для смеси содержащей L-2-<sup>13</sup>C-Leu (100). Некоторое расхождение в энантиомерном избытке скорее всего никак не связано с изотопными эффектами, а являются ошибкой, которая лежит в пределах взвешивания энантиомеров лейцина для приготовления

искусственного рацемата [L-<sup>13</sup>C-Leu + D-Leu] и налагающимися последующими отклонениями. Газовый хроматограф, который имелся в нашем распоряжении, был оборудован пламенно-ионизационным детектором, что не позволяло нам различать изотопномеченные энантиомеры от энантиомеров с природным содержанием углерода <sup>13</sup>C. Поэтому, используя хиральный дериватизирующие реагенты — оптически чистые (1R)-(-)-ментил хлорформат (**101**) и (-)-(1S,4R)-хлорангидрид камфановой кислоты (**102**), диссертантом были синтезированы соответствующие диастереомерные производные (**103**) (метод дериватизации описан в [157]) и (**104**) (методика описана в [158]) схема 4.4.2-2, которые были

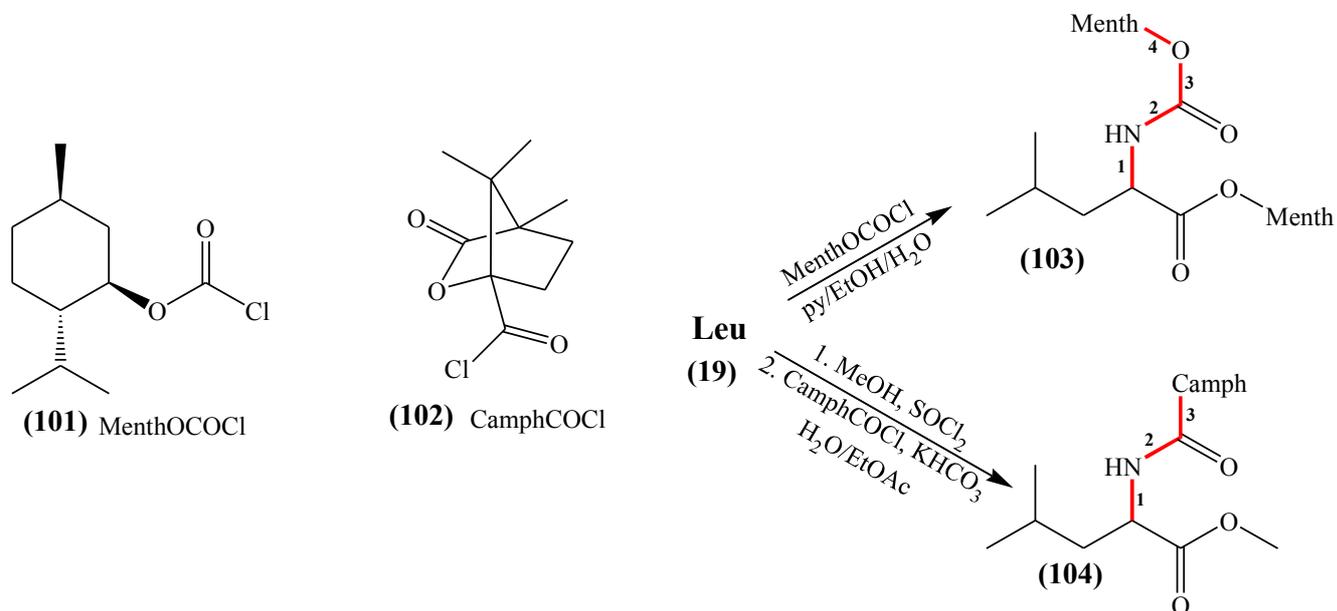


Схема 4.4.2-2. Синтез диастереомерных производных лейцина (**103**) и (**104**).

исследованы методами ЯМР и масс-спектрометрически в сочетании с ахиральной жидкостной хроматографией (см. экспериментальную часть, разд. 6.12). Предварительные тесты по дериватизации рацемических смесей лейцина ментилхлорформатом (**101**) показали, что диастереомерные производные (**103**) не разделяются с достаточной эффективностью ахиральной жидкостной хроматографией. Диастереомеры (**104**), содержащие остатки камфановой кислоты, оказались куда более пригодными для наших целей — помимо разделения пиков

на хроматограмме, наличие объёмного хирального заместителя в непосредственной близости к асимметрическому центру аминокислоты приводит к существенным отличиям в протонных спектрах ЯМР ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  и двумерные HSQC спектры представлены и описаны в экспериментальной части). В частности  $\Delta\delta$  в химических сдвигах  $\alpha$ -протонов DL-(**104**) составляет 0,06 ppm. Кроме того, в случае с меченым лейцином 2- $^{13}\text{C}$ -Leu, спектры ЯМР позволили отличить изотопномеченные производные от соответствующих  $^{12}\text{C}$  диастереомеров (Рисунок 4.4.2-2). Прямая константа расщепления  $^1J_{^{13}\text{C},\text{H}}$  составила 141.9 герца. Более отдалённое расположение радиоуглеродной метки в L-1- $^{13}\text{C}$ -Leu (**99**), в

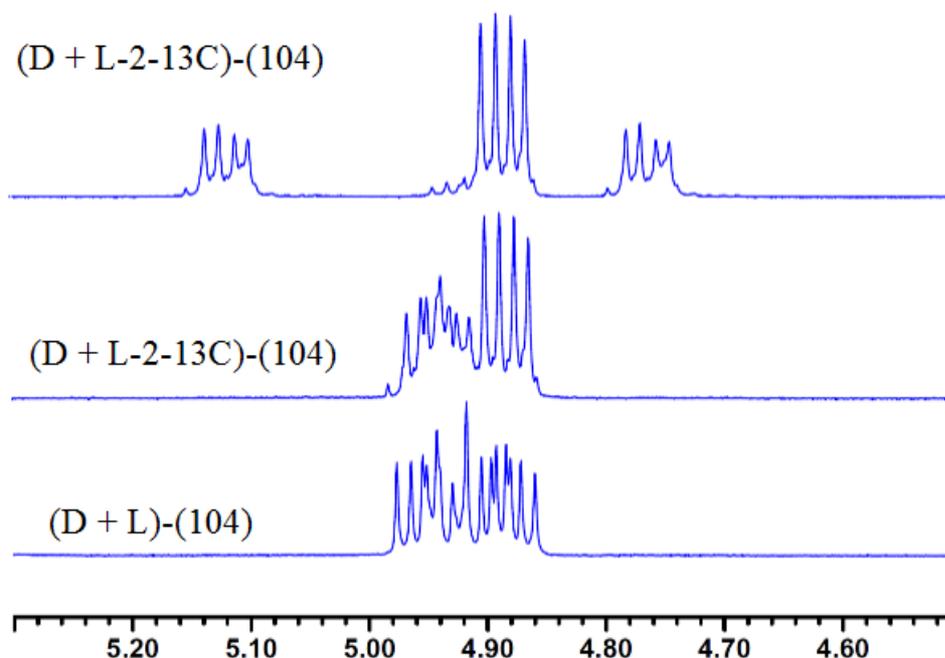


Рисунок 4.4.2-2. Фрагменты спектров  $^1\text{H}$ -ЯМР в  $\text{C}_6\text{D}_6$  (400 МГц) смесей 50:50 диастереомеров камфановых производных D + L-Leu (нижний), D + L-1- $^{13}\text{C}$ -Leu (средний), D + L-2- $^{13}\text{C}$ -Leu (**104**).

меньшей мере сказалось на соответствующих протонных спектрах диастереомерных производных (**104**).

Следует отметить, что дейтерированный бензол оказался наилучшим растворителем, где разница в химических сдвигах была наибольшей. В

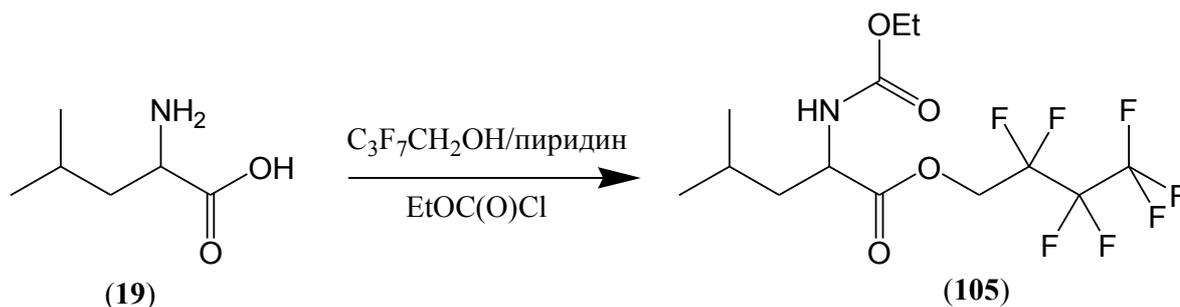
хлороворме-d<sup>1</sup> и ацетоне-d<sup>6</sup> расхождение сигналов было менее выражено. Соотнесение сигналов было сделано на основании анализа соответствующих углеродных спектров <sup>13</sup>C и двухмерных спектров корреляции HSQC (Heteronuclear single quantum coherence spectroscopy), см. экспериментальную часть, разд. 6.12. Сигналы α-протонов, в зависимости от содержания примесей воды в C<sub>6</sub>D<sub>6</sub> могли иметь усложнённую форму благодаря дополнительному расщеплению на амидных протонах и возможно, вследствие образования конформеров, стабильных во временной шкале ЯМР [159]. Усложнённость сигнала зависит от содержания воды в образце. Расщепление на амидном протоне также было подтверждено ЯМР экспериментами по наблюдению двойного резонанса.

<sup>1</sup>H ЯМР спектр дериватизированного сублимата показал, что несмотря на существенный энантиомерный избыток D-изомера лейцина (измеренный с помощью хиральной газовой хроматографии N-этоксикарбонил-Leu этиловых эфиров), **распределения углеродной метки между энантиомерами не произошло**. То есть, сигнал α-протонов D-изомера лейцина не содержал <sup>13</sup>C-Н компоненты, а α-СН пик L диастереомеров — протонов связанных с <sup>12</sup>C углеродом в пределах чувствительности метода.

Дополнительные параллельные исследования на жидкостном хроматографе с масс-спектрометрическим детектором подтвердили эти результаты. После разделения на ахиральной колонке, каждая из фракций обнаружила или естественной содержание <sup>13</sup>C углерода (D-лейциновая компонента) и **отсутствие пика** с массовым числом -1 (для L компоненты), что соответствовало 99% составу <sup>13</sup>C меченного диастереомера (см. экспериментальную часть, разд. 6.12).

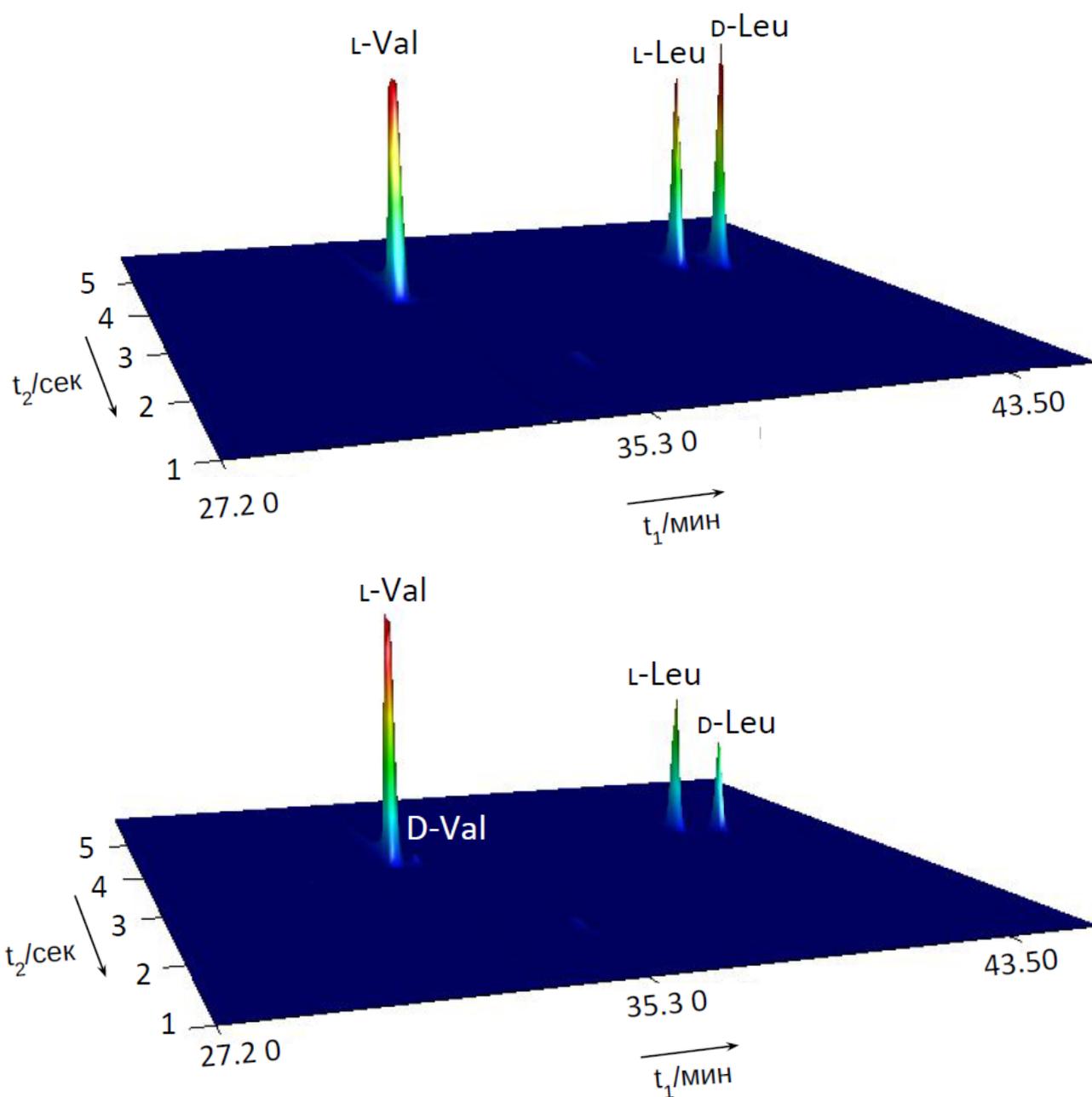
Для окончательного установления факта наличия или отсутствия взаимопревращения энантиомеров дерацимизуемых аминокислот в процессе сублимации, несколько образцов, содержащих <sup>13</sup>C изотопномеченный лейцин, были проанализированы с применением хиральной двумерной хроматографии с время-пролётным масс-спектрометрическим детектором ГХ x ГХ-МСД. Метод позволяет намного более эффективно разделять пики и анализировать

фрагментацию каждого из энантиомеров в отдельности, не прибегая к предварительной хиральной дериватизации. В данном случае для дериватизации смесей, содержащих лейцин была использована смесь этил хлорформиата с 2,2,3,3,4,4,4-гептафтор-1-бутанолом и пиридином, что позволяет получить летучие N-этоксикарбонил гептафторбутановые эфиры лейцина (**105**) (Схема 4.4.2-3, см. экспериментальную часть, разд. 6.13):



**Схема 4.4.2-3.** Дериватизация лейцина для двумерной хиральной газовой хроматографии.

В качестве модели нами была исследована смесь содержащая в качестве энантиомерночистой компоненты L-валин, тогда как дерацимизуемой составляющей был искусственный рацемат лейцина приготовленный из D-Leu и L-Leu-1-<sup>13</sup>C; соотношение между L-валином и DL-лейцином составило 1 к 0.25 по молям. Сублимация проводилась в стандартных условиях (490-500°C, 15 минут). На рисунке 4.4.2-3 представлены трёхмерные хроматограммы N-этоксикарбонил гептафторбутановых эфиров исходной смеси (верхняя) и сублимата (нижняя хроматограмма). Построение 3D ГХ x ГХ - МСД хроматограммы для энантиомеров производных лейцина (**105**) проводилось по наиболее интенсивному фрагменту 144 m/z, а в случае аналогичных производных валина по фрагменту 158 m/z. Для наглядности интенсивность пиков валина уменьшена в несколько раз (коэффициент 0.3). По оси z отображена интенсивность сигналов в относительных единицах, а по осям x и y времена удержания на колонках: после разделения смеси на более длинной хиральной колонке (времена удержания в



**Рисунок 4.4.2-3.** 3D ГХ x ГХ - МСД хроматограммы N-этоксикарбонил гептафторбутановых эфиров смеси L-валина с искусственным рацематом лейцина. Сверху - исходная смесь (избыток D-Leu), внизу — сублимат (избыток L-Leu).

минутах) фракции подавались модулятором с интервалом в несколько секунд на вторую короткую полярную колонку (времена удержания в секундах); технические детали осуществления газ-хроматографического анализа и характеристики капиллярных колонок приведены в экспериментальной части.

В Таблице 4.4.2-1 представлен анализ распределения фрагментов содержащих и не содержащих  $^{13}\text{C}$  атомы с массами 129, 130 и 131 атомных единиц в энантиомерах N-этоксикарбонил гептафторбутановых эфиров лейцина (**105**) до и после сублимации. Исходный D-лейцин заведомо содержал изотоп  $^{13}\text{C}$  в концентрациях обусловленным его природным содержанием (массы 130 и 131), в то время как L-энантиомер содержал одну  $^{13}\text{C}$  метку в первом положении (карбоксильная группа), соответственно, наиболее интенсивным был фрагмент с массой 130 единиц. Незначительный избыток D лейцина (6.1%) в исходной смеси обусловлен погрешностью весов (рацемат готовился из 14 мг D и 14 мг L- $^{13}\text{C}$  лейцина). Сублимат, как и ожидалось, содержал значительный избыток L-лейцина 27.1%.

	энантиомер	<i>ee</i>	Фрагменты (а.м.у), интенсивность (а.у.) и относительная интенсивность $I_{\text{отн.}}$ (%)		
			129 а.м.у.	130 (а.м.у.)	131 (а.м.у.)
исходная смесь	D-Leu (природное содержание $^{13}\text{C}$ )	$ee_D$ 6.1%	111 (100%)	26 (23.4%)	9 (8.1%)
	L-Leu (1- $^{13}\text{C}$ -меченный)		4 (3.1%)	127 (100%)	11 (8.7%)
сублимат	D-Leu	$ee_L$ 27.1%	99 (100%)	28 (28.3%)	8 (8.1%)
	L-Leu		9 (7.4%)	121 (100%)	9 (7.4%)

**Таблица 4.4.2-1.** Энантиомерный избыток и распределение  $^{13}\text{C}$ -изотопа во фрагментах энантиомеров (**105**).

Простой математический расчёт показывает, что исходя из измеренных значений энантиомерного избытка (площадь под трёхмерными пиками), содержание энантиомеров в исходной и сублимированной смеси составляет:

$$ee_D \ 6.1\% \equiv 53.05\% [D] + 46.95\% [L],$$

$$ee_L \ 27.1\% \equiv 36.45\% [D] + 63.55\% [L];$$

таким образом, разница в содержании D-энантиомера между обоими смесями

может быть рассчитана как:

$$\Delta = [D]_{\text{исходная смесь}} - [D]_{\text{сублимат}} = [L]_{\text{сублимат}} - [L]_{\text{исходная смесь}} = 16.6\%.$$

С другой стороны, данные масс-спектрометрии (Табл. 4.4.2-1) дают разницу между относительными интенсивностями для фрагментов 129 и 130 единиц всего на уровне 4-5%:

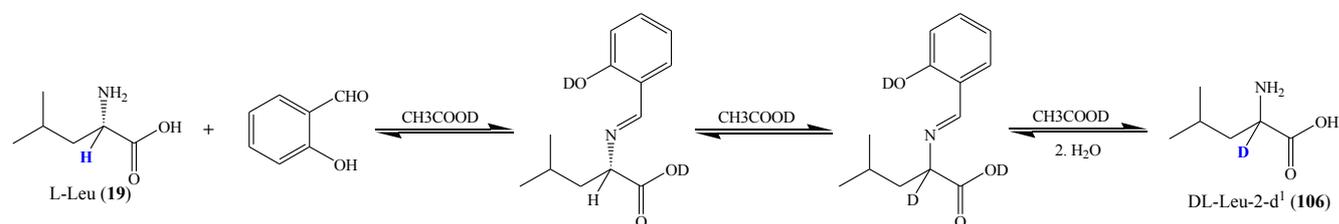
$$129 \text{ a.m.u.: } I_{\text{rel}}[L]_{\text{сублимат}} - I_{\text{rel}}[L]_{\text{исходная смесь}} = (7.4 - 3.1)\% = 4.3\%,$$

$$130 \text{ a.m.u.: } I_{\text{rel}}[D]_{\text{сублимат}} - I_{\text{rel}}[D]_{\text{исходная смесь}} = (28.3 - 23.4)\% = 4.9\%;$$

т. е.:  $4.3 \sim 4.9 \neq 16.6$ .

**Таким образом,** данные ГХ х ГХ-МСД анализа указывают на то, что энантиомеризация не может быть ответственна за изменение энантиомерного избытка лейцина с 6.1 (D) до 27.1 (L). Хотя, взаимопревращение энантиомеров и протекает (порядка 4-5%), оно не может привести к результирующему энантиомерному избытку.

Следующий эксперимент с  $\alpha$ -дейтерированным лейцином (**106**) показал отсутствие обмена  $\alpha$ -протонов DL-лейцина с L-валином в аналогичных условиях сублимации. Синтез рацемического монодейтерированного лейцина DL-Leu-2-d<sup>1</sup> (**106**) был осуществлён в соответствии с описанной процедурой [160] путём *in situ* образования имина салицилового альдегида в дейтерированной уксусной кислоте CH<sub>3</sub>COOD и его одновременной рацемизации (Схема 4.4.2-4, см. экспериментальную часть, разд. 6.14).

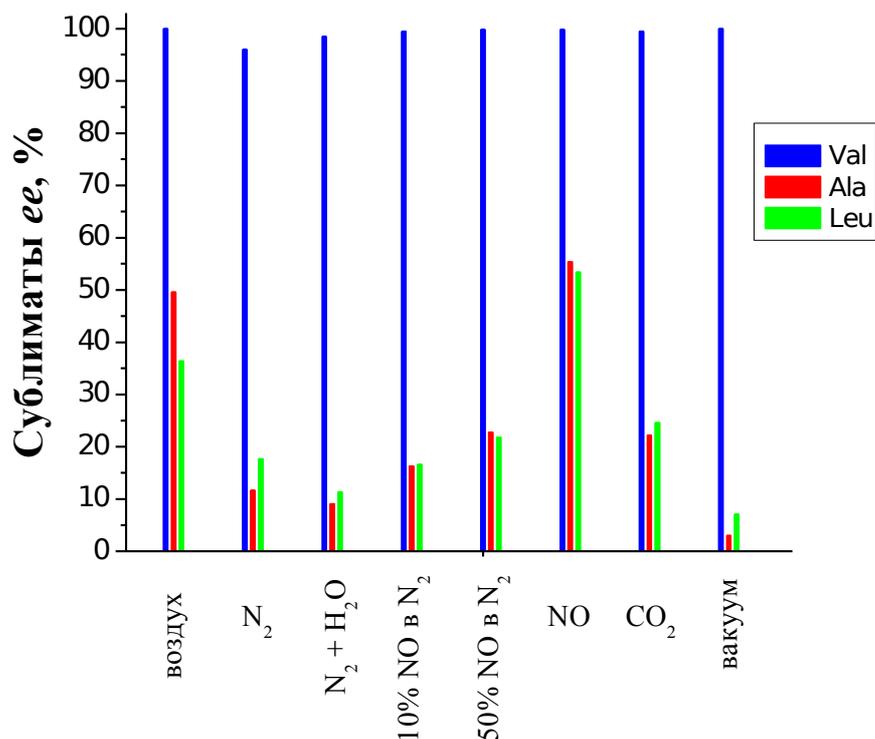


**Схема 4.4.2-4.** Синтез рацемического  $\alpha$ -дейтерированного лейцина с использованием каталитических количеств салицилового альдегида.

Смесь содержащая эквимольные количества L-Val и DL-Leu-2-d<sup>1</sup> (106) была сублимированной в стандартных условиях (480°C, 15 мин). Углеродные спектры ЯМР сублимата не показали присутствие валина-2-d<sup>1</sup> в смеси. Эксперименты по сублимации смесей в присутствии паров D<sub>2</sub>O также не подтвердили возможность включения дейтерия несмотря на изменения энантиомерного избытка в результате нагревания.

Далее мы задались вопросом влияния газовой фазы в которой происходит превращение, что также могло пролить свет на механизм превращения. В оригинальных работах [83] и [84] все эксперименты проводили на воздухе. Нами была проведена серия опытов (i) по замене атмосферы на азот, углекислый газ, монооксид азота, монооксид азота с азотом в различных соотношениях, в присутствии паров воды; (ii) при отсутствии атмосферы — в вакууме. С этой целью нами была оборудована специальная система, позволяющая всыпать смесь аминокислот поворотом части герметичной системы, которая имела выход к вакуумной линии, подаче газа и вакуумметру. В целом же вся процедура соответствовала описанным выше экспериментам: смесь всыпалась в разогретую колбу до 500°C (время разогрева 2 минуты), сублимация проводилась 15 минут. Результаты представлены на Рисунке 4.4.2-4 (см. экспериментальную часть, разд. 6.11.5). Сразу следует обратить внимание на результаты сублимации в вакууме — наблюдалось резкое снижение энантиомерного избытка по сравнению с большинством экспериментов, где атмосфера присутствовала. Помимо этого, визуально процесс также имел совершенно другой характер — не наблюдалось хлопьеобразования, сублимат депонировал не в верхней части колбы, а на минимальной высоте (но и не в наиболее горячей части сосуда).

Если вместо воздуха, колба была заполнена азотом, диоксидом углерода или азотом содержащем насыщенное давление паров воды, в целом наблюдался аналогичный ход сублимации, однако с более низкими результирующими значениями энантиомерного избытка. Стоит отметить, что углекислый газ дал лучшие результаты. При проведении сублимации в атмосфере, содержащей



**Рисунок 4.4.2-4.** Диаграммы изменения энантиомерного избытка для смеси L-Val : DL-Ala : DL-Leu 1 : 0.25 : 0.25 экв. при 500°C в течении 15 минут.

монооксид азота (смеси с азотом или чистый NO), наблюдалось выраженное усиление дерацемизации при увеличении его содержания. В чистом монооксиде азота, результаты оказались даже лучше, чем в присутствии воздуха.

Таким образом, во-первых, осуществление дерацемизации является эффективным только при наличии газовой атмосферы. Во-вторых, полученные результаты явно указывают на более глубокую трансформацию в нерацемическую смесь в присутствии кислорода воздуха, монооксида азота и углекислого газа. И кислород и монооксид азота являются реакционно-способными молекулами, содержащими неспаренные электроны: кислород — два, монооксид азота — один. С другой стороны, хорошо известно, что CO<sub>2</sub> может выступать при высоких температурах как окислитель, например в реакциях окислительного пиролиза алканов по радикальному механизму,[161][162][163] а NO претерпевает разложение на кислород и азот.

#### 4.4.3. Заключение

Все вышеприведенные экспериментальные результаты диссертанта ставят под сомнение ключевые выводы сделанные в работе испанских исследователей относительно вероятного механизма изменения энантиомерного избытка [24][83][84]. Отсутствие рацемизации, предпочтительное протекание дерацемизации в окислительной атмосфере (или по крайней мере в присутствии инициаторов радикальных реакций), наводят на мысль о частичном разложении или полимеризации гетерохиральных составляющих и «выживанию», в таких жёстких условиях, смесей преимущественно гомохирального состава.

Несмотря на отсутствие окончательной ясности механизма превращения, полученные данные являются важными. Огромное количество спекуляций на тему происхождения биологической гомохиральности на данную тему давно требовало и требует экспериментальной демонстрации **реалистичного** механизма энантиобогащения гео- и космохимических процессах. Существующие модели спонтанного возникновение и усиления энантиомерного избытка, так как например, с участием цинкорганических соединений в реакции Соаи [164] или вследствие насыщения растворов хлороформа [21], едва ли могли иметь место на пребиотической Земле. С другой стороны, процессы испарения и разложения органических соединений с большой вероятностью могли иметь место около действующих вулканов или около термальных источников, образованных вследствие падения метеоритов. Проведение экспериментов с аминокислотными смесями в жестких условиях во многом решает проблему предбиологического энантиобогащения. Более детальные исследования в этом направлении представлены в следующем разделе.

#### 4.5. Высокотемпературная сублимация многокомпонентных смесей аланина, валина, лейцина, изолейцина, норлейцина, норвалина, 2-аминомасляная кислоты

В этом разделе представлены дальнейшие исследования изменения энантиомерного избытка в зависимости от (i) соотношения между компонентами и (ii) количества компонентов в системе.

В Таблице 4.5-1 представлен ряд бинарных смесей и изменение их энантиомерного избытка в процессе высокотемпературной сублимации. Так, нагрев одного эквивалента рацемического валина (25) с четырьмя эквивалентами

Таблица 4.5-1. Результаты высокотемпературной сублимации бинарных смесей.\*

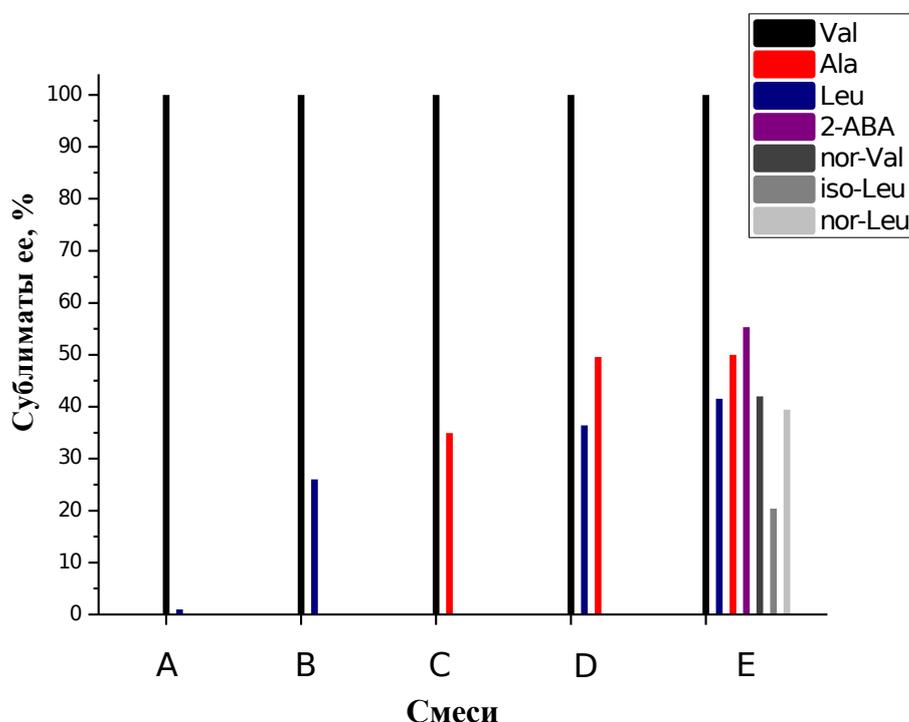
№	Исходная смесь (экв.)	Состав сублимата (ее %)
1	D-Leu (1) + DL-Val (0.25)	D-Leu (100), D-Val (27)
2	L-Leu (1) + DL-Val (0.25)	L-Leu(100), L-Val (27)
3	L-Val (1) + DL-Leu (0.25)	L-Val (100), L-Leu (26)
4	L-Val (1) + DL-Ala (0.25)	L-Val (100), L-Ala (35)
5	L-Val (1) + DL-Leu (1.5)	L-Val (100), L-Leu (~1)

\*Механические смеси, 1 экв. = 0.8536 ммол (100 мг Val), T = 500°C, 15 минут.

энантиомерно чистого лейцина (19) вызывает дерацемизацию валина. Результирующий энантиомерный избыток валина составлял около 27%, с выходом

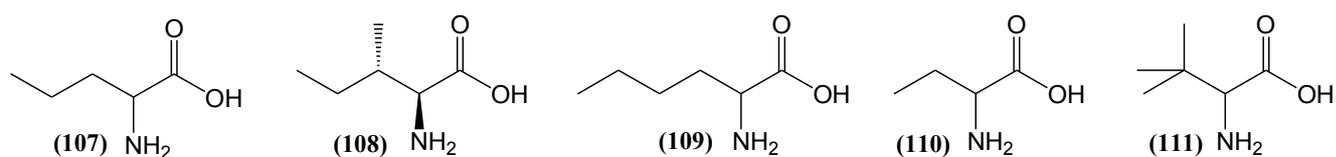
70-80% по массе (Таблица 4.5-1, опыты 1 и 2). Перемена роли составляющих смеси (индуктор — рацемат) для валина и лейцина с сохранением соотношения между аминокислотами, даёт практически тот же энантиомерный избыток лейцина 26% (опыт 3). Если вместо рацемического лейцина был использован аланин (31) (опыт 4), энантиомерный избыток возрос до 35%. Как уже было продемонстрировано в предыдущем разделе, увеличение содержания рацемической компоненты (опыт 5 сравнить с 3), ведёт к резкому снижению степени дерацемизации. Отметим этот результат (опыт 5, полученный энантиомерный избыток на грани чувствительности прибора) для дальнейшего сравнения с аналогичными смесями, но содержащими до 7 компонентов.

