

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
НАУКИ ИНСТИТУТ ХИМИЧЕСКОЙ КИНЕТИКИ И ГОРЕНИЯ
ИМ. В. В. ВОЕВОДСКОГО
СИБИРСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

На правах рукописи

ХРАМЦОВА Екатерина Андреевна

**ФОТОИНДУЦИРОВАННЫЕ ПРОЦЕССЫ ПЕРЕНОСА ЗАРЯДА
В ХИРАЛЬНЫХ СВЯЗАННЫХ СИСТЕМАХ**

02.00.04 – физическая химия

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Научный руководитель
доктор химических наук, профессор
Лёшина Татьяна Викторовна

Новосибирск – 2016

Оглавление

Список сокращений.....	4
Словарь терминов.....	5
Введение.....	8
Глава 1. Литературный обзор: Реакционная способность и молекулярная динамика хиральных лекарств в живых организмах и модельных связанных системах.....	14
1.1. Различия в лечебных свойствах энантиомеров лекарств по данным медицинской и биохимической литературы.....	14
1.1.1. Понятие хиральности и классификация хиральных лекарств.....	14
1.1.2. Особенности связывания лекарств с биомолекулами.....	18
1.1.3. Особенности в фармакологии лекарственных препаратов, связанные с наличием хиральных центров	21
1.1.4. Примеры различий в фармакокинетике хиральных лекарств	26
1.1.5. Молекулярная динамика связывания напроксена с ферментом циклооксигеназой 2.....	29
1.1.6. Заключение к разделу 1.1.....	32
1.2. Использование модельных связанных систем для изучения реакционной способности и молекулярной динамики процессов с участием нестероидных противовоспалительных препаратов (напроксен и др.).....	32
1.3. Заключение к Главе 1 и постановка задачи.....	50
Глава 2. Экспериментальная часть.....	52
2.1. Материалы и реактивы.....	49
2.2. Методы исследования.....	52
2.2.1. Метод Химической Поляризации Ядер (ХПЯ) в квазистационарном и время-разрешенном вариантах, приготовление растворов.....	53
2.2.2. Оптические методы: спектрофотометрия, флуоресценция (стационарная и время-разрешенная), методика для точного измерения квантовых выходов экиплексов, приготовление растворов, математическое моделирование время-разрешенных экспериментов.....	56

Глава 3. Использование метода ХПЯ для изучения процессов с переносом заряда в	
диадах с напроксеном (NPX).....	62
3.1. Связанная система с коротким мостиком NPX-Пуг.....	62
3.2. Связанные системы с гибким NPX-АА-Пуг и жёстким NPX-СуАА-Пуг	
мостиками.....	67
Глава 4. Исследование люминесценции диад с напроксеном.....	69
4.1. Связанная система с коротким мостиком NPX-Пуг.....	69
4.2. Связанные системы с гибким NPX-АА-Пуг и жёстким NPX-СуАА-Пуг	
мостиками.....	78
Глава 5. Стереодифференциация в диадах, содержащих оптические изомеры	
напроксена.....	85
5.1. Результаты.....	85
5.2. Сравнение с литературными данными биохимических исследований.....	91
Основные результаты и выводы.....	93
Список литературы.....	94
Благодарности.....	103

Список сокращений

ADME – Absorption, Distribution, Metabolism, Excretion (абсорбция, распределение, метаболизм и выделение лекарства)

ADP P2Y₁₂ рецептор – рецептор активации тромбоцитов

СРФ – карпрофен

ФБР – флурбипрофен

H⁺/K⁺-АТФаза – водородно-калиевая аденозинтрифосфатаза

HMG CoA-редуктаза – 3-гидрокси-3-метилглутарил-кофермент А редуктаза

КР – кетопрофен

НАР – нафталин

NPX или **1** – напроксен

ОХТ – оксетан

Руг – N-метилпирролидин

(R,S)-/(S,S)-NPX-AA-Руг или **3a/ 3b** – диада с гибким мостиком

(R,S)-/(S,S)-NPX-CyAA-Руг или **4a/ 4b** – диада с жёстким мостиком

(R,S)-/(S,S)-NPX-Руг или **2a/ 2b** – диада с коротким мостиком

SAR – взаимосвязь структуры и активности лекарства «structure-activity relationship»

АПФ – ангиотензин-превращающий фермент

БЦ – бирадикал цвиттер-ион

ИРП – ион-радикальная пара

КПЗ – комплекс с переносом заряда

ЛВ – локальное возбуждённое состояние

НПВП – нестероидные противовоспалительные препараты

РЧ-импульс – радиочастотный импульс

СТВ – сверхтонкое взаимодействие

ТГК – тетрагидроканнабинол

ТЭА – триэтиламин

ХПЯ – химическая поляризация ядер

ЦОГ – циклооксигеназа

Словарь терминов

Аллостерический сайт – участок белковой молекулы фермента, к которому может присоединяться ксенобиотик; в результате этого изменяется пространственная конфигурация активного центра и активность фермента.

Биомишень – это макромолекула (обычно белок, реже липид), которая изменением своей конформации специфично реагирует на присоединение к ней комплементарной (аффинной) малой молекулы, что вызывает биологическую реакцию.

Биодоступность – в широком смысле, это количество лекарственного вещества, достигающее до места его действия в организме человека или животных (способность препарата усваиваться).

Бирадикал цвиттер-ион – молекула, которая, являясь в целом электронейтральной и диамагнитной, имеет разделенные молекулярным мостиком катион и анион радикал.

Диада (связанная система) – молекула, содержащая донорную и акцепторную группировки, связанные между собой ковалентным мостиком (триады – молекулы, которые содержат три активных (донор, акцептор) фрагмента).

Ион-радикальная пара – совокупность двух свободных ион-радикалов (частиц с неспаренным электроном и зарядом) в структурной ячейке, образуемой молекулами жидкости.

Комплекс с переносом заряда – комплекс, образованный двумя молекулами, между которыми существует электростатическое притяжение. Электростатическое взаимодействие - результат частичного переноса заряда; в результате которого акцептор электрона приобретает избыточный отрицательный заряд, а донор электрона получает положительный заряд.

Лазерный импульсный фотолиз – метод исследования быстрых фотоиндуцированных химических реакций. Основан на возбуждении молекул коротким световым импульсом и регистрации образующихся коротко живущих интермедиатов, как то: возбужденные состояния, включая триpletные, свободные радикалы и бирадикалы, состояния с частичным и полным переносом заряда, и короткоживущие продукты.

Липофильность (буквально — сродство к жирам) — свойство вещества, означающее его химическое сродство к нерастворимым в воде органическим веществам, является, по сути, синонимом гидрофобности.

Локальное возбужденное состояние – возбуждённое состояние молекулы, в котором в состоянии возбуждения находится только определенная ее часть (один хромофор).

Метаболизм лекарства (от греч. *metabole* – превращение) – это изменение химической структуры лекарственных средств, происходящее в тканях и жидких средах организма. Оно осуществляется путем биотрансформации и конъюгации.

Метаболит – промежуточный продукт обмена веществ в живых клетках.

Степень сродства лекарства с рецептором/ферментом – степень аффинности лекарства к этому рецептору/ферменту; является результатом более сильного/слабого межмолекулярного взаимодействия между рецептором/ферментом и его лигандом (лекарством).

Стереодифференциация – различия в реакционной способности оптических изомеров.

Стереоселективность – преимущественное образование в химической реакции одного стереоизомера над другим.

Фармакодинамика – раздел фармакологии, изучающий локализацию, механизм действия и фармакологические эффекты лекарственных средств, силу и длительность их действия.

Фармакокинетика – раздел фармакологии, изучающий кинетические закономерности химических и биологических процессов, происходящих с лекарственным *средством в живом* организме.

Фармакология – медико-биологическая наука о лекарственных веществах и их действии на организм.

Флуоресценция – излучательный переход возбужденного состояния с самого нижнего синглетного колебательного уровня S_1 в основное состояние S_0 .

Химическая поляризация ядер – неравновесная заселенность ядерных магнитных уровней, возникающая в термических или фотохимических радикальных реакциях и детектируемая по изменениям в спектрах ЯМР: усиленное поглощение или испускание.

Хиральная инверсия – обращение конфигурации хирального центра; если в субстрате имеется только один хиральный центр, то в ходе реакции соединение приобретает противоположную конфигурацию.

Эксимер – короткоживущая димерная молекула, сформированная из двух атомов/молекул, в которой по крайней мере один фрагмент находится в электронном возбуждённом состоянии.

Эксплекс – короткоживущая молекула, которая представляет собой возбужденный комплекс с частичным переносом заряда.

Эффект Оверхаузера – изменение заселенности спиновых состояний ядер за счет спин-решеточной релаксации, происходящей под воздействием скалярных электрон-ядерных взаимодействий. Насыщение в электронном резонансе приводит к усилению сигнала ЯМР.

Введение

Актуальность темы исследования. Объектом изучения в настоящей диссертации являются хиральные соединения (диастереомеры, включающие молекулу лекарства). Хиральность – это фундаментальное свойство молекул, которое имеет значение для самых разных областей знаний: от наук о Земле (происхождения жизни), химии и науки о материалах (асимметрический синтез, магнито-хиральные эффекты), до фармакологии и медицины.

Сегодня хиральные лекарства составляют больше половины от одобренных, включая самые продаваемые в мире препараты (например, аторвастатин, эзомепразол, клопидогрел, монтелукаст и др.). Между тем получение оптически чистых форм является сложной и дорогостоящей задачей. Лечебная активность энантиомеров, их фармакология и фармакодинамика (распределение в тканях организма, метаболизм и выведение) интенсивно исследуются специалистами соответствующих отраслей и являются предметами статей и монографий [1-7]. Различия во взаимодействиях энантиомеров с аминокислотными остатками, расположенными в активных сайтах ферментов и рецепторов, с которыми лекарства связываются в живых организмах, детектировались в многочисленных исследованиях [6-11]. Однако необходимо подчеркнуть, что физическая природа различий в лечебном воздействии оптических изомеров до сих пор не установлена. Если принять во внимание, что кроме перечисленных отличий в метаболизме, скорости распространения и выведения, существует еще процесс хиральной инверсии оптических изомеров (взаимопревращение за время пребывания препарата в организме) в живых системах, становится понятным, что установление механизмов процессов и/или взаимодействий, лежащих в основе этих отличий очень важно. С помощью этой информации можно будет направленно использовать различия между энантиомерами, а также пытаться снизить вероятность нежелательных превращений. Эта проблематика, в частности, вписывается в современную стратегию, направленную на улучшение свойств имеющихся лекарств, вместо дорогостоящих испытаний новых препаратов.

Степень разработанности темы. В литературе по медицинской химии существует теория, согласно которой роль хиральности при взаимодействии лекарства со своей биомишенью (рецептором или ферментом) объясняется принципом «ключ-

замок». Согласно этой теории, всё сводится к тому, успешно ли молекула лекарства ингибирует фермент, т.е. создает ли она достаточное число межмолекулярных связей: водородных, Ван-дер-Ваальсовых, донорно-акцепторных; или же нет. Между тем, имеются примеры, когда и ахиральное и хиральное соединения успешно создают комплексы с ферментами и рецепторами [12]. И тогда терапевтический эффект хиральности не удаётся объяснить в рамках существующих представлений, включающих в рассмотрение только стереохимию. В литературе имеется также значительное число примеров различий в реакционной способности энантиомеров в химических реакциях [13-15]. При этом все примеры влияния хиральных центров относятся к сложным многостадийным процессам.

Поэтому представляет интерес изучение влияния хиральности на элементарные процессы в модельных системах. При выборе модельных реакций принимается во внимание, что кроме связывания между ксенобиотиками и биомолекулами в живых системах чаще всего осуществляются именно окислительно-восстановительные взаимодействия, приводящие к частичному (комплекс с переносом заряда, **КПЗ**) и полному (ион – радикальная пара, **ИРП**) переносу заряда [16]. Существует гипотеза, согласно которой образование лиганд-рецепторных и фермент – субстратных комплексов может включать в себя состояния с переносом заряда между молекулами лекарств и аминокислотными остатками активных сайтов рецепторов и ферментов.