На Рисунке 4.5-1 представлена зависимость полученного энантиомерного избытка от количества компонентов системы (см. экспериментальную часть, разд. 6.11.6). Во всех опытах в качестве индуктора дерацемизации использовался энантиомерно чистый валин L-Val (1 экв.), количество и число DL-компонентов



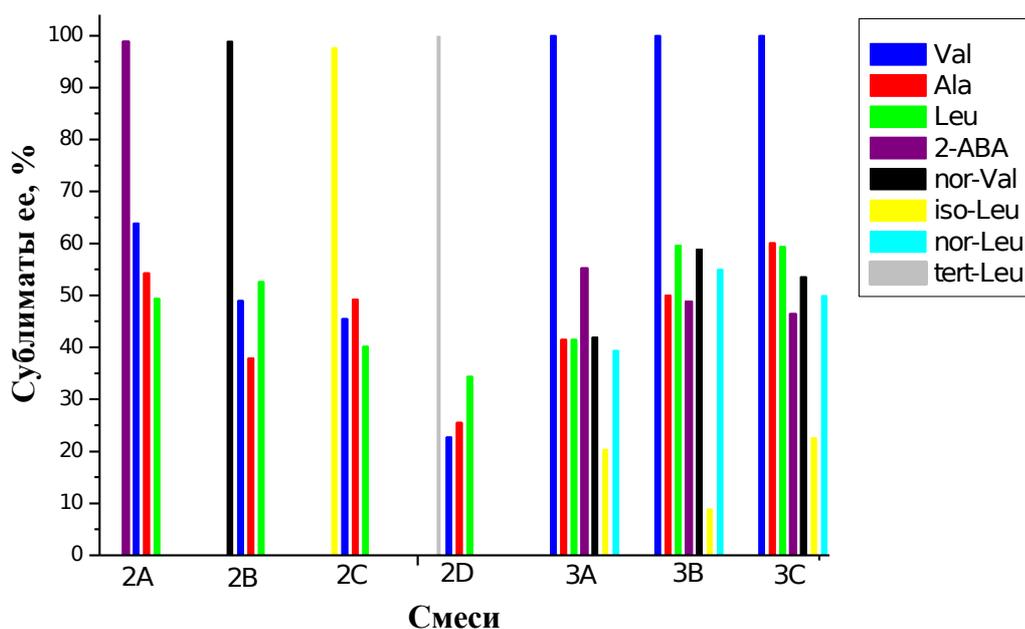
**Рисунок 4.5-1.** Диаграммы изменения энантиомерного избытка в зависимости от количества компонентов в смеси и их соотношения.

варьировалось. Мольное соотношение L-Val : DL-Leu в смеси **A** состояло 1 : 1.5 (Таблица 4.5-1, опыт 5). Смеси **B** и **C** были приготовлены из 1 эквивалента L-Val и 0.25 рацемических аминокислот (DL-Leu и DL-Ala). Для опыта **D** были смешаны 3 аминокислоты L-Val : DL-Ala : DL-Leu 1 : 0.25 : 0.25, что в целом составляет 1 : 0.5 для L и DL компонентов. Здесь сразу стоит отметить, что фактически уменьшая относительное содержание индуктора в смеси **D** (1 : 0.5) по сравнению с **B** и **C** (1 : 0.25), тем не менее происходит выраженный рост энантиомерного избытка для обоих изначально рацемических компонентов трёхкомпонентной смеси **D**. И наконец, для опыта **E** была использована семи-компонентная смесь L-валина (1 эквивалент) с шестью рацематами [аланин Ala (**31**), норвалин nor-Val (**107**), лейцин Leu (**19**), изолейцин iso-Leu (**108**), норлейцин nor-Leu (**109**) и 2-аминобутановая кислота 2-ABA (**110**), Рисунок 4.5-2], каждый в количестве 0.25 эквивалентов, таким образом давая суммарное соотношение между L и DL компонентами 1 : 1.5. В опыте **A** с таким же соотношением, но для бинарной смеси мы наблюдали едва фиксируемое изменение энантиомерного избытка. Для аналогичной смеси содержащей 7 аминокислот было показано поразительное усиление: определённые энантиомерные избытки 6 аминокислот лежали в пределах от 20 (для iso-Leu) вплоть до 55% (для 2-ABA) (рисунок 4.6-1, опыт **E**).



**Рисунок 4.5-2.** Структуры исследуемых аминокислот норвалин (**107**), изолейцин (**108**) (представлен L-энантиомер), норлейцин (**109**), 2-аминобутановая кислота 2-ABA (**110**), трет-лейцин (**111**).

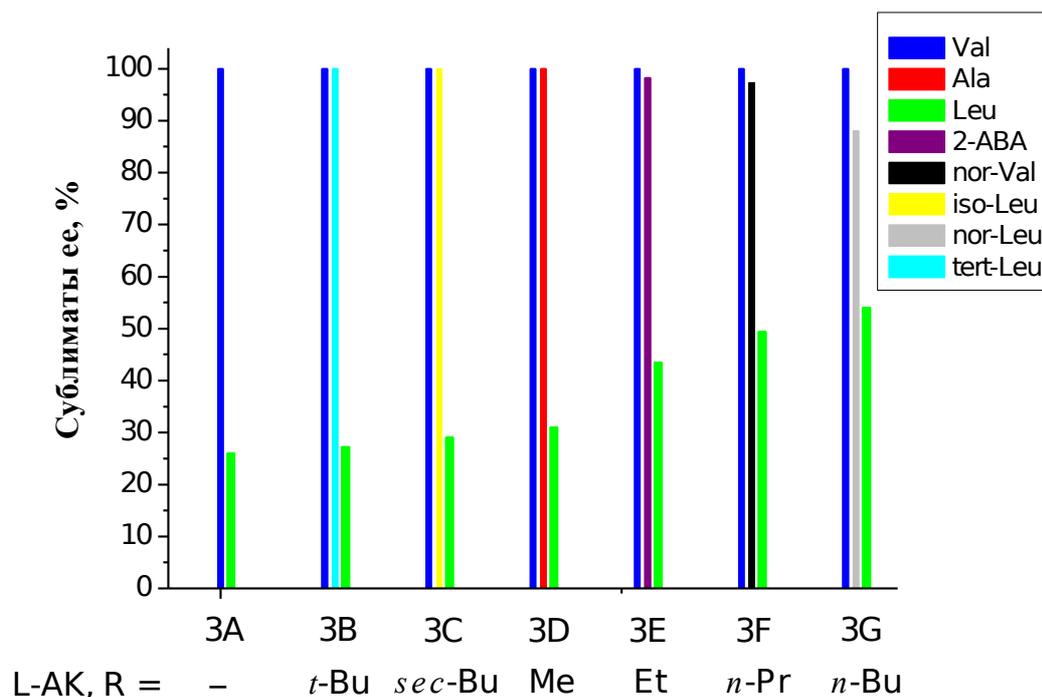
Диссертантом была проведена серия экспериментов (Рисунок 4.5-3) по дерацемизации смеси DL-аланина (**31**), DL-лейцина (**19**) и DL-валина (**25**) (0.25 экв. каждой) одним эквивалентом L-энантиомерночистых аминокислот: 2-



**Рисунок 4.5-3.** Результаты высокотемпературной сублимации многокомпонентных смесей (описание см. в тексте).

аминобутановой кислоты (**110**) (опыт **2A**), норвалина (**107**) (опыт **2B**), изолейцина (**108**) (опыт **2C**), трет-лейцина (**111**) (опыт **2D**) (см. экспериментальную часть, разд. **6.11.7**). Как можно видеть, степень дерацемизации индивидуально определяется каждой из аминокислот-индукторов. Наиболее высокие значения энантиомерного избытка аланина, валина и лейцина были вызваны сублимацией с L-2-аминобутановой кислотой (опыт **2A**), а наименьшие при использовании третичного лейцина (опыт **2D**).

Смеси **3A**, **3B** и **3C** (Рисунок **4.5-3**) представляли собой 7-компонентные композиты содержащие энантиомерночистый L-валин (1 экв. - **3A**, 2 экв. - **3B**, 3 экв. - **3C**) вместе с DL-аланином, DL-лейцином, DL-2-аминомасляной кислотой, DL-норвалином, DL-изолейцином, DL-норлейцином (0.25 экв. каждого из рацематов во всех 3-ех экспериментах; суммарное содержание DL-компонент (**31**, **19**, **107-110**) 1.5 экв.). Повышение относительного содержания индуктора дерацемизации (L-валина) привело к более высоким энантиомерным избыткам



**Рисунок 4.5.4.** Дерацемизация лейцина (**19**) парой энантиомерночистых аминокислот в смесях L-Val : L-AK : DL-Leu 0.5 : 0.5 : 0.25 экв.

для аланина и лейцина, однако одновременно вызвало снижение результирующей оптической чистоты в случае с 2-аминобутановой кислотой. Для норвалина, изолейцина и норлейцина прямой зависимости не наблюдалось.

Следующая серия экспериментов (Рисунок **4.5-4**) посвящена дерацемизации лейцина парой энантиомерночистых аминокислот, одной из которых был валин, а в качестве второй компоненты использовался аланин, 2-аминобутановая кислота, изолейцин, норлейцин, трет-лейцин, норвалин (см. экспериментальную часть, разд. **6.11.8**). Для сравнения на диаграмме приведен результат для бинарной смеси L-валин : DL-лейцин = 1:0.25 (опыт **3A**). Было показано, что эффективность дерацемизации улучшается в ряду tert-Leu (опыт **3B**) < iso-Leu (**3C**) < Ala (**3D**) < 2-ABA (**3E**) < norVal (**3F**) < norLeu (**3G**). Интересно отметить, что наилучшие результаты были получены для линейных аминокислот, а наихудшие для пространственно затруднённых и разветвлённых: *t*-Bu (трет-лейцин) < *sec*-Bu (изолейцин) < Me (аланин) < Et (2-аминобутановая кислота) < Pr (норвалин) < *n*-

Вu (норлейцин). Что характерно, для первых членов ряда, очевидно, что стерические факторы являются более важными, чем электронные: трет-лейцин (111) вызвал меньший энантиомерный избыток, чем изолейцин (108). Тогда как для последующих членов — наряду с увеличением положительного индуктивного эффекта для  $Me < Et < Pr < n\text{-Bu}$ , происходит и рост степени дерацемизации. Можно также отметить, что в ряду  $Me < Et < 2\text{-ABA} < Pr < n\text{-Bu}$  также увеличивается и гидрофобность. С другой стороны, одновременно можно наблюдать частичную рацемизацию 2-аминобутановой кислоты (110), норвалина (107) и норлейцина (109) — чем выше был наблюдаемый энантиомерный избыток, тем в большей степени происходила и рацемизация второй энантиомерно-чистой компоненты. Во все случаях, валин сублимировался без изменения своей оптической чистоты.

#### 4.6. Высокотемпературная сублимация смесей содержащих изовалин

Изовалин (структура 40) — четвертичная  $\alpha$ -аминокислота, не входящая в состав белков. По сравнению с природными третичными протеиновыми аминокислотами, изовалин не способен к рацемизации по выше рассмотренным механизмам (Схема 4.3-1). Изовалин получил пристальное внимание в связи с обнаружением в углистых метеоритах с высоким энантиомерным избытком.[81] [165]

Диссертантом были предприняты попытки (а) дерацемизации других аминокислот с использованием энантиомерно-чистого изовалина, (б) дерацемизации изовалина другими  $\alpha$ -аминокислотами (19, 25, 31) (Таблица 4.6). Смеси изовалина с аланином (31), валином (25) и лейцином (19) были возогнаны в стандартных условиях (см. экспериментальную часть, разд. 6.11) при температуре поверхности 500°. Дериватизация осуществлялась по стандартной процедуре (раздел 6.3, программа газового хроматографа для анализа энантиомеров

производных изовалина и времена удерживания на колонке приведены в экспериментальной части.

Как можно видеть исходя из данных таблицы 4.7, изовалин претерпевает разложение в процессе нагрева и, либо обнаруживается в сублимате в следовых

**Таблица 4.6** Высокотемпературная сублимация (500°C) смесей с изовалином.

№	Начальная смесь (экв.)	Сублимат (ее %)
1	DL-Ala (0.25)	isoVal 100, следовые количества
	D-isoVal (1) + DL-Leu (0.25)	Ala 6.2 L
	DL-Val (0.25)	Leu 8.2 L Val 12.9 L
2*	DL-Ala (0.25)	isoVal 100, следовые количества
	D-isoVal (1) + DL-Leu (0.25)	Ala 3.4 L
	DL-Val (0.25)	Val ~0 Leu 1.8 L
3	L-Val (1) + DL-isoVal (0.25)	isoVal – отсутствует Val 96.1 L
4	L-Leu (1) + DL-isoVal (0.25)	isoVal – отсутствует Leu 87.8 L
5	L-Val (1) + DL-isoVal (0.25)	isoVal – отсутствует
	DL-Leu (0.25)	Val 94.5 L Leu 40.0 L
6	L-Val (1) + DL-isoVal (0.25)	isoVal – отсутствует
	DL-Ala (0.25)	Ala 38.1 L Val 79.4 L
7*	L-Val (1) + DL-isoVal (0.25)	isoVal – отсутствует
	DL-Leu (0.25)	Ala 5.7 L
	DL-Ala (0.25)	Val 70.5 L Leu 4.8 L
8*	L-Leu (1) + DL-isoVal (0.25)	isoVal – отсутствует
	DL-Val (0.25)	Ala 5.0 L
	DL-Ala (0.25)	Val ~rac Leu 69.5 L

\*Сублимация в атмосфере азота.

количествах (опыты 1,2), либо отсутствует полностью (опыты 3-8). По сравнению с предыдущими экспериментами по дерацемизации с использованием энантиомерно чистых **третичных**  $\alpha$ -аминокислот, D-изовалин вызывает значительно более низкий энантиомерный избыток (очевидно, вследствие собственной термической нестабильности). Так в опыте №1, результирующий энантиомерный избыток валина составил 12.9%, а при сублимации этой же смеси в атмосфере азота *ее* вообще не превышал нескольких процентов, что, впрочем, коррелирует с данными по влиянию состава атмосферы (Рисунок 4.4.2-3). Однако, в противоположность энантиомерно чистым третичным аминокислотам, индуцирующих образование гомохиральных нерацемических смесей из рацематов, изовалин дерацемизует аланин, валин и лейцин в противоположном направлении: сублимация рацематов (19, 25, 31) с D-(40) (опыты № 1-2) даёт нерацемические смеси аминокислот (19, 25, 31) с избытком L-энантиомеров.

В экспериментах по сублимации рацемического изовалина DL-(40) в присутствии энантиомерно чистых валина (опыты 3, 5-7) и лейцина (4, 8) во всех случаях происходит рацемизация исходных L-(25) и L-(19), чего не наблюдалось в опытах третичными рацемическими кислотами. Можно предположить, что продукты разложения изовалина (напр. бутанон-2), катализируют рацемизацию (напр. посредством образования иминов, см. также схему 4.4.2-3). С другой стороны, значение индуцированного энантиомерного избытка для лейцина (опыт 5) и аланина (опыт 6) в 3-х компонентных смесях с DL-изовалином и L-валином сопоставимо с экспериментами при отсутствии (40) (результаты в разделе 4.4.1). Энантиомерный избыток в 4-ех компонентных смесях (№ 7-8) при сублимации в атмосфере азоте был незначительным.

#### 4.7. Высокотемпературная дерацемизация и энантиобогащение в смесях с нерацемическим валином. Заключительные ремарки

Таким образом, подводя промежуточные итоги, нами показано, что летучие  $\alpha$ -алкил-аминокислоты могут быть дерацемизованы в присутствии других энантиомерночистых аминокислот; необходимость наличия газовой фазы является одним из критических факторов. Результаты указывают на (i) свойство «катагиозного» распространения энантиомерного избытка и (ii) ярко выраженный синергетический эффект, величина которого коррелирует с числом аминокислот в смеси — в более сложных смесях дерацемизация протекает с большей конверсией. Полученные результаты являются важными с точки зрения теории происхождения биологической гомохиральности, процессов энантиобогащения, дерацемизации и распространения оптической чистоты, предположительно, во времена предбиологического периода Земли. Следует отметить, что сценарий индукции энантиомерночистыми аминокислотами — конечно же маловероятен. Природный энантиомерный избыток, зафиксированный для некоторых метеоритных аминокислот, в исключительных случаях составляет десятки процентов. В Таблице 4.7 представлены результаты серии экспериментов с нерацемическим валином с незначительным энантиомерным избытком в качестве индуктора. Например, используя L-валин с 20%, высокотемпературная сублимация вызвала повышение общего энантиомерного избытка для всех компонентов смеси (опыты 3 и 4). Смеси с ещё меньшим начальным энантиомерным избытком индуктора (L-Val 6 и 11% *ee*, опыты 1 и 2, соответственно), также претерпевают одновременную заметную дерацемизацию (второго компонента DL-Leu) и энантиобогащение самого индуктора (нерацемического валина). Этот результат демонстрирует потенциальные возможности этого подхода: в природных условиях многократного повторения цикла можно ожидать значительного общего усиления энантиомерного избытка.

В заключение, хотелось бы отметить, что несмотря на возможность

**Таблица 4.7.** Высокотемпературная сублимация (500°C) смесей с нерацемическим валином.

№	Начальная смесь (экв.; ее %)	Сублимат (ее %)
1	L-Val (1; 6) + DL-Leu (0.25; 0)	L-Val (7.6) L-Leu (1.3)
2	L-Val (1; 11) + DL-Leu (0.25; 0)	L-Val (14.6) L-Leu (2.7)
3	L-Val (1; 20) + DL-Leu (0.25; 0)	L-Val (32) L-Leu (5.6)
4	L-Val (1; 20) + DL-Leu (0.25; 0) + DL-Ala (0.25; 0)	L-Val (30.1) L-Leu (10.4), L-Ala (14)

протекания так называемого абсолютного асимметрического синтеза [110][103], на сегодняшний день единственным экспериментально зафиксированным абиогенным источником нерацемических смесей являются углистые метеориты [76]. Несмотря на неутраченные споры, большинство учёных рассматривают именно этот экзогенный фактор, как первоначальный индуктор асимметрии в пребиотических процессах, предшествовавших зарождению жизни. Предложенная нами экспериментальная модель [20] демонстрирует переход к энантиообогащённому в жестких неселективных условиях для сложных смесей аминокислот и служит убедительным доводом в пользу реалистичности сублимации, как одного из ключевых пребиотических механизмов гомохирогенезиса.

## Глава 5. АСИММЕТРИЧЕСКИЕ ТРАНСФОРМАЦИИ В ТВЁРДОЙ ФАЗЕ $\gamma$ -ГЛИЦИНА

Все эксперименты по возникновению оптической активности в кристаллах глицина были проведены диссертантом Тарасевичем А.В. Анализ результатов, интерпретация полученных данных и написание статьи [Tarasevych, A.V. Attrition-induced spontaneous chiral amplification of the  $\gamma$  polymorphic modification of glycine / Tarasevych A.V., Sorochinsky A.E., Kukhar V.P., Toupet L., Crassous J., Guillemin J.-C. // *CrystEngComm*. – 2015. – Vol. 17. – № 7. – P. 1513-1517] [166] осуществлялись Тарасевичем А.В; J. Crassous и J.-C. Guillemin делали правки. Сорочинский А.Е. оказывал научные консультации, участвовал в подготовке результатов к публикации.

### 5.1. Хиральность глицина

Глицин (**112**, Gly) – простейшая аминокислота, которая в отличие от всех остальных протеиногенных аминокислот не содержит заместителей у  $\alpha$ -углерода и, вследствие чего, является ахиральным соединением. В кристаллическом виде глицин может существовать в виде нескольких полиморфных модификаций:  $\alpha$ ,  $\beta$  и  $\gamma$  при обычных условиях, а в условиях повышенного давления как  $\beta'$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$  и  $\zeta$  формы, которые были недавно открыты [167][168][169][170]. Среди них,  $\gamma$  полиморфная модификация кристаллизуется в энантиотопных пространственных группах  $P3_1$  и  $P3_2$ . Несмотря на многочисленные кристаллографические исследования, посвящённые различным аспектам модификаций глицина, включая недавнюю статью по рентгеноструктурному анализу монокристаллов  $\gamma$ -Gly и

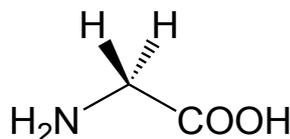


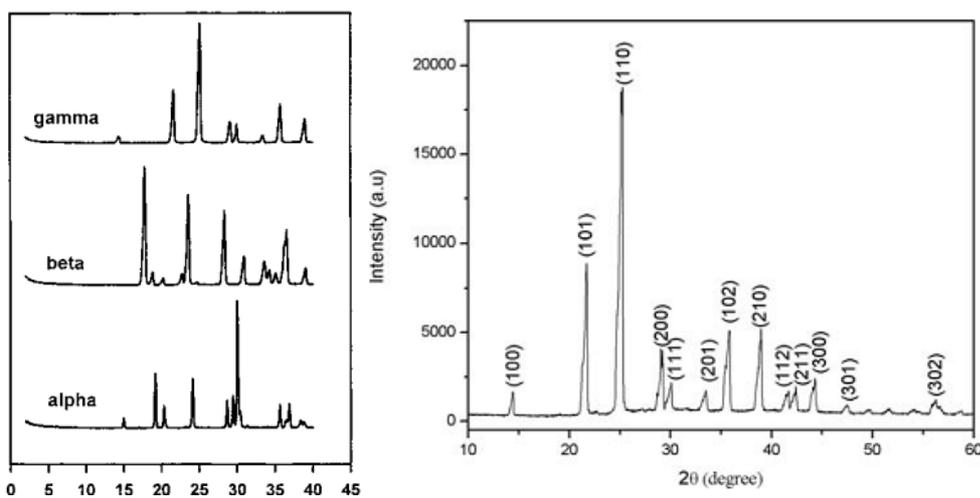
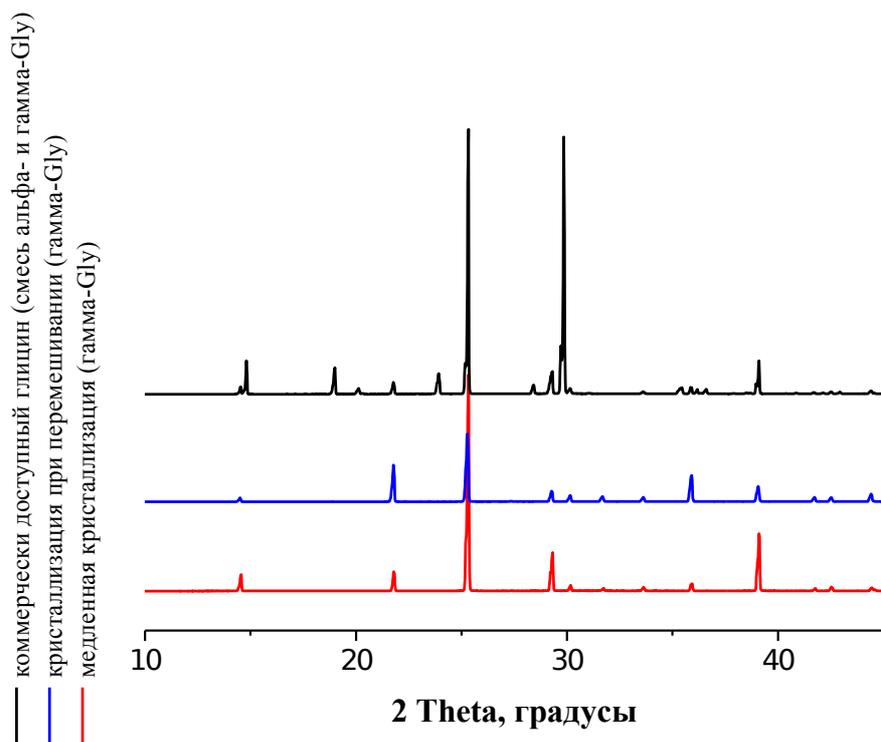
Рисунок 5.1-1. Простейшая ахиральная  $\alpha$ -аминокислота — глицин (**112**).

установление корреляции между его абсолютной кристаллической структурой и знаком оптического вращения плоско-поляризованного света [114], до сих пор не было предпринято никаких попыток для его дерацемизации. С другой стороны, в целом ряде работ было показано, что  $\gamma$ -Gly является очень хорошим кандидатом на использование для нужд нелинейной оптики и как материал обладающий хорошими пьезоэлектрическими свойствами, а его ко-кристаллы являются ферроэлектриком [171][172].

## 5.2. Кристаллизация $\gamma$ -глицина без перемешивания

Эффекты связанные с хиральностью  $\gamma$ -Gly до сих пор не были исследованы. Поэтому, нами были изучены спонтанный и индуцированный рост оптической активности в  $\gamma$ -Gly кристаллической фазе. Для анализа смесей был использован метод твёрдофазного кругового дихроизма.

Получение  $\gamma$  полиморфной модификации глицина осуществлялось по методике описанной в работе [173] путём перекристаллизации  $\alpha$ -глицина из водного раствора хлорида натрия (см. экспериментальную часть, разд. 6.15.1). Кристаллическая структура  $\gamma$  формы была подтверждена методом порошковой дифракции рентгеновских лучей. На рисунке 5.2-1 сверху представлены дифрактограммы (i) коммерчески доступного глицина (черный цвет), (ii) измельчённых монокристаллов полученных в результате медленного роста из соляного раствора в соответствии с вышеуказанной процедурой (красная дифрактограмма) и (iii) кристаллов образованных в тех же условиях, но при интенсивном перемешивании (синий график). Интересно, что продажный образец глицина (Aldrich), который использовался для получения  $\gamma$  формы, наряду  $\alpha$  формой содержал и  $\gamma$  модификацию. В зависимости от условий (температура, концентрация, скорость охлаждения), кристаллизация водных растворов глицина может давать любую из трёх модификаций глицина ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ) или их смесь.



**Рисунок 5.2-1.** Дифракция рентгеновских лучей полученная с порошков of  $\alpha$ ,  $\beta$  and  $\gamma$ -Gly: сверху экспериментальные данные Тарасевича А.В., внизу — литературные,  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  слева [168]  $\gamma$ -Gly справа [172].

Термодинамическая стабильность этих форм уменьшается в ряду  $\gamma > \alpha > \beta$ , однако при кристаллизации Gly из водного раствора при обычных условиях быстрее образуется  $\alpha$  форма.

В предварительных опытах, для определения удельного значения кругового дихроизма (миллиград/мг) в твёрдой фазе, индивидуальные монокристаллы  $\gamma$ -

глицина были отобраны с помощью шпателя и пинцета, остатки раствора были удалены фильтровальной бумагой. Измерение кругового дихроизма проводилось в KBr (Aldrich, FT-IR grade) с заведомо известной концентрацией оптически активного материала в таблетке (0.5 - 5 mg) на спектрометре Jasco J-815 (CD spectrometer) в УФ диапазоне 200 – 300 нм или 200 – 230 нм (Таблица 5.2-1).

**Таблица 5.2-1.** Рассчитанный энантиоморфный избыток монокристаллов глицина полученного в результате (i) медленной кристаллизации без перемешивания (№1-7 монокристаллы), (ii) кристаллизаты, полученные в результате интенсивного перемешивания (№8-18), (iii) в условиях Оствальдовского дозревания при растирании (№19-21).

№	Значение CD сигнала, удельная эллиптичность (миллиград/мг) 213 нм	Оценка абсолютного энантиоморфного избытка, %
1	~0	0
2	-34.34	49.1
3	+34.11	48.7
4	-24.06	34.4
5	-39.8	56.9
6	-40.2	57.4
7	-23.9	34.1
8	-1.61	2.3
9	+17.93	25.6
10	+1.06	1.5
11	+7.66	10.9
12	+5.57	7.9
13	+5.41	7.7
14	-3.25	4.6
15	-22.21	31.7
16	-3.3	4.7
17	~0	0
18	+3.26	4.6
19	-70	~100
20	+6.0	8.6
21	+4.5	6.4

Попытка визуального измерения оптической активности индивидуальных монокристаллов или хотя бы демонстрации различия между лево и правовращающими формами  $\gamma$ -Gly на поляризационном микроскопе (M200-PZ AmScope, 40X-400X polarizing & brightfield microscope) не увенчалась успехом. Известно, что угол вращения плоскополяризованного света индивидуальных монокристаллов составляет всего лишь  $0.95^\circ \text{ мм}^{-1}$  при 630 нм [114], что, например, в 10-100 раз меньше, чем для  $\alpha$ -кварца, глютаминовой и аспарагиновой кислот; и затрудняет визуальное распознавание оптических антиподов.

При медленной кристаллизации раствора без перемешивания, большинство полученных монокристаллов обладали оптической активностью, со случайным распределением лево- и правовращающих энантиоморфных форм. В целом же вся смесь имела нулевой CD сигнал (Таблица 5.2-1, №1-7). Данный результат соответствует многочисленным работам посвящённым исследованиям хиральной кристаллизации хлората и бромата натрия,[92] 4,4'-диметилхалькона [100], асимметрической трансформации бинафтила [174][175][176].

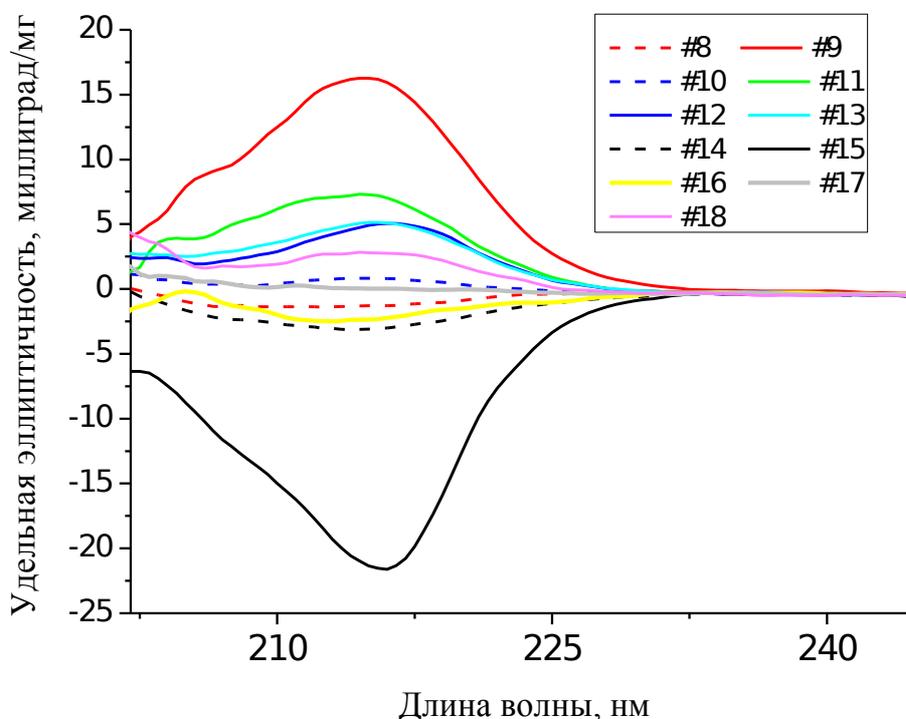
Диссертантом было найдено, что от кристалла к кристаллу, абсолютное удельное значение сигнала кругового дихроизма (CD, миллиград/мг) значительно меняло своё значение при одной и той же концентрации образца в KBr. Наиболее высокие значения CD сигнала  $|40.2|$  миллиград/мг, полученное нами для индивидуальных монокристаллов было изначально ошибочно принято за 100% энантиоморфный избыток кристаллов (хотя в работе [100] был использован термин “crystal enantiomeric excess”, далее в тексте для характеристики соотношения между антиподами, удет использоваться более корректный термин «энантиоморфный избыток кристаллов», так как *l* и *d* кристаллы ахиральных соединений не могут быть названы энантиомерами).

Предположительно, непостоянство CD сигнала может быть связано с эпитаксиальной природой  $\gamma$ -Gly, а именно, с одновременным наличием в индивидуальных монокристаллах энантиоморфночистых доменов обеих форм  $\gamma$ -глицина, сросшихся между собой. С другой стороны, в работе Ishikawa et al.

сообщается, что кроме оптически активных кристаллов,  $\gamma$ -Gly может образовывать монокристаллический двойниковый кристалл [114]. Исследование распределения и/или чередования кристаллических гомохиральных областей в рамках одного кристалла является нетривиальной задачей и значительно затруднено для ахиральных соединений образующих оптически активные кристаллы.