В этой связи кажется, что процесс переноса электрона может быть адекватной моделью для изучения различий в реакционной способности энантиомеров. Важно учитывать, что связывание хиральной молекулы лекарства с ферментом или рецептором на самом деле включает взаимодействие двух хиральных частиц. Вторая – это остаток хиральной аминокислоты в активном сайте. В этом случае имеются все физические предпосылки для влияния хиральности на реакционную способность.

Для исследований процессов с переносом электрона нередко используются фотоиндуцированные окислительно – восстановительные реакции лекарственных соединений, имитирующие их взаимодействия с аминокислотными остатками в активных сайтах рецепторов и ферментов, или с другими биомолекулами [17-21]. Выбор фотоиндуцированных процессов в качестве моделей обусловлен несколькими обстоятельствами:

- использование фотогенерации позволяет значительно (в разы) увеличить концентрацию парамагнитных частиц, а, следовательно, дает возможность применять более широкий набор методов для их изучения.
- при этом предполагается, что реакционная способность парамагнитных интермедиатов, полученных в результате фотогенерации, в первом приближении не будет зависеть от способа их получения.
- считается, что если активационный барьер в лиганд-рецепторном комплексе понижается за счет образования КПЗ, то в фотоиндуцированном процессе это будет происходить за счет увеличения окислительного потенциала молекулы лекарства в возбужденном состоянии.

Наибольшее число исследований диастереомеров диад, включающих молекулу лекарства, выполнены с использованием методик фотохимии, они представлены в литературном обзоре. В частности, в этих работах содержатся первые упоминания о стереодифференциации фотоиндуцированных процессов с участием нестероидных противовоспалительных препаратов (**НПВП**). Эти препараты демонстрируют одни из самых ярких различий в лечебном действии энантиомеров (S)- и (R)-напроксена (**NPX**).

Цели и задачи исследования. Целью исследования в настоящей диссертации является установление физических основ различия между реакционной способностью (S)- и (R)-изомеров напроксена (**NPX**) в модельных процессах. Исследуются состояния с фотоиндуцированным переносом заряда (частичным и полным) между (S)-**NPX** и его (R)-изомером и (S)-N-метилпирролидином ((S)-**Pyr**) в качестве донора электрона в связанных системах. Предполагается, что это – симуляция одной из стадий взаимодействия напроксена с ферментом циклооксигеназой-2 (**ЦОГ-2**) [6, 7]. Поскольку метод химической поляризации ядер (**ХПЯ**) дает уникальную информацию о строении парамагнитных интермедиатов, в настоящей диссертации использована комбинация методик фотохимии и спиновой химии.

Для достижения поставленной цели в диссертации решаются **следующие задачи**:

- с помощью анализа эффектов ХПЯ в высоких магнитных полях (включая время-разрешенные) доказывалось существование стадии внутримолекулярного переноса электрона при фотооблучении диастереомеров диад: (R)-/(S)-напроксена (**NPX**) и хирального донора (S)-**Pyr**, связанных различными мостиками.

- методами время-разрешенной флуоресценции исследуются состояния с частичным переносом заряда (эксиплексы) в диадах.
- с помощью варьирования мостиков в хиральных диадах и полярности среды изучается воздействие строения диады и окружения донора и акцептора на активность (R)- и (S)-NPX.
- различия в реакционной способности (R)- и (S)-NPX (стереодифференциация) устанавливаются на основании анализа кинетических кривых и квантовых выходов флуоресценции локальных возбужденных состояний NPX и эксиплексов.
- установление основных факторов, определяющих различия в активности (R)- и (S)-изомеров NPX в фотоиндуцированных процессах с переносом заряда будет сделано на основании корреляций между эффективностями ХПЯ и параметрами флуоресценции в средах различной полярности.

Научная новизна. Впервые доказано предполагавшееся ранее существование стадий с частичным и полным переносом заряда в фотоиндуцированном взаимодействии между (R)-/(S)-NPX и хиральным донором (S)-Pyr в диастереомерах трёх диад. Обнаружено различие в квантовых выходах флуоресценции локального возбужденного состояния NPX и эксиплекса исследованных диад. Продемонстрирована зависимость стереодифференциации от строения мостика диады и полярности среды. Впервые обнаружены различия в эффектах ХПЯ в диадах с участием изомеров (R)-/(S)-NPX. Впервые показано, что основным фактором, определяющим изменения в квантовых выходах флуоресценции эксиплексов оптических изомеров, являются процессы с переносом заряда.

Теоретическая и практическая значимость результатов. Теоретическая значимость полученных результатов связана определенным образом с фундаментальной проблемой установления природы появления хиральных изомеров в добиологический период эволюции. Различия в активности диастереомеров в элементарных процессах, в том числе, в таком универсальном процессе как перенос электрона, а также в их спиновых эффектах являются новыми фактами, которые возможно займут своё место в построении очередной теории о происхождении хиральности. Практическая значимость определяется потенциальной возможностью направленного изменения в свойствах лекарств, созданных на основе НПВП. В частности, сейчас обнаружено несколько новых направлений в лечебном действии этих препаратов (анальгетическое и

противоопухолевое), в которых лечебными свойствами обладает не только (S)-, но и (R)-изомер.

Методология и методы исследования. Выбор методов обусловлен необходимостью исследовать короткоживущие парамагнитные интермедиаты, возникающие при частичном и полном переносе заряда. Сочетание методик ХПЯ (включая время-разрешенный вариант) и время-разрешенной флуоресценции позволяет установить все короткоживущие интермедиаты, возникающие при фотоиндуцированном взаимодействии (R)-/(S)-NPX с донорами электронов: локальное возбужденное (ЛВ) состояние NPX, эксиплекс, бирадикал цвиттер-ион (БЦ).

Положения, выносимые на защиту. На защиту выносятся:

- детальная схема тушения возбуждения (R)- и (S)-NPX хиральным донором электрона (S)-N-метилпирролидином в средах различной полярности.
- различия (стереодифференциация) в величинах квантовых выходов флуоресценции локального возбужденного состояния NPX и эксиплекса, а также в константах скоростей отдельных стадий фотоиндуцированного взаимодействия (R)-/(S)-NPX и (S)-N-метилпирролидина в средах различной полярности.
- обнаруженные различия в эффектах ХПЯ диастереоизомеров, сформированных в акте обратного переноса электрона в диадах.

Личный вклад автора. Все экспериментальные данные по эффектам химической поляризации и люминесценции получены лично либо при непосредственном участии соискателя. Автор также лично участвовал в постановке задач, обсуждении результатов, формулировке выводов и написании публикаций по теме диссертационной работы.

Апробация результатов. Результаты, представленные в диссертационной работе, докладывались и обсуждались на следующих конференциях: Международной Студенческой Научной Конференции «Студент и Научно-технический прогресс» (Новосибирск, Россия, 2011, 2012 и 2013), Всероссийской Конференции «Современная химическая физика» (Туапсе, Россия, 2011 и 2012), VI всероссийской Конференции Молодых Ученых, Аспирантов и Студентов с Международным Участием «Менделеев 2012» (Санкт-Петербург, Россия, 2012), VIII International Voevodsky Conference (Новосибирск, Россия, 2012), School for young scientists «Magnetic Resonance and Magnetic Phenomena in Chemical and Biological Physics» (Новосибирск, Россия, 2012 и 2014), The 13th International Symposium on Spin and Magnetic Field Effects in Chemistry and

Related Phenomena (Бад Хофгаштайн, Австрия, 2013), 2nd Russian Conference on Medicinal Chemistry (Новосибирск, Россия, 2015), «Modern Development of Magnetic Resonance» (Казань, Россия, 2015).

Степень достоверности полученных результатов. Высокая достоверность полученных результатов обусловлена следующими обстоятельствами. Предложенная схема процессов установлена на основании сравнения результатов двух современных чувствительных методов: ХПЯ и время-разрешенной флуоресценции. Кроме того, правильность предложенной схемы согласуется с расчётами зависимостей эффектов ХПЯ от диэлектрической проницаемости среды, выполненным в рамках теории радикальных пар (проведены Д. Сосновским).

Соответствие специальности 02.00.04 - физическая химия (химические науки). Диссертационная работа соответствует п. 8 «Динамика элементарного акта при химических превращениях», п. 9 «Элементарные реакции с участием активных частиц» и п. 10 «Связь реакционной способности реагентов с их строением и условиями осуществления химической реакции» паспорта специальности 02.00.04 – физическая химия. Соответствие содержания диссертационной работы специальности 02.00.04 – физическая химия (химические науки), по которой она представляется к защите, подтверждается публикациями в соответствующих журналах и участием в конференциях по профилю выполнения исследования.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, пяти глав, выводов и списка литературы. Полный объем диссертации составляет 103 страницы с 68 рисунками и 6 таблицами. Список литературы содержит 100 наименований.

Глава 1. Литературный обзор

Реакционная способность и молекулярная динамика хиральных лекарств в живых организмах и модельных связанных системах

1.1. Различия в лечебных свойствах энантиомеров лекарств по данным медицинской и биохимической литературы

1.1.1. Понятие хиральности и классификация хиральных лекарств

В общем смысле хиральность является фундаментальным свойством объемных объектов. Слово «хиральный» пришло из греческого слова *cheir*, означающее руку или «направленность» в общем смысле, термин «хиральность» был введен в конце XIX в. Кельвином. Левая и правая руки являются зеркальными отображениями друг друга. В химию термин «хиральность» прочно вошёл лишь в 1970-х годах в результате теоретического изучения оптически активных веществ. Хиральная молекула это та, которая не совпадает со своим зеркальным отражением. Две возможные формы зеркальных отображений называются энантиомерами. В основном, в ахиральном окружении, энантиомеры хирального вещества демонстрируют одинаковые физические и химические свойства, но они вращают плоско поляризованный свет в противоположных направлениях и реагируют с разными скоростями с хиральным веществом или с ахиральным веществом в хиральной среде [22].

Одним из первых наблюдений различия между энантиомерами аспарагина было сделано Piutti в 1886 году [23]. Бесцветный кристалл аспарагина это амидная форма аспарагиновой кислоты, его находят в клеточном соке растений в двух изомерических формах (L)- и (D)-аспарагина. (L)-изомер – безвкусен, тогда как (D)-изомер имеет сладкий вкус.

Многие из соединений присутствующих в живых организмах являются хиральными: ДНК, ферменты, антитела и гормоны и.т.д. Энантиомеры хирального лекарства могут проявлять различные биологические и фармакологические свойства в хиральных живых системах. Фармакологические эффекты хиральных лекарств могут быть классифицированы следующим образом [24]:

- *Оба энантиомера реагируют с одинаковой биомшенью, но один изомер обладает большим сродством, чем другой.* Например, карведилол рис. 1. – препарат для

лечения гипертензии и хронической сердечной недостаточности, продаётся в виде рацемата. Это неселективный блокирующий агент для β - и α -адренорецепторов. Показано, что неселективная β -блокирующая активность принадлежит в основном (S)-карведилолу, а α -блокирующий эффект проявляют и (R)- и (S)-энантиомеры [25,26].

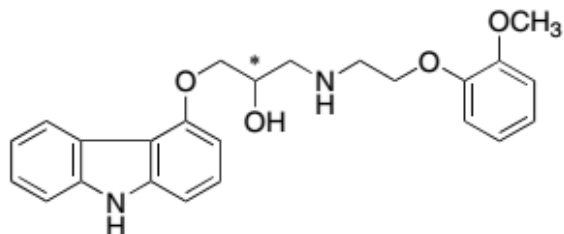


Рис. 1. Структура карведилола

- Оба энантиомера реагируют с одинаковой биомишенью, но обладают противоположной фармакологической активностью. Индивидуальные энантиомеры аналога 1,4-дигидропиридина – Ваук8644 рис. 2. проявляют противоположные эффекты относительно кальциевых каналов L-типа – (S)-энантиомер является активатором, а (R)-антагонистом [27].

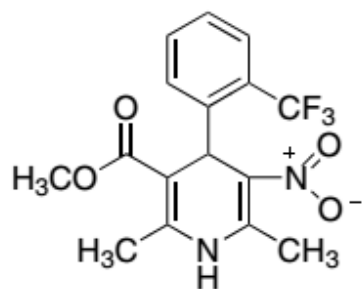


Рис. 2. Структура Ваук8644

- Оба энантиомера могут реагировать похожим образом, но они не обладают взаимно усиливающим эффектом. Два энантиомера Δ -3-тетрагидроканнабинола рис. 3 испытывались относительно их воздействия на психику. 1S энантиомер обладал определенными эффектами на психику, качественно похожими на эффекты Δ -1-тетрагидроканнабинола, но количественно менее сильными (1:3). Использование вместе двух энантиомеров не увеличивало эффект, подтверждая, что проявляемая активность принадлежала только одному из энантиомеров и что не наблюдается синергетического эффекта между двумя изомерами [28].

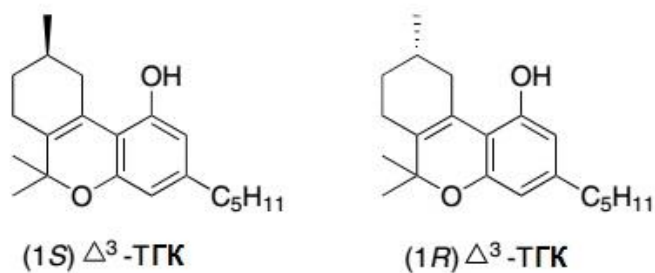


Рис. 3. Структура энантимеров Δ^3 -тетрагидроканнабинола (ТГК)

- *Оба оптических изомера обладают независимыми терапевтическими эффектами, взаимодействуя с разными биомишенями.* Классическим примером является поведение хинина и хинидина рис. 4. Хинин, который получается из коры хинного дерева, используется для лечения малярии в течение многих веков. Хинидин, с другой стороны, является антиаритмиком. [1].

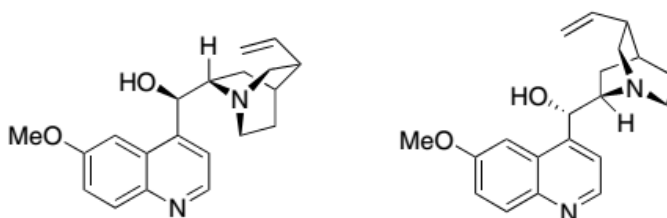


Рис. 4. Структура хинина (слева) и хинидина (справа)

- *Один или оба энантиомера не обладают желаемым эффектом, в то же время, только один энантиомер может повлечь за собой нежелательные побочные эффекты.* Рацемат дропропизина рис. 5. долго использовался в терапии в качестве противокашлевого агента. Недавние исследования обнаружили, что (S)-дропропизин и рацемическая смесь обладают одинаковой противокашлевой активностью, но (S)-изомер имеет значительно меньшую селективную активность относительно центральной нервной системы [29].

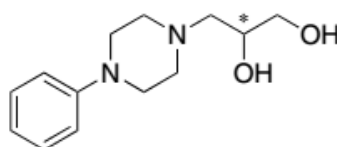


Рис. 5. Структура дропропизина

Таким образом, сегодня особенное внимание привлекают лекарства, в которых только один изомер проявляет побочные токсические эффекты.

- *Неактивный энантиомер может противодействовать побочным эффектам активного антипода.* В таких случаях, принимая во внимание и эффективность и безопасность, рацемат кажется более предпочтительным нежели любой энантиомер в отдельности. Для примера, сальбутамол рис. 6. – бронхорасширяющий препарат из группы селективных агонистов β_2 -адренорецепторов – это рацемическая форма 4-[2-(трет-бутиламино)-1-гидроксиэтил]-2-(гидроксиметил) фенола, он может увеличивать диаметр бронхов, не учащая пульс. За бронхорасширяющую активность отвечает (R)-сальбутамол. Однако, (S)-сальбутамол не инертен, поскольку он косвенно антагонизирует положительные эффекты (R)-сальбутамола и может давать воспалительные эффекты [1].

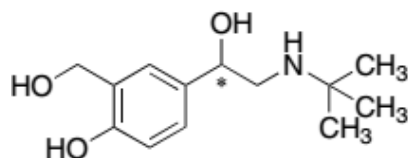


Рис. 6. Структура сальбутамола

Вдобавок к различиям в биологической активности, стереоизомеры могут отличаться своими фармакокинетическими свойствами: абсорбцией (биодоступность), распределением, метаболизмом (скоростью метаболизма, составом метаболитов), и скоростью и путями выведения из организма. Все это может приводить к хиральному разделению в фармакокинетических процессах [30].

Похожим образом, ферменты, которые метаболизируют молекулы лекарств, могут различать энантиомеры. Например, эзомепразол ((S)-изомер омепразола, рис. 7.) является ингибитором протонной помпы и обеспечивает лучший контроль кислотности по сравнению с существующими рацемическими ингибиторами. Он метаболизируется цитохромами CYP2C19 и CYP3A4 и сульфотрансферазами, тогда как (R)- только CYP2C19. Это приводит к более высоким концентрациям (R)-изомера в организме, и, как следствие, к побочным эффектам при продолжительном приеме (гиперплазия, карциномы) [31].

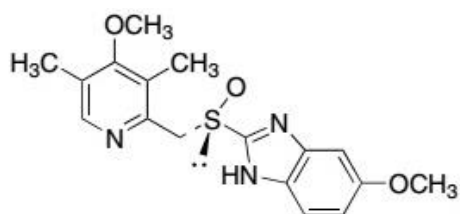


Рис. 7. Структура эзомепразола

- **Особенности связывания лекарств с биомолекулами**

На самом деле, некоторые биомишени требуют определенной хиральности от лекарственных молекул для взаимодействия, некоторые отдают предпочтение хиральным молекулам, а некоторым вообще не требуются хиральные центры.

Это связано с тем, что в организме бывают ферменты/рецепторы с селективными и неселективными карманами связывания. Большинство терапевтических биомишеней состоит из хиральных аминокислот или нуклеотидов (ДНК или РНК); поэтому обычно требуются хиральные лекарства для достижения желаемых *in vitro* и *in vivo* активностей. Для примера, **HMG CoA**-редуктаза катализирует лимитирующую стадию биосинтеза холестерина. Известно, что высокий уровень холестерина увеличивает риск развития коронарной болезни сердца. На сегодняшний день самым распространенным клиническим решением является блокирование HMG-редуктазы маленькими молекулами ингибиторами, такими как статины рис. 8.

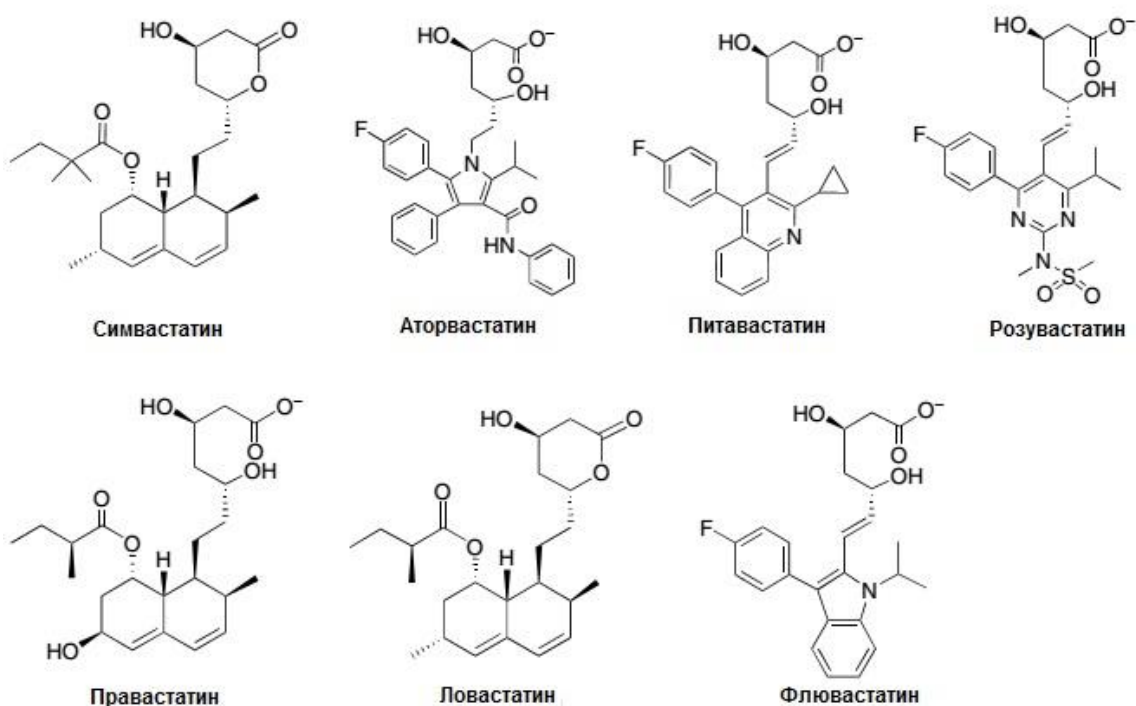


Рис. 8. Структуры одобренных статинов

HMG CoA является стереоселективным ферментом из-за асимметричного кармана связывания около дигидроксигептановой кислоты. Определенное число водородных связей и ионных пар помогает достигнуть комплементарности между белком HMG и HMG-подобной части статинов. Показано, что оба хиральных центра обладают критической важностью.

Однако во многих хиральных лекарствах хиральный центр не является критичным для эффективности связывания. Например, ибупрофен продается как смесь изомеров. Хотя (S)-изомер является наиболее эффективным, (R)-изомер может быть преобразован в (S)-изомер в теле человека и т.о. считается пролекарством [32, 33]. Противоположным примером является алклофенак, он является нехиральным лекарством. В кристаллической структуре ЦОГ-1 с ибупрофеном, пропионат ингибитора связывается с активным сайтом ЦОГ, формируя водородные связи между карбоксилатом ингибитора и тирозином-355 в кармане связывания рис. 9. (структура в базе данных белков pdb код: 1EQG) [12]. Структурно подобный алклофенак рис. 9. связывается в почти идентичной манере, формируя ионную пару с ингибитором и водородную связь с тирозином- 355 (структура в базе данных белков pdb код: 1HT8).

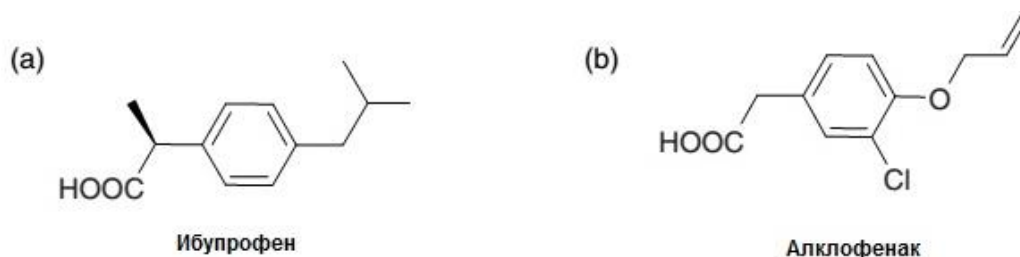


Рис. 9. Химическая структура ибупрофена (a) и алклофенака (b)

Карман связывания состоит в основном из гидрофобных остатков. Эта ёмкость практически не наполняется любым из этих двух лигандов. В результате, ни один из атомов ибупрофена не имеет эффективных Ван-дер-Ваальсовых связей с ферментом. Алклофенак слегка больше ибупрофена по размеру и периферийные углеводородные атомы находятся в пределе расстояний для Ван-дер-Ваальсовых связей с остатком валина-387. Интересно, что метильная группа в хиральном центре ибупрофена находится как минимум в $3,7\text{\AA}$ от ближайшего атома белка, без образования эффективных Ван-дер-Ваальсовых взаимодействий. Возможно, что метильная группа увеличивает сродство к связыванию через осуществление торсионных ограничений и снижает потери в энтропии при связывании с белком. Хотя эти два лекарства

связываются похожим образом с карманом, они демонстрируют различные кинетические кривые. Ибупрофен является классическим независимым от времени конкурентным ингибитором, тогда как алклофенак является зависящим от времени и медленным крепко-связывающимся ингибитором. Разница между время-зависимым и время-независимым ингибированием клинически важна [34].