### 5.3. Кристаллизация $\gamma$ -глицина при перемешивании

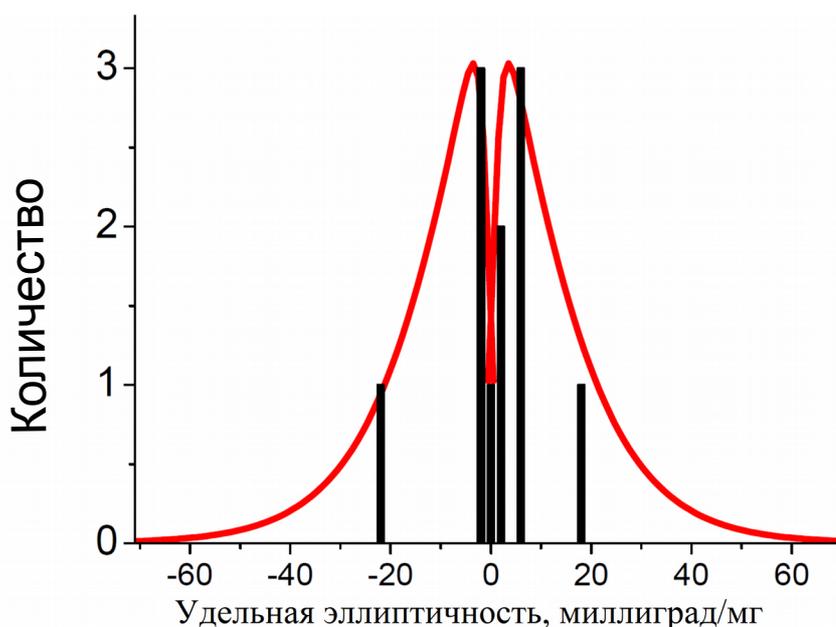
Дальнейшие эксперименты по кристаллизации  $\gamma$ -Gly были проведены в условиях интенсивного перемешивания (Таблица 5.2-1, №8-18, условия кристаллизации описаны в разд. 6.15.2). На рисунке 5.3-1 представлены спектры кругового дихроизма 11 экспериментов: в каждом из опытов. Как результат медленного испарения растворителя, приблизительно на третьи сутки



**Рисунок 5.3-1.** Круговой дихроизм 11 индивидуальных кристаллизаций глицина полученных при интенсивном перемешивании.

перемешивания наблюдалось образование мелкокристаллического осадка. Вследствие непрерывного раздробления образующихся кристаллов, измерения проводились не с монокристаллов, а с порошка  $\gamma$ -глицина, отделённого вакуумным фильтрованием. В 4-ёх экспериментах наблюдалось образование левовращающей (-) формы (№8, 14-16), в 6-и опытах CD сигнал имел положительное значение (№9-13 и 18); один же из образцов фактически не имел оптической активности (№17).

Гистограмма распределения удельной эллиптичности (Рисунок 5.3-2) в 11 проведённых экспериментах при интенсивном перемешивании соответствует *слабовыраженному* биномиальному распределению с центром около  $0^\circ$  и двумя максимумами около  $\pm 3-6^\circ$ . Очевидно, что в условиях более эффективного созревания твёрдой фазы, которые могут быть реализованы путём повышения температуры, увеличения времени перемешивания или интенсивности раздробления, биномиальный характер распределения будет иметь более выраженный вид. Можно предположить, что при полном созревании, распределение вырождается в равновероятностное получение одного из антиподов в



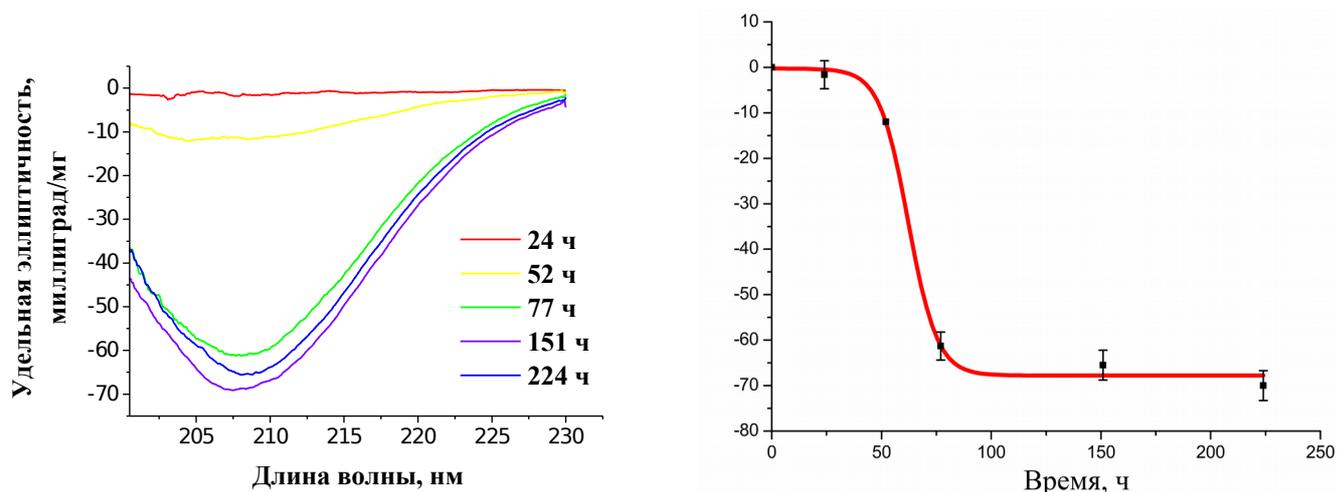
**Рисунок 5.3-2.** Гистограмма распределения кругового дихроизма глицина полученного в результате кристаллизации при перемешивании.

чистом виде, что будет описываться нормальным распределением Гаусса, определяющим вероятность получения  $l$  или  $d$  кристаллов в зависимости от количества экспериментов.

#### 5.4. Дозревание $\gamma$ -глицина в условиях механического растирания

Следующая серия экспериментов по дерацемизации  $\gamma$ -глицина была проведена в условиях повышенного механического растирания (attrition enhanced grinding — термин используемый в англоязычной литературе) с использованием стеклянных шариков (описание эксперимента см. в разд. 6.15.3). В предыдущих работах, посвящённых как (i) нарушению симметрии ахиральных соединений [99], так и (ii) дерацемизации или увеличению оптической чистоты нерацемических смесей конгломератов рацемизирующихся энантиомеров (асимметрические трансформации энантиомеров второго рода) [177], была продемонстрирована эффективность применения стеклянных шариков для механического измельчения кристаллов, что вызывало повышение скорости роста оптической чистоты. Добавление стеклянных шариков облегчало «подвод» механической энергии в гетерофазную систему за счёт растирания.

В одном из первых экспериментов начальная смесь никак не изменилась в результате перемешивания в течении 10 дней, и в результате, так и осталась оптически *неактивной* без какого-либо заметного сигнала кругового дихроизма. Однако в дальнейших независимых параллельных экспериментах мы наблюдали феномен спонтанного нарушения симметрии между лево- и правовращающими формами  $\gamma$ -Gly: начиная с оптически неактивной смеси с эквивалентным содержанием обоих энантиоморфных форм, твёрдая фаза гетерофазной системы спонтанно, случайным образом эволюционировала от нулевого к удельному значению циркулярного дихроизма порядка 70-71 миллиград/мг. Мы предполагаем, что данное значение соответствует или является очень близким к 100-

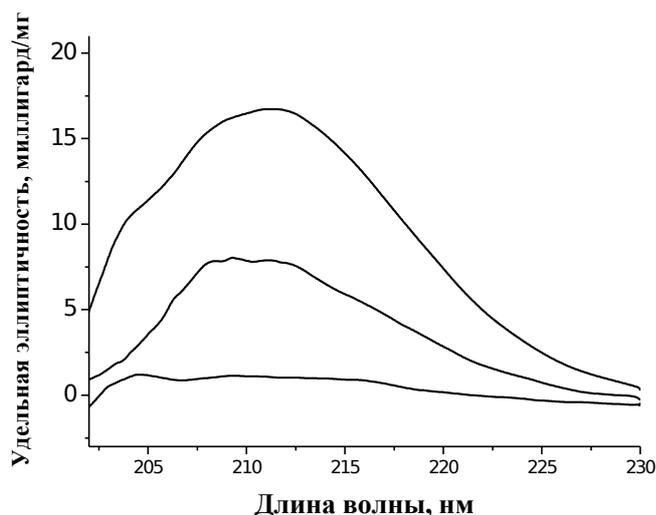


**Рисунок 5.4-1.** Эволюция оптической активности в результате Оствальдовского дозревания в условиях растирания кристаллов  $\gamma$ -Gly со стеклянными шариками.

процентному энантиоморфному избытку. Резкий скачок оптической активности был зафиксирован на 3 день «дозревания». На рисунке 5.4-1 представлены CD спектры проб и эволюция оптической активности одного из экспериментов в течение 9-10 дней.

Для измерения CD сигнала, несколько сотен микролитров взвеси были отобраны с помощью пипетки Пастера, раствор был удалён фильтрованием на микрофилт্রে Шотта и досушен при 40°C в течение нескольких часов. Анализ полученных данных в координатах «время – удельная эллиптичность» (при выбранной длине волны) даёт кривую сигмоидального вида наиболее соответствующую Больцмановскому типу (рисунок 5.4-1, слева), что указывает на выраженный автокаталитический характер процесса.

На рисунке 5.4-2 представлены результаты 3 независимых опытов по «дозреванию» при перемешивании со стеклянными шариками той же самой оптически неактивной смеси. Растирание было остановлено на второй день, отобранные пробы были проанализированы на CD спектрометре. Несмотря на то, что все 3 эксперимента были проведены в одинаковых условиях, появление и эволюция оптической активности имело случайный характер: одна из смесей фактически осталась без изменений, тогда как две других показали некоторый



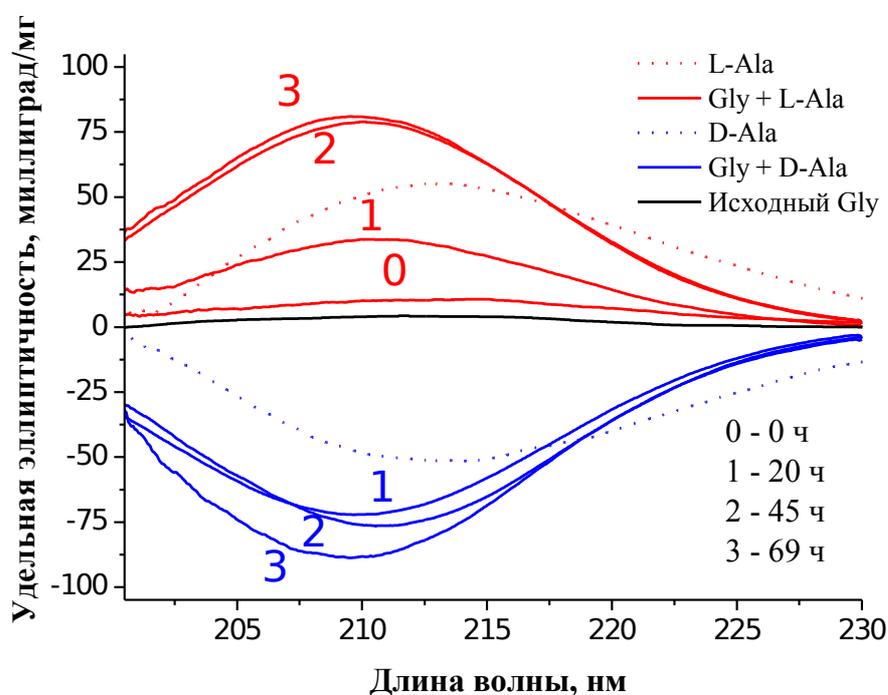
**Рисунок 5.4-2.** Результаты 3-ёх независимых экспериментов дозревания Виедмы при растирании с механическими шариками спустя 1 день начиная с оптически неактивного материала.

сигнал кругового дихроизма (Таблица 5.2-1, №20-21).

### 5.5. Дозревание $\gamma$ -глицина в присутствии энантиомерно чистого аланина

И, наконец, нами была продемонстрирована возможность асимметрического контроля получаемой энантиоморфной формы  $\gamma$ -Gly посредством добавления незначительного количества (5% по весу) энантиомерно чистых L и D аланинов в условиях механического растирания со стеклянными шариками (см. экспериментальную часть, разд. 6.15.4). На рисунке 5.5-1 приведены результаты асимметрической индукции: красным обозначены спектры кругового дихроизма чистого L-аланина (пунктиром) и его смесей  $\gamma$ -Gly в процессе эволюции кристаллического энантиоморфного избытка (сплошные кривые); синим цветом — соответственно D-аланин и смеси с ним; спектр, нарисованный чёрным — используемый образец  $\gamma$ -Gly, который не обладал сколь-нибудь заметной оптической активностью. Начальная механическая смесь рацемического  $\gamma$ -Gly,

содержащая 5% по массе L-аланина, показала незначительный CD сигнал порядка 10 миллиградусов на миллиграмм, обусловленный энантиомерно чистым аланином ( $\lambda_{\max} \sim 215$  нм). Спустя 20 часов дозревания в вышеуказанных условиях (в насыщенном растворе глицина в водном хлориде натрия, 100 г/л), величина удельной эллиптичности достигла 34 миллиград/мг. Через 45 часов, с момента запуска процесса растирания, оптическая активность смеси уже практически вышла на свой максимум (79 миллиград/мг), которая лишь незначительно приросла (81 миллиград/мг) спустя ещё сутки. Примечательно, что путём



**Рисунок 5.5-1.** Асимметрическая индукция в процессе дозревания кристаллов  $\gamma$ -Gly с добавлением L-(+) (красный) и D-(-) (синий) аланина (5%).

вычитания удельных эллиптичностей конечной и начальной смесей при  $\sim 210$  нм  $\theta_{69 \text{ ч}} - \theta_0$  получается величина соответствующая максимуму  $\theta$  на рисунке 5.4-1 ( $\sim 71$  миллиград/мг, см. также таблицу 5.2-1, №19). В случае с D-аланином максимум составил несколько более высокое значение (87 миллиград/мг), что укладывается приблизительно в 6 процентную ошибку между обоими результатами.

## 5.6. Обсуждение возможного механизма энантиоселективного роста кристаллов $\gamma$ -глицина

Ещё в конце позапрошлого века Kipping и Pore опубликовали данные об энантиоселективной кристаллизации хлората натрия из раствора D-глюкозы [178], что поистине можно считать одной из первых исторических работ по асимметрической индукции. Недавно, их результаты были тщательно перепроверены, и, как оказалось, роль индукторов скорее играют хиральные центры кристаллообразования *недорастворённой* глюкозы, нежели оптически активный раствор [179]. Предположительно, в наших экспериментах по индукции аланином, также может иметь место подобное явление: кристаллы энантиомерно чистых L-(-) или D-(+) аланинов служат центрами роста энантиоморфных (-) или (+) форм  $\gamma$ -Gly, соответственно. Интересно, что (-)-Ala вызывает рост (-)- $\gamma$ -Gly и наоборот: (+)-Ala – эволюцию (+)-Gly. Также возможно, что в процессе перемешивания происходит некое срастание кристаллов аланина и глицина имеющих одну и ту же хиральность. Подобное явление недавно было описано в работе [180]: на примере бромата натрия было показано, что его рацемическая смесь в результате Оставальдовского дозревания либо при нагревании, кипячении или встряхивании с насыщенным раствором, претерпевает постепенную агрегацию в гомохиральные кластеры, содержащие порядка нескольких десятков кристаллов одной и той же хиральности. Авторы назвали это явление, как специфически направленное присоединение энантиомеров (enantiomer-specific oriented attachment) в кристаллическом состоянии.

С другой стороны, альтернативным механизмом является эпитаксия – в данном конкретном случае, энантиоселективно-ориентированный рост кристаллов  $\gamma$ -глицина на хиральных кристаллах аланина. Несмотря на то, что кристаллические решётки энантиомерно чистого аланина и  $\gamma$ -глицина относятся к разным типам точечных групп – L/D-Ala, ромбическая система, группа  $P2_12_12_1$  [181], а  $\gamma$ -Gly относится к одной из тригональной энантиоморфных групп  $P3_1$  и

$P3_1$ , и, следовательно, они не являются изоструктурными – эпитаксиальный механизм асимметрической индукции также не стоит полностью исключать.

Вдобавок, также можно провести аналогии с явлением энантиоселективной окклюзии рацемических  $\alpha$ -аминокислот на энантиотопных гранях нехиральной  $\alpha$  полиморфной модификации глицина, которое было детально изучено группой израильских учёных в 80-ых годах [140]. Центросимметрические кристаллы  $\alpha$ -Gly имеют бипирамидальную морфологию и по сути являются ахиральными (пространственная группа  $P2_1/n$ ). Однако, вследствие неэквивалентности метиленовых протонов молекул глицина на поверхности, его противоположные грани (010) и (0 $\bar{1}$ 0) являются энантиотопными одна по отношению к другой. Вследствие обнаруженной аффинности между гемиедрическими гранями (010) к D и (0 $\bar{1}$ 0) к L-энантиомерам соответственно, происходила предпочтительная ориентация кристаллов  $\alpha$ -глицина на разделе фаз «раствор – воздух», что вызывало их энантиобогащение в растворе.

## 5.7. Заключение

1. Медленная кристаллизация  $\gamma$ -Gly без перемешивания даёт хорошо оформленные монокристаллы, которые в своём большинстве обладают оптической активностью. В целом же полученная смесь не показывает детектируемого сигнала кругового дихроизма.
2. Серия независимых кристаллизаций при интенсивном перемешивании раствора дала мелкокристаллические образцы  $\gamma$ -Gly с вероятностным распределением энантиоморфного обогащения. Зависимость частоты результата от наблюдаемой удельной эллиптичности описывается слабовыраженным биномиальным распределением Больцмана.
3. Несколько параллельных кристаллизаций в условиях дозревания с повышенным механическим растиранием (со стеклянными шариками) дали

в конечном итоге гомохиральные образцы гамма-глицина. Эволюция гомохиральности и выбор энантиоморфной формы носят стохастический характер.

4. Добавка небольшого количества другой хиральной аминокислоты – аланина, вызвало направленную асимметрическую индукцию в кристаллической фазе в процессе дозревания  $\gamma$ -глицина.

## Глава 6. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

### 6.1. Физико-химические методы анализа

Значительная часть экспериментальной работы заключалась в хиральном анализе  $\alpha$ -аминокислот. Анализ смесей дериватизированных  $\alpha$ -аминокислот проводился непосредственно Тарасевичем А.В. на двух идентичных газовых хроматографах Shimadzu GC-2014 с пламенно-ионизационными детекторами. Хроматографы были оборудованы хиральными капиллярными колонками CHIRALDEX™ G-TA (2,6-ди-О-пентил-3-трифторацетил производные  $\gamma$ -циклодекстрина, длина L 30 м, внутренний диаметр I.D. 0.25 мм, толщина слоя закреплённой фазы  $d_f$  0.12  $\mu\text{m}$ ), CHIRALDEX™ G-BP (2,6-ди-О-пентил-3-бутирил производные  $\gamma$ -циклодекстрина, длина L 30 м, внутренний диаметр I.D. 0.25 мм, толщина слоя закреплённой фазы  $d_f$  0.12 мкм) и CP-Cyclodex B (циклодекстрин- $\beta$ -2,3,6-M-19, длина L 50 м, внутренний диаметр I.D. 0.25 мм, толщина слоя закреплённой фазы  $d_f$  0.25 мкм). Газ носитель — гелий высокой чистоты марки “alfagas 2” (99.9999%). Водород для пламенно-ионизационного детектора чистый, марка “U” (99.95%). Растворитель для инъекции анализируемых смесей и кондиционирования колонок — диэтиловый эфир. Вследствие высокой чувствительности капиллярной колонки CHIRALDEX™ G-TA к влаге (следы воды >100 ppm вызывают гидролиз трифторацетильных групп хиральной фазы), диэтиловый эфир предварительно осушали кипячением над натрием с бензофеном в атмосфере сухого аргона и последующей перегонкой, каждый раз непосредственно перед осуществлением анализа.

Программа газового хроматографа для анализа N-этоксикарбонил этиловых эфиров энантиомеров аланина на колонке CHIRALDEX™ G-TA: общее время 46.33 мин, газ носитель He, давление 102.0 кПа, общий поток 10.0 мл/мин, поток через колонку 1.07 мл/мин, линейная скорость потока 28.5 см/с. Режим термостата: выдержка при 90°C в течении 3 мин, затем 0.6°C/мин до 110°C и нагрев 180°C со скоростью 10°C/мин, выдержка при этой температуре в течении 3

мин. Времена удерживания 39.53 (D) и 40.5 мин (L-энантиомер), см. стр. 148.

Программа газового хроматографа для анализа N-этоксикарбонил этиловых эфиров энантиомеров смеси аланина, валина, лейцина и пролина на колонке CHIRALDEX™ G-TA: общее время 77.67 мин, газ носитель He, давление 89.0 кПа, общий поток 10.0 мл/мин, поток через колонку 0.90 мл/мин, линейная скорость потока 25.1 см/с. Режим термостата: нагрев от 90°C (выдержка 3 мин) до 130°C со скоростью 0.60°C/мин, затем нагрев до 180 °C (10°C/мин) и 3 минуты при этой температуре. Времена удерживания: производные аланина 45.85 (D) и 49.85 мин (L-энантиомер); производные валина 57.66 (D) и 60.21 мин (L-энантиомер), см. стр. 149; производные лейцина 69.20 (D) и 71.38 мин (L-энантиомер), см. стр. 150; производные пролина 74.15 (D) и 75.11 мин (L-энантиомер), см. стр. 151.

Программа газового хроматографа для анализа N-этоксикарбонил этиловых эфиров энантиомеров 3-амино-4,4,4-трифторбутановой кислоты на колонке CHIRALDEX™ G-TA: общее время 46.33 мин, газ носитель He, давление 102.0 кПа, общий поток 10.0 мл/мин, поток через колонку 1.07 мл/мин, линейная скорость потока 28.5 см/с. Режим термостата: выдержка при 90°C 3 мин, затем нагрев до 110°C со скоростью 0.60°C/мин, затем нагрев до 180 °C (скорость 10°C/мин) и 3 минуты при этой температуре. Времена удерживания: 38.56 (R) и 39.29 мин (S-энантиомер), см. стр. 164.

Программа газового хроматографа для анализа метиловых эфиров энантиомеров миндальной кислоты и метиловых эфиров энантиомеров ибупрофена на колонке CP-Cyclodex B: общее время анализа 98.0 минут, газ носитель He, давление 96.7 кПа, общий поток 10.0 мл/мин, поток через колонку 1.0 мл/мин, линейная скорость потока 27.1 см/с. Режим термостата: выдержка при 90°C в течении 15 мин, затем нагрев до 165°C со скоростью 1.0°C/мин и выдержка 8 минут при этой температуре. Времена удерживания производных ибупрофена 94.34 и 94.6 мин; миндальной кислоты — 78.49 и 78.87 мин, см. стр. 166.

Программа газового хроматографа для анализа N-этоксикарбонил этиловых

эфиров энантиомеров изовалина на колонке CHIRALDEX™ G-TA: общее время 65 мин, газ носитель He, давление 115.7 кПа, общий поток 20.0 мл/мин, поток через колонку 1.07 мл/мин, линейная скорость потока 30 см/с. Режим термостата: 130°C в течении 5 мин, от 130°C до 140°C со скоростью 1.0°C/мин и выдерживают при 140°C 10 мин, затем нагрев до 160 °C (1.0°C/мин) и выдержка 20 минут при этой температуре. Времена удерживания 54.47 (L) и 56.26 мин (D-энантиомер).

Программа газового хроматографа для анализа N-этоксикарбонил этиловых эфиров энантиомеров сложных смесей аминокислот (аланин, валин, норвалин, лейцин, изолейцин, норлейцин, трет-лейцин, 2-аминомасляная кислота) на колонке CHIRALDEX™ G-TA: общее время анализа 126.33 мин, газ носитель He, давление 145.9 кПа, общий поток 13.5 мл/мин, поток через колонку 1.76 мл/мин, линейная скорость потока 40 см/с. Режим термостата: выдержка при 90°C в течении 3 мин, затем нагрев до 120°C со скоростью 0.60°C/мин и выдержка при этой температуре 20 мин, затем нагрев до 140°C (0.60°C/мин), нагрев до 160°C (10°C/мин) и выдержка 10 минут при этой температуре. Времена удерживания аминокислот (в минутах) в порядке выхода: D-аланин 33.94, L-аланин 37.05, D-2-аминомасляная кислота 42.04, D-валин 45.1, L-третлейцин 46.74, L-валин 47.08, L-2-аминомасляная кислота 47.5, D-норвалин 51.77, D-изолейцин 53.82, D-лейцин 55.34, L-норвалин 57.41, L-лейцин 58.52, L-изолейцин 59.34, L-норлейцин 65.02, D-норлейцин 69.36 (см. пример хроматограммы на стр. 168). Смеси содержащие одновременно производные L-валина и L-2-аминомасляной кислоты этой программой не анализировали.

Аналитические исследования на жидкостном хроматографе с УФ/масс-спектрометрическим детектором на приборе Shimadzu LCMS-2020 дериватизированных α-аминокислот (в том числе диастереомерных производных) проводились Тарасевичем А.В. вместе с техническим ассистентом T. Vives в Высшей национальной химической школе города Рен (Франция). Масс-анализатор - одноквадрупольный с двойным методом ионизации — электроспрей (ESI) с одновременной химической ионизацией при атмосферном давлении

(APCI). Диапазон сканирования — либо от 50 до 500 а.е.м., либо в режиме мониторинга по выбранным ионам (SIM). Анализ проводился на колонке с обращённой полярностью C18 Accucore (силикагель модифицированный н-октадецил-диметил-силильными заместителями); характеристики колонки: длина 150 мм, диаметр 4.6 мм; размер частиц 2.6 мкм, размер пор 80 Å, площадь поверхности 130 м<sup>2</sup>/г. Температура колонки в процессе анализа 30°C, элюент — смеси метанола с ацетонитрилом (HPLC grade) с градиентом полярности от 100% ацетонитрила до смеси MeOH:CH<sub>3</sub>CN 80:20.

Хиральный двумерный ГХ x ГХ анализ с масс-спектрометрическим детектированием серии образцов Тарасевича А.В. был проведён аспиранткой Юлией Миргородской Университета г. Ниццы (Франция). Анализ был осуществлён на 2D газовом хроматографе GC×GC Pegasus IV D, оборудованным время пролётным масс анализатором LECO, Michigan (США). Скорость сканирования 150 Гц в диапазоне 50–400 а.е.м., напряжение на детекторе 1.8 кВ. Температура источников ионов и инжектора 230°C. Первая колонка — хиральная Chirasil-D-Val: длина 49.565 м, внутренний диаметр I.D. 0.25 мм, толщина слоя закреплённой фазы  $d_f$  0.08 мкм; вторая колонка — полярная DB Wax (фаза — полиэтиленгликоль): длина 1.4 м, внутренний диаметр I.D. 0.1 мм, толщина слоя закреплённой фазы  $d_f$  0.1 мкм. Газ носитель — гелий с постоянным потоком 1 мл в минуту. Программа термостата первой колонки: выдержка при 40°C в течении 1 минуты, затем нагрев до 80°C со скоростью 10°C в минуту и выдержка при этой температуре 5 минут; далее, нагрев до 120°C со скоростью 2 °C в минуту и выдержка 5 минут, затем нагрев до 190 °C со скоростью 10 °C в минуту. Термостат второй колонки был установлен на аналогичную программу нагрева со смещением на 20°C выше. Период модуляции между колонками был установлен на 5 секунд. Обработка данных проводилась с использованием программного обеспечения LECO Corp ChromaTOFTM.

Спектры ЯМР <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C, <sup>2</sup>D и <sup>19</sup>F растворов соединений в CDCl<sub>3</sub>, D<sub>2</sub>O, ацетоне-*d*<sub>6</sub> и C<sub>6</sub>D<sub>6</sub> были записаны на приборах Bruker Avance-400 (г. Рен, Франция) и Varian

Union Plus 400 (г. Киев) с использованием остаточных сигналов растворителей в качестве внутренних стандартов; для  $^{19}\text{F}$  в качестве стандарта использовали  $\text{CFCl}_3$ .

Инфракрасные спектры записывали на приборе Bruker VERTEX 70 FT-IR (г. Киев) и Varian (г. Рен) в таблетках KBr (х.ч. и FT-IR grade).

Колоночную флэш-хроматографию проводили на силикагеле Merck 60 (0.040-0.063 мм). Аналитическую тонкослойную хроматографию на пластинах Merck Silica gel 60 F<sub>254</sub>, с визуализацией в ультрафиолете или раствором нингидрина в смеси уксусной кислоты и н-бутанол.

Спектры циркулярного дихроизма были измерены непосредственно Тарасевичем А.В. на спектрометре JASCO J-815 CD в таблетках KBr (FT-IR grade) в лаборатории доктора E. Le Rumeur (Institut de Génétique et développement de Rennes, Université de Rennes 1).

Дифракцию рентгеновских лучей порошков (образцы глицина) записывали на приборе Bruker D8 Advance diffractometer с пара-фокальной геометрией  $\theta$ - $2\theta$  на отражение (по Бреггу – Брентано). Источник излучения  $\text{CuK}\alpha$  с длиной волны  $\lambda = 1.541874 \text{ \AA}$  с сканирующим шагом от  $10^\circ$  до  $50^\circ 2\theta$ . Прибор оборудован позиционно-чувствительным детектором LynxEye линейного типа. Запись дифрактограмм была проведена ассистентом I. Marlart (Institut des Sciences Chimiques de Rennes, Chimie du Solide et Matériaux).

Дифракцию рентгеновских лучей порошков (образцы аланина и валина) записывали на аналогичном приборе Bruker D8 Advance diffractometer в Институте физической химии им. Л.В. Писаржевского (г. Киев, НАН Украины) в лаборатории ст.н.с. А.В. Швеца.

Рентгеноструктурные исследования монокристаллов  $\gamma$ -полиморфной модификации глицина проводили при 200 К на дифрактометре SuperNova Agilent с  $\text{Cu-K}\alpha$  излучением ( $\lambda = 1.54184 \text{ \AA}$ ). Измерение и определение хиральности пространственной группы Зонке проводил L. Toupet (Institut des Sciences Chimiques de Rennes, Institut de Physique de Rennes, Université de Rennes 1).

## 6.2. Использованные реактивы

Коммерчески доступные (Aldrich, Alfa Aesar, BOC Sciences и др.) различные формы природных  $\alpha$ -аминокислот были использованы без предварительной очистки:

- глицин;
- L-аланин, DL-аланин, D-аланин;
- L-валин, DL-валин, D-валин;
- L-лейцин, DL-лейцин, D-лейцин, 1-<sup>13</sup>C-L-лейцин, 2-<sup>13</sup>C-L-лейцин;
- L-пролин, DL-пролин, D-пролин;
- L-фенилаланин, DL-фенилаланин, D-фенилаланин;
- L-аспарагин, D-аспарагин;
- L-аспарагиновая кислота, D-аспарагиновая кислота;
- L-глутаминовая кислота, D-глутаминовая кислота;
- L-серин, D-серин;
- L-треонин, D-треонин;
- L-норвалин, DL-норвалин;
- L-изолейцин, DL-изолейцин;
- L-норлейцин, DL-норлейцин;
- DL-2-аминобутановая кислота;
- L-трет-лейцин;
- D-изовалин.

Этил хлорформиат (Alfa Aesar), пиридин (сухой, над молекулярными ситами, Aldrich), этанол, метанол и другие растворители использовались без предварительной очистки. Тетрагидрофуран (Aldrich) для осушки пропускали через колонну с молекулярными ситами под аргоном. Диэтиловый эфир осушали кипячением с натрием и бензофеноном в атмосфере аргона с последующей перегонкой.

### **6.3. Общая методика дериватизации аминокислот для хирального газ-хроматографического анализа (см. схема 2.1-1)**

Первый период работы (значительная часть экспериментов по низкотемпературной сублимации индивидуальных нерацемических смесей) дериватизация осуществлялась по следующей процедуре:

Приблизительно 10 мг  $\alpha$ -аминокислоты (гидрохлорид или свободная форма) помещают в 10 мл круглодонную колбу с «Ч»-образной насадкой. Один из шлифов насадки закрыт септумом, ко второму осуществляется подвод вакуумной линии с возможностью переключения на аргон. Реакционный сосуд, содержащий навеску и магнитный якорёк, вакуумируется и заполняется аргоном несколько раз. Через септум вкалывают 2 мл сухого тетрагидрофурана, 500 микролитров сухого пиридина (0.427 ммоль,  $\sim$  5 экв.) и 50 мкл этил хлорформиата. Смесь перемешивают на магнитной мешалке в течении 1-1.5 часа. Аликвоту реакционной смеси (50 микролитров) выливают в 1 мл водного раствора соляной кислоты (1 М), продукт экстрагируют диэтиловым эфиром (1 мл x 2 раза). После предварительной осушки органической вытяжки над  $MgSO_4$ , растворитель удаляют на роторном испарителе, едва заметный остаток сушат в вакууме масляного насоса в течении нескольких часов, растворяют в сухом диэтиловом эфире (1-1.5 мл). Раствор вкалывают в газовый хроматограф (1 - 3 мкл) и анализируют соотношение энантиомеров, как это описано выше.