Зачастую хиральные центры в некоторых лекарствах были добавлены на поздней стадии оптимизации и выбраны для клинических испытаний из-за лучших клеточных активностей или лекарственных свойств. В основном, эти хиральные функциональные группы находятся в зоне, доступной для растворителя. Например, фторхинолоны являются одними из самых важных групп антибиотиков, если биомишенью является топоизомераза IV. Исследование взаимосвязи «структура-активность» (structure-activity relationship, **SAR**) показало, что хиральные заместители в C7 положении хинолона значительно влияют на спектр их антибактериальной активности и безопасность. Около половины фторхинолонов являются хиральными. Кроме левофлоксацина, хиральный центр во фторхинолоновых антибиотиках находится в заместителях в C7 положении в большинстве случаев. Клинафлоксацин рис. 10. является одним из таких хиральных соединений, который до сих пор находится в разработке по широкому спектру антибактериальной активности.

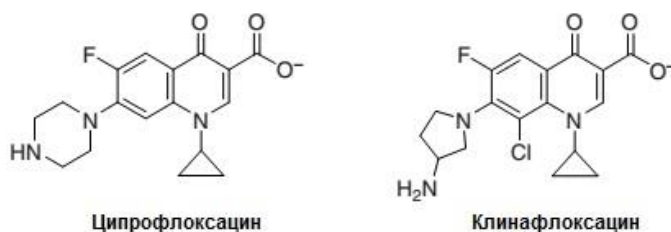


Рис. 10. Химическая структура ципрофлоксацина и клинафлоксацина

Было предположено, что не будет значительного вклада в связывающую способность от стэкинговых взаимодействий. На самом деле, *in vitro* исследования показали, что (R)- и (S)-изомеры обладают сопоставимой ингибиторной активностью [36].

Итак, как было уже сказано выше, энантиомеры могут обладать достаточно различными фармакокинетическими профилями, даже когда хиральность сама по себе никак не влияет на их сродство к связыванию с биомишенями. Лекарство омепразол содержит сульфоксидную группу и является рацематом рис. 11.

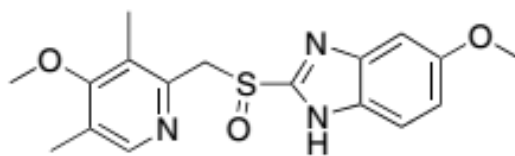


Рис. 11. Структура омепразола.

Поскольку оба изомера омепразола обладают одинаковыми физико-химическими свойствами, они оба претерпевают неферментную, протон-катализируемую трансформацию в активный интермедиат. Два изомера демонстрируют идентичные кривые «доза-ответ», когда тестируются *in vitro* на эффективность ингибирования продуцирования кислоты в изолированной желудочной glande. Тем не менее, было показано, что (S)-изомер обладает лучшей биодоступностью и оральной эффективностью в ингибировании секреции желудочной кислоты из-за стереоселективного метаболизма омепразола [37].

- **Особенности в фармакологии лекарственных препаратов, связанные с наличием хиральных центров**

Для того чтобы взаимодействовать со своими рецепторами лекарства должны обладать подходящими физико-химическими свойствами – размерами, формами и электрическими зарядами. Взаимодействия лекарства с рецептором часто описывают как механизм «ключ-замок», в котором лекарство (ключ) должно подходить и связываться с определенным рецептором (замком). Специфическое связывание лекарства с рецептором критично для направленных биологических эффектов лекарства, т.о. ограничивается взаимодействием с другими типами рецепторов.

Даже если лекарство хорошо подходит рецептору, необходимы силы для того, чтобы удерживать его в рецепторе. Это осуществляется в основном благодаря трем типам химических сил или связей. Первая является очень сильной, но нетипичной – ковалентная связь, которая часто приводит к необратимой биологической реакции (отравляет рецептор). Вторая - электростатическая связь, которая слабее ковалентной, но более часто встречающаяся во взаимодействии лекарства с рецептором. Сила электростатических связей варьируется от сильных электростатических взаимодействий между постоянно заряженными ионными молекулами до водородных связей и слабых дипольных взаимодействий, таких как Ван-дер-Ваальсовы силы. Третья - гидрофобная

связь, которая является самой слабой из трех, однако она важна для взаимодействий между лекарствами и липидными клеточными мембранами.

Фармакодинамика рацематов может быть разделена на 5 основных категорий. Большинство рацемических лекарств принадлежит к первой категории, в которой один энантиомер обладает основным терапевтическим эффектом (эутомер), в то время как другой является неактивным или обладает незначительной активностью (дистомер). В этом случае, эутомер связывается с определенным целевым рецептором, тогда как дистомер не связывается или связывается очень плохо. Вторая категория – когда оба энантиомера активны, это очень редкий случай. Третья категория – лекарства, прописываемые в виде рацемата, но один энантиомер очень быстро конвертируется в другой *in vivo* и биологическая активность принадлежит второму изомеру (хиральная инверсия). Т.е. первый энантиомер является важным пролекарством (лекарство, которое неактивно само по себе, но конвертируется в активную форму *in vivo*). Четвертая категория – хиральные лекарства, в которых энантиомеры проявляют разные биологические активности, при этом иногда у одного энантиомера желаемый, а у другого - не желаемый эффект. Обычно это вызвано связыванием разных энантиомеров с разными рецепторами. К последней категории хиральных лекарств относят когда один энантиомер антагонизирует эффекты другого энантиомера. Очевидно, что рацемат как лекарство в этом классе не идеален, и нужно пользоваться отдельным энантиомером [22].

- *Лекарства с одним основным биоактивным энантиомером.* Аторвастатин это наиболее известный статин (рис. 8), он выпускается в виде (R,R)-изомера, чья активность в 65 раз выше, чем у (S,S)- [38]. Другие широкодоступные статины также продаются в виде энантиомеров, такие как симвастатин и правастатин.

Лекарства с одним эутомером также типичны для других терапевтических областей, включая неврологические заболевания, локальные анестетики, антибиотики, антигистаминные и ингибиторы протонной помпы. Однако, по похожим причинам (недостатки в технологии разделения во время периода разработки), многие старые лекарства были выпущены на рынок в виде рацематов.

В противоположность к давно открытым лекарствам, многие хиральные лекарства, разработанные в последние 30 лет, продаются в виде энантиомеров. Например, один из успешных классов кардиоваскулярных препаратов это АПФ

ингибиторы (ангиотензин-превращающий фермент, АПФ) [39]. Первый АПФ ингибитор, каптоприл рис. 12. был выпущен на рынок в 1981 для лечения гипертензии и сердечных приступов. Известно, что (S,S)-каптоприл более чем в 100 раз сильный ингибитор, чем (R,S)-изомер [40].

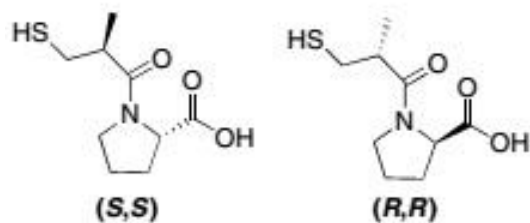


Рис. 12. Структуры изомеров каптоприла

- *Лекарства с одинаково активными энантиомерами.* Лекарства из этой категории на самом деле очень редки. Поскольку оба энантиомера демонстрируют одинаковую фармакологическую активность, в этом случае нет необходимости разделять их. Поэтому большинство из этих лекарств продаются в виде рацематов.

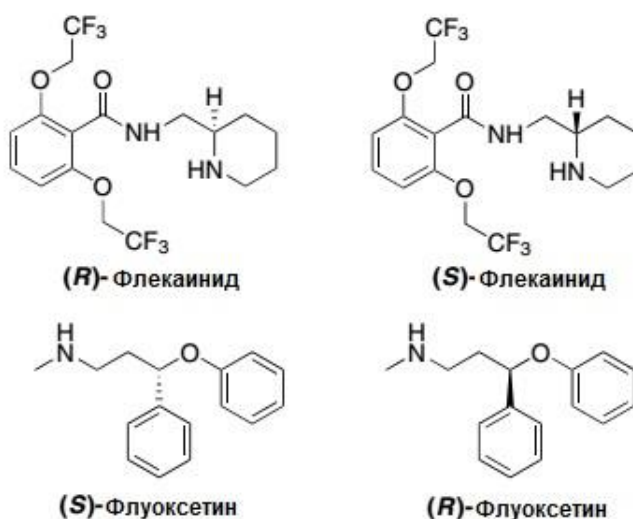


Рис. 13. Структуры изомеров флекаинида и флуоксетина

Одним из примеров является флекаинид, антиаритмик рис. 13. Не обнаружено различия между эффектами энантиомеров флекаинида на электрофизиологические параметры волокон Пуркинье и эффективность *in vivo* у собак. Другой пример – флуоксетин является селективным ингибитором обратного захвата, антидепрессантом. Доклинические исследования продемонстрировали одинаковые фармакологические активности энантиомеров флуоксетина [22].

- *Рацемические лекарства с хиральной инверсией.* В этом классе лекарства продаются как рацемические смеси, но один из изомеров быстро конвертируется в другой *in vivo*. Самый большой класс лекарств в этой категории это нестероидные противовоспалительные препараты (НПВП). Они ингибируют циклооксигеназу (ЦОГ) - фермент, ответственный за синтез простагландинов и других медиаторов из арахидоновой кислоты, и, таким образом они используются для лечения воспалений, в качестве анальгетиков и жаропонижающих средств. Большинство из НПВП это 2-арил-пропионовые кислоты или «профены» (например, структура ибупрофена на рисунке 9) являются рацематами [41]. Как правило, только один из двух энантиомеров - (S)-изомер является прямым ингибитором ЦОГ. Однако встречаются случаи, когда активности двух энантиомеров практически неразличимы *in vivo* из-за односторонней биоконверсии (R)-изомера в (S)- [42,43].

- *Лекарства с одним активным энантиомером и одним энантиомером с побочными эффектами.* Очевидно, что в этом классе хиральных лекарств может продаваться только один активный энантиомер. Один из известных лекарств в этом классе это клопидогрель рис. 14., производное тиенопиридина, которое ингибирует ADP P2Y₁₂ рецептор. Как ведущий антитромбоцитарный агент, клопидогрель уменьшает вероятность развития кардиоваскулярных процессов, связанных с атеросклеротическими болезнями. (S)-изомер клопидогреля обладает всей желательной антитромбоцитарной активностью и незначительной нейротоксичностью, тогда как (R)-энантиомер не даёт вклад в положительную активность, но, по сути дела, отвечает за всю нейротоксичность. Таким образом, только (S)-клопидогрель был разработан и вышел на рынок [22].

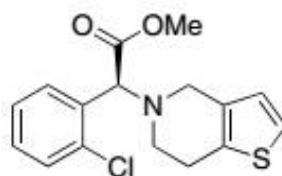


Рис. 14. Структура (S)-клопидогреля

- *Лекарства с одним энантиомером противодействующим эффектам другого энантиомера.* Один из хорошо известных лекарств это циталопрам, который является селективным ингибитором обратного захвата серотонина, он используется в качестве антидепрессанта. Циталопрам рис. 15. это рацемат, его (S)-энантиомер

является эффективным ингибитором, тогда как (R)-изомер на самом деле снижает активность (S)-изомера и *in vitro*, и *in vivo*. Исследования показали, что (S)- и (R)-энантиомеры связываются с различными сайтами транспортера серотонина. Связывание (S)-энантиомера ингибирует активность обратного захвата, тогда как связывание (R)-энантиомера с аллостерическим сайтом (сайт, отличный от обычного лиганд связывающего сайта, со способностью влиять на активность рецептора) снижает связывание (S)-энантиомера [9,10]. Поскольку ингибирование активности обратного захвата серотонина является ожидаемой целью лекарства, то (S)-энантиомер должен быть лучше по сравнению с рацематом. На самом деле, (S)-энантиомер был признан лучшим антидепрессантом [44].



Рис. 15. Структуры энантиомеров циталопрама (R)- (слева) и (S)- (справа)

- *Уникальные хиральные лекарства.* Существуют другие уникальные хиральные лекарства, не принадлежащие ни к какой из обсужденных выше категорий. Например, омепразол рис. 16. используется для лечения болезней гастроэзофагеального рефлюкса, одно из наиболее продаваемых в мире лекарств. Как рацемат, омепразол является про-лекарством, т.к. (R)- и (S)-энантиомеры конвертируются *in vivo* в кислой среде в нехиральную активную форму, которая эффективно ингибирует протонную помпу (H⁺/K⁺-АТФаза) в секреторной желудочной мембране [37]. Интересно, что (R)- и (S)-энантиомеры метаболизируются по-разному в человеческом организме, и существует некоторая вариабельность между разными группами пациентов [5]. Эта вариабельность метаболизма может влиять на сложности дозирования и разную эффективность омепразола. Поэтому, (S)-энантиомер омепразола, продаваемый как эзомепразол, был разработан для того, чтобы снизить вариабельность между пациентами. На самом деле, несколько исследований показали, что эзомепразол обладает более быстрым началом действия и улучшенной эффективностью по сравнению с рацематом омепразола [45].

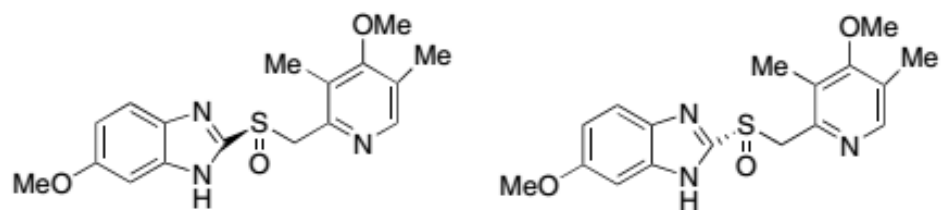


Рис. 16. Структуры энантиомеров омепразола (R)- (слева) и (S)- (справа)

- **Примеры различий в фармакокинетике хиральных лекарств**

Фармакокинетика обычно исследует степень и скорость абсорбции, распределение, метаболизм и выделение лекарства (Absorption, Distribution, Metabolism, Excretion - ADME). ADME процессы очень важны для действия лекарств и можно предполагать, что все они в одинаковой степени влияют на действительные фармакологические эффекты лекарств.

- *Абсорбция.* Степень и скорость адсорбции для двух энантиомеров может быть различной, если их взаимодействия с переносчиками стереоселективны [22].

- *Распределение.* В фазу распределения лекарство обратимо переносится из центрального отделения (обычно плазма) к периферийным отделениям (ткани). Этот процесс включает две последовательных стадии: разбавление абсорбированного лекарства в крови и распределение лекарства по тканям. Что касается хирального лекарства, связывание его двух энантиомеров плазмой и белками тканей часто является стереоселективным из-за хиральной природы белков, что приводит к различному профилю концентрации лекарства в плазме от времени для каждого энантиомера. В большинстве случаев распределение лекарства определяется в основном связыванием с белком в плазме и тканях.

Два энантиомера хирального лекарства обычно обладают разным сродством связывания с белками плазмы. Сывороточный альбумин и α_1 -кислый гликопротеин являются двумя основными белками плазмы, связывающимися с лекарствами. Кислотные лекарства обычно связываются с альбумином, тогда как основные лекарства «предпочитают» гликопротеин.

Кроме связывания с белками плазмы, другой важный фактор, влияющий на распределение лекарства, это связывание с белками тканей. Аналогичным образом, два энантиомера хирального лекарства могут также иметь разное сродство к связыванию с

белками тканей. Важно также отметить, что дозирование одного энантиомера иногда приводит к различной фармакокинетике в сравнении с дозированием рацемата [22].

- **Метаболизм.** Метаболизм лекарства это фаза, в которой лекарство подвергается различным трансформациям. Обычно, метаболизм лекарства приводит к образованию метаболитов с более низкой липофильностью, по сравнению с исходным лекарством, путём добавления ионизированных или гидрофильных групп. Стереоселективность в метаболических трансформациях лекарств может быть ориентирована на субстрат и/или на продукт. Когда два энантиомера хирального лекарства взаимодействуют с метаболизирующим ферментом (как правило, это хиральная макромолекула), то формирование пары диастереомерных комплексов может привести к хиральному разделению в результате различного сродства и/или реакционной способности на стадии связывания и/или каталитической стадии. Таким образом, продукты (метаболиты), образующиеся в этом процессе могут отличаться в каком-то роде, приводя к стереоселективности в метаболизме. С другой стороны, когда прохиральное лекарство связывается с ферментом, оно образует хиральный фермент-субстратный комплекс, как в основной каталитической асимметрической органической реакции, приводя к стереоселективности в формировании хиральных метаболитов.

Так, цитохром P450, а также другие цитохромы демонстрируют значительную стереоселективность в отношении хиральных и прохиральных субстратов. Для некоторых лекарств наблюдаются следующие значения стереоселективности при метаболизме под действием различных цитохромов: аценокумарин (S/R, 6-гидроксилирование, CYP2C9) – 37, дизопирамид (S/R, моно-N-деалкилирование, CYP3A3) – 2.2, флуоксетин – 5 (R/S, N-деалкилирование, CYP2C9), омепразол – 20 (R/S, гидроксилирование, CYP2C19) (структуры лекарств на рис. 17.) [22].



Рис. 17. Структуры лекарств, которые стереоселективно метаболизируются цитохромами

Некоторые хиральные лекарства претерпевают хиральную инверсию в процессе метаболизма, что означает переход от одной энантиомерной конфигурации к другой. Существует два типа хиральной инверсии: необратимая и обратимая. Необратимая инверсия обычно протекает в присутствии определенных белков или ферментов. Самым ярким примером являются НПВП. Для них только (S)-энантиомер обладает анальгетическими и противовоспалительными эффектами, а (R)-энантиомер слабо активен или неактивен. Однако, активности двух энантиомеров многих НПВП практически не различимы *in vivo* из-за необратимой хиральной инверсии неактивного (R)-энантиомера в активный (S)-энантиомер. Например, (S)-энантиомер ибупрофена в 160 раз более активен, чем (R)- при ингибировании синтеза простагландинов *in vitro* [3]. В организме, (R)-ибупрофен может претерпевать быструю эффективную хиральную инверсию в (S)-активный энантиомер, но не в обратную сторону. Этот интересный феномен представляет собой метаболическую активацию (R)-энантиомера [33]. Схема ферментной инверсии (R)-ибупрофена показана на рис. 18. [46].

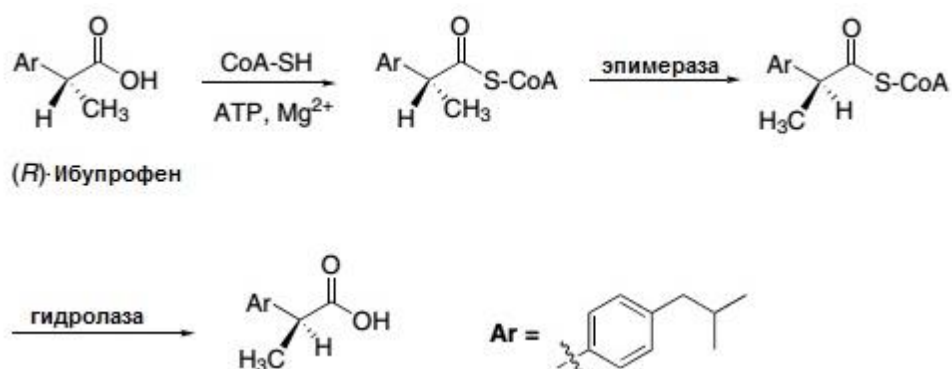


Рис. 18. Схема хиральной инверсии (R)-ибупрофена

На первой стадии карбоновая кислота конвертируется в промежуточный тиоэфир микросомальной или митохондриальной ацил-СоА лигазой. Этот фермент, обычно является лигазой в форме длинноцепочечной жирной кислоты (EC 6,2,1,2,3), он катализирует включение в CoA-SH только R-энантиомера, что указывает на необратимый характер этой инверсии. Первый тиоэфир затем конвертируется в обратную конфигурацию эпимеразой [47], и наконец, получившийся тиоэфир гидролизует гидролазой, освобождая (S)-ибупрофен. Терапевтическое последствие хиральной инверсии ибупрофена состоит в том, что принимаемая доза рацемата на самом деле дает бóльший выход активного компонента.

- *Выделение.* В основном, гидрофильные соединения выделяются быстрее липофильных соединений. Хотя процесс выделения и считается нестереоселективным для несвязанных лекарств, энантимеры могут иметь разные скорости фильтрации из-за разного сродства к связыванию с белками плазмы.

- **Молекулярная динамика связывания напроксена с ферментом циклооксигеназой 2**

Поскольку настоящая диссертация посвящена изучению НПВП – напроксена (рис. 19., NPX), коснёмся отдельно фармакодинамики и фармакокинетики НПВП, с особым вниманием на NPX. Особняком стоит здесь работа Эванса А. М. [3], в которой наиболее полно собраны данные по проявлению стереодифференциации в самых разнообразных НПВП.

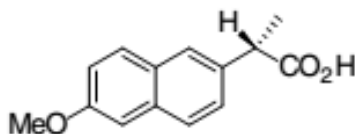


Рис. 19. Структура (S)-напроксена

Еще с 1970-х годов стало известно о том, что только один энантиомер НПВП проявляет противовоспалительную активность. Однако, за исключением напроксена и флуноксапрофена (которые оба выпускаются в виде (S)-энантиомера), хиральные соединения выпускались в виде рацемических смесей. Последствия использования хиральных лекарств в виде рацемата могут быть установлены, по мнению авторов, только после внимательного изучения фармакодинамики и фармакокинетики индивидуальных изомеров.

Кислотоподобные НПВП могут выступать лигандами для широкого круга ферментных и неферментных белков. И хотя многие эти взаимодействия могут быть биологически важными, считается общепринятым, что активность НПВП обусловлена ингибированием синтеза арахидоновой кислоты в субъединице ЦОГ (тем самым НПВП предотвращают образование различных простагландинов). Основываясь на этом, можно получить полезную информацию о противовоспалительной активности индивидуальных энантимеров хиральных НПВП, сравнивая их эффекты на ЦОГ *in vitro*. Так, относительная активность (ингибирования синтеза простагландинов) (S/R) NPX по

данным [48] на тестовой системе семенной железы овцы составила 133. Для многих других НПВП такие сравнения также демонстрируют, что активность проявляет большей частью (S)-изомер: клиданак, этодолак, флурбипрофен, ибупрофен.

Если же измерить ингибиторную активность рацемата, то обычно она составляла около половины значения для (S)-энантиомера. Из этого автор также делает вывод о том, что активность рацемата обусловлена одним (S)-энантиомером. Более того, отсутствие эффекта (R)-энантиомера на ингибиторную активность (S)-энантиомера указывает на то, что в связывающем сайте фермента ЦОГ отсутствуют какие-либо взаимодействия между энантиомерами.