В дальнейшем процедура дериватизации осуществлялась по методике близкой к работе [157]:

#### **6.3.1. Дериватизация свободных аминокислот**

Следовые количества свободной аминокислоты (на кончике шпателя, порядка нескольких сотен микрограмм) помещают в 5 мл-пробирку Видаля, добавляют

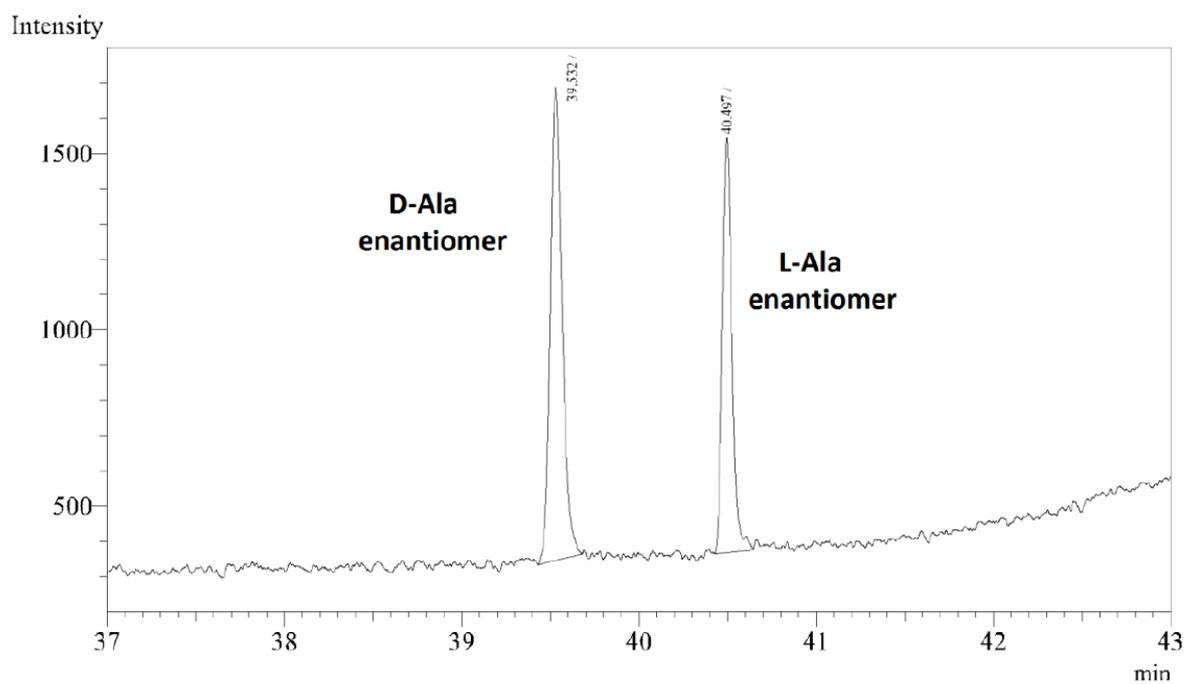
500 мкл смеси вода : этанол : пиридин в соотношении 7.5:4:1 и встряхивают до полного растворения твёрдой фазы. Для дериватизации используют этил хлорформиат (25-30 мкл), который быстро добавляют к раствору и энергично встряхивают реакционную смесь в течение 15-30 секунд. Происходит незначительное разогревание смеси и выделение пузырьков газа ( $\text{CO}_2$ ). Образованные этиловые эфиры N-этоксикарбониламино кислот экстрагируют хлороформом (~ 1 мл с добавлением 1% этил хлорформат): пробирку закрывают пластиковой пробкой и встряхивают. Гетерофазной смеси дают отстояться несколько минут и с помощью пипетки Пастера отделяют органический слой. Экстракцию повторяют повторно с использованием чистого хлороформа (~0.5-1 мл). Объединённый экстракт пропускают через столбик силикагеля в пипетке Пастера (~1-1.5 см<sup>3</sup>, Merck 60, 0.040-0.063 мм), высушивают над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  или  $\text{MgSO}_4$ . Раствор отделяют фильтрованием в пипетку через вату, затем добавляют ~1 мл 2,2-диметоксиэтана и упаривают растворитель на ротаторном испарителе. Маслянистый остаток сушат в вакууме масляного насоса при комнатной температуре в течении нескольких часов. Остаток растворяют в сухом диэтиловом эфире (~ 1.5 мл), фильтруют через PTFE фильтр (политетрафторэтилен, диаметр 13 мм, поры 0.2 микрометра) и вкалывают (1 - 3 микролитра) в газовый хроматограф.

### **6.3.2. Дериватизация гидрохлоридов аминокислот**

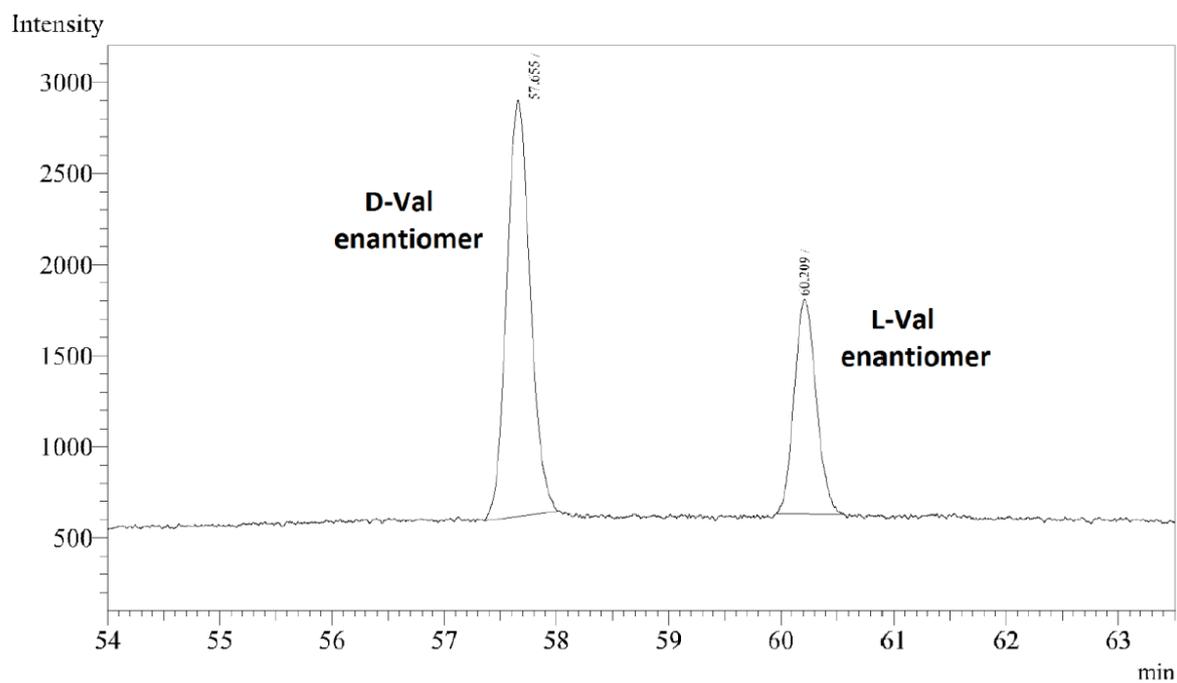
Не более нескольких сотен микрограмм аминокислот или их гидрохлоридов растворяют в 0.1 М растворе HCl. Аликвоту (90 микролитров) переносят в 5-ти миллилитровую виалу Видаля, разводят водой (270 мкл), добавляют смесь пиридина и этанола (4:1, 240 мкл). Далее, аналогично вышеописанной процедуре, добавляют этил хлорформиат (25-30 мкл) и выделяют этиловые эфиры N-этоксикарбонил-аминокислот, которые подвергают хиральному газ-

хроматографическому анализу.

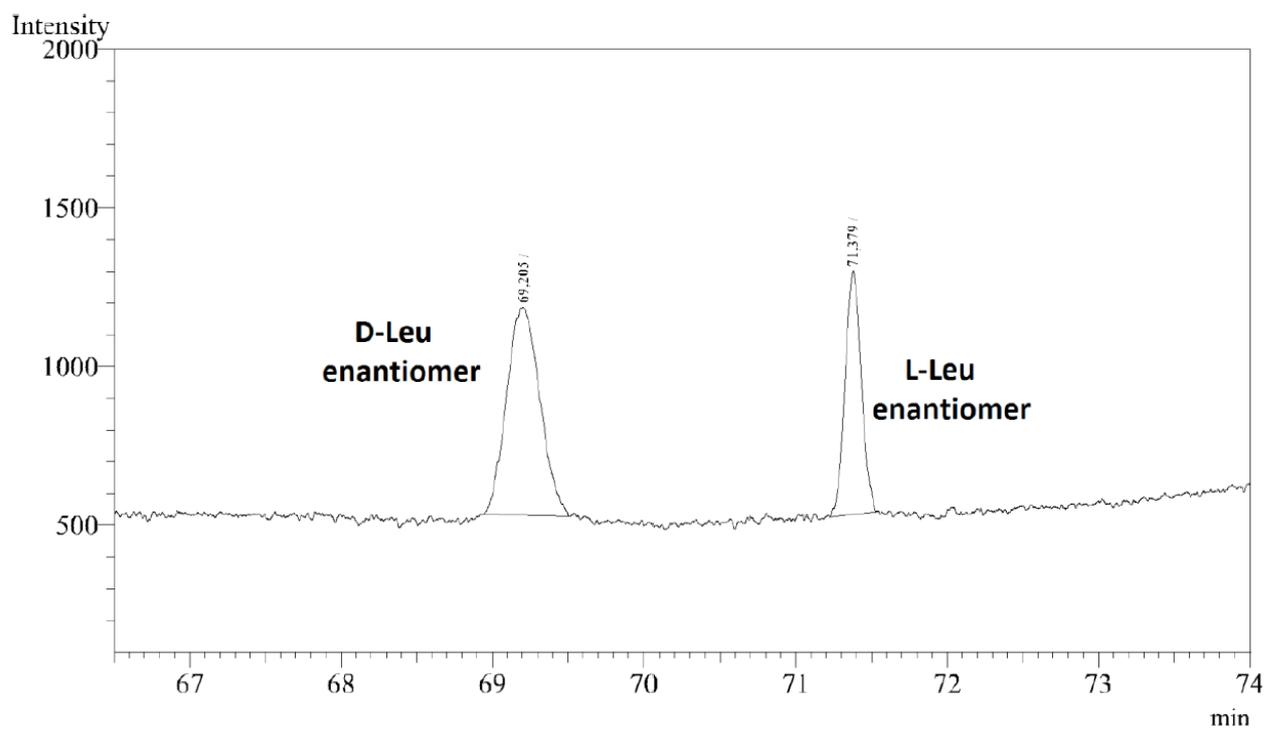
**6.3.3. Примеры газовых хроматограмм аминокислот**  
**6.3.3.1. Пример хроматограммы дериватизированного D-энантимернообогащённого аланина (56)**



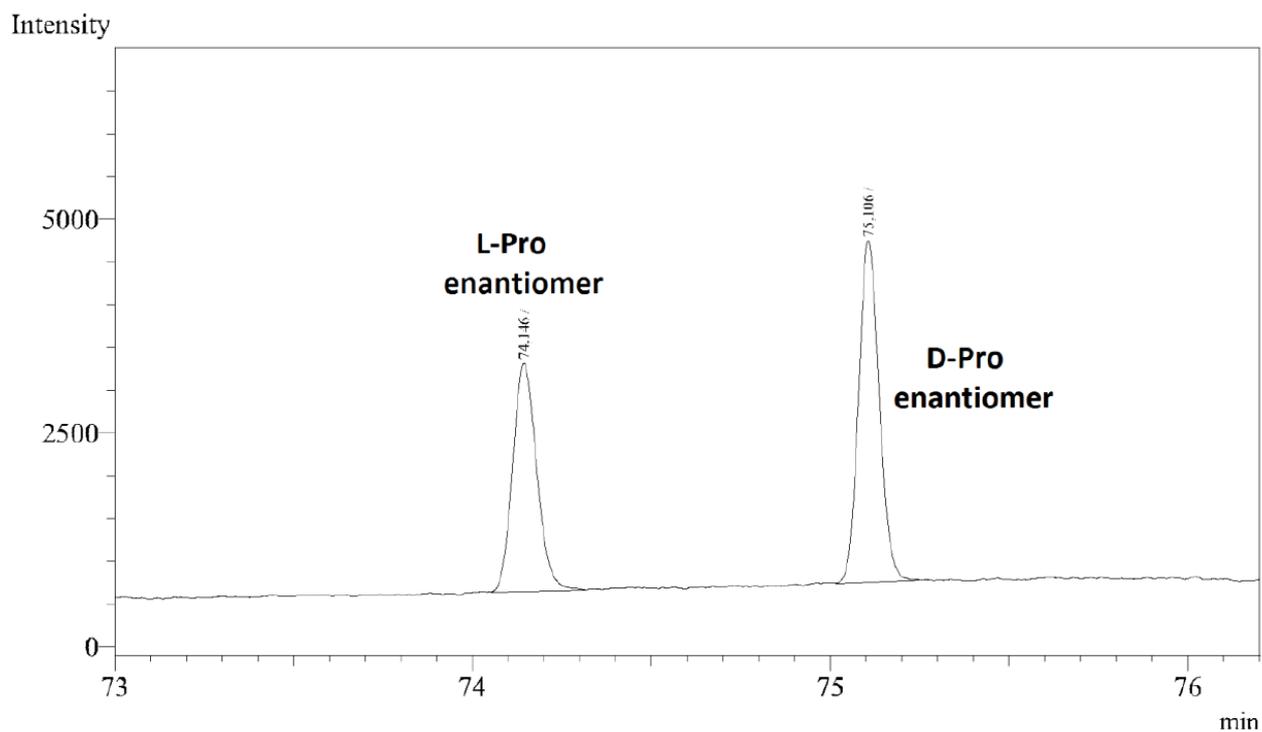
### 6.3.3.2. Пример хроматограммы дериватизированного D-энантиомернообогащённого валина (57)



### 6.3.3.3. Пример хроматограммы дериватизированного D-энантимернообогащённого лейцина (58)



### 6.3.3.4. Пример хроматограммы дериватизированного D-энантимернообогащённого пролина (59)



#### 6.4. Низкотемпературная медленная сублимация индивидуальных нерацемических смесей аланина (31), валина (25) и пролина (33), содержащих DL фазу

Указанные аминокислоты (31), (25) и (33) сублимировали в обычном лабораторном сублиматоре производства *Aldrich* (рисунок 6.4) или в аналогичных, изготовленных под заказ. Условия возгонки подбирались индивидуальным образом для каждой из аминокислот. Нагрев сублиматора проводился в масляной бане с температурой, автоматически контролируемой термопарой. Охлаждение «cold finger» - водяное. Температура



Рисунок 6.4

сублимации аланина и валина составляла  $100 (\pm 2-3)^\circ\text{C}$ , пролина  $75 (\pm 2-3)^\circ\text{C}$ , серия точек для валина была получена при  $120 (\pm 2-3)^\circ\text{C}$ , для пролина — при  $100 (\pm 2-3)^\circ\text{C}$ . Время сублимации задавалось временным реле с автоматическим отключением нагрева и составляло для аланина, валина и пролина — 14 часов. Сублимация проводилась в вакууме масляного насоса, подсоединённого к вакуумной линии через ловушку, охлаждаемую жидким азотом; вакуум контролировался электронным манометром и в среднем составлял 0.5 мм. рт. ст. Масса исходной смеси во всех случаях составляла 1 грамм, при вышеуказанных условиях сублимировалось менее 10 миллиграмм.

Нерацемические смеси, содержащие в своём составе истинное рацемическое соединение (DL) и один из энантиомеров (L или D, в большинстве экспериментов L), см. рисунок 2.1-4 основного текста, готовились из рацемата и чистого энантиомера в соответствующих соотношениях. В случае аланина, валина и пролина смеси предварительно растворяли в 25 мл деионизированной воды при перемешивании и слабом нагревании, смеси лейцина — в 60 мл. Полученные растворы упаривали на роторном испарителе и затем досушивали в вакууме масляного насоса при нагреве на водяной бане ( $\sim 50^\circ\text{C}$ ) в течении нескольких часов, периодически тщательно растирая твёрдую смесь. После осушки смеси

повторно растирали в агатовой ступке. Нерацемические смеси фенилаланина (**21**) готовились механическим растиранием DL и L форм в заданном соотношении.

Смеси помещали в сублиматор с использованием воронки с длинным отводом (во избежание попадания смеси на стенки). Во избежание «вскипания» твёрдой смеси и, как следствие, загрязнения поверхности «cold finger» пылью исходной смеси, вакуумирование проводили медленно поворачивая кран сублиматора. По окончании сублимации, в соответствии с вышеописанной процедурой, аппарату давали охладиться до комнатной температуры, медленно (во избежание пылеобразования внутри) заполняли сосуд воздухом, затем отсоединяли нижнюю часть и немедленно растворяли сублимат в 1 М соляной кислоте (~10 мл). Полученный раствор упаривали на роторном испарителе, твёрдый остаток досушивали в вакууме масляного насоса при нагреве на водяной бане (~50°C) в течении ~30 минут. Полученные гидрохлориды дериватизировали по одной из вышеописанных процедур (схема **2.1-1**) и затем проводили хиральный анализ энантиомерного избытка полученных N-этоксикарбонил этиловых эфиров.

#### 6.4.1. Результаты сублимации нерацемических L+DL смесей аланина

Состав начальной смеси	Энантиомерный избыток начальной смеси	Энантиомерный избыток сублимата	Температура сублимации	Масса сублимата
1 г DL-Ala	0% <i>ee</i>	0% <i>ee</i> [113]	100°C	-
50 мг L-Ala + 950 мг DL-Ala	5% <i>ee</i>	19.7% <i>ee</i>	100 (±2-3)°C	8.9 мг
80 мг L-Ala + 920 мг DL-Ala	8% <i>ee</i>	19.3% <i>ee</i>	100 (±2-3)°C	19.2 мг
120 мг L-Ala + 880 мг DL-Ala	12% <i>ee</i>	19.7% <i>ee</i>	100 (±2-3)°C	16.4 мг
200 мг L-Ala + 800 мг DL-Ala	20% <i>ee</i>	23.6% <i>ee</i>	100 (±2-3)°C	10.2 мг
250 мг L-Ala + 750 мг DL-Ala	25% <i>ee</i>	25.2% <i>ee</i>	100 (±2-3)°C	9 мг
300 мг L-Ala + 700 мг DL-Ala	30% <i>ee</i>	30.4% <i>ee</i>	100 (±2-3)°C	11.8 мг
400 мг L-Ala + 600 мг DL-Ala	40% <i>ee</i>	40.8% <i>ee</i>	100 (±2-3)°C	3.2 мг
500 мг L-Ala + 500 мг DL-Ala	50% <i>ee</i>	52.6% <i>ee</i>	100 (±2-3)°C	7.8 мг
600 мг L-Ala + 400 мг DL-Ala	60% <i>ee</i>	50.6% <i>ee</i>	100 (±2-3)°C	5 мг
700 мг L-Ala + 300 мг DL-Ala	70% <i>ee</i>	68% <i>ee</i>	100 (±2-3)°C	14.3 мг
750 мг L-Ala + 250 мг DL-Ala	75% <i>ee</i>	65.9% <i>ee</i>	100 (±2-3)°C	9.5 мг
200 мг L-Ala + 800 мг DL-Ala	80% <i>ee</i>	(i) 50.5% <i>ee</i>	100 (±2-3)°C	(i) 20.7 мг
		(ii) 56.6% <i>ee</i>		(i) 18.4 мг
900 мг L-Ala + 100 мг DL-Ala	90% <i>ee</i>	75.3% <i>ee</i>	100 (±2-3)°C	12.6 мг
1 г L-Ala	100% <i>ee</i>	100% <i>ee</i> [113]	100°C	-

## 6.4.2. Результаты сублимации нерацемических L+DL смесей валина

Состав начальной смеси	Энантиомерный избыток начальной смеси	Энантиомерный избыток сублимата	Температура сублимации	Масса сублимата
1 г DL-Val	0% <i>ee</i>	0% <i>ee</i>	120 (±2-3)°C	29 мг
50 мг L-Val + 950 мг DL-Val	5% <i>ee</i>	10.5% <i>ee</i>	120 (±2-3)°C	54 мг
100 мг L-Val + 900 мг DL-Val	10% <i>ee</i>	16.5% <i>ee</i>	120 (±2-3)°C	65 мг
		13.4% <i>ee</i>	100 (±2-3)°C	9.5 мг
200 мг L-Val + 800 мг DL-Val	20% <i>ee</i>	23% <i>ee</i>	120 (±2-3)°C	26.9 мг
300 мг L-Val + 700 мг DL-Val	30% <i>ee</i>	26% <i>ee</i>	120 (±2-3)°C	16.1 мг
		26.8% <i>ee</i>	100 (±2-3)°C	10.2
400 мг L-Val + 600 мг DL-Val	40% <i>ee</i>	34% <i>ee</i>	120 (±2-3)°C	60.2 мг
430 мг L-Val + 570 мг DL-Val	43% <i>ee</i>	32.3% <i>ee</i>	100 (±2-3)°C	7.4 мг
500 мг L-Val + 500 мг DL-Val	50% <i>ee</i>	37% <i>ee</i>	120 (±2-3)°C	65 мг
520 мг L-Val + 480 мг DL-Val	52% <i>ee</i>	36.9% <i>ee</i>	100 (±2-3)°C	7.3 мг
600 мг L-Val + 400 мг DL-Val	60% <i>ee</i>	25% <i>ee</i>	120 (±2-3)°C	37 мг
		35.7% <i>ee</i>	100 (±2-3)°C	11.6 мг
700 мг L-Val + 300 мг DL-Val	70% <i>ee</i>	31% <i>ee</i>	120 (±2-3)°C	23.6 мг
710 мг L-Val + 290 мг DL-Val	71% <i>ee</i>	56.5% <i>ee</i>	100 (±2-3)°C	13.4 мг
750 мг L-Val + 250 мг DL-Val	75% <i>ee</i>	27.4% <i>ee</i>	110 (±2-3)°C	8 мг
800 мг L-Val + 200 мг DL-Val	80% <i>ee</i>	63.6% <i>ee</i>	120 (±2-3)°C	83 мг
		54.7% <i>ee</i>	100 (±2-3)°C	24.6 мг
805 мг L-Val + 195 мг DL-Val	80.5% <i>ee</i>	52.3% <i>ee</i>	100 (±2-3)°C	12.4 мг
900 мг L-Val + 100 мг DL-Val	90% <i>ee</i>	78% <i>ee</i>	120 (±2-3)°C	~200 мг
		42% <i>ee</i>	100 (±2-3)°C	19.9 мг
1 г L-Val	100% <i>ee</i>	100% <i>ee</i>	120 (±2-3)°C	>200 мг

### 6.4.3. Результаты сублимации нерацемических L+DL смесей пролина

Состав начальной смеси	Энантиомерный избыток начальной смеси	Энантиомерный избыток сублимата	Температура сублимации	Масса сублимата
1 г DL-Pro	0% <i>ee</i>	0% <i>ee</i> [113]	100 (±2-3)°C	-
100 мг L-Pro + 900 мг DL-Pro	10% <i>ee</i>	19.6% <i>ee</i>	100 (±2-3)°C	95 мг
200 мг L-Pro + 800 мг DL-Pro	20% <i>ee</i>	27% <i>ee</i>	100 (±2-3)°C	94 мг
300 мг L-Pro + 700 мг DL-Pro	30% <i>ee</i>	34.6% <i>ee</i>	80 (±2-3)°C	77 мг
400 мг L-Pro + 600 мг DL-Pro	40% <i>ee</i>	34.3% <i>ee</i>	80 (±2-3)°C	5.7 мг
500 мг L-Pro + 500 мг DL-Pro	50% <i>ee</i>	33.6% <i>ee</i>	80 (±2-3)°C	6.6 мг
600 мг L-Pro + 400 мг DL-Pro	60% <i>ee</i>	37.3% <i>ee</i>	80 (±2-3)°C	6.3 мг
700 мг L-Pro + 300 мг DL-Pro	70% <i>ee</i>	42.0% <i>ee</i>	80 (±2-3)°C	7.1 мг
800 мг L-Pro + 200 мг DL-Pro	80% <i>ee</i>	43.2% <i>ee</i>	80 (±2-3)°C	8 мг
900 мг L-Pro + 100 мг DL-Pro	90% <i>ee</i>	46.5% <i>ee</i>	80 (±2-3)°C	9.9 мг
1 г L-Pro	100% <i>ee</i>	95% <i>ee</i>	80 (±2-3)°C	4.9 мг

### 6.5. Низкотемпературная медленная сублимация индивидуальных D+L нерацемических смесей аланина (31), валина (25), лейцина (19), пролина (33)

Для приготовления L+D нерацемических смесей, каждый из энантиомеров был предварительно отдельно перекристаллизован в стандартных условиях. Энантиомерночистые аминокислоты были растворены: аланин и пролин в 10 мл деионизированной воды в расчёте на 1 г; валин в 25 мл деионизированной воды в расчёте на 1 г; лейцин в смеси 25 мл деионизированной воды с 5 мл этанола в расчёте на 1 г. Полученные растворы упаривали на роторном испарителе и досушивали в вакууме масляного насоса на водяной бане (~40-50°C) в течении нескольких часов. Нерацемические D+L смеси готовились из чистых энантиомеров, тщательным механическим растиранием в агатовой ступке.

Сублимация и анализ энантиомерного избытка осуществлялись аналогично, как это описано выше. Температура сублимации аланина, валина, лейцина составляла 100 (±2-3)°C, пролина 75 (±2-3)°C. Время сублимации задавалось временным реле с автоматическим отключением нагрева и составляло для

аланина, валина, лейцина и пролина - 14 часов.

### 6.5.1. Результаты сублимации нерацемических L+D смесей аланина

Состав начальной смеси	Энантиомерный избыток начальной смеси	Энантиомерный избыток сублимата	Температура сублимации	Масса сублимата
550 мг L-Ala + 450 мг D-Ala	10% <i>ee</i> L	4.6% <i>ee</i> L	100 (±2-3)°C	12.4 мг
650 мг L-Ala + 350 мг D-Ala	30% <i>ee</i> L	8.4% <i>ee</i> L	100 (±2-3)°C	10.7 мг
750 мг L-Ala + 250 мг D-Ala	50% <i>ee</i> L	15.8% <i>ee</i> L	100 (±2-3)°C	9 мг
850 мг L-Ala + 150 мг D-Ala	70% <i>ee</i> L	31.2% <i>ee</i> L	100 (±2-3)°C	11.4 мг
950 мг L-Ala + 50 мг D-Ala	90% <i>ee</i> L	43.0% <i>ee</i> L	100 (±2-3)°C	10.9 мг
850 мг D-Ala + 150 мг L-Ala	70% <i>ee</i> D	25.2% <i>ee</i> D	100 (±2-3)°C	9.4 мг

### 6.5.2. Результаты сублимации нерацемических L+D смесей валина

Состав начальной смеси	Энантиомерный избыток начальной смеси	Энантиомерный избыток сублимата	Температура сублимации	Масса сублимата
550 мг L-Val + 450 мг D-Val	10% <i>ee</i> L	2.6% <i>ee</i> L	100 (±2-3)°C	22.6 мг
650 мг L-Val + 350 мг D-Val	30% <i>ee</i> L	6.7% <i>ee</i> L	100 (±2-3)°C	18.9 мг
750 мг L-Val + 250 мг D-Val	50% <i>ee</i> L	10.8% <i>ee</i> L	100 (±2-3)°C	19.8 мг
850 мг L-Val + 150 мг D-Val	70% <i>ee</i> L	11.7% <i>ee</i> L	100 (±2-3)°C	32 мг
950 мг L-Val + 50 мг D-Val	90% <i>ee</i> L	23.6% <i>ee</i> L	100 (±2-3)°C	26.7 мг
950 мг D-Val + 50 мг L-Val	90% <i>ee</i> D	22.9% <i>ee</i> D	100 (±2-3)°C	24 мг

### 6.5.3. Результаты сублимации нерацемических L+D смесей лейцина

Состав начальной смеси	Энантиомерный избыток начальной смеси	Энантиомерный избыток сублимата	Температура сублимации	Масса сублимата
850 мг L-Leu + 150 мг D-Leu	70% <i>ee</i> L	9.5% <i>ee</i> L	100 (±2-3)°C	4.7 мг
950 мг L-Leu + 50 мг D-Leu	90% <i>ee</i> L	25.7% <i>ee</i> L	100 (±2-3)°C	1.4 мг
1 г L-Leu	100% <i>ee</i> L	100% <i>ee</i> L	100 (±2-3)°C	следовые количества

#### 6.5.4. Результаты сублимации нерацемических L+D смесей пролина

Состав начальной смеси	Энантиомерный избыток начальной смеси	Энантиомерный избыток сублимата	Температура сублимации	Масса сублимата
550 мг L-Pro + 450 мг D-Pro	10% <i>ee</i> L	2.4% <i>ee</i> L	80 (±2-3)°C	7.2 мг
650 мг L-Pro + 350 мг D-Pro	30% <i>ee</i> L	11.5% <i>ee</i> L	80 (±2-3)°C	7.3 мг
500 мг L-Pro + 500 мг D-Pro	50% <i>ee</i> L	21.8% <i>ee</i> L	80 (±2-3)°C	9.2 мг
700 мг L-Pro + 300 мг D-Pro	70% <i>ee</i> L	22.7% <i>ee</i> L	80 (±2-3)°C	6.9 мг
900 мг L-Pro + 100 мг D-Pro	90% <i>ee</i> L	35.5% <i>ee</i> L	80 (±2-3)°C	7.7 мг

#### 6.6. Эксперименты по количественной сублимации энантиомерночистых и рацемических (истинных рацематов и кинетических конгломератов) аланина (31), валина (25), лейцина (19), пролина (33) и фенилаланина (21)

	Ala*	Leu*	Pro*	Val*	Phe*
L или D, чистые энантиомеры	19; 22 (L)	18; 20; 20 (L)	105 (D); 104 (L)	57; 55 (L)	44 (L)
L + D, кинетические конгломераты	37; 38	43; 39; 41	212; 211	100; 105	26
DL, истинные рацематы	15; 16	15; 17.5; 15	53; 55	33	14
$\alpha_{\chi}$	1.8	2.1	2.0	1.8	0.59

\*Указаны массы в мг; несколько значений обозначают параллельные эксперименты.

Для приготовления кинетических конгломератов (механические L+D 50/50 смеси), каждый из энантиомеров был предварительно отдельно перекристаллизован в стандартных условиях. Условия для аланина, валина, лейцина и пролина указаны в разделе 6.5. L и D изомеры фенилаланина были отдельно перекристаллизованы из воды (75 мл деионизированной воды в расчёте на 1 г), по аналогичной процедуре. Рацемические D+L смеси готовились из чистых энантиомеров, тщательным механическим растиранием в агатовой ступке.

В стандартные сублимационные аппараты были помещены образцы массой 300 (± 3) мг. Температура и время были индивидуально подобраны в зависимости

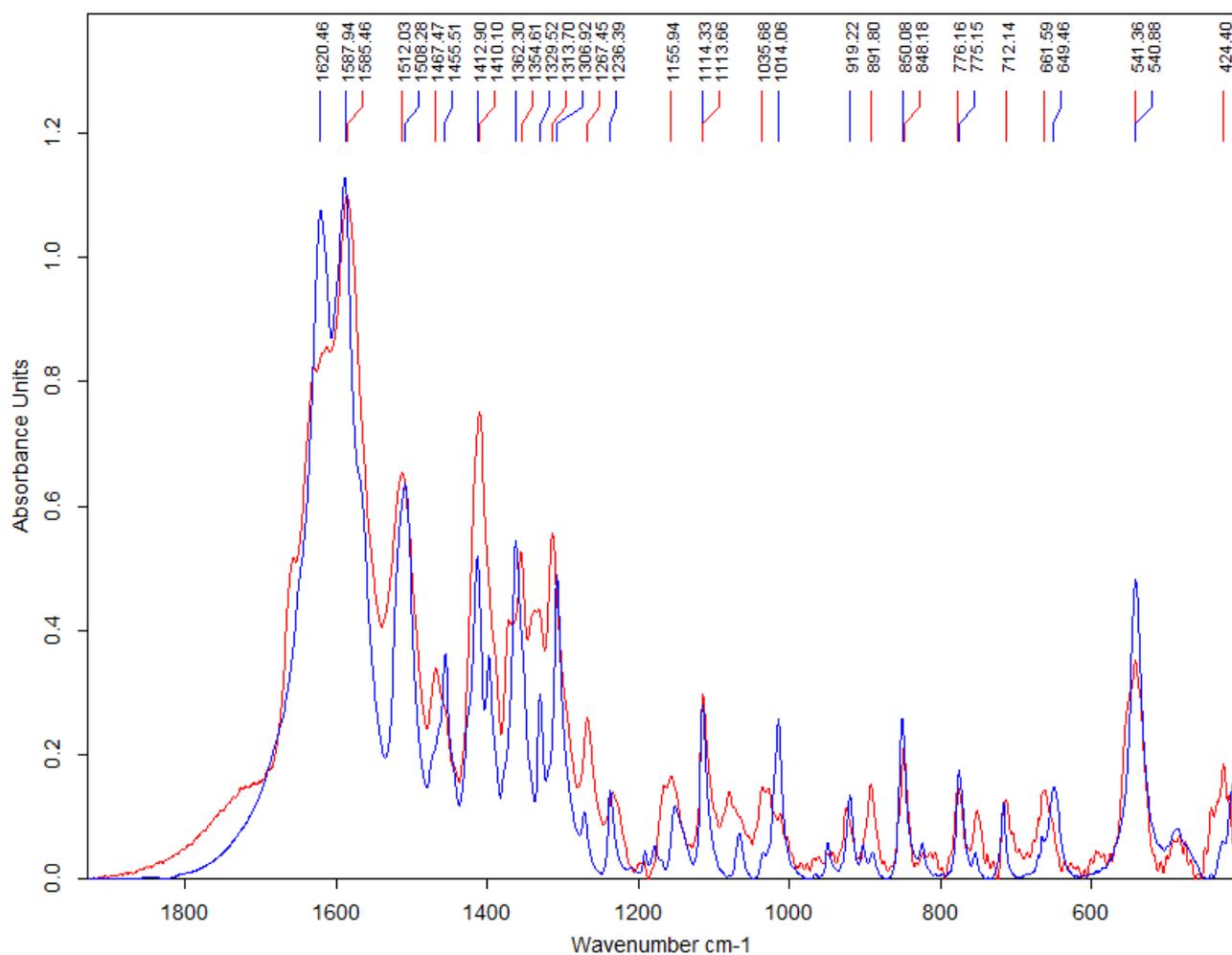
от летучести каждой аминокислоты. Температура и время для аланина, валина и пролина составили  $135^{\circ}\text{C}$  и 3 часа; для фенилаланина  $170^{\circ}\text{C}$  и 3 часа также; в случае лейцина температура сублимации была задана  $128^{\circ}\text{C}$ , а время 14 часов. При указанных условиях были сублимированы от 5 до 70% начальной смеси (в зависимости от хиральной формы). Количество сублиматов определялось по разнице весов между массой нижней части сублиматора до и по окончании процесса. Некоторые из экспериментов были проведены параллельно до 3 раз, для достоверности воспроизводимости данных. Обычно массы имели очень близкие значения.