НПВП распределяются по организму посредством, прежде всего, сывороточного альбумина, с которым они очень эффективно связываются – фракция несвязанного лекарства в плазме обычно меньше чем 0.01. Для энантиомеров ибупрофена в плазме было обнаружено, что несвязанная фракция (S)-ибупрофена была на 40-60% больше чем (R)- [49]. Похоже, что энантиоселективность является характеристической чертой для связывания НПВП с белками плазмы. Она может влиять, по крайней мере отчасти, по мнению автора, на отношение между площадью под кривой концентрации в плазме от времени и дозой.

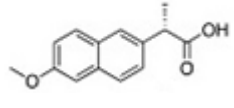
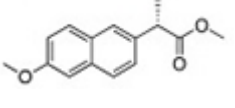
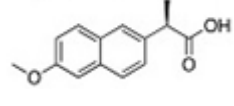
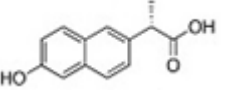
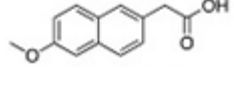
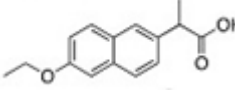
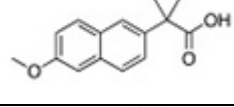
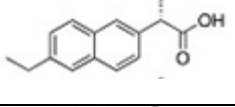
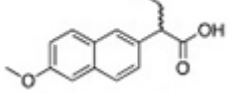
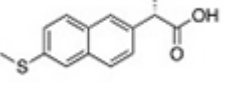
Также автором сообщается об упомянутой выше хиральной инверсии НПВП. Предполагается, что она возможна только в одном направлении (из (R)- в (S)-), хотя, по мнению автора, важно осознавать, что инверсию из (S)- в (R)- может быть трудно детектировать, если в другую сторону инверсия протекает с гораздо большей скоростью. В целом, метаболические профили (относительно времени) для индивидуальных энантиомеров НПВП могут достаточно различаться. Основываясь на ограниченных доказательствах, сопряженный и окислительный метаболизм хиральных НПВП демонстрирует стереоселективность разной степени. И, в случае сопряженного метаболизма, диастереомеры ацеилглюкоронидов могут отличаться своей подверженностью к гидролитическому отщеплению и внутримолекулярной перестройке, а также их способностью образовывать ковалентные комплексы с эндогенными макромолекулами [3].

Не менее интересными являются статьи Дугган К. и др. [6, 7], которые посвящены детальному исследованию связывания NPX с ферментом ЦОГ с использованием направленного мутагенеза, расчётов SAR, и рентгеноструктурного анализа. В

результате, авторы заключили, что каждая из выступающих групп нафталинового остова необходима для ингибирования ЦОГ и только минимальные изменения могут быть допустимы (эти данные очень наглядно проиллюстрированы в табл. 1).

Т а б л и ц а 1

**Эффективность ингибирования ЦОГ-1 и ЦОГ-2 NPX
и его модифицированными аналогами**

Аналог	ЦОГ-1	ЦОГ-2	Аналог	ЦОГ-1	ЦОГ-2
	50%	70%		20%	10%
	20%	10%		30%	30%
	10%	20%		10%	25%
	Не ингибирует	10%		45%	65%
	Не ингибирует	Не ингибирует		40%	70%

Мутация Trp-387 на Phe в ЦОГ значительно снижает ингибирование NPX, причём этот результат специфичен именно для данного НПВП [6].

В следующей статье те же авторы изучали энантимеры NPX, флурбипрофена и ибупрофена в свете их ингибиторной активности относительно окисления эндоканнабиноидов (которое также катализируется ферментом ЦОГ-2). Было установлено, что (R)-изомеры, предполагающиеся слабыми ингибиторами ЦОГ-2, могут эффективно ингибировать окисления эндоканнабиноидов. Это было доказано с помощью анализа полученных кристаллических структур комплексов NPX и флурбипрофена с ЦОГ-2.

До последнего времени, (R)-изомеры считались неэффективными ингибиторами ЦОГ-2 поскольку они не ингибировали окисление арахидоновой кислоты. В цитированных работах показано, что (R)-изомеры селективно ингибируют окисление эндоканнабиноидов. Связывание их происходит в аллостерическом сайте, что индуцирует конформационные изменения в ферменте, препятствующие окислению

эндоканнабиноидов, но не арахидоновой кислоты, окисление которой происходит в каталитическом сайте. Авторы полагают, что этот механизм может объяснить неожиданный анальгетический эффект (R)-профенов [7].

- **Заключение к разделу 1.1.**

Таким образом, можно заключить, что оптические изомеры демонстрируют значительное разнообразие в лечебных свойствах, и это разнообразие имеет существенное клиническое значение. Отметим, что в большинстве вышеописанных случаев при взаимодействии хирального лекарства с ферментом или рецептором в реакции участвуют два хиральных центра: второй принадлежит остатку аминокислоты или нуклеотида. Таким образом, есть все физические предпосылки для проявления стереоселективности в таких процессах. Вторая часть настоящего обзора посвящена исследованию физико-химическими методами природы стереоселективности хиральных лекарств с помощью модельных процессов.

1.2. Использование модельных связанных систем для изучения реакционной способности и молекулярной динамики процессов с участием нестероидных противовоспалительных препаратов (напроксен и др.)

Применение модельных систем для изучения механизмов действия лекарств является актуальным современным направлением в физической химии [19, 20, 50-53]. На сегодняшний день существует также много исследований, в которых используются т.н. связанные системы: диады и триады, в которых лекарство и его партнер соединены с помощью мостиков [54-56]. Коснемся лишь тех, которые относятся к НПВП, что непосредственно связано с тематикой данной диссертационной работы.

Наибольший вклад в исследования различных НПВП физико-химическими методами с использованием связанных систем внесла группа испанских учёных под руководством М.А. Миранды. Для представления этих результатов мы разделили работы по объектам исследования.

- *Связанные системы с флурбипрофеном.* Взаимодействия возбужденных состояний (S)-/(R)-флурбипрофена (**FBP**) и пиримидинового дезоксинуклеотида тимидина (**dTmd**) исследовались в ковалентно-связанных системах рис. 20. с целью

моделирования взаимодействий возбужденных состояний в нековалентных комплексах ДНК с лигандами (в данном случае с флурбипрофеном). Интерес к исследованию этой системы связан с тем, что существует мнение, что ультрафиолет (УФ) может инициировать повреждение в ДНК, и это является причиной некоторых типов рака [57].

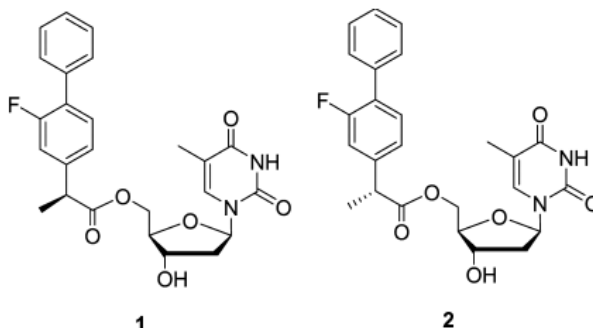


Рис. 20. Структура связанных систем (R)-FBP-dTmd (1) и (S)-FBP-dTmd (2)

При облучении смеси (R)-FBP-dTmd и (S)-FBP-dTmd в растворе не наблюдалось никаких взаимодействий между реагентами. В диадах возбуждался только один хромофор $^1\text{FBP}^*$, при этом уменьшались квантовый выход флуоресценции ($\varphi_{\text{фл}}$) и время жизни флуоресценции ($\tau_{\text{фл}}$) по сравнению со свободным FBP в растворе ($\varphi_{\text{фл}}=0,17$). Авторы предположили, что это динамическое тушение происходит либо через перенос электрона, в котором FBP является донором, либо путём образования эксиплекса. Была проведена оценка свободных энергий Гиббса по уравнению Рэма-Веллера [59] в растворителях разной полярности (ацетонитриле и диоксане) и, было показано, что в ацетонитриле возможны оба механизма, а в диоксане превалирует тушение возбужденного состояния через эксиплекс. Для (R)-изомера были получены меньшие значения $\varphi_{\text{фл}}$ и $\tau_{\text{фл}}$ (0,015 и 0,2 нс), чем для (S)-аналога (0,018 и 0,31 нс). При исследовании триплетных состояний были получены неожиданно высокие значения квантовых выходов триплетного возбуждённого состояния молекул (φ_T), с $\varphi_T((\text{R})\text{-FBP-dTmd})=0,167 > \varphi_T((\text{S})\text{-FBP-dTmd})=0,126$. Времена жизни триплетных состояний (τ_T) диад близки по значению к таковым для свободного $^3\text{FBP}^*$, что авторы связали с отсутствием взаимодействия возбужденных состояний на этой стадии процесса тушения [58].

Другим примером моделирования взаимодействия флурбипрофена с биологической молекулой – сывороточным альбумином является исследование диад (S)-/(R)-FBP-Трп рис. 21. Альбумин представлен в диаде молекулой триптофана, поскольку только одна молекула триптофана присутствует в субъединице белка [60], и эта

аминокислота очень чувствительна к местному окружению и поэтому достаточно надежно детектируется оптическими методами. В данной работе [61] на первом этапе также были исследованы супрамолекулярные системы «альбумин-FBP», в которых спектр люминесценции соответствовал эмиссии триптофана.

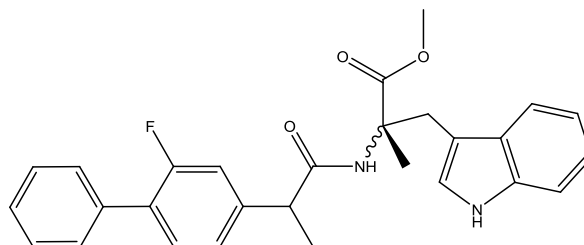


Рис. 21. Структура связанных систем (R)-FBP-(S)-Trp/(S)-FBP-(S)-Trp

Исследование проводилось методами лазерного импульсного фотолиза и флуоресценции. Спектры флуоресценции регистрировались при возбуждении на 266нм, при этих условиях ~60% света поглощает FBP и ~40% - Trp; наиболее значимой чертой было значительное тушение флуоресценции во всех диадах, причём остаточную люминесценцию относили к Trp хромофору. Авторы связывают это с синглет-синглетным переносом энергии с ^{*}FBP на Trp. Также, была зарегистрирована широкая полоса эмиссии эксиплекса (между 380 и 500нм), особенно интенсивная в случае (R,S)-диастереомера. Во время-разрешенных экспериментах были измерены времена жизни флуоресценции: короткие (~0,9нс для (R,S)- и (S,S)-) для основной линии ($\lambda_{эм}=330нм$) и более длинные (5,1 и 7,6нс, для (R,S)- и (S,S)- соответственно) для эксиплексов ($\lambda_{эм}=440нм$) [61].

Спектр промежуточного поглощения также был зарегистрирован, хотя с меньшим квантовым выходом триплетного возбужденного состояния ($\phi_T=0,22$ и $0,26$), чем самого FBP ($\phi_T=0,71$). Авторы предполагают, что триплетное состояние в данной системе может образоваться либо через триплет-триплетный перенос энергии с возбужденного триптофана, либо при обратном переносе электрона из состояния с разделенными зарядами. В результате авторы предложили схему фотоиндуцированных процессов, происходящих в системе рис. 22.

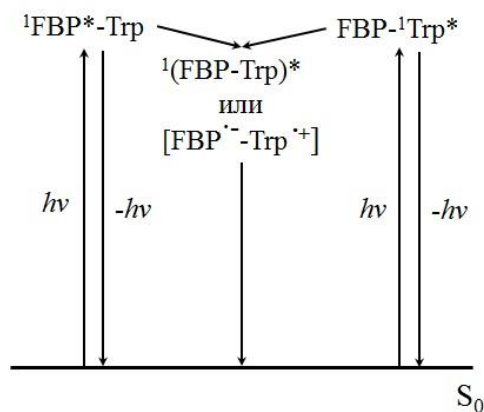


Рис. 22. Качественная энергетическая диаграмма для разных возбужденных состояний и короткоживущих интермедиатов, образующихся при фотовозбуждении FBP-Trp диад

Таким образом, авторы считают, что люминесценция в супрамолекулярной системе «альбумин-FBP», может быть объяснена благодаря исследованию флуоресценции модельных систем FBP-Trp и отнесена к Trp. Процессы, приведенные на рис. 22., по мнению авторов, отражают фотоиндуцированное взаимодействие лекарства с белком [61].

• *Связанные системы с кетопрофеном.* Внутримолекулярные взаимодействия возбужденных триплетных состояний в диастереомерных диадах, состоящих из хромофора кетопрофена (КР) и различных доноров атома водорода (тетрагидрофуран, изопропилбензол) исследовались методом лазерного импульсного фотолиза с целью исследования источника характерной для НПВП фототоксичности (фотоиндуцированные аллергические эффекты [62]) [63]. Тетрагидрофуран и изопропилбензол были выбраны в качестве доноров, поскольку авторы считают их моделями биомолекул, таких как углеводный остаток нуклеиновых кислот или ароматических аминокислот. Исследуемые структуры представлены на рис. 23.

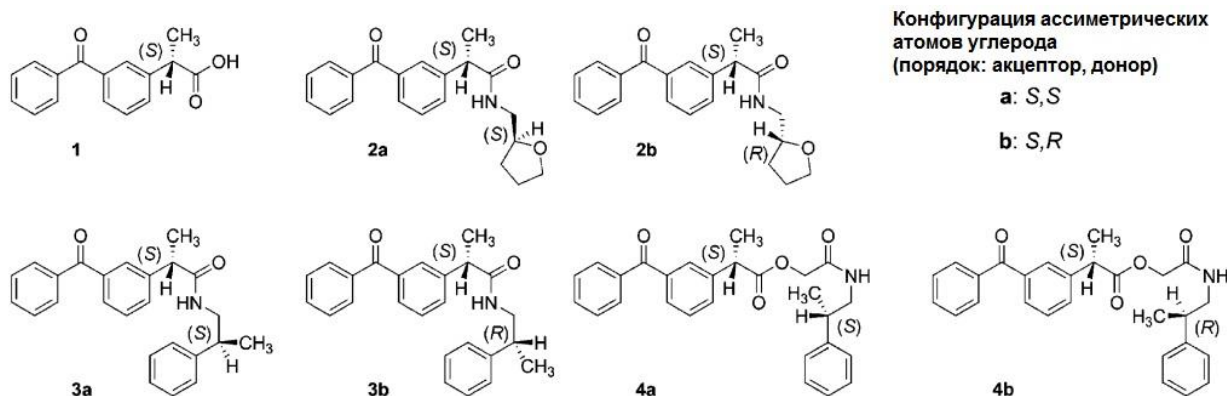
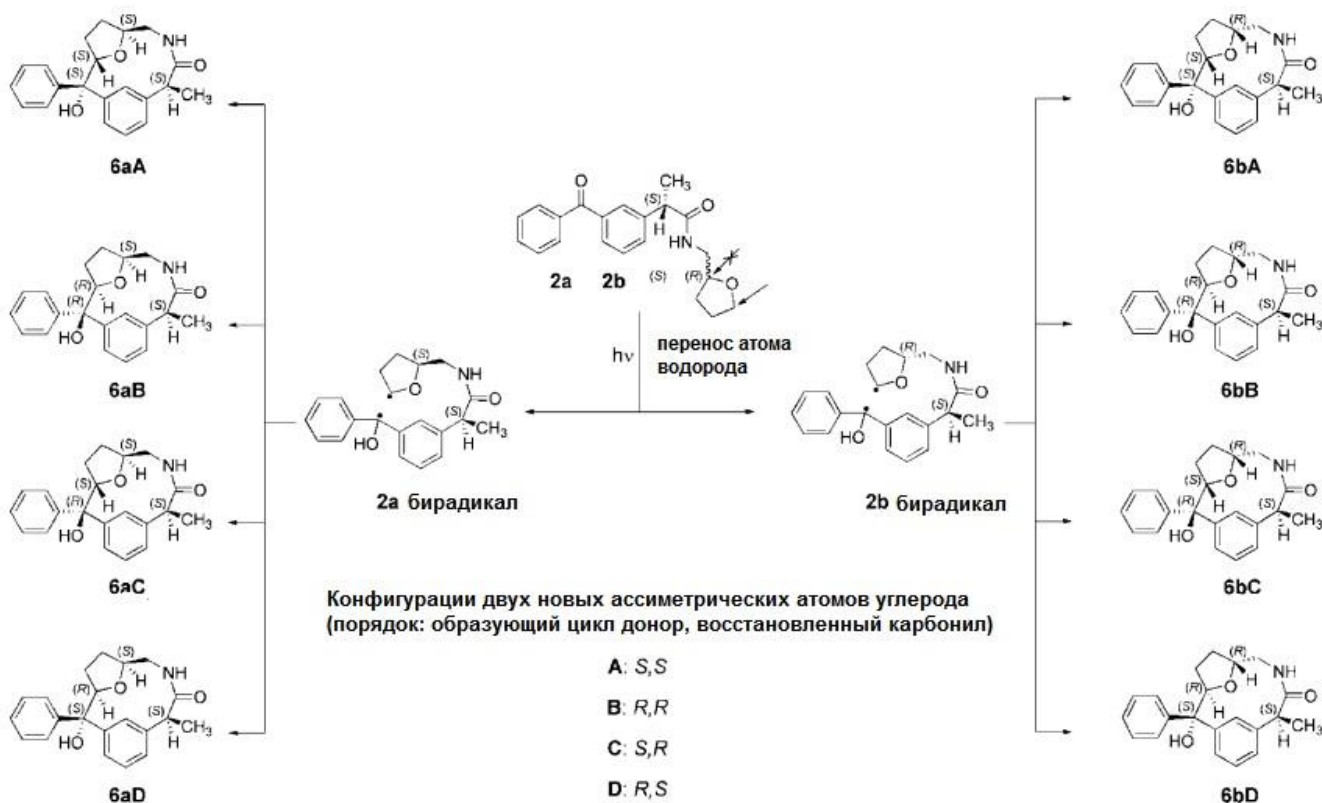


Рис. 23. Структуры исследуемых систем, содержащих (S)-КР (1) и тетрагидрофуран (2а, 2b) или изопропилбензол в разных конфигурациях (3а, 3b, 4а, 4b)

Основным процессом, протекающим при фотооблучении диад, был внутримолекулярный перенос атома водорода на $^3\text{КР}$ от тетрагидрофурана или изопропилбензола. Бирадикалы, образованные в результате переноса атома водорода, подвергаются внутримолекулярной рекомбинации в макроциклические системы (см. схемы на рис. 24 и 25).

Все полученные значения константы скорости отщепления атома водорода КР в возбужденном триплетном состоянии были порядка $10^4\text{-}10^5\text{с}^{-1}$, самыми реакционноспособными оказались диады с тетрагидрофураном. Между диастереомерами была зарегистрирована стереодифференциация по временам жизни триплетного состояния 1,6 против 2,7мкс. При этом обнаружена корреляция между скоростями переноса атома водорода и квантовыми выходами фотопревращения (для систем с тетрагидрофураном 0,21 и 0,15 для 2а и 2b, соответственно; а для систем с



изопропилбензолом 0,05 и 0,01).

Рис. 24. Структуры продуктов фотореакции, полученных при облучении 2а и 2b

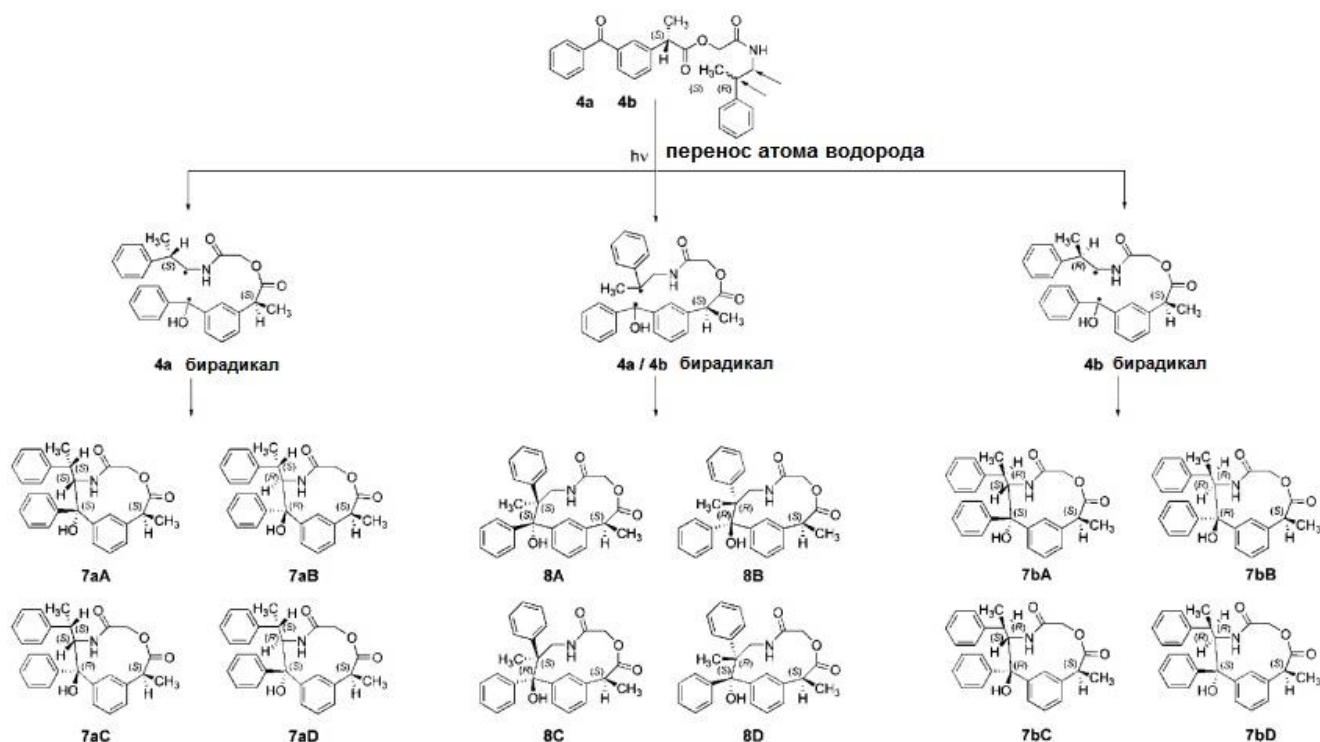


Рис. 25. Структуры продуктов фотореакции, полученных при облучении 4a и 4b

Также, в данном исследовании были выделены и охарактеризованы методом ЯМР все продукты фотооблучения. Стереохимия макроциклов, которые содержат ассиметричные атомы, была отнесена на основании анализа монокристаллических структур и эффекта Оверхаузера. Интересно, что при макроциклизации была обнаружена высокая регио- и стереоселективность именно для диад с тетрагидрофураном (2a, 2b), где отщепление атома водорода происходит селективно из наименее замещенного атома углерода; соединение кольца в цис-ориентации при этом всегда превалирует над транс-. Для соединений с изопропилбензолом фотореакция менее региоселективна [63].

В следующей работе [64] авторы подошли к изучению КР с другой стороны. Целью их исследования было найти эквивалент КР, подходящий для время-разрешенных исследований реакции возбужденного триплетного состояния хромофора с биомолекулами или их простыми «строительными блоками», в условиях максимально приближенным к физиологическим. Такого рода соединение должно удовлетворять следующим требованиям: (1) быть растворимым в водной среде; (2) его триплетное состояние должно быть более долгоживущим, чем сам КР (в идеале в микросекундном диапазоне); и (3) процесс его фотодекарбоксилирования должен быть достаточно

медленным, дабы избежать наложения от фотопродуктов в кинетические профили триплетного состояния. Так, авторы подобрали под эти условия исследуемую молекулу KPGly рис. 26.