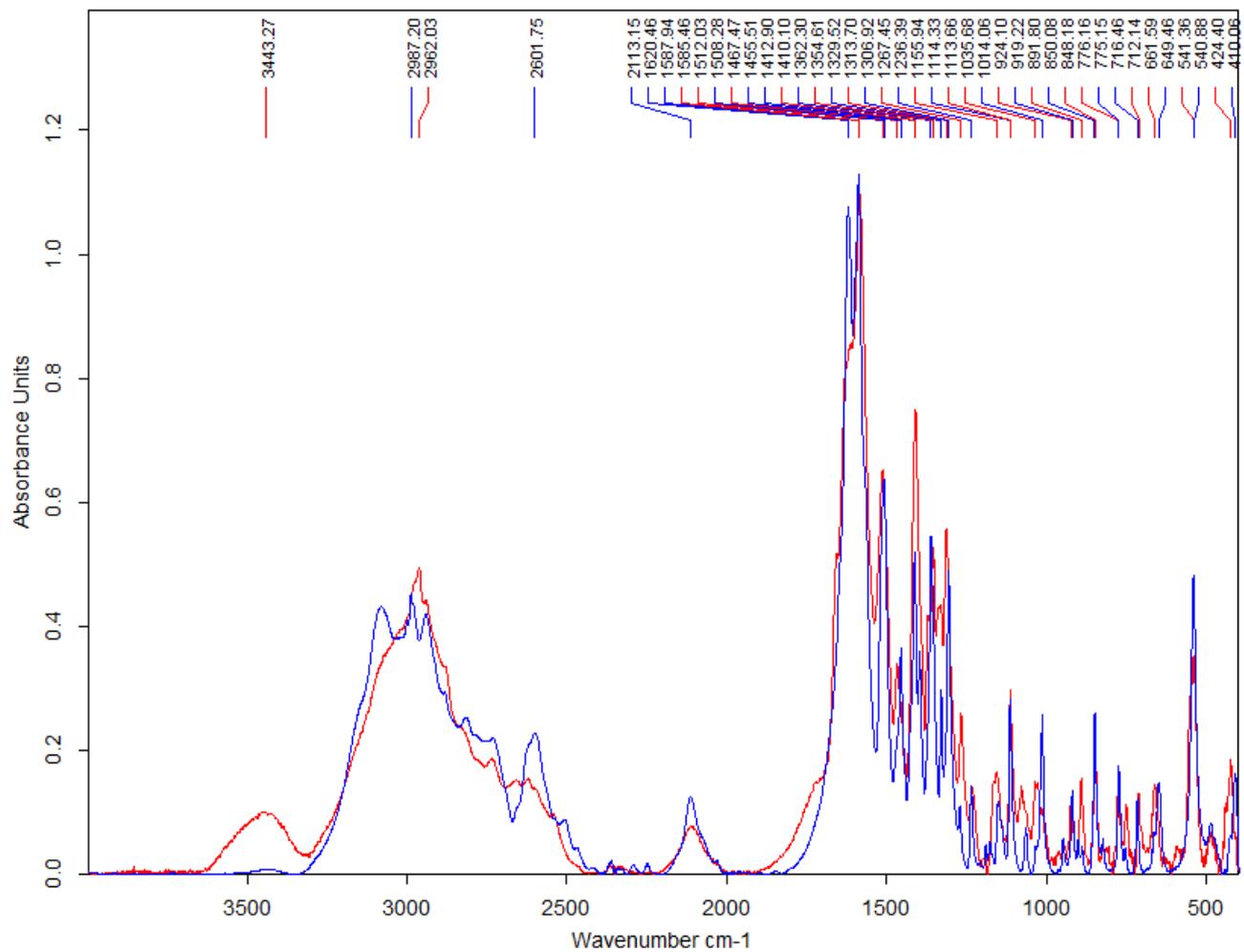
### **6.7. Эксперименты по сублимации нерацемических смесей нескольких аминокислот**

Двух и трёхкомпонентные смеси нерацемических аланина (**31**), валина (**25**) и лейцина (**19**) готовились из чистых L энантиомеров и DL рацемических форм. Предварительно каждая из смесей (1 г) была растворена в 25 мл деионизированной воды при нагревании. Полученные растворы упаривали на роторном испарителе и досушивали в вакууме масляного насоса на водяной бане ( $\sim 40\text{-}50^{\circ}\text{C}$ ) в течении нескольких часов. Сублимация проводилась в стандартном сублимационном аппарате при температуре  $100^{\circ}\text{C}$  в течении 14 часов. После чего осуществлялся хиральный газ-хроматографический анализ, как это описано выше.

## 6.8. Инфракрасные спектры смесей L-аланина и L-валина до и после сублимации.

Указанные аминокислоты L-(31) и L-(25) были смешаны в эквимольном соотношении и сублимированы в вакууме (~0.5 мм рт. ст.), температура сублимации около 170°C. Ниже приведены инфракрасные спектры в КВт до (синий) и после (красный) сублимации.



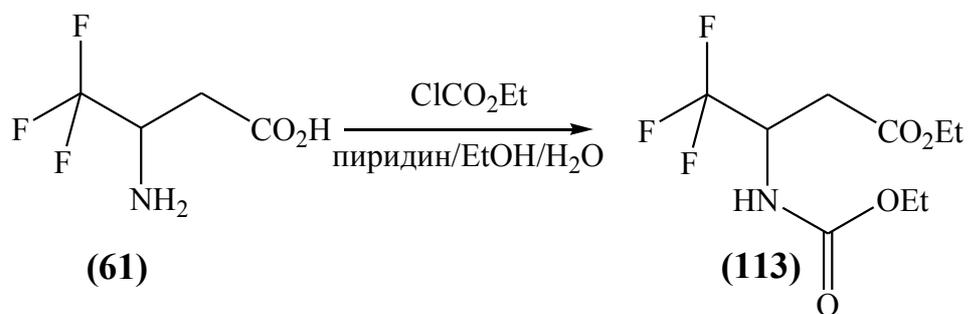


## 6.9. Низкотемпературная медленная сублимация нерацемических смесей 3-амино-4,4,4-трифторбутановой кислоты (61)

Энантиомерная и рацемическая аминокислоты (61) были синтезированы в соответствии со схемой 2.3-1 в основном тексте. Спектральные характеристики соответствовали литературным данным [128].

Нерацемические смеси, содержащие в своём составе истинное рацемическое соединение (RS) и (S)-энантиомер аминокислоты (61), готовились из смешением форм в соответствующих соотношениях. Стандартная масса исходной смеси составляла 100 ( $\pm 2$ ) мг. Механические нерацемические смеси (61) предварительно растворяли в 30 мл сухого метанола при перемешивании и слабом нагревании. Полученный раствор упаривали на роторном испарителе и затем досушивали в вакууме масляного насоса при комнатной температуре в течении 30 минут, периодически тщательно растирая твёрдую смесь.

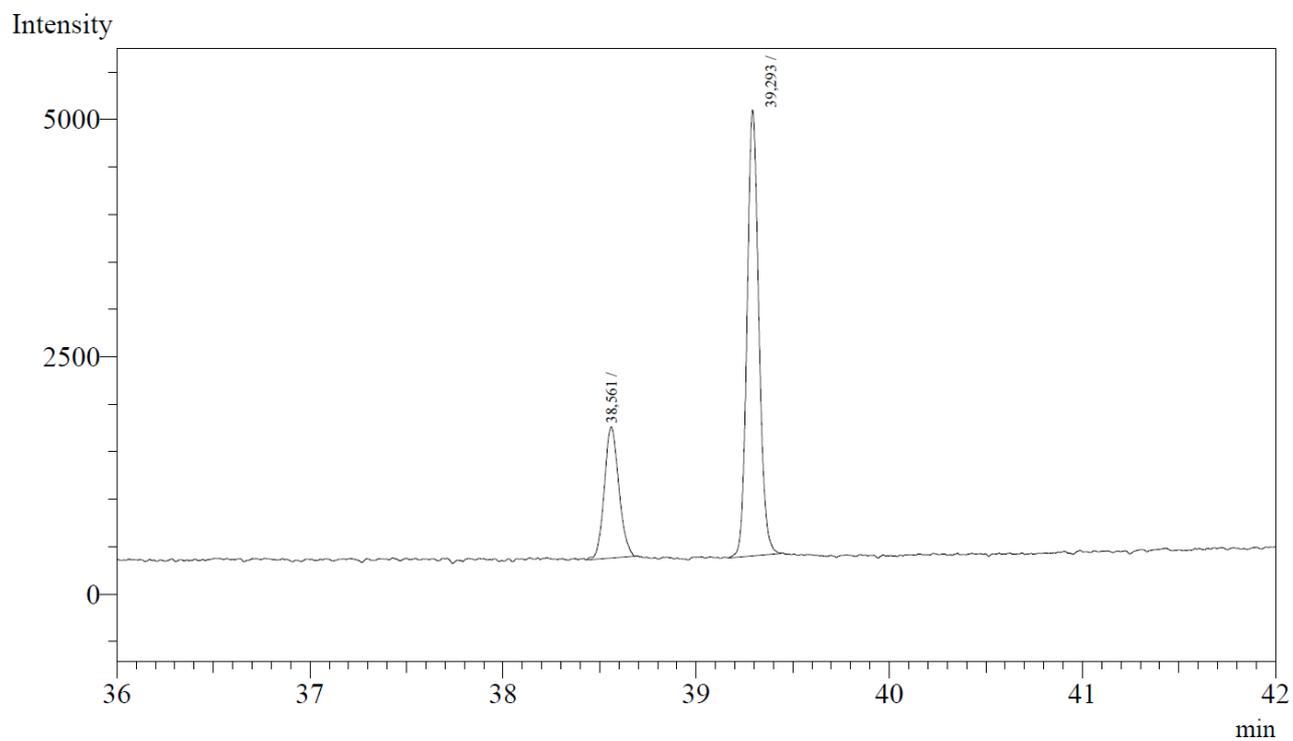
Смеси помещали в сублиматор с использованием воронки с длинным отводом (во избежание попадания смеси на стенки). Сублимацию проводили в вакууме масляного насоса ( $\sim 0.5$  мм рт. ст.), при нагреве на масляной бане при температуре 60°C, в течение 3 часов. По окончании сублимации аппарату давали охладиться до комнатной температуры, медленно (во избежание пылеобразования внутри) заполняли сосуд воздухом, затем отсоединяли нижнюю часть и немедленно растворяли сублимат в метаноле ( $\sim 10$  мл). Полученный раствор упаривали на роторном испарителе. Следовые количества твёрдого остатка дериватизировали по вышеописанной процедуре для свободных аминокислот (Схема 6.9, описание экспериментальной процедуры см. 6.3.1) и затем проводили хиральный анализ энантиомерного избытка полученных N-этоксикарбонил этиловых эфиров (113). Программа газового хроматографа описана на стр. 139-140.



**Схема 6.9.** Дериватизация аминокислоты (61) для ГХ анализа.

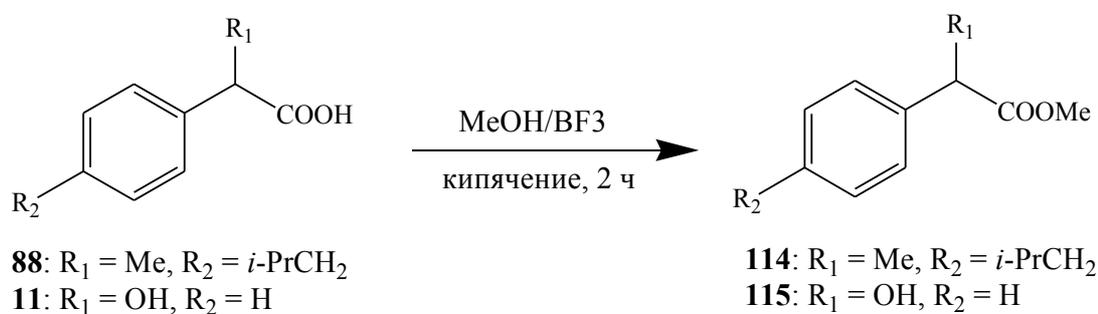
Состав начальной смеси	Энантиомерный избыток начальной смеси определённый хиральной газовой хроматографией	Энантиомерный избыток сублимата	Масса сублимата
100 мг (RS)- <b>23</b>	0% <i>ee</i> (S)	0% <i>ee</i> (S)	-
95 мг (RS)- <b>23</b> + 5 мг (S)- <b>23</b>	4.9% <i>ee</i> (S)	11.4% <i>ee</i> (S)	15 мг
90 мг (RS)- <b>23</b> + 10 мг (S)- <b>23</b>	11.4% <i>ee</i> (S)	15.3% <i>ee</i> (S)	21 мг
75 мг (RS)- <b>23</b> + 25 мг (S)- <b>23</b>	27.9% <i>ee</i> (S)	29.4% <i>ee</i> (S)	25 мг
70 мг (RS)- <b>23</b> + 30 мг (S)- <b>23</b>	28.2% <i>ee</i> (S)	26.7% <i>ee</i> (S)	30 мг
65 мг (RS)- <b>23</b> + 35 мг (S)- <b>23</b>	36.2% <i>ee</i> (S)	28.6% <i>ee</i> (S)	60 мг
35 мг (RS)- <b>23</b> + 65 мг (S)- <b>23</b>	65.6% <i>ee</i> (S)	43.2% <i>ee</i> (S)	37.5 мг
25 мг (RS)- <b>23</b> + 75 мг (S)- <b>23</b>	76.8% <i>ee</i> (S)	46.8% <i>ee</i> (S)	20 мг
15 мг (RS)- <b>23</b> + 85 мг (S)- <b>23</b>	86.9% <i>ee</i> (S)	77.5% <i>ee</i> (S)	9.5 мг
100 мг (S)- <b>23</b>	100% <i>ee</i> (S)	100% <i>ee</i> (S)	-

Пример газовой хроматограммы энантиомеров (**113**) с 86.9% энантиомерным избытком (S) (колонка CHIRALDEX™ G-TA):



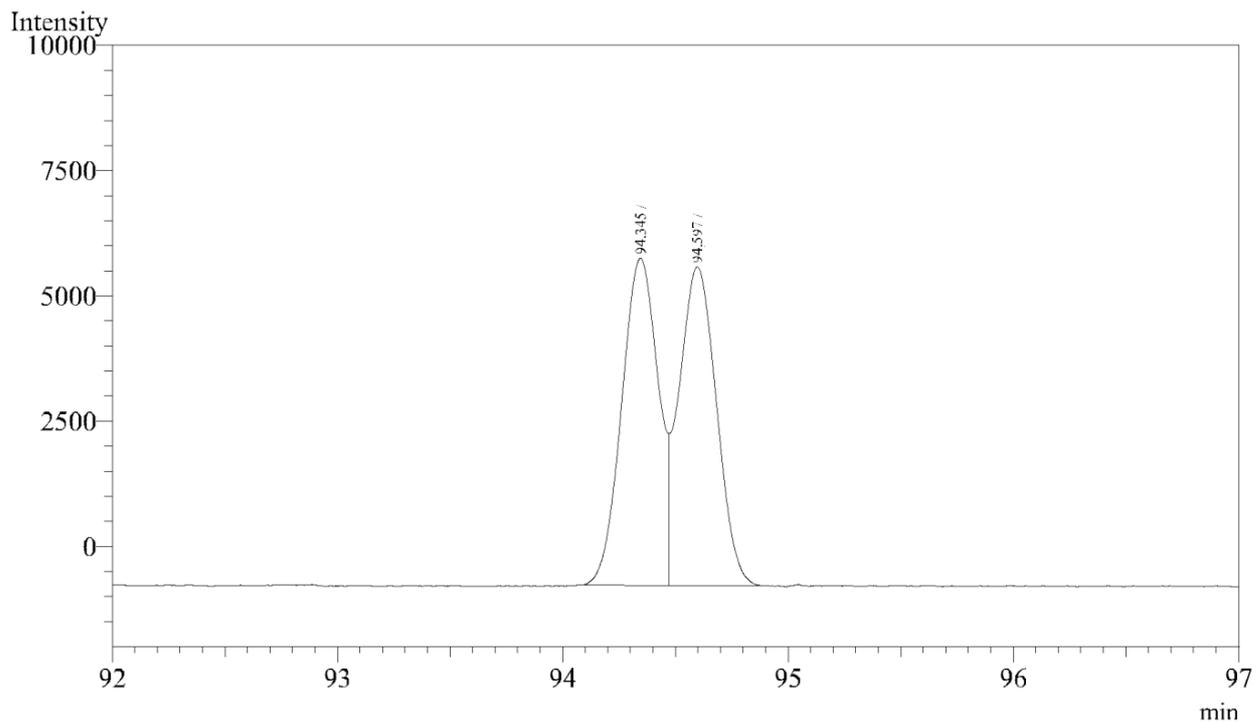
## 6.10. Исследование смесей ибупрофена (88) и миндальной кислоты (11)

Механические смеси (см. Таблица 3.4-1) ибупрофена и миндальной кислоты с указанными аминокислотами и винной кислотой перед сублимацией были растворены при слабом нагревании в смеси метанола (10 мл) и воды (25 мл). Полученные растворы были упарены на роторном испарителе в вакууме мембранного насоса. Частичная сублимация смесей смесей, содержащих миндальную кислоту проводилась при 40°C, ибупрофен — при 35°C. В каждом эксперименте время сублимации составляло 14 часов. Полученные сублиматы растворяли в сухом метаноле, упаривали на роторном испарителе и взвешивали. Масса сублиматов во всех случаях составила порядка или менее 1 мг. Получение сложных эфиров (114-115) для хирального газ-хроматографического анализа проводили в соответствии с процедурой описанной в работе [115], путём кипячения в метаноле в присутствии  $\text{BF}_3$  (Схема 6.10-1). Программа газового хроматографа описана на стр. 140.

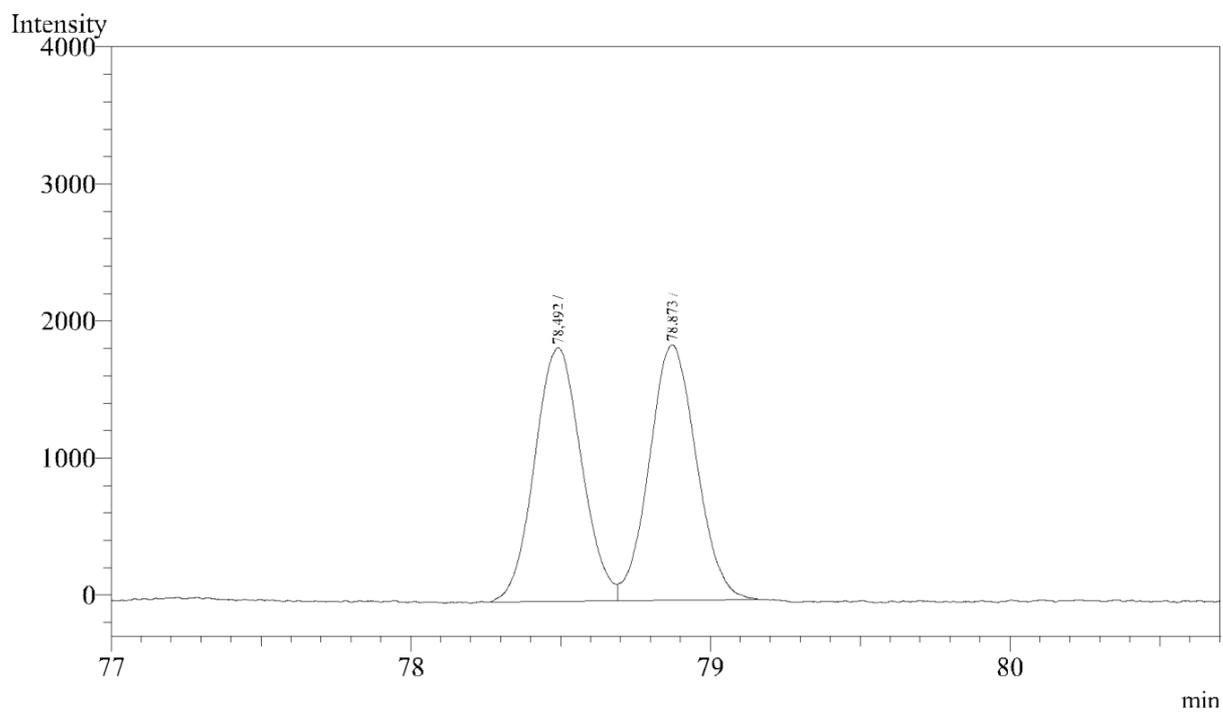


**Схема 6.10-1.** Дериватизация ибупрофена (88) и миндальной кислоты (11) для хирального ГХ анализа.

Пример хроматограммы метилового эфира рацемического ибупрофена (**114**):



Пример хроматограммы метилового эфира рацемической миндальной кислоты (**115**):



## 6.11. Высокотемпературная сублимация и приготовления образцов для хирального газ-хроматографического анализа

Навеску смесей аминокислот всыпают в одно-литровую колбу Эрленмейера с закручивающейся пробкой. Колба предварительно нагревалась на горячей поверхности в течение двух минут (температуры указаны в таблицах). После всыпания колбу закрывают, нагрев продолжался еще 15 минут. По окончании эксперимента, сосуду дают остыть до комнатной температуры, всё содержимое растворяют в 5-10 мл 0.1 М водного раствора соляной кислоты. Аликвоту полученного раствора (90  $\mu\text{L}$ ) переносят в 5-ти миллилитровую виалу, разводят водой (270  $\mu\text{L}$ ), добавляют смесь пиридина и этанола (4:1, 240  $\mu\text{L}$ ) и проводят дериватизацию для хирального газ-хроматографического анализа, как это описано в разделе 6.3. Полученные производные растворяют в сухом диэтиловом эфире ( $\sim 1.5 \text{ mL}$ ), фильтруют через нейлоновый фильтр и впрыскивают (1 - 3  $\mu\text{L}$ ) в газовый хроматограф (Shimadzu GC-2014) для определения энантиомерного избытка.

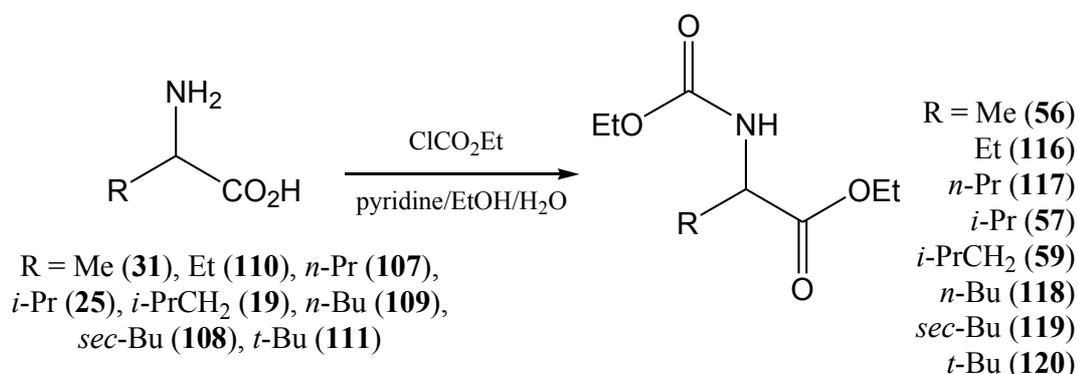
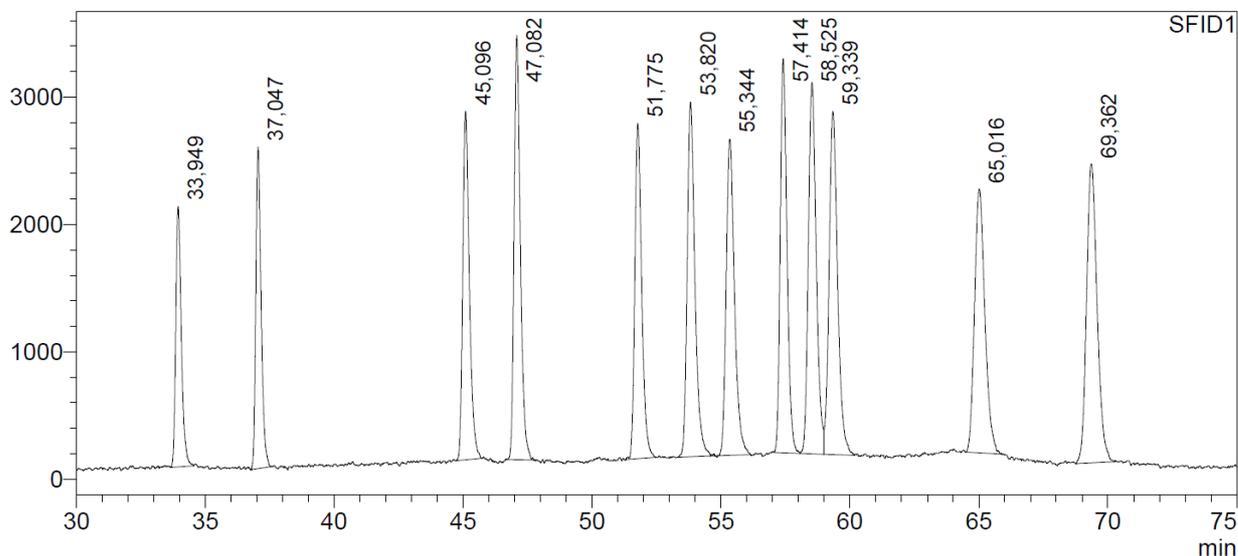


Схема 6.11-1. Дериватизация  $\alpha$ -аминокислот для ГХ анализа.

Пример хроматограммы смеси шести дериватизированных аминокислот: N-этоксикарбонил этиловые эфиры аланина (**56**), валин (**57**), лейцин (**58**), норвалин (**117**), норлейцин (**118**), изолейцин (**119**).



Каждая из указанных аминокислот была приготовлена с избытком L-энантиомера, ~7% *ee*. Программа хроматографа описана на стр. 141.

### 6.11.1. Результаты высокотемпературной сублимации смесей аланина

Приблизительный состав начальной смеси	Энантиомерный избыток начальной смеси определённый хиральной газовой хроматографией	Энантиомерный избыток сублимата	Масса сублимата, мг
100 мг DL-Ala	0% <i>ee</i>	0% <i>ee</i>	-
90 мг DL-Ala + 10 мг L-Ala	12.1% <i>ee</i> (L)	9.8% <i>ee</i> (L)	49
75 мг DL-Ala + 25 мг L-Ala	28.5% <i>ee</i> (L)	19.5% <i>ee</i> (L)	66
60 мг DL-Ala + 40 мг L-Ala	42.8% <i>ee</i> (L)	37% <i>ee</i> (L)	48
45 мг DL-Ala + 55 мг L-Ala	58% <i>ee</i> (L)	48.4% <i>ee</i> (L)	65
35 мг DL-Ala + 65 мг L-Ala	66.8% <i>ee</i> (L)	56.5% <i>ee</i> (L)	63
20 мг DL-Ala + 80 мг L-Ala	82.7% <i>ee</i> (L)	75.6% <i>ee</i> (L)	58
100 мг L-Ala	100% <i>ee</i> (L)	96.5% <i>ee</i> (L)	54

### 6.11.2. Результаты высокотемпературной сублимации смесей валина

Приблизительный состав начальной смеси	Энантиомерный избыток начальной смеси определённый хиральной газовой хроматографией	Энантиомерный избыток сублимата	Масса сублимата, мг
50 мг DL-Val	0% <i>ee</i>	0% <i>ee</i>	33
47.5 мг DL-Val + 2.5 мг L-Val	4.3% <i>ee</i> (L)	11.9% <i>ee</i> (L)	-
40 мг DL-Val + 10 мг L-Val	21.9% <i>ee</i> (L)	32% <i>ee</i> (L)	40
30 мг DL-Val + 20 мг L-Val	41.3% <i>ee</i> (L)	57.8% <i>ee</i> (L)	38
27.5 мг DL-Val + 22.5 мг L-Val	44.6% <i>ee</i> (L)	64.4-69% <i>ee</i> (L)*	-
20 мг DL-Val + 30 мг L-Val	60.5% <i>ee</i> (L)	74.2% <i>ee</i> (L)	-
5 мг DL-Val + 45 мг L-Val	90.8% <i>ee</i> (L)	95.3-96.8% <i>ee</i> (L)*	36
50 мг L-Val	100% <i>ee</i> (L)	100% <i>ee</i> (L)	35

\* Данные полученные в результате двух независимых экспериментов

### 6.11.3. Результаты высокотемпературной сублимации смесей лейцина

Приблизительный состав начальной смеси	Энантиомерный избыток начальной смеси определённый хиральной газовой хроматографией	Энантиомерный избыток сублимата	Масса сублимата, мг
50 мг DL-Leu	0% <i>ee</i>	0% <i>ee</i>	-
47.5 мг DL-Leu + 2.5 мг L-Leu	7.8% <i>ee</i> (L)	7.1% <i>ee</i> (L)	33
45 мг DL-Leu + 5 мг L-Leu	13.3% <i>ee</i> (L)	10.1% <i>ee</i> (L)	33
40 мг DL-Leu + 10 мг L-Leu	19% <i>ee</i> (L)	16.4% <i>ee</i> (L)	23
35 мг DL-Leu + 15 мг L-Leu	30.8% <i>ee</i> (L)	22.8% <i>ee</i> (L)	25
30 мг DL-Leu + 20 мг L-Leu	43.1% <i>ee</i> (L)	38.6% <i>ee</i> (L)	27
27.5 мг DL-Leu + 22.5 мг L-Leu	50.9% <i>ee</i> (L)	53.9% <i>ee</i> (L)	-
25 мг DL-Leu + 25 мг L-Leu	53.4% <i>ee</i> (L)	63.2% <i>ee</i> (L)	19
20 мг DL-Leu + 30 мг L-Leu	65.3% <i>ee</i> (L)	74% <i>ee</i> (L)	33
15 мг DL-Leu + 35 мг L-Leu	72.7% <i>ee</i> (L)	84.6% <i>ee</i> (L)	18
10 мг DL-Leu + 40 мг L-Leu	82.6% <i>ee</i> (L)	89.9% <i>ee</i> (L)	35
5 мг DL-Leu + 45 мг L-Leu	88.6% <i>ee</i> (L)	95.9% <i>ee</i> (L)	26
50 мг L-Leu	100% <i>ee</i> (L)	100% <i>ee</i> (L)	34

#### 6.11.4. Результаты высокотемпературной сублимации нерацемических смесей валина с энантиомерночистым лейцином

Приблизительный состав начальной смеси (мольное соотношение Leu : Val = 4 : 1)	Энантиомерный избыток начальной смеси определённый хиральной газовой хроматографией	Энантиомерный избыток сублимата	Масса сублимата, мг
112 мг L-Leu + 2.5 мг DL-Val + 22.5 мг D-Val	87.5% <i>ee</i> (D)	81.4% <i>ee</i> (D)	71
112 мг L-Leu + 5 мг DL-Val + 20 мг D-Val	77.4% <i>ee</i> (D)	71.3% <i>ee</i> (D)	63
112 мг L-Leu + 7.5 мг DL-Val + 17.5 мг D-Val	69.3% <i>ee</i> (D)	60.8% <i>ee</i> (D)	72
112 мг L-Leu + 10 мг DL-Val + 15 мг D-Val	61.4% <i>ee</i> (D)	47.9% <i>ee</i> (D)	81
112 мг L-Leu + 15 мг DL-Val + 10 мг D-Val	40.1% <i>ee</i> (D)	19.8% <i>ee</i> (D)	83
112 мг L-Leu + 15 мг DL-Val + 10 мг D-Val	42% <i>ee</i> (D)	~0% <i>ee</i> <sup>a</sup>	88
112 мг L-Leu + 15 мг DL-Val + 10 мг D-Val	30% <i>ee</i> (D) <sup>b</sup>	16.2% <i>ee</i> (L) <sup>a</sup>	-
112 мг L-Leu + 17.5 мг DL-Val + 7.5 мг D-Val	23.1% <i>ee</i> (D)	9% <i>ee</i> (L)	72
112 мг L-Leu + 22.5 мг DL-Val + 2.5 мг D-Val	10% <i>ee</i> (D) <sup>b</sup>	27% <i>ee</i> (L) <sup>a</sup>	80
112 мг L-Leu + 25 мг DL-Val	0% <i>ee</i>	26-27% <i>ee</i> (L) <sup>c</sup>	-
112 мг L-Leu + 21 мг DL-Val + 4 мг L-Val	18.1% <i>ee</i> (L)	% <i>ee</i> (L)	87
112 мг L-Leu + 10 мг DL-Val + 15 мг L-Val	63.9% <i>ee</i> (L)	% <i>ee</i> (L)	98
112 мг L-Leu + 2.5 мг DL-Val + 22.5 мг L-Val	89.6% <i>ee</i> (L)	% <i>ee</i> (L)	100
112 мг L-Leu + 25 мг L-Val	100% <i>ee</i> (L)	100% <i>ee</i> (L)	-

<sup>a</sup> Точки полученные при 540°C;

<sup>b</sup> Энантиомерный избыток исходной смеси с помощью газовой хроматографии не уточнялся;

<sup>c</sup> Данные полученные в результате двух независимых экспериментов.

### 6.11.5. Результаты высокотемпературной сублимации смесей L-валина с DL-аланином и DL-лейцином в различной атмосфере

Состав смесей L-Val : DL-Ala : DL-Leu – 100 мг + 19 мг + 28 мг (1:0.25:0.25 экв.).

Состав исходной газовой фазы	Состав сублиматов, ee % (избыток L)			Выход
	валин	аланин	лейцин	
Воздух	100	49.6	36.4	69%
Азот	96	11.7	17.7	79.4%
Азот насыщенный парами воды при 500°C	98.5	9.1	11.4	-
Азот содержащий 10% NO	99.5	16.3	16.6	-
Азот содержащий 50% NO	99.8	22.8	21.8	-
NO	99.8	55.4	53.4	-
Углекислый газ*	99.5	22.2	24.6	43.9%
Отсутствие атмосферы (вакуум масляного насоса, ~0.5 мм рт. ст.)	100	3	7.1	94.8%

\* Время сублимации составило 25 минут.

### 6.11.6. Результаты высокотемпературной сублимации смесей L-валина с различным количеством рацемических аминокислот

Смесь	Состав исходной смеси (экв.)	Состав сублимата, ee % (L)
A	L-Val : DL-Leu 1 : 1.5	Val 100, Leu ~1
B	L-Val : DL-Leu 1 : 0.25	Val 100, Leu 26
C	L-Val : DL-Ala 1 : 0.25	Val 100, Ala 34.9
D	L-Val : DL-Ala : DL-Leu 1 : 0.25 : 0.25	Val 100, Ala 49.6, Leu 36.4
E	L-Val : DL-Ala : DL-Leu : DL-norVal : DL-norLeu : DL-isoLeu : DL-Aba 1 : 0.25 : 0.25 : 0.25 : 0.25 : 0.25 : 0.25	Val 100, Ala 50, Leu 41.5, norVal 42, norLeu 39.4, isoLeu 20.4, Aba 55.3

### 6.11.7. Результаты высокотемпературной сублимации многокомпонентных смесей аминокислот

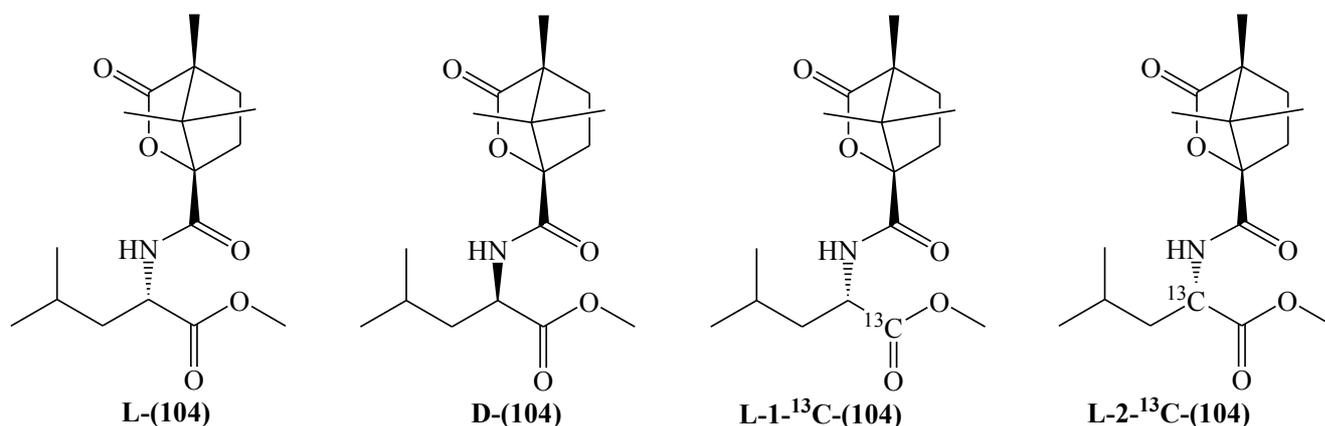
Смесь	Состав исходной смеси (экв.)	Состав сублимата, ee % (L)
2A	L-Aba : DL-Val : DL-Ala : DL-Leu 1 : 0.25 : 0.25 : 0.25	Aba 98.9, Val 63.9, Ala 54.3, Leu 49.4
2B	L-norVal : DL-Val : DL-Ala : DL-Leu 1 : 0.25 : 0.25 : 0.25	norVal 98.9, Val 49, Ala 37.9, Leu 52.6
2C	L-isoLeu : DL-Val : DL-Ala : DL-Leu 1 : 0.25 : 0.25 : 0.25	isoLeu 97.7, Val 45.5, Ala 49.2, Leu 40.2
2D	L-tertLeu : DL-Val : DL-Ala : DL-Leu 1 : 0.25 : 0.25 : 0.25	tertLeu ~100, Val 22.7, Ala 25.5, Leu 34.4
3A	L-Val : DL-Ala : DL-Leu : DL-norVal : DL-norLeu : DL-isoLeu : DL-Aba 1 : 0.25 : 0.25 : 0.25 : 0.25 : 0.25 : 0.25	Val ~100, Ala 41.5, Leu 41.5, norVal 42, norLeu 39.4, isoLeu 20.4, Aba 55.3
3B	L-Val : DL-Ala : DL-Leu : DL-norVal : DL-norLeu : DL-isoLeu : DL-Aba 2 : 0.25 : 0.25 : 0.25 : 0.25 : 0.25 : 0.25	Val ~100, Ala 50, Leu 59.6, norVal 58.9, norLeu 55, isoLeu 8.9, Aba 48.9
3C	L-Val : DL-Ala : DL-Leu : DL-norVal : DL-norLeu : DL-isoLeu : DL-Aba 3 : 0.25 : 0.25 : 0.25 : 0.25 : 0.25 : 0.25	Val ~100, Ala 60.1, Leu 59.4, norVal 53.6, norLeu 49.9, isoLeu 22.6, Aba 46.5

### 6.11.8. Результаты высокотемпературной дерацимизация лейцина парой энантиомерночистых аминокислот

Смесь	Состав исходной смеси (экв.)	Состав сублимата, ee % (L)
3A	L-Val : DL-Leu 1 : 0.25	Val 100, Leu 26
3B	L-Val : L-tertLeu : DL-Leu 1 : 0.25 : 0.25	Val 100, tertLeu 100, Leu 27.2
3C	L-Val : L-isoLeu : DL-Leu 1 : 0.25 : 0.25	Val 100, isoLeu 100, Leu 29.1
3D	L-Val : L-Ala : DL-Leu 1 : 0.25 : 0.25	Val 100, Ala ~100, Leu 31
3E	L-Val : L-Aba : DL-Leu 1 : 0.25 : 0.25	Val 100, Aba 98.2, Leu 43.5
3F	L-Val : L-norVal : DL-Leu 1 : 0.25 : 0.25	Val 100, norVal 97.3, Leu 49.4
3G	L-Val : L-norLeu : DL-Leu 1 : 0.25 : 0.25	Val 100, norLeu 88, Leu 54.1

## 6.12. Камфановые производные лейцина с природным содержанием $^{13}\text{C}$ и изотопномеченные.

(R/S)-Метил 4-метил-2-((1S,4R)-4,7,7-триметил-3-оксо-2-оксабицикло[2.2.1]-гептан-1-карбоксамидо)пентаноат (**104**).



**Рисунок 6.12.** Структуры камфановых диастереомерных производных лейцина (**104**).

### Camph-L-Leu(OMe) (**L-104**)

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{C}_6\text{D}_6$ )  $\delta$ : 0.85 (d, 3H,  $(\text{CH}_3)_2\text{CH}$ - ротатомер,  $^3J_{\text{H,H}} = 6.4$  Hz), 0.91 (s, 3H, Me, Camph), 0.92 (d, 3H, частично наложен на предыдущий синглет,  $(\text{CH}_3)_2\text{CH}$ - ротатомер,  $^3J_{\text{H,H}} = 6.2$  Hz), 0.94 (s, 3H, Me Camph), 0.95 (s, 3H, Me Camph), 1.28 – 1.45 (m, 3H,  $(\text{CH}_3)_2\text{CH}$ - and ), 1.56 – 1.67 (m, 2H,  $i\text{-Pr-CH}_A\text{H}_B$ ), 1.73 – 1.80 (m, 1H), 2.35 – 2.42 (m, 1H, ), 3.37 (s, 3H,  $\text{CO}_2\text{CH}_3$ ), 4.91 – 4.97 (m (~ddd), 1H, 2( $\alpha$ )- $\text{CH}$ , 4.7, 8.8, 10.1 Hz), 6.96 (d, 1H,  $-\text{C}(\text{O})\text{NH}$ -,  $^3J_{\text{H,H}} = 8.6$  Hz).

$^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{C}_6\text{D}_6$ )  $\delta$ : 9.76, 16.53, 16.67, 21.47, 22.9, 25.08, 28.97, 30.64, 41.01, 50.49, 51.78, 53.66, 55.09, 92.16, 167.23, 172.56, 177.20.

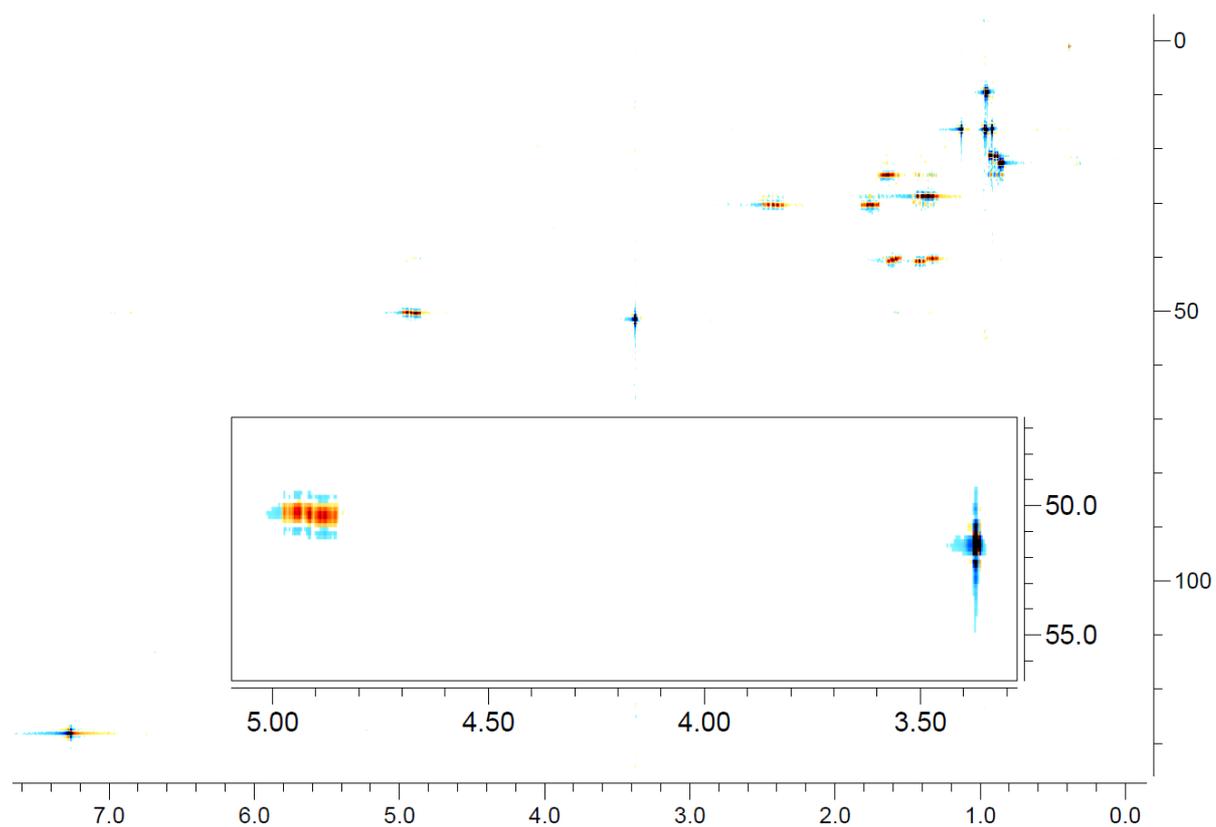
### Camph-DL-Leu(OMe) (**DL-104**)

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{C}_6\text{D}_6$ )  $\delta$ : 0.84 – 0.93 (4 дублета  $(\text{CH}_3)_2\text{CH}$ - ротатомеров и диастереомеров,  $^3J_{\text{H,H}} = 6.4$  Hz, частично перекрыты); 0.92, 0.95 – 0.97, 1.13 (s, 4,7,7

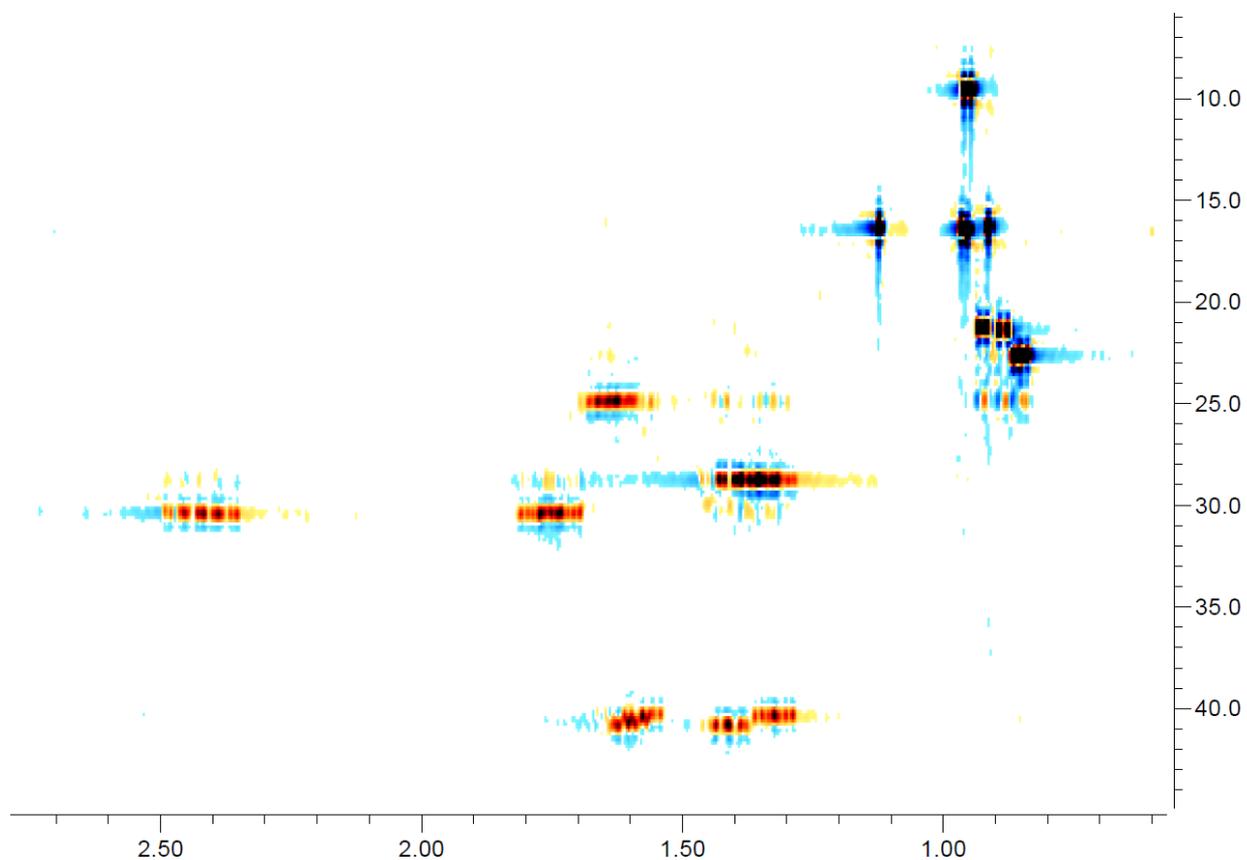
Me<sub>3</sub> Camph, частично перекрыт); 1.29 – 1.36 (m, *i*-Pr-CH<sub>A</sub>H<sub>B</sub>, D диастереомер), 1.37 – 1.47 (m, *i*-Pr-CH<sub>A</sub>H<sub>B</sub>, L диастереомер, сигналы частично наложены), 1.29 – 1.47 (m, 1H, 6-CH<sub>2</sub>, Camph); 1.55 – 1.68 (m, 2H of *i*-Pr-CH<sub>A</sub>H<sub>B</sub> and 1H of (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH, D и L диастереомеры, сигналы частично наложены); 1.69 – 1.81 (m, 1H, 5-CH<sub>A</sub>H<sub>B</sub>, Camph); 2.36 – 2.5 (m, 1H, 5-CH<sub>A</sub>H<sub>B</sub>, Camph); 3.38 (s, 6H, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 4.86 – 4.92 (m, 1H, 2(alpha)-CH of D-Leu), 4.92 – 4.98 (m, 1H, 2(alpha)-CH of L-Leu), 6.86 and 6.97 (2 d of -C(O)NH-, L и D диастереомеры, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 8.2 Hz).

<sup>13</sup>C NMR (100 MHz, C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>) δ: 9.76 (s, 4-Me Camph); 16.53, 16.59, 16.68 (3 s, 7,7-Me<sub>2</sub> Camph); 21.47, 21.59, 22.82, 22.89 (s, (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH, ротатомеры и диастереомеры); 25.09, 25.11 (s, (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH); 28.97 (s, 6-C, Camph); 30.58, 30.64 (s, 5-C, Camph); (s, 7-C, Camph); 40.54 (s, *i*-PrCH<sub>2</sub>, D диастереомер) and 41.01 (s, *i*-PrCH<sub>2</sub>, L диастереомер); 50.50 (s, 2(alpha)-CH, L диастереомер) and 50.63 (s, 2(alpha)-CH, D диастереомер); 51.67 and 51.78 (s, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, L and D диастереомеры); 53.67, 54.07, 55.09, 55.26 (s, 4-C, Camph, конформер); 92.17, 92.20 (s, 1-C, Camph); 167.24, 167.35 (s, C(O)-NH); 172.56, 172.63 (s, 1-C, Leu); 177.22, 177.46 (s, 3-C(O), Camph).

Спектр HSQC ( $C_6D_6$ ) (**DL-104**), целиком и область  $\alpha$ -CH и -NH-CO протонов:



Спектр HSQC ( $C_6D_6$ ) (**DL-104**), область алифатических протонов:



**Camph-D-Leu(OMe) (D-104) + Camph-L-1-<sup>13</sup>C-Leu(OMe) (L-1-<sup>13</sup>C-104).**

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>) δ: основное различие с <sup>1</sup>H спектром Camph-DL-Leu(OMe) в форме CH(NHCamph)<sup>13</sup>COOMe (альфа) протона производного L-1-<sup>13</sup>C-Leu. Левая компонента при 4,94 ppm имела более сложную структуру вследствие <sup>2</sup>J<sub>H,<sup>13</sup>C</sub> констант расщепления (см. рисунок 4.4.2-2 в основном тексте), сигнал частично перекрыт с CH(NHCamph)<sup>13</sup>COOMe протоном производного D-Leu.

<sup>13</sup>C NMR (100 MHz, C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>) δ: интенсивный синглет 1-<sup>13</sup>C при 172.52 ppm, производного L-Leu (справа от соответствующего D-производного при 172.6), различима константа расщепления на альфа атоме углерода (немеченный) <sup>1</sup>J<sub>1-<sup>13</sup>C,2-<sup>13</sup>C</sub> ~ 61-62 Гц; сигнал 2(alpha)-CH (при 50.29 ppm, левый от синглета D-производного при 50.52) расщеплён в дублет с той же прямой константой J = 61.7 Гц; также наблюдается дублет метильной группы CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> при 51.77 ppm (справа от синглета соответствующего углеродного атома D-производного при 51.67 ppm), <sup>2</sup>J<sub>13C,13C</sub> = 2.8 Гц.

**Camph-D-Leu(OMe) (D-104)+Camph-L-2-<sup>13</sup>C-Leu(OMe) (L-2-<sup>13</sup>C-104).**

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>) δ: левая компонента <sup>13</sup>CH(NHCamph)COOMe альфа протонов соответствующая производному L-2-<sup>13</sup>C-Leu расщепилась в дублет мультиплетов (см. рисунок 4.4.2-2 в основном тексте) с константой спин-спинового взаимодействия <sup>1</sup>J<sub>H,<sup>13</sup>C</sub> = 141.9 Гц.

<sup>13</sup>C NMR (100 MHz, C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>) δ: мощный синглет 2(alpha)-CH при 50.40 ppm (слева от синглета немеченного D-производного при 50.49 ppm); расщеплённый сигнал 1-C углеродного атома (справа от D-производного) был едва различим в шумах; метиленовый углерод *i*-PrCH<sub>2</sub> L-компоненты проявился при 40.99 ppm в виде дублета с прямой константой <sup>1</sup>J<sub>1-<sup>13</sup>C,2-<sup>13</sup>C</sub> = 34.9 Гц (слева от немеченного D-производного при 40.53 ppm).

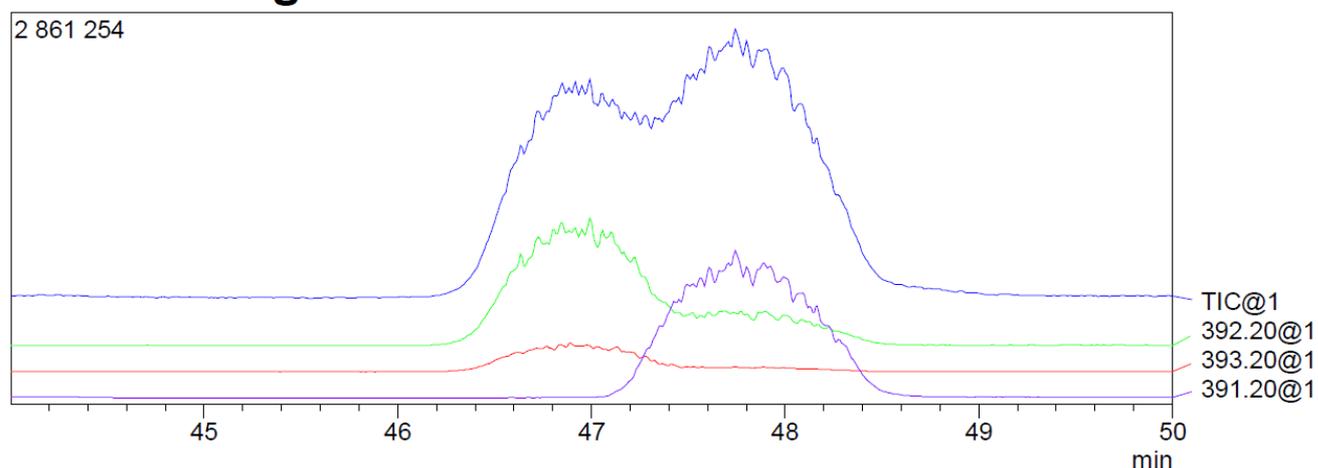
**Пример жидкостной хроматограммы** смеси Camph-D-Leu(OMe) (D-85) + Camph-L-1-<sup>13</sup>C-Leu(OMe) (L-1-<sup>13</sup>C-104) (40%*ee* D-Leu) и масс-спектров хроматографических пиков в режиме регистрации по выбранным ионам. Детали анализа описаны на стр. 141-142.

Camph-D-Leu(OMe) (**D-104**) время удержания 47.74 мин. Масс-спектр: 328.15 (M), 391.20 (M+CH<sub>3</sub>CN+Na).

Camph-L-2-<sup>13</sup>C-Leu(OMe) (L-1-<sup>13</sup>C-104) время удержания 46.99 мин. Масс-спектр: 329.20 (M), 392.20 (M+CH<sub>3</sub>CN+Na).

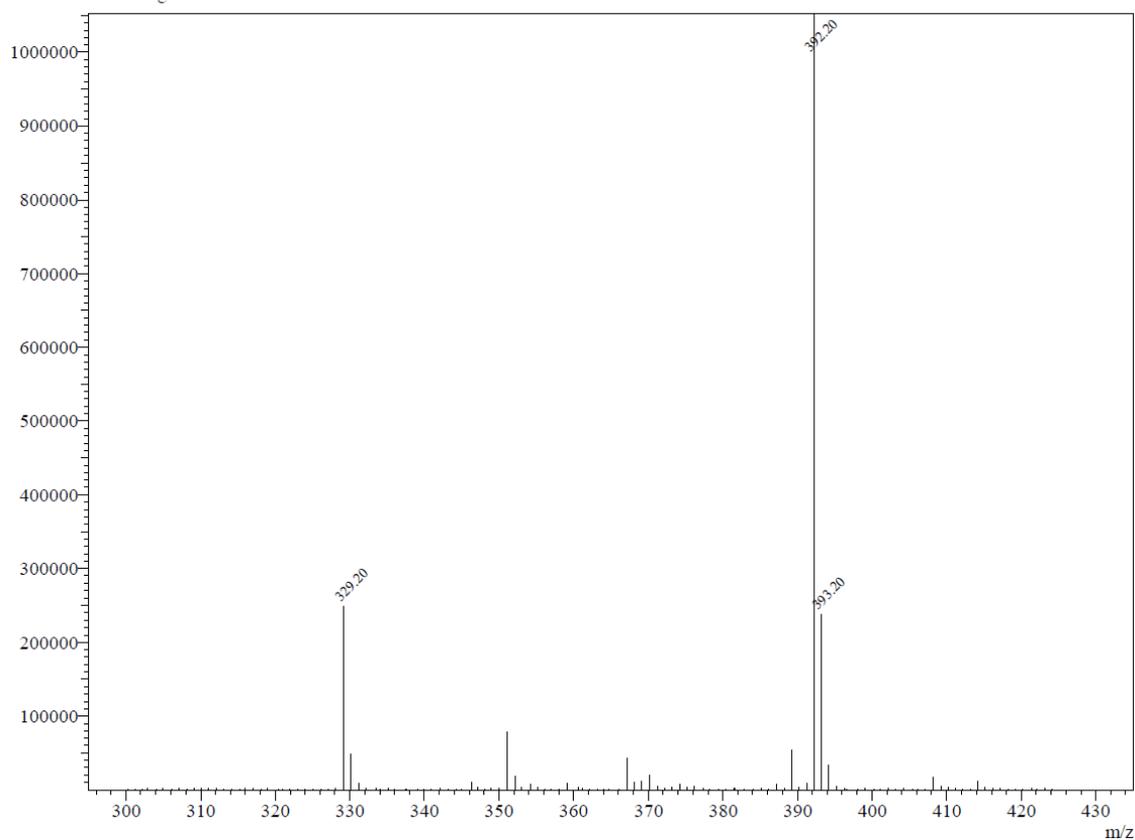
Data Filename : D+13C-L-0604-test6-01.lcd

### <Chromatogram>

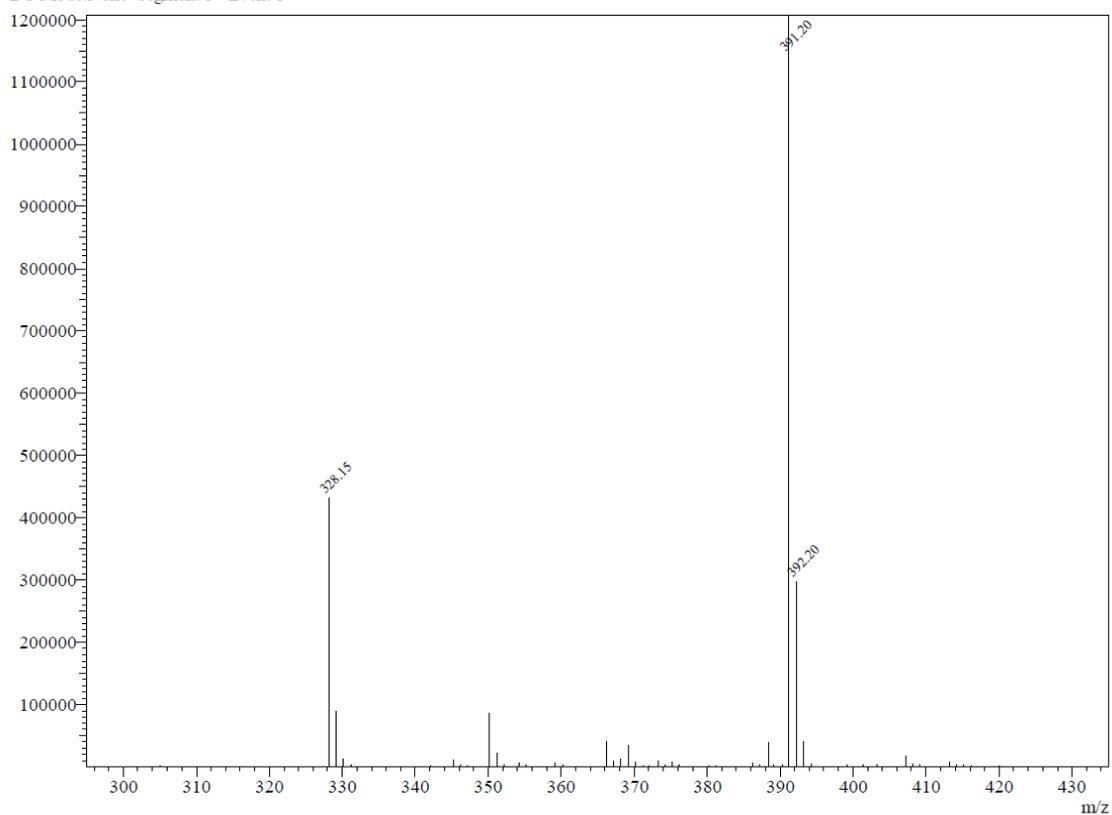


Mass Spectrum

Line#:1 R.Time:46.992(Scan#:5640)  
MassPeaks:126  
Spectrum Mode:Averaged 46.758-47.033(5612-5645) BasePeak:392.20(1052075)  
BG Mode:None Segment 1 - Event 1



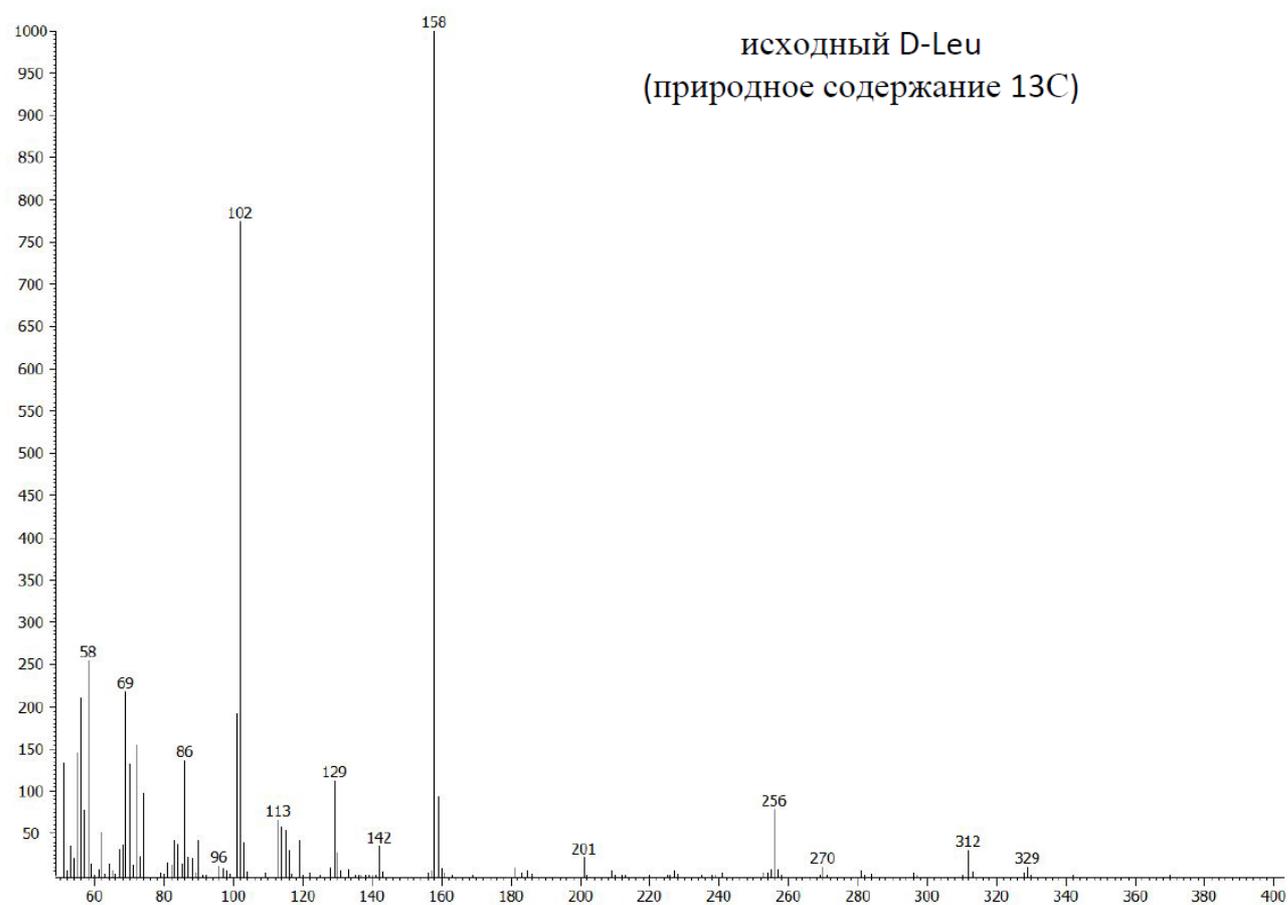
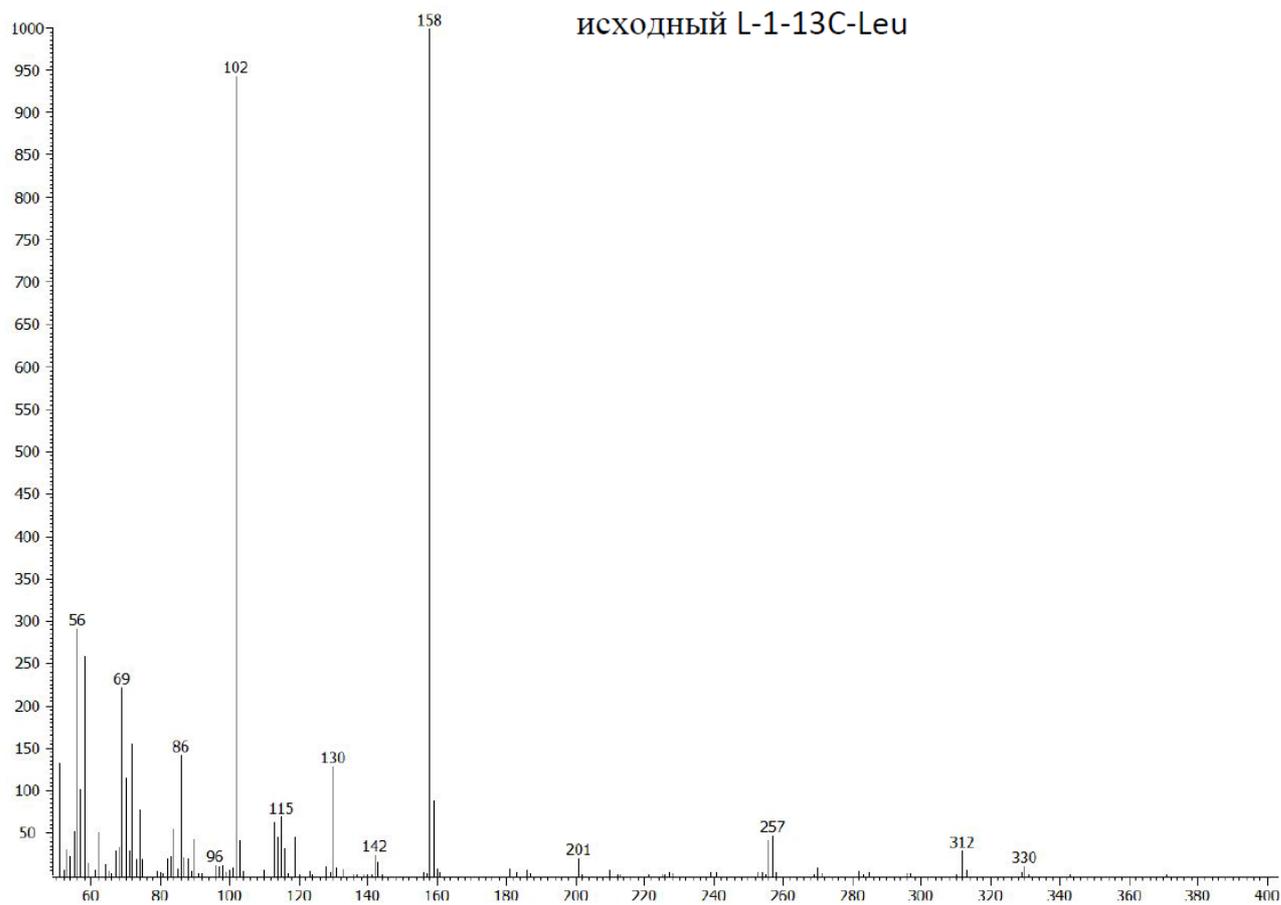
Line#:2 R.Time:47.742(Scan#:5730)  
MassPeaks:125  
Spectrum Mode:Averaged 47.667-47.867(5721-5745) BasePeak:391.20(1207598)  
BG Mode:None Segment 1 - Event 1



### **6.13. Исследования продуктов сублимации с применением хиральной двумерной газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектором**

Следовые количества исходной смеси (L-Val + D-Leu + L-1-<sup>13</sup>C-Leu, соотношение 1 : 0.125 : 0.125 экв.) и сублимата растворили в 2 мл 1 М HCl и разбавили водой в 10 раз. Аликвоту каждого из растворов (50 мкл) перенесли в виалу, куда добавили смесь 2,2,3,3,4,4,4-гептафтор-1-бутанола с пиридином (3:1, общий объём 25 мкл), а затем 5 мкл этил хлорформиата. После чего смесь интенсивно встряхивалась в течении 10-15 с. Образованные N-этоксикарбонил гептафторбутановые эфиры экстрагировали 50 мкл хлороформа и подвергали дальнейшему ГХ х ГХ-МСД анализу. Условия проведения анализа описаны на стр. 142. 3D хроматограммы представлены в основном тексте (разд. 4.4.2).

Ниже приведены масс-спектры энантиомеров N-этоксикарбонил гептафторбутановых эфиров лейцина (**105**) в исходной смеси.



#### 6.14. Синтез и физические свойства DL-лейцина-2-d<sup>1</sup> (106)

Рацемический DL-лецин-2-d<sup>1</sup> (106) был синтезирован в соответствии с процедурой G. Mitulovi et al. (см. Схема 4.4.2-3) [160]. Сырой продукт был несколько раз промыт этил ацетатом и окончательно очищен сублимацией в вакууме в стандартном лабораторном сублиматоре (170°C, < 1 мм рт. ст.). Рацемический состав был подтверждён хиральным газ-хроматографическим анализом после дериватизации этил хлорформиатом. По спектрам ЯМР полученный продукт содержал около 7% недейттерированного лейцина.

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, D<sub>2</sub>O) δ: 0.86 (m, ротатомеры, 6H, (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 4.9 Hz), 1.54 – 1.68 (m, 3H, (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH and CH<sub>2</sub>), 3.63 (следовый сигнал незначительной интенсивности α-CH).

<sup>13</sup>C NMR (100 MHz, D<sub>2</sub>O) δ: 20.84 и 21.96 (CH<sub>3</sub> ротатомеры), 24.09 (s, (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH), 39.64 (s, CH<sub>2</sub>CD), 39.74 (следовый синглет недейттерированного CH<sub>2</sub>CH), 53.06 (2-C, t, <sup>1</sup>J<sub>C,D</sub> = 21.9 Hz), 53.37, (α-C недейттерированный, следы), 175.51 (s, COOH).

## **6.15. Приготовление раствора глицина для кристаллизации $\gamma$ -полиморфной модификации**

Насыщенный раствор глицина, из которого происходил рост  $\gamma$ -формы, был получен путём интенсивного перемешивания избытка глицина (33 г) с 110 г соляного раствора (NaCl 100 г/л, 110 г) в течении 5 часов при комнатной температуре. Избыток кристаллов Gly был удалён вакуумным фильтрованием через фильтр Шотта (Duran, grade 3, пористость 16-40  $\mu\text{m}$ ). Полученный раствор был использован для кристаллизации в различных условиях.

### **6.15.1. Кристаллизация без перемешивания. Выращивание монокристаллов.**

Для выращивания монокристаллов вышеуказанный раствор был помещён в кристаллизатор и накрыт фильтровальной бумагой для предотвращения попадания пыли. Рост кристаллов обычно наблюдался на 3-5 день и через одну – две недели, таким образом, были выращены хорошо оформленные, достаточно большие монокристаллы гамма-глицина (размером до нескольких миллиметров) (результаты см. Таблица 5.2-1, №1-7).

### **6.15.2. Кристаллизация при перемешивании.**

Аликвоту (10 мл) насыщенного раствора глицина (разд. 6.15) помещали в 25-миллилитровую плоскодонную колбу снабжённую магнитным якорьком. Раствор перемешивали на магнитной мешалке (~800 оборотов в минуту). Как результат медленного испарения воды, приблизительно на 3 сутки перемешивания наблюдалось образование мелкокристаллического осадка.

Осадок отделяли вакуумным фильтрованием на микрофильтр Шотта ( $d = 1$  см), промывали несколькими каплями деионизированной воды и высушивали в

сушильном шкафу при 40°C в течении ночи (результаты см. Рисунки 5.3-1 и 5.3-2, Таблица 5.2-1, №8-18).

#### **6.14.3. Дозревание $\gamma$ -глицина в процессе растирания.**

Оптически неактивный  $\gamma$ -глицин был получен в результате медленной кристаллизации без перемешивания (разд. 6.15.1). Навеску  $\gamma$ -глицина (CD 0°, 1.311 г) после тщательного растирания в агатовой ступке поместили в насыщенный солевой раствор глицина (NaCl 10 г/л, 12 мл, см. разд. 6.15), куда также были добавлены стеклянные шарики (soda-lime glass, диаметр 3 мм, общая масса шариков 31.3 г). Смесь перемешивали с помощью магнитной мешалки.

Для отбора проб, незначительное количество взвеси (~100-200 мкл) отбирали пипеткой Пастера, осадок отделяли вакуумным фильтрованием на микрофильтр Шотта ( $d = 1$  см), промывали несколькими каплями деионизированной воды. Твёрдые образцы высушивали в сушильном шкафу с вентиляцией при 40°C в течении нескольких часов, периодически растирая порошок шпателем. Навески продуктов смешивали с KBr и запрессовывали в таблетки (результаты см. Рисунки 5.4-1 и 5.4-2, Таблица 5.2-1, №19-21).

#### **6.15.4. Дозревание $\gamma$ -глицина в присутствии энантиомерночистого аланина в процессе растирания.**

Индукцированное дозревание оптически неактивного  $\gamma$ -глицина проводилось по аналогии с процедурой описанной в разд. 6.15.3. Навеску  $\gamma$ -глицина (CD 0°, 1.00 г) после тщательного растирания в агатовой ступке поместили в насыщенный солевой раствор глицина (NaCl 10 г/л, 9,5 мл), куда также были добавлены стеклянные шарики (soda-lime glass, диаметр 3 мм, общая масса шариков 23,8 г) и энантиомерночистый аланин (50 мг). Независимые опыты

были проведены как с L, так и с D-аланином (см. Рисунок 5.5-1, раздел 5.5).

## 7. ВЫВОДЫ

1. В ходе систематических исследований, на примере природных  $\alpha$ -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  $\alpha$ -аминокислот аланина, валина, лейцина, изолейцина, норвалина, норлейцина,  $\alpha$ -аминомасляной кислоты приводит в большинстве случаев к росту общей оптической

чистоты. Изучение механизма с применением изотопномеченного  $^{13}\text{C}$ -лейцина показало отсутствие энантиомеризации. В процессе высокотемпературной сублимации многокомпонентных смесей  $\alpha$ -аминокислот был обнаружен синергетический эффект усиления энантиомерного избытка при повышении числа компонентов системы.

4. Обнаружена дерацимизация летучих  $\alpha$ -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  $\alpha$ -аминокислоты — глицина. Осуществлено индуцирование хиральности глицина с применением других энантиомерночистых  $\alpha$ -аминокислот (L- и D-аланин).

## 8. СЛОВАРЬ ТЕРМИНОВ

*Кинетический конгломерат*: термодинамически нестабильная механическая смесь индивидуальных энантиомеров (имеется в виду, что при данных условиях истинное рацемическое соединение является более стабильным).

*Рацемический конгломерат*: механическая смесь кристаллов индивидуальных энантиомеров в соотношении 1:1.

*Рацемат, рацемическая смесь*: смесь энантиомеров в соотношении 1:1 (какая именно — истинное рацемическое соединение или конгломерат — из данного определения не ясно).

*Рацемическое соединение (истинный рацемат)*: упорядоченное чередование обоих энантиомеров в решётке каждого индивидуального кристалла, который содержит их в соотношении 1:1.

*Рацемизация*: взаимопревращение энантиомеров, ведущее к снижению энантимерного избытка в конкретной фазе.

*Скалемическая (scalemic) смесь*: то же, что и нерацемическая смесь.

*Хиральность*: неидентичность объекта со своим зеркальным отражением.

*Эвтектика*: точка равновесия всех твёрдых фаз системы с расплавом, эвтектический состав имеет наименьшую температуру плавления по определению.

*Эватмотика*: точка равновесного ко-насыщения газовой фазы всеми твёрдыми компонентами системы, эватмотический состав имеет наименьшую температуру сублимации при данном давлении или, наоборот, наибольшее давление насыщенных паров при данной температуре.

*Эвтоника*: точка конасыщения раствора всеми компонентами твёрдой фазы, эвтонический состав имеет наибольшую растворимость при данных условиях.

*Энантиомеры*: изомеры, соотносящиеся друг с другом как зеркальные отражения несовместимые в пространстве.

*Энантиомерный избыток (enantiomeric excess, общепринятое сокращение “ee”)*:

рассчитывается по формуле

$$ee(L) = \frac{[L] - [D]}{[L] + [D]},$$

если L энантимер находится в избытке — *ee* имеет положительное значение; если содержание L меньше, чем D, то *ee* — отрицательно. Обычно рассчитывают энантиомерный избыток того энантиомера, который находится в избытка.

*Энантиомеризация*: процесс превращения одного энантиомера в другой.

## БЛАГОДАРНОСТИ

Автор выражает благодарность академику НАН Украины КУХАРЮ В.П. (д.х.н., профессор, почётный директор Института биоорганической химии и нефтехимии НАН Украины, город Киев), академику РАН ПАРМОНУ В.Н. (д.х.н., профессор, научный руководитель Институт катализа СО РАН, город Новосибирск), СНЫТНИКОВУ В.Н. (к.ф.-м.н., доцент, руководитель научно-исследовательской группы, Институт катализа СО РАН), СОРОЧИНСКОМУ А.Е. (к.х.н., старший научный сотрудник отдела тонкого органического синтеза, Институт биоорганической химии и нефтехимии НАН Украины), профессору GUILLEMIN J.-C. (PhD, директор научно-исследовательского подразделения органической и супрамолекулярной химии при Национальном центре научных исследований Франции, Высшая национальная химическая школа города Рен, Франция), ТКАЧЁВУ А.В. (д.х.н., профессор, преподаватель курса стереохимии органических соединений факультета естественных наук Новосибирского государственного университета, заведующий лабораторией терпеновых соединений Новосибирского института органической химии СО РАН), ШУЛЬЦ Э.Э. (д.х.н., профессор, заведующий лабораторией медицинской химии, Новосибирский институт органической химии СО РАН), АДОНИНУ Н.Ю. (д.х.н., заведующий лабораторией каталитических процессов синтеза элементоорганических соединений, Институт катализа СО РАН).

## 9. СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- [1] Józwiak, K. Drug Stereochemistry. Analytical Methods and Pharmacology / K. Józwiak, W. J. Lough, I. W. Wainer. – New York, London: Informa healthcare, 2006. – 320 p.
- [2] Ojima, I. Catalytic Asymmetric Synthesis / I. Ojima. – Hoboken: Wiley-VCH, 2010. – 998 p.
- [3] Berkessel, A. Asymmetric Organocatalysis - From Biomimetic Concepts to Applications in Asymmetric Synthesis / A. Berkessel, H. Groger. – Weinheim: Wiley-VCH, 2005. – 440 p.
- [4] Gruttadauria, M. Catalytic Methods in Asymmetric Synthesis. Advanced Materials, Techniques, and Applications / M. Gruttadauria, F. Giacalone. – Hoboken: Wiley-VCH, 2011. – 702 p.
- [5] Subramanian, G. Chiral Separation Techniques: A Practical Approach / G. Subramanian. – Weinheim, Chichester, New York, Toronto, Brisbane, Singapore: Wiley-VCH, 2001. – 341 p.
- [6] Gübitz, G. Chiral Separations. Methods and Protocols / G. Gübitz and M.G. Schmid. – Totowa, New Jersey: Humana Press, 2004. – 432 p.
- [7] Beesley, T.E. Chiral Chromatography / T.E. Beesley, R.P.W. Scott. – Chichester, New York, Weinheim, Brisbane, Singapore, Toronto: Wiley-VCH, 1998. – 507 p.
- [8] Berthod, A. Chiral Recognition in Separation Methods / A. Berthod. – Heidelberg, Dordrecht, London, New York: Springer, 2010. – 337 p.
- [9] Han, J. Self-Disproportionation of Enantiomers via Sublimation; New and Truly Green Dimension in Optical Purification / J. Han, J. Donna J. Nelson, A.E. Sorochinsky, V.A. Soloshonok // Current Organic Synthesis. – 2011. – Vol. 8. – № 2. – P. 310-317.
- [10] Pracejus, G. Optische Aktivierung von N-Phthalyl- $\alpha$ -aminosäure-Derivaten durch tert.-Basen-Katalyse / G. Pracejus // Justus Liebigs Ann. Chem. – 1959. – Vol. 622. – № 1. – P. 10-22.
- [11] Kwart, H. Separation of an Enantiomorph and Its Racemate by Syblimation / H. Kwart and D. P. Hoster // J. Org. Chem. – 1967. – Vol. 32. – № 6. – P. 1867-1870.
- [12] Doucet, H. The Scope of Catalytic Asymmetric Hydroboration/Oxidation with Rhodium Complexes of 1,1'-(2-Diarylphosphino-1-naphthyl)isoquinolines / H. Doucet, E. Fernandez, T.P. Layzell, and J.M. Brown // Chem. Eur. J. – 1999. – Vol. 5. – № 4. – P. 1320-1330.
- [13] Yang, P. Thermal Formation of Homochiral Serine Clusters and Implications for the Origin of Homochirality / P. Yang, R. Xu, S.C. Nanita, and R. G. Cooks // J. Am. Chem. Soc. – 2006. – Vol. 128. – № 51. – P. 17074-17086.
- [14] Soloshonok, V.A. Phenomenon of Optical Self-Purification of Chiral Non-Racemic Compounds / V.A. Soloshonok, H. Ueki, M. Yasumoto, S. Mekala, J.S. Hirschi, and D.A. Singleton // J. Am. Chem. Soc. – 2007. – Vol. 129. – № 40. – P. 12112-12113.
- [15] Blackmond, D.G. Spoilt for choice: assessing phase behavior models for the evolution of homochirality / D.G. Blackmond and M. Klussmann // Chem. Commun. - 2007. – № 39. – P. 3990-3996.
- [16] Sorochinsky, A.E. Self-disproportionation of Enantiomers of Enantiomerically Enriched Compounds / A.E. Sorochinsky and V.A. Soloshonok // Topics in Current Chemistry. – 2013. – Vol. 341 – P. 301-340.
- [17] Ueki, H. Rational application of self-disproportionation of enantiomers via sublimation—a novel methodological dimension for enantiomeric purifications / H. Ueki, M. Yasumoto, V.A. Soloshonok // Tetrahedron Asymmetry. – 2010. – Vol. 21. – № 11-12. – P. 1396-1400.
- [18] 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.
- [19] 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.
- [20] Tarasevych, A.V. High Temperature Sublimation of  $\alpha$ -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.
- [21] Blackmond, D.G. The origin of biological homochirality / D.G. Blackmond // *Philosophical Transactions of the Royal Society B*. – 2011. – Vol. 366. – P. 2878-2884.
- [22] Weissbuch, I. Crystalline Architectures as Templates of Relevance to the Origins of Homochirality / I. Weissbuch and M. Lahav // *Chem. Rev.* – 2011. – Vol. 111. – № 5. – P. 3236-3267.
- [23] Ávalos, M. Homochirality and chemical evolution: new vistas and reflections on recent models / M. Ávalos, R. Babiano, P. Cintas, J.L. Jiménez, J.C. Palacios // *Tetrahedron Asymmetry*. – 2010. – Vol. 21. – № 9-10. – P. 1030-1040.
- [24] Cintas, P. On the Physical Basis of Asymmetry and Homochirality / P. Cintas and C. Viedma // *Chirality*. – 2012. – Vol. 24. – № 11. – P. 894-908.
- [25] Cintas, P. Biochirality. Origins, Evolution and Molecular Recognition // P. Cintas (Ed.); with contributions by D.B. Amabilino, S.D. Banik, D.G. Blackmond, C. Blanco, A.C. Evans, J. Gal, D. Gherase, C. Giri, F. Goesmann, A. González-Campo, J.E. Hein, D. Hochberg, U.J. Meierhenrich, C. Meinert, N. Nandi, V. Percec, C. Roche, B.M. Rosen // *Topics in Current Chemistry*. – 2013. – Vol. 333. – 314 p.
- [26] Hein, J.E. On the Origin of Single Chirality of Amino Acids and Sugars in Biogenesis / J.E. Hein and D.G. Blackmond // *Accounts of Chemical Research*. – 2012. – Vol. 45. – № 12. – P. 2045-2054.
- [27] 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.
- [28] Jacques, J. Enantiomers, Racemates, and Resolutions / J. Jacques, A. Collet, S.H. Wilen. – New York, Chichester, Brisbane, Toronto: Wiley, 1981. – 447 p.
- [29] Farina, M. The Vapour Pressure of Enantiomers and of their Mixtures / M. Farina // *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* – 1987. – № 14. – P. 1121-1122.
- [30] Farina, M. Solid-Liquid-Vapor Equilibria of Chiral Compounds / M. Farina, G. Di Silvestro // *Molecular Crystals and Liquid Crystals*. – 1988. – Vol. 161. – № 1. – P. 177-198.
- [31] Meyerhoffer, W. Gleichgewichte der Stereomeren: mit einem Begleitwort von J. H. Van't Hoff / W. Meyerhoffer. – Leipzig und Berlin, 1906. – 54 p.
- [32] Yasumoto, M. Self-disproportionation of enantiomers of  $\alpha$ -trifluoromethyl lactic acid amides via sublimation / M. Yasumoto, H. Ueki, V.A. Soloshonok // *Journal of Fluorine Chemistry*. – 2010. – Vol. 131. – № 4. – P. 540-544.
- [33] Perry, R.H. Serine sublimes with spontaneous chiral amplification / R.H. Perry, C. Wu, M. Nefliu, R.G. Cooks // *Chem. Commun.* – 2007. – № 10. – P. 1071-1073.
- [34] Pracejus, G. Optische Aktivierung von N-Phthalyl- $\alpha$ -amino-säure-Derivaten durch tert.-Basen-Katalyse / G. Pracejus // *Justus Liebigs Ann. Chem.* – 1959. – Vol. 622. – № 1. – P. 10-22.
- [35] Schneider, G. Optisch selektiv katalysierte Umsetzungen an Aminosäurederivaten / Dissertation / Gisela Schneider (verehelichte Pracejus). – Universität Halle/Saale, 1954. – 69 c.
- [36] Kwart, H. Separation of an Enantiomorph and Its Racemate by Syblimation / H. Kwart and D. P. Hoster // *J. Org. Chem.* – 1967. – Vol. 32. – № 6. – P. 1867-1870.
- [37] Kwart, H. Separation of an Enantiomorph and Its Racemate by Syblimation. Additions and Corrections / H. Kwart and D. P. Hoster // *J. Org. Chem.* – 1969. – Vol. 34. – № 11. – P. 3714.
- [38] Guetté, J.P. Interactions diastereoisomeres d'enantiomeres en phase liquide – II \*1: Peut-on séparer les antipodes d'un composé chiral par distillation ? / J.P. Guetté, D. Boucherot and A. Horeau // *Tetrahedron Lett.* – 1973. – № 6. – P. 465-468.
- [39] Horeau, A. Interactions diastereoisomeres d'antipodes en phase liquide / A. Horeau and J. P. Guetté // *Tetrahedron* – 1974. – Vol. 30. – № 13. – P. 1923-1931.
- [40] Ambrose, D. and C. H. S. Sprake. Thermodynamic properties of organic oxygen compounds. Part XXVIII. Vapour pressure of (+)-butan-2-ol / D. Ambrose and C.H.S. Sprake // *J. Chem. Soc. A*. – 1971. – P. 1261-1262.

- [41] Nedrel F. Zum Destillationsverhalten flüssiger Gemische optischer Antipoden / F. Nedrel and W. Diepers // *Tetrahedron Lett.* – 1962. – Vol. 3. – № 18. – P. 783-786.
- [42] Trettin U. Is it possible to affect the enantiomeric composition by a simple distillation process? / U. Trettin and Z. Fresenius // *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry* – 1989. – Vol. 333. – № 7. – P. 750.
- [43] Katagiri, T. Separation of an Enantiomorph and Its Racemate by Distillation: Strong Chiral Recognizing Ability of Trifluorolactates / T. Katagiri, C. Yoda, K. Furuhashi, K. Ueki and T. Kubota // *Chem. Lett.* – 1996. – Vol. 25. – № 2. – P. 115-116.
- [44] Eliel, E.L. Stereochemistry of Organic Compounds / E.L. Eliel and S.H. Wilen. – New York: John Wiley & Sons, INC. 1994. – 1267 p.
- [45] Záhorszky, U.I. Veränderungen im Deuteriumgehalt bei partiell optisch aktiven, festen Verbindungen im Massenspektrometer / U.I. Záhorszky und H. Musso // *Chem. Ber.* – 1973. – Vol. 106. – № 11. – P. 3608-3613.
- [46] Fales, H.M. Detection of Chirality with the Chemical Ionization Mass Spectrometer. "Meso" Ions in the Gas Phase / H.M. Fales, G.J. Wright // *J. Am. Chem. Soc.* – 1977. – Vol. 99. – № 7. – P. 2339-2340.
- [47] Doucet, H. The Scope of Catalytic Asymmetric Hydroboration/Oxidation with Rhodium Complexes of 1,1'-(2-Diarylphosphino-1-naphthyl)isoquinolines / H. Doucet, E. Fernandez, T.P. Layzell, and J.M. Brown // *Chem. Eur. J.* – 1999. – Vol. 5 – P. 1320-1330.
- [48] Garin, D.L. Enhancement of Optical Activity by Fractional Sublimation. An Alternative to Fractional Crystallization and a Warning / D.L. Garin, D.J. Cooke Greco, and L. Kelley // *J. Ogr. Chem.* – 1977. – Vol. 42. – № 7. – P. 1249-1251.
- [49] Garin, D.L. External vs. Internal Cyclopropyl Bond Cleavage in the Photosensitized Epimerization of Bicyclo[3,1,0]hex-2-enes / D.L. Garin, D.J. Cooke Greco, and L. Kelley // *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* – 1972. – № 1. – P. 33-34.
- [50] Faigl, F. Strategies in optical resolution: a practical guide / F. Faigl, E. Fogassy, M. Nógrádi, E. Pálovics and J. Schindler // *Tetrahedron: Asymmetry* – 2008. – Vol. 19. – № 5. – P. 519-536.
- [51] Faigl, F. Separation of non-racemic mixtures of enantiomers: an essential part of optical resolution / F. Faigl, E. Fogassy, M. Nógrádi, E. Pálovics and J. Schindler // *Org. Biomol. Chem.* – 2010. – Vol 8. – № 5. – P. 947-959.
- [52] Van't Hoff, J.H. Die Lagerung der Atome im Raume / J.H. Van't Hoff. – Braunschweig, 1908. – 53 p.
- [53] Fletcher, S.P. An astrophysically-relevant mechanism for amino acid enantiomer enrichment / S.P. Fletcher, R.B.C. Jagt, B.L. Feringa // *Chem. Commun.* – 2007. – № 25. – P. 2578–2580.
- [54] Hazen, R.M. Chiral selection on inorganic crystalline surfaces / R.M. Hazen, D.S. Sholl // *Nature Materials.* – 2003. – Vol. 2. – № 6. – P. 367-374.
- [55] Kojo, S. Enantioselective crystallization of D,L-amino acids induced by spontaneous asymmetric resolution of D,L-asparagine / S. Kojo and K. Tanaka // *Chem. Commun.* – 2001. – № 19. – P. 1980-1981.
- [56] Kojo, S. Racemic D,L-asparagine causes enantiomeric excess of other coexisting racemic D,L-amino acids during recrystallization: a hypothesis accounting for the origin of L-amino acids in the biosphere / S. Kojo, H. Uchino, M. Yoshimura and K. Tanaka // *Chem. Commun.* – 2004. – № 19. – P. 2146-2147.
- [57] Kojo, S. Origin of Homochirality of Amino Acids in the Biosphere / S. Kojo // *Symmetry.* – 2010. – Vol. 2. – № 2. – P. 1022-1032.
- [58] Charles, R. Self-amplification of optical activity by chromatography on an achiral adsorbent / R. Charles, E. Gil-Av // *Journal of Chromatography A.* – 1984. – Vol. 298. – № 3. – P. 516-520.
- [59] Dobashi, A. Self-induced chiral recognition in the association of enantiomeric mixtures on silica gel chromatography / A. Dobashi, Y. Motoyama, K. Kinoshita, S. Hara, N. Fukasaku // *Anal. Chem.* – 1987. – Vol. 59. – № 17. – P. 2209-2211.

- [60] Nakamura, T. Self-disproportionation of enantiomers of non-racemic chiral amine derivatives through achiral chromatography / T. Nakamura, K. Tateishi, S. Tsukagoshi, S. Hashimoto, S. Watanabe, V.A. Soloshonok, J.L. Aceña, O. Kitagawa // *Tetrahedron*. – 2012. – Vol. 68. – № 21. – P. 4013-4017.
- [61] Matusch, R. Chromatographic separation of the excess enantiomer under achiral conditions / R. Matusch, C. Coors // *Angew. Chem. Int. Ed.* – 1989. – Vol. 28. – № 5. – P. 626-627.
- [62] Klussmann, M. Thermodynamic control of asymmetric amplification in amino acid catalysis / M. Klussmann, H. Iwamura, S.P. Mathew, D.H. Wells Jr, U. Pandya, A. Armstrong & D.G. Blackmond // *Nature*. – 2006. – Vol. 441. – № 7093. – P. 621-623.
- [63] Klussmann, M. Rationalization and Prediction of Solution Enantiomeric Excess in Ternary Phase Systems / M. Klussmann, A.J.P. White, A. Armstrong, and D.G. Blackmond // *Angew. Chem. Int. Ed.* – 2006. – Vol. 45. – № 47. – P. 7985-7989.
- [64] Klussmann, M. Emergence of Solution-Phase Homochirality via Crystal Engineering of Amino Acids / M. Klussmann, T. Izumi, A.J.P. White, A. Armstrong, and D.G. Blackmond // *J. Am. Chem. Soc.* – 2007. – Vol. 129. – № 24. – P. 7657-7660.
- [65] Breslow, R. Amplification of enantiomeric concentrations under credible prebiotic conditions / R. Breslow and M.S. Levine // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. – 2006. – Vol. 103. – № 35. – P. 12979-12980.
- [66] Bellec, A. Étude de la sublimation partielle de mélanges énantiomériquement enrichis: thèse doctorat, chimie / Aurélien Bellec. – Rennes, 2009. – 144 c.
- [67] Leeman, M. Attrition-enhanced total resolution leads to homochiral families of amino acid derivatives / M. Leeman, J.M. de Gooier, K. Boer, K. Zwaagstra, B. Kaptein, R.M. Kellogg // *Tetrahedron: Asymmetry*. – 2010. – Vol. 21. – № 9-10. – P. 1191-1193.
- [68] Schmitt-Kopplin, P. High molecular diversity of extraterrestrial organic matter in Murchison meteorite revealed 40 years after its fall / P. Schmitt-Kopplin, Z. Gabelic, R.D. Gougeon, A. Fekete, B. Kanawati, M. Harir, I. Gebefuegi, G. Eckel and N. Hertkorn // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. – 2010. – Vol. 107. – № 7. – P. 2763-2768.
- [69] Matson, J. Meteorite That Fell in 1969 Still Revealing Secrets of the Early Solar System / J. Matson // *Scientific American*. – 2010. – February 15.
- [70] Taylor, G.J. Interstellar Organic Matter in Meteorites [Электронный ресурс] / G.J. Taylor // *Planetary Science Research Discoveries*. – May, 2006. Режим доступа: <http://www.psrhawaii.edu/May06/meteoriteOrganics.html>.
- [71] Taylor, G.J. Wet, Carbonaceous Asteroids: Altering Minerals, Changing Amino Acids [Электронный ресурс] / G.J. Taylor // *Planetary Science Research Discoveries*. – April, 2011. Режим доступа: [http://www.psrhawaii.edu/April11/amino\\_acids.html](http://www.psrhawaii.edu/April11/amino_acids.html).
- [72] Cronin, J.R. Enantiomeric excesses in meteoritic amino acids / Cronin, J.R., Pizzarello, S. // *Science*. – 1997. – Vol. 275. – № 5302. – P. 951-955.
- [73] Ehrenfreund P. Extraterrestrial amino acids in Orgueil and Ivuna: Tracing the parent body of CI type carbonaceous chondrites / P. Ehrenfreund, D.P. Glavin, O. Botta, G. Cooper, and J.L. Bada // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. – 2001. – Vol. 98. – № 5. – P. 2138-2141.
- [74] Pizzarello, S. Non-racemic amino acids in the Murray and Murchison meteorites / S. Pizzarello, J.R. Cronin // *Geochimica et Cosmochimica Acta*. – 2000. – Vol. 64. – № 2. – P. 329-338.
- [75] Pizzarello, S. Molecular asymmetry in extraterrestrial chemistry: insights from a pristine meteorite / S. Pizzarello, Y. Huang, M.R. Alexandre // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. – 2008. – Vol. 105. – № 10. – P. 3700-3704.
- [76] Pizzarello, S. The Organic Composition of Carbonaceous Meteorites: The Evolutionary Story Ahead of Biochemistry / S. Pizzarello and E. Shock // *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*. – 2010. – Vol. 2. – № 3. – a002105.
- [77] Pizzarello, S. Molecular asymmetry in extraterrestrial organic chemistry: An analytical

- perspective / S. Pizzarello, T.L. Groy // *Geochimica et Cosmochimica Acta*. – 2011. – Vol. 75. – № 2. – P. 645-656.
- [78] Burton, A.S. Extraterrestrial amino acids identified in metal-rich CH and CB carbonaceous Chondrites from Antarctica / A.S. Burton, J.E. Elsila, J.E. Hein, D.P. Glavin, and J.P. Dworkin // *Meteoritics & Planetary Science*. – 2013. – Vol. 48. – № 3. – P. 390-402.
- [79] Aponte, J.C. Chirality of meteoritic free and IOM-derived monocarboxylic acids and implications for prebiotic organic synthesis / J.C. Aponte, R. Tarozo, M.R. Alexandre, C.M.O'D. Alexander, S.B. Charnley, C. Hallmann, R.E. Summons, Y. Huang // *Geochimica et Cosmochimica Acta*. – 2014. – Vol. 131. – P. 1-12.
- [80] Glavin, D. P. Enrichment of the amino acid L-isovaline by aqueous alteration on CI and CM meteorite parent bodies / D.P. Glavin, J.P. Dworkin // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. – 2009. – Vol. 106. – № 14. – P. 5487-5492.
- [81] Pizzarello, S. Nonracemic isovaline in the Murchison meteorite: chiral distribution and mineral association / S. Pizzarello, M. Zolensky, K.A. Turk // *Geochimica et Cosmochimica Acta*. – 2003. – Vol. 67. – № 8. – P. 1589-1595.
- [82] Levine, V. Enantioselective Synthesis and Enantiomeric Amplification of Amino Acids under Prebiotic Conditions / M. Levine, C.S. Kenesky, D. Mazori, and R. Breslow // *Organic Letters*. – 2008. – Vol. 10. – № 12. – P. 2433-2436.
- [83] Viedma, C. Asymmetric amplification in amino acid sublimation involving racemic compound to conglomerate conversion / C. Viedma, W.L. Noorduin, J.E. Ortiz, T. de Torres and P. Cintas // *Chemical Communications*. – 2011. – Vol. 47. – № 2. – P. 671-673.
- [84] Viedma, C. Enantioenrichment in sublimed amino acid mixtures / C. Viedma, J.E. Ortiz, T. de Torres and P. Cintas // *Chemical Communications*. – 2012. – Vol 48.– № 30. – P. 3623-3625.
- [85] Amabilino, D. B. Spontaneous Deracemization / D. B. Amabilino and R. M. Kellogg // *Isr. J. Chem.* – 2011. – Vol 51. – № 10. – P. 1034-1040.
- [86] Levilain, G. Pitfalls and rewards of preferential crystallization / G. Levilain and G. Coquerel // *CrystEngComm*. – 2010. – Vol. 12. – № 7. – P. 1983-1992.
- [87] Flack, H.D. Chiral and Achiral Crystal Structures / H.D. Flack // *Helv. Chim. Acta*. – 2003. – Vol. 86. – № 4. – P. 905-921.
- [88] Dryzun, C. On the abundance of chiral crystals / C. Dryzun and D. Avnir // *Chem. Commun.* – 2012. – Vol 48. – № 47. – P. 5874-5876.
- [89] Matsuura, T. Introduction to chiral crystallization of achiral organic compounds. Spontaneous generation of chirality / T. Matsuura & H. Koshima // *Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews*. – 2005. – Vol. 6. – № 1. – P. 7-24.
- [90] Kaptein, B. Attrition-Enhanced Deracemization of an Amino Acid Derivative That Forms an Epitaxial Racemic Conglomerate / B. Kaptein, W.L. Noorduin, H. Meeke, W.J.P. van Enkevort, R.M. Kellogg and E. Vlieg // *Angew. Chem. Int. Ed.* – 2008. – Vol. 47. – № 38. – P. 7226-7229.
- [91] Hein, J.E. Pasteur's Tweezers Revisited: On the Mechanism of Attrition-Enhanced Deracemization and Resolution of Chiral Conglomerate Solids / J.E. Hein, B.H. Cao, C. Viedma, R.M. Kellogg and D.G. Blackmond // *J. Am. Chem. Soc.* – 2012. – Vol. 134. – № 30. – P. 12629-12636.
- [92] Kondepudi, D.K. Chiral symmetry breaking in sodium chlorate crystallization / D.K. Kondepudi, R.J. Kaufman and N. Singh // *Science*. – 1990. – Vol. 250. – № 4983. – P. 975-976.
- [93] Kondepudi, D.K. Kinetics of chiral symmetry breaking in crystallization / D.K. Kondepudi, K.L. Bullock, J.A. Digits, J.K. Hall and J.M. Miller // *J. Am. Chem. Soc.* – 1993. – Vol. 115. – № 22. – P. 10211-10216.
- [94] Kondepudi, D.K. Secondary nucleation that leads to chiral symmetry breaking in stirred crystallization / D.K. Kondepudi and C. Sabanayagam // *Chem. Phys. Lett.* – 1994. – Vol. 217 – № 4. – P. 364-368.
- [95] Kondepudi, D.K. Stirring Rate as a Critical Parameter in Chiral Symmetry Breaking Crystallization / D.K. Kondepudi, K.L. Bullock, J.A. Digits and P.D. Yarborough // *J. Am. Chem. Soc.*

- 1995. – Vol. 117. – № 1. – P. 401-404.
- [96] Kondepudi, D.K. Studies in chiral symmetry breaking crystallization. I: The effects of stirring and evaporation rates / D.K. Kondepudi, J. Digits and K. Bullock // *Chirality*. – 1995. – Vol. 7. – № 2. – P. 62-68.
- [97] Cartwright, J.H.E. Chiral Symmetry Breaking during Crystallization: An Advection-Mediated Nonlinear Autocatalytic Process / J.H.E. Cartwright, J.M. García-Ruiz, O. Piro, C.I. Sainz-Díaz and I. Tuval // *Phys. Rev. Lett.* – 2004. – Vol. 93. – № 3. – 035502.
- [98] Viedma, C. Experimental evidence of chiral symmetry breaking in crystallization from primary nucleation / C. Viedma // *J. Cryst. Growth*. – 2004. – Vol. 261. – № 1. – P. 118-121.
- [99] Viedma, C. Chiral Symmetry Breaking During Crystallization: Complete Chiral Purity Induced by Nonlinear Autocatalysis and Recycling / C. Viedma // *Phys. Rev. Lett.* – 2005. – Vol. 94. – № 6. – 065504.
- [100] Durand, D.J. Generation of molecular chiral asymmetry through stirred crystallization / D.J. Durand, D.K. Kondepudi, P.F. Moreira Jr. and F.H. Quina // *Chirality*. – 2002. – Vol. 14. – № 4. – P. 284-287.
- [101] McLaughlin, D.T. Viedma Ripening of Conglomerate Crystals of Achiral Molecules Monitored Using Solid-State Circular Dichroism / D.T. McLaughlin, T.P.T. Nguyen, L. Mengnjo, C. Bian, Y.H. Leung, E. Goodfellow, P. Ramrup, S. Woo and L.A. Cuccia // *Cryst. Growth Des.* – 2014. – Vol. 14. – № 3. – P. 1067-1076.
- [102] Vlieg, E. Viedma ripening: a reliable crystallisation method to reach single chirality / L.-C. Sögütoglu, R. R. E. Steendam, H. Meeke, E. Vlieg and F. P. J. T. Rutjes // *Chem. Soc. Rev.* – 2015. – Vol. 44. – № 19. – P. 6723-6732.
- [103] Аветисов, В.А. Физические аспекты нарушения зеркальной симметрии биоорганического мира / В.А. Аветисов, В.И. Гольданский // *Успехи Физических Наук*. – 1996. – Том 166. – № 8. – С. 873-891.
- [104] Siegel, J.S. Homochiral Imperative of Molecular Evolution / J.S. Siegel // *Chirality*. – 1998. – Vol 10. – № 1-2. – P. 24-27.
- [105] Iggländ, M. A. Population Balance Model for Chiral Resolution via Viedma Ripening / M. Iggländ and M. Mazzotti // *Cryst. Growth Des.* – 2011. – Vol. 11. – № 10. – P. 4611-4622.
- [106] Penzien, K. Reactions in Chiral Crystals: An Absolute Asymmetric Synthesis / K. Penzien and G. M. J. Schmidt // *Angew. Chem. Intern. Ed.* – 1969. – Vol. 8. – № 8. – P. 608-609.
- [107] Sekine, A. X-ray structural studies of chiral .beta.-lactam formation from an achiral oxo amide using the chiral crystal environment / A. Sekine, K. Hori, Y. Ohashi, M. Yagi, F. Toda // *J. Am. Chem. Soc.* – 1989. – Vol. 111. – № 2. – P. 697-699.
- [108] Sakamoto, M. Absolute Asymmetric Synthesis from Achiral Molecules in the Chiral Crystalline Environment / M. Sakamoto // *Chem. Eur. J.* – 1997. – Vol. 3. – № 5. – P. 684-689.
- [109] Vestergren, M. Absolute Asymmetric Synthesis of "Chiral-at-Metal" Grignard Reagents and Transfer of the Chirality to Carbon / M. Vestergren, J. Eriksson, and M. Håkansson // *Chem. Eur. J.* – 2003. – Vol. 9. – № 19. – P. 4678-4686.
- [110] Feringa, B.L. Absolute Asymmetric Synthesis: The Origin, Control, and Amplification of Chirality / B.L. Feringa and R.A. van Delden // *Angew. Chem. Int. Ed.* – 1999. – Vol. 38. – № 23. – P. 3418-3438.
- [111] Lennartson, A. A Different Approach to Enantioselective Organic Synthesis: Absolute Asymmetric Synthesis of Organometallic Reagents / A. Lennartson, S. Olsson, J. Sundberg, and M. Håkansson // *Angew. Chem. Int. Ed.* – 2009. – Vol. 48. – № 17. – P. 3137-3140.
- [112] Gawande, M.B. Nano-magnetite (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) as a support for recyclable catalysts in the development of sustainable methodologies / M.B. Gawande, P.S. Brancoa and R.S. Varma // *Chem. Soc. Rev.* – 2013. – Vol. 42. – № 8. – P. 3371-3393.
- [113] Guillemin, J.-C. A simple explanation of the enhancement or depletion of the enantiomeric excess in the partial sublimation of enantiomerically enriched amino acids / A. Bellec and J.-C.

- Guillemin // Chem. Commun. – 2010. – Vol. 46. – № 9. – P. 1482-1484.
- [114] Ishikawa, K. Absolute chirality of the  $\gamma$ -polymorph of glycine: correlation of the absolute structure with the optical rotation / K. Ishikawa, M. Tanaka, T. Suzuki, A. Sekine, T. Kawasaki, K. Soai, M. Shiro, M. Lahav and T. Asahi / Chem. Commun. – 2012. – № 48. – P. 6031-6033.
- [115] Guillemin, J.-C. Attempts to explain the self-disproportionation observed in the partial sublimation of enantiomerically enriched carboxylic acids / A. Bellec and J.-C. Guillemin // J. Fluor. Chem. – 2010. – Vol. 131. – № 4. – P. 545-548.
- [116] Yasumoto, M. Self-disproportionation of enantiomers of isopropyl 3,3,3-(trifluoro)lactate via sublimation: Sublimation rates vs. enantiomeric composition / M. Yasumoto, H. Ueki, T. Ono, T. Katagiri, V.A. Soloshonok // J. Fluor. Chem. – 2010. – Vol. 131. – № 4. – P. 535-539.
- [117] Chickos, J.S. Chickos, J.S. An Experimental Test of the Double Solubility Rule / J.S. Chickos & D.G. Hesse // Struct. Chem. – 1991. – Vol. 2. – № 1. – P. 33-40.
- [118] Addadi, L. Useful Impurities for Optical Resolutions. 3. An Improved Pasteur-Type Resolution of Conglomerates and a New Empirical Method for Assignment of Absolute Configuration / L. Addadi, E. Gati, and M. Lahav // J. Am. Chem. Soc. – 1981. – Vol. 103. – № 5. – P. 1251-1252.
- [119] Addadi, L. Useful Impurities for Optical Resolutions. 2. Generality and Mechanism of the Rule of Reversal / L. Addadi, J. van Mil, and M. Lahav // J. Am. Chem. Soc. – 1981. – Vol. 103. – № 5. – P. 1249-1251.
- [120] Addadi, L. Resolution of Conglomerates with the Assistance of Tailor-made Impurities. Generality and Mechanistic Aspects of the “Rule of Reversal”. A New Method for Assignment of Absolute Configuration / L. Addadi, S. Weinstein, E. Gati, I. Weissbuch, and M. Lahav // J. Am. Chem. Soc. – 1982. – Vol. 104. – № 17. – P. 4610-4617.
- [121] Addadi, L. Growth and Dissolution of Organic Crystals with “Tailor-Made” Inhibitors – Implications in Stereochemistry and Materials Science / L. Addadi, Z. Berkovitch-Yellin, I. Weissbuch, J. van Mil, L. J. W. Shimon, M. Lahav, and L. Leiserowitz // Angew. Chem. Int. Ed. – 1985. – Vol. 24. – № 6. – P. 466-485.
- [122] Takats, Z. Serine Octamer Reactions: Indicators of Prebiotic Relevance / Z. Takats, S.C. Nanita, and R.G. Cooks // Angew. Chem. Int. Ed. – 2003. – Vol. 42. – № 30. – P. 3521-3523.
- [123] Nanita, S.C. Serine Octamers: Cluster Formation, Reactions, and Implications for Biomolecule Homochirality / S.C. Nanita and R.G. Cooks // Angew. Chem. Int. Ed. – 2006. – Vol. 45. – № 4. – P. 554-569.
- [124] Dos Santos, M. Barbier Conditions for Reformatsky and Alkylation Reactions on Trifluoromethyl Aldimines / M. Dos Santos, B. Crousse, D. Bonnet-Delpon // Synlett. – 2008. – № 3. – P. 0399-0401.
- [125] Mimura, H. Trifluoroacetaldehyde: A useful industrial bulk material for the synthesis of trifluoromethylated amino compounds / H. Mimura, K. Kawada, T. Yamashita, T. Sakamoto, Y. Kikugawa // J. Fluor. Chem. – 2010. – Vol. 131. – № 4. – P. 477-486.
- [126] Ishida, Y. A practical method to access enantiopure  $\beta$ -perfluoroalkyl- $\beta$ -amino acids: diastereoselective reduction of cyclic enamino-esters / Y. Ishida, N. Iwahashi, N. Nishizono, K. Saigo // Tetr. Lett. – 2009. – Vol. 50. – № 17. – P. 1889-1892.
- [127] Legros, J. Stereoselective Barbier-Type Allylation Reaction of Trifluoromethyl Aldimines / J. Legros, F. Meyer, M. Coliboeuf, B. Crousse, D. Bonnet-Delpon and J.-P. Bégué // J. Org. Chem. – 2003. – Vol. 68. – № 16. – P. 6444-6446.
- [128] Huguenot, F. Convenient Asymmetric Synthesis of  $\beta$ -Trifluoromethyl- $\beta$ -amino Acid,  $\beta$ -Amino Ketones, and  $\gamma$ -Amino Alcohols via Reformatsky and Mannich-Type Reactions from 2-Trifluoromethyl-1,3-oxazolidines / F. Huguenot and T. Brigaud // J. Org. Chem. – 2006. – Vol. 71. – № 5. – P. 2159-2162.
- [129] Soloshonok, V.A. Biomimetic Transamination of  $\alpha$ -Keto Perfluorocarboxylic Esters. Efficient Preparative Synthesis of  $\beta,\beta,\beta$ -Trifluoroalanine / V.A. Soloshonok, V.P. Kukhar // Tetrahedron. – 1997. – Vol. 53. – № 25. – P. 8307-8314.

- [130] Lebouvier, N. Lewis acid activation of chiral 2-trifluoromethyl-1,3-oxazolidines. Application to the stereoselective synthesis of trifluoromethylated amines,  $\alpha$ - and  $\beta$ -amino acids / N. Lebouvier, C. Laroche, F. Huguenot and T. Brigaud // *Tetrahedron Letters*. – 2002. – Vol. 43. – № 15. – P. 2827-2830.
- [131] Crucianelli, M. Facile and Stereoselective Synthesis of Non-Racemic 3,3,3-Trifluoroalanine / M. Crucianelli, N. Battista, P. Bravo, A. Volonterio and M. Zanda // *Molecules*. – 2000. – Vol. 5. – № 12. – P. 1251-1258.
- [132] Tonner, R. Theoretical investigations into the enantiomeric and racemic forms of  $\alpha$ -(trifluoromethyl)lactic acid / R. Tonner, V.A. Soloshonok and P. Schwerdtfeger // *Phys. Chem. Chem. Phys.* – 2011. – Vol. 13. – № 3. – P. 811-817.
- [133] Tsuzuki, S. First principle lattice energy calculations for enantiopure and racemic crystals of  $\alpha$ -(trifluoromethyl)lactic acid: Is self-disproportionation of enantiomers controlled by thermodynamic stability of crystals? / S. Tsuzuki, H. Orita, H. Ueki, V.A. Soloshonok // *Journal of Fluorine Chemistry* – 2010. – Vol. 131. – № 4. – P. 461-466.
- [134] Yasumoto, M. Self-disproportionation of enantiomers of 3,3,3-trifluorolactic acid amides via sublimation / M. Yasumoto, H. Ueki, V.A. Soloshonok // *Journal of Fluorine Chemistry*. – 2010. – Vol. 131. – № 2. – P. 266-269.
- [135] Wallach, O. Zur Kenntniss der Terpene und der ätherischen Oele. Ueber gebromte Derivate der Carvonreihe / O. Wallach // *Justus Liebigs Annalen der Chemie*. – 1895. – Vol. 286. – № 1. – P. 119-143.
- [136] Glavin, D.P. Unusual nonterrestrial L-proteinogenic amino acid excesses in the Tagish Lake meteorite / D.P. Glavin, J.E. Elsila, A.S. Burton, M.P. Callahan, J.P. Dworkin, R.W. Hilt, A.D.K. Herd // *Meteoritics & Planetary Science*. – 2012. – Vol. 47. – № 8. – P. 1347-1364.
- [137] Viedma, C. Enantiomeric crystallization from DL-aspartic and DL-glutamic acids: implications for biomolecular chirality in the origin of life / C. Viedma // *Origins of Life and Evolution of the Biosphere*. – 2001. – Vol. 31. – № 6. – P. 501-509.
- [138] Kawasaki, T. A reversal phenomenon of enantioface selectivity by the cooperative operation of two chiral catalysts / T. Kawasaki, Y. Wakushima, M. Asahina, K. Shiozawa, T. Kinoshita, F. Lutz and K. Soai // *Chem. Commun.* – 2011. – Vol. 47. – № 18. – P. 5277-5279.
- [139] Messerer, M. Reversing the Enantioselectivity of a Peptidic Chatalyst by Changing the Solvent / M. Messerer, H. Wennemers // *Synlett*. – 2011. – № 4. – P. 499-502.
- [140] Weissbuch, I. Spontaneous generation and amplification of optical activity in  $\alpha$ -amino acids by enantioselective occlusion into centrosymmetric crystals of glycine / I. Weissbuch, L. Addadi, Z. Berkovitch-Yellin, E. Gati, M. Lahav and L. Leiserowitz // *Nature*. – 1984. – Vol. 310. – P. 161-164.
- [141] Welch, C.J. Formation of Highly Enantioenriched Microenvironments by Stochastic Sorting of Conglomerate Crystals: A Plausible Mechanism for Generation of Enantioenrichment on the Prebiotic Earth / C.J. Welch // *Chirality*. – 2001. – Vol. 13. – № 8. – P. 425-427.
- [142] Guijarro, A. The Origin of Chirality in the Molecules of Life. A Revision from Awareness to the Current Theories and Perspectives of this Unsolved Problem / A. Guijarro and M. Yus. – Cambridge, UK: The Royal Society of Chemistry, 2009. – 150 p.
- [143] Li, J. Decomposing or subliming? An investigation of thermal behavior of L-leucine / J. Li, Z. Wang, X. Yang, L. Hu, Y. Liu, C. Wang // *Thermochimica Acta*. – 2006. – Vol. 447. – № 2. – P. 147-153.
- [144] Li, J. The investigation of thermal decomposition pathways of phenylalanine and tyrosine by TG-FTIR / J. Li, Y. Liu, J. Shi, Z. Wang, L. Hu, X. Yang, C. Wang // *Thermochimica Acta*. – 2008. – Vol. 467. – № 1-2. – P. 20-29.
- [145] Yablokov, V. Ya. Studies of the Rates of Thermal Decomposition of Glycine, Alanine, and Serine / V. Ya. Yablokov, I. L. Smel'tsova, I. A. Zelyaev, and S. V. Mitrofanova // *Russian Journal of General Chemistry*. – 2009. – Vol. 79. – № 8. – P. 1704-1706.
- [146] Yablokov, V. A. Thermal Stability of Amino Acids / V. A. Yablokov, I. L. Smel'tsova, and V. I.

- Faerman // *Russian Journal of General Chemistry*. – 2013. – Vol. 83. – № 3. – P. 476-480.
- [147] Williams, K.M. A critical evaluation of the application of amino acid racemization to geochronology and geothermometry / K.M. Williams and G.G. Smith // *Origins of Life*. – 1977. – Vol. 8. – № 2. – P. 91-144.
- [148] Bonner, W.A. Radiolysis, Racemization, and the Origin of Optical Activity / W.A. Bonner and R.M. Lemmon // *Bioorganic chemistry*. – 1978. – Vol. 7. – № 2. – P. 175-187.
- [149] Bada, J.L. Racemization of Amino Acids in Nature / J.L. Bada // *Interdisciplinary Science Reviews*. – 1982 – Vol. 7. – № 1. – P. 30-46.
- [150] Smith, G.G. Mechanism of the Racemization of Amino Acids. Kinetics of Racemization of Arylglycines / G.G. Smith and T. Sivakua // *J. Org. Chem.* – 1983. – Vol. 48. – № 5. – P. 627-634.
- [151] Snoek, L.C. Conformational landscapes of aromatic amino acids in the gas phase: Infrared and ultraviolet ion dip spectroscopy of tryptophan / L.C. Snoek, R.T. Kroemer, M.R. Hockridge and J. P. Simons // *Phys. Chem. Chem. Phys.* – 2001. – Vol. 3. – № 10. – P. 1819-1826.
- [152] Alonso, J.L. Seven conformers of L-threonine in the gas phase: a LA-MB-FTMW study / J.L. Alonso, C. Pérez, M.E. Sanz, J.C. López and S. Blanco // *Phys. Chem. Chem. Phys.* – 2009. – Vol. 11. – № 4. – P. 617-627.
- [153] Sanz, M.E. Six conformers of neutral aspartic acid identified in the gas phase / M.E. Sanz, J.C. López and J.L. Alonso // *Phys. Chem. Chem. Phys.* – 2010. – Vol. 12. – № 14. – P. 3573-3578.
- [154] Kayi, H. A theoretical investigation of the low energy conformers of the isomers glycine and methylcarbamic acid and their role in the interstellar medium / H. Kayi, R.I. Kaiser and J.D. Head // *Phys. Chem. Chem. Phys.* – 2011. – Vol. 13. – № 35. – P. 15774-15784.
- [155] Bisker-Leib, V. Modeling Crystal Shape of Polar Organic Materials: Applications to Amino Acids / V. Bisker-Leib and M.F. Doherty // *Crystal Growth & Design*. – 2003. – Vol. 3. – № 2. – P. 221-237.
- [156] Brands, K.M.J. Crystallization-Induced Diastereomer Transformations / K.M.J. Brands and A.J. Davies // *Chem. Rev.* – 2006. – Vol. 106. – № 7. – P. 2711-2733.
- [157] Hušek, P. Rapid derivatization and gas chromatographic determination of amino acids / P. Hušek // *Journal of Chromatography. Chromsymp.* 2118. – 1991. – Vol. 552. – P. 289-299.
- [158] Hamon, D.P.G. Asymmetric Induction in Acyclic Radical Reactions: Enantioselective Syntheses of (S)-2-Deuterioglycine and (R)-2-Deuterioglycine / D.P.G. Hamon, R.A. Massy-Westropp and P. Razzino // *Tetrahedron*. – 1993. – Vol. 49. – № 29. – P. 6419-6428.
- [159] Hameršak, Z. Conformational study of  $\alpha$ -arylethylamides of (-)-camphanic acid / Z. Hameršak, A. Selestrin, A. Lesac and V. Šunjić // *Tetrahedron: Asymmetry*. – 1998. – Vol. 9. – № 11. – P. 1891-1897.
- [160] Mitulovi, G. Simple and efficient preparation of (R)- and (S)-enantiomers of  $\alpha$ -carbon deuterium-labelled  $\alpha$ -amino acids / G. Mitulovi, M. Lämmerhofer, N.M. Maier, W. Lindner // *Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals*. – 2000. – Vol. 43. – № 5. – P. 449-461.
- [161] Cavani, F. Oxidative dehydrogenation of ethane and propane: How far from commercial implementation? / F. Cavani, N. Ballarini, A. Cericola // *Catalysis Today*. – 2007. – Vol. 127. – № 1-4. – P. 113-131.
- [162] Wang, S. Catalytic Conversion of Alkanes to Olefins by Carbon Dioxide Oxidative Dehydrogenations - A Review / S. Wang and Z.H. Zhu // *Energy & Fuels*. – 2004. – Vol. 18. – № 4. – P. 1126-1139.
- [163] Kustov, L.M. Oxidative Dehydrogenation of C2–C4 Alkanes into Alkenes: Conventional Catalytic Systems and Microwave Catalysis / L.M. Kustov, A.V. Kucherov, and E.D. Finashina // *Russian Journal of Physical Chemistry A*. – 2013. – Vol. 87. – № 3. – P. 345-351.
- [164] Soai, K. The Origins of Homochirality Examined by Using Asymmetric Autocatalysis / K. Soai, T. Kawasaki, A. Matsumoto // *The Chemical Record*. – 2014. – Vol. 14. – № 1. – P. 70-83.
- [165] Hudson, R.L. Enigmatic Isovaline: Investigating the Stability, Racemization, and Formation of a Non-Biological Meteoritic Amino Acid / R.L. Hudson, A.S. Lewis, M.H. Moore, J.P. Dworkin, and

- M.P. Martin // *Bioastronomy 2007: Molecules, Microbes, and Extraterrestrial Life*. ASP Conference Series. – 2009. – Vol. 420. – P. 157-162.
- [166] Tarasevych, A.V. Attrition-induced spontaneous chiral amplification of the  $\gamma$  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.
- [167] Iitaka, Y. The crystal structure of  $\beta$ -glycine / Y. Iitaka // *Acta Crystallographica*. – 1960. – Vol. 13. – № 1. – P. 35-45.
- [168] Chongprasert, S. Characterization of Frozen Solutions of Glycine / S. Chongprasert, S.A. Knopp and S.L. Nail // *J. Pharm. Sci.* – 2001. – Vol. 90. – № 11. – P. 1720-1728.
- [169] Dawson, A. Effect of High Pressure on the Crystal Structures of Polymorphs of Glycine / A. Dawson, D.R. Allan, S.A. Belmonte, S.J. Clark, W.I.F. David, P.A. McGregor, S. Parsons, C.R. Pulham and L. Sawyer // *Cryst. Growth Des.* – 2005. – Vol. 5. – № 4. – P. 1415-1427.
- [170] Tumanov, N.A. Structure solution and refinement from powder or single-crystal diffraction data? Pros and cons: An example of the high-pressure  $\beta'$ -polymorph of glycine / N.A. Tumanov, E.V. Boldyreva and H. Ahsbahs // *Powder Diffr.* – 2008. – Vol. 23. – № 4. – P. 307-316.
- [171] Srinivasan, T.P. Growth and characterization of  $\alpha$  and  $\gamma$ -glycine single crystals / T. P. Srinivasan, R. Indirajith, R. Gopalakrishnan // *J. Cryst. Growth*. – 2011. – Vol. 318. – № 1. – P. 762-767.
- [172] Yogambal, C. Effect of cesium chloride addition on crystal growth, structural, thermal and optical properties of  $\gamma$ -glycine single crystal / C. Yogambal, R.E. Vizhi and D.R. Babu // *Cryst. Res. Technol.* – 2014. – Vol. 50. – № 1. – P. 22-27.
- [173] Srinivasan, K. Crystal growth of  $\alpha$  and  $\gamma$  glycine polymorphs and their polymorphic phase transformations / K. Srinivasan // *Journal of Crystal Growth*. – 2008. – Vol. 311. – № 1. – P. 156-162.
- [174] Pincock, R.E. Solid State Resolution of Racemic 1,1'-Binaphthyl / R.E. Pincock, K.R. Wilson // *J. Am. Chem. Soc.* – 1971. – Vol. 93. – № 5. – P. 1291-1292.
- [175] Pincock, R.E. Probability Distribution of Enantiomorphous Forms in Spontaneous Generation of Optically Active Substances / R.E. Pincock, R.R. Perkins, A.S. Ma, K.R. Wilson // *Science*. – 1971. – Vol. 174. – № 4013. – P. 1018-1020.
- [176] Avetisov, V.A. Non-equilibrium generation of optical activity in solid 1,1'-binaphthyl / V.A. Avetisov, V.I. Goldanskii, S.N. Grechukha, V.V. Kuz'min // *Chem. Phys. Lett.* – 1991. – Vol. 184. – № 5-6. – P. 526-530.
- [177] Viedma, C. Evolution of Solid Phase Homochirality for a Proteinogenic Amino Acid / C. Viedma, J. E. Ortiz, T. de Torres, T. Izumi and D. G. Blackmond // *J. Am. Chem. Soc.* – 2008. – Vol. 130. – № 46. – P. 15274-15275.
- [178] Kipping, F.S. Enantiomorphism / F.S. Kipping and W.J. Pope // *J. Chem. Soc. Trans.* – 1898. – Vol. 73. – P. 606-617.
- [179] Alexander, A.J. Crystallization of Sodium Chlorate with D-Glucose Co-Solute Is Not Enantioselective / A. J. Alexander // *Cryst. Growth Des.* – 2008. – Vol. 8. – № 8. – P. 2630-2632.
- [180] Viedma, C. Enantiomer-Specific Oriented Attachment: Formation of Macroscopic Homochiral Crystal Aggregates from a Racemic System / C. Viedma, J.M. McBride, B. Kahr and P. // *Ang. Chem. Int. Ed.* – 2013. – Vol. 52. – № 40. – P. 10545-10548.
- [181] Simpson Jnr, H. J. The crystal structure of L-alanine / H. J. Simpson Jnr and R. E. Marsh // *Acta Cryst.* – 1966. – Vol. 20. – № 4. – P. 550-555.