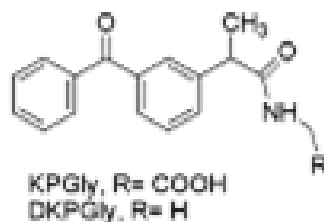


Рис. 26. Структура исследуемой системы KPGly

На первой стадии, авторы исследовали его собственные фотофизические и фотохимические свойства, а затем обратились к изучению взаимодействий возбужденного состояния этой системы с ключевыми аминокислотами и нуклеозидами. В ацетонитриле, наблюдался классический спектр промежуточного поглощения бензофенон-подобного соединения ($^3\text{KPGly}$) с максимумом на 520нм и характерным временем жизни 5,3мкс. Значение этого времени жизни очень близко к таковому для ^3KP (5,6мкс), полученному в таких же условиях. В метаноле, свойства $^3\text{KPGly}$ были также близки к ^3KP с детектированием кетильного радикала. Однако, в водной среде ($\text{pH}=7,4$), в спектре промежуточного поглощения авторы наблюдали две полосы (с $\lambda_{\text{макс}}$ на 330 и 520нм), причем последняя очень похожа на спектр в ацетонитриле, но с отличающимся временем жизни (7,5мкс на 520нм). Таким образом, авторы отнесли ее к $^3\text{KPGly}$. В случае KP в водной среде наблюдается эффективный процесс декарбоксилирования в субнаносекундном диапазоне, авторы полагают, что этот процесс происходит через внутримолекулярный перенос электрона. Этот процесс приводит к образованию детектируемого карбоаниона (время жизни~250нс) и препятствует детектированию короткоживущего сигнала от ^3KP .

На второй стадии, внимание авторов было обращено к изучению взаимодействий возбужденных состояний $^3\text{KPGly}$ и аминокислот или нуклеотидов. Для этого, в качестве фотосенсибилизаторов, были выбраны: 2'-деоксигуанозин (dGuo), тимидин (Thd), триптофан (Trp) и тирозин (Tyr). При облучении наблюдалось эффективное тушение триплетного возбужденного состояния ($k > 10^9 \text{M}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$), которое авторы относили к первой стадии фотохимической реакции (для dGuo, Trp и Tyr). Следующей стадией предполагался перенос электрона с биомишени на $^3\text{KPGly}$, с последующим переносом

протона с аминокислоты или катион-радикала нуклеозида на $KPGly^{\bullet-}$. Авторам удалось детектировать также кетильный радикал вместе с гуанозильным, тирозильным или триптофановым свободными радикалами, что согласуется с предложенным ими механизмом. Результаты с Thd были несколько отличающимися, тушение 3KPGly было отнесено к образованию оксетанов по реакции фотоциклоприсоединения Патерно-Бюхи [64].

- *Связанные системы с карпрофеном.* В работе [65] исследовалось фотоиндуцированное взаимодействие другого НПВП – карпрофена (CPF) с триптофаном (Trp), находящимся в составе диады (структуры диад представлены на рис. 27.), а также с Trp сывороточного человеческого альбумина.

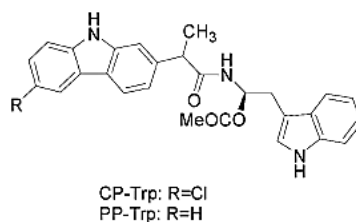


Рис. 27. Структура связанных систем CPF-Trp (CP-Trp) (PP-Trp – продукт фоторазложения)

В присутствии альбумина наблюдались аналогичные спектры промежуточного поглощения для обоих стереоизомеров CPF. Однако время-разрешенные измерения показали значительную разницу во взаимодействии изомеров лекарства с белком. Для каждого из них профили гибели триплетного состояния показывали присутствие двух компонент с различными временами жизни. Авторы отнесли эти времена к комплексообразованию CPF с двумя возможными сайтами связывания альбумина (сайт I и сайт II). Это отнесение было подтверждено в экспериментах с использованием другого НПВП ибупрофена в качестве заместителя для сайта II. Тогда более короткоживущие компоненты, для которых стереодифференциация была более значительна ($\tau_R/\tau_S \sim 4$), были отнесены к триплетному состоянию CPF в сайте I; укорочение времени жизни, по мнению авторов, может быть вызвано тушением возбуждения путём переноса заряда с единственного возможного партнера НПВП в белке – остатка аминокислоты Trp. Исследования методом лазерного импульсного фотолиза модельных диад, содержащих ковалентно-связанные CPF и Trp, подтвердили выводы авторов: наблюдалось образование катион-радикала Trp (с максимумом

поглощения на ~ 580 нм), что доказывало механизм с переносом электрона. Более того, авторы обнаружили стереодифференциацию также и для модельных систем ($\tau_{RS}=2,4$ мкс, $\tau_{SS}=3,0$ мкс). В основном, превалирующим фотохимическим процессом авторы считают расщепление связи C-Cl, что приводит к стереоселективному образованию дегалогенированного фотопродукта PP и в супрамолекулярном комплексе и в составе диады. Авторы считают, что результаты этого исследования, указывающие на образование активных парамагнитных частиц, могут быть полезными для объяснения природы фотоаллергических реакций, характерных для CPF [65].

Продолжение эта работа получила в 2010 году [66], в ней авторы расширили исследуемые системы на ещё одну аминокислоту – тирозин рис. 28. И также сравнивали разные НПВП, создав аналогичные диады с NPX (см. в следующем подразделе).

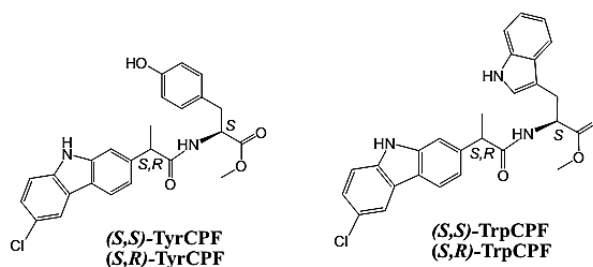


Рис. 28. Структура связанных систем Тур-CPF и Трп-CPF

Для CPF наблюдался эффективный синглет-синглетный перенос энергии (более 40%), рассчитанное расстояние при этом составило ~ 21 Å. При изучении этого процесса в модельных системах авторами был установлен полный перенос энергии с Тур или Трп на CPF. Авторы сделали этот вывод на основании отсутствия какого-либо вклада от аминокислот в спектры эмиссии диад, несмотря на то, что на 266нм свет поглощали оба хромофора [66].

- *Связанные системы с напроксеном.* Напроксен (NPX) в составе связанных систем, в т.ч. с участием аминокислот и других доноров электрона изучался во многих работах.

Так, например, в работе [67] исследовались диастереомеры диады, содержащие NPX и N-метилпирролидин рис. 29.

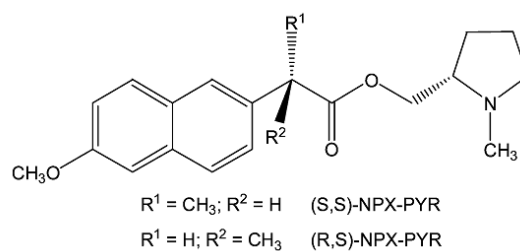


Рис. 29. Структура связанных систем NPX-PYR

В работе применялись стационарный и время-разрешенный методы флуоресценции, все эксперименты проводились в аэрированном ацетонитриле. Авторы предположили, что при фотооблучении в системе происходит внутримолекулярный перенос электрона, поскольку в *n*-гексане не наблюдалось какого-либо тушения флуоресценции. Однако, помимо этого, была отмечена полоса слабой люминесценции в ацетонитриле с максимумом на ~540-550нм. Она была отнесена к эмиссии эксиплекса по аналогии с результатами, полученными при фотооблучении 2-нафтилметиламина. Также наблюдалась стереодифференциация по временам жизни флуоресценции ($\tau_{fl}(R,S)=2,35\text{нс}$, $\tau_{fl}(S,S)=3,02\text{нс}$) [67].

Интересная работа [68] была выполнена с использованием варьируемой длины волны облучения с целью достижения селективного возбуждения двух других бихромофорных диад, NPX и нафталина (NAP), обладающими разными электронными свойствами, соединенными амидным мостиком ((S,S)-/(S,R)-NPX-NAP, рис. 30.).

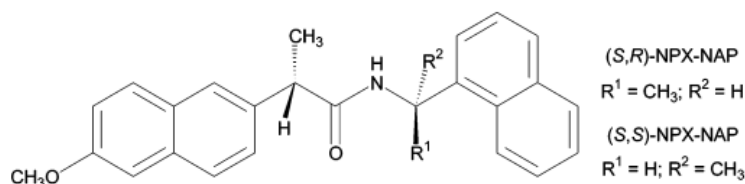


Рис. 30. Структура связанных систем NPX-NAP

При возбуждении на длине волны 325нм возбуждается только NPX хромофор, а при 290нм, при селективном возбуждении NAP, происходит эффективный синглет-синглетный перенос энергии ($\phi_{ПЭ}\sim 97\%$) с NAP на NPX.

Также наблюдается значительная стереодифференциация для процесса тушения возбужденного состояния диады внешним тушителем – триэтиламином: константы тушения отличаются приблизительно в 1.7 раз. Считается, что тушение проходит через образование эксиплекса, что подтверждается наблюдением плеча в спектре

флуоресценции. Эти результаты, демонстрируют возможность контроля взаимодействий возбужденных состояний хиральных хромофоров, варьированием длины волны возбуждающего света [68].

В следующей работе [69] методами флуоресценции в растворе и твердой фазе исследовались три системы, содержащие напроксен и аминокислоту аргинин: (S)-NPX-(S)-Arg, (R)-NPX-(S)-Arg и (S)-NPX-(R)-Arg (структуры представлены на рис. 31.). Таким способом авторы сделали попытку моделирования взаимодействия напроксена и его биомимети фермента ЦОГ, поскольку из рентгеноструктурного анализа известно, что аргинин образует с напроксеном солеобразное соединение, где аргинин играет роль катиона [70].

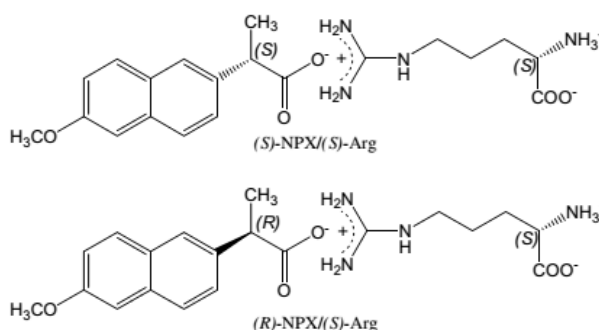


Рис. 31. Структура связанных систем (S)-NPX-(S)-Arg и (R)-NPX-(S)-Arg

В растворе системы не продемонстрировали значимых различий, спектр люминесценции соответствовал свободному напроксену с максимумом на 355нм. А для твёрдых солей ((R)-NPX-(S)-Arg и (S)-NPX-(R)-Arg) был получен спектр люминесценции с максимумом сдвинутым на 375нм, ему соответствует время жизни флуоресценции $\tau_{fl}=1,1$ нс (для сравнения, у напроксена в твердой фазе максимум остается на месте, $\tau_{fl}=5,5$ нс). Опираясь на данные рентгеноструктурного анализа, авторы объясняют такое различие формированием эксимера NPX, который люминесцирует в более длинноволновой области [69].

Другой интересной связанной системой с участием напроксена были диады NPX-оксетан рис. 32. [71]. Облучение на длине волны поглощения напроксена в ацетонитриле и хлороформе привело к раскрытию цикла, которое авторы объяснили фотоиндуцированным переносом электрона (схема реакции представлена на рис. 33.).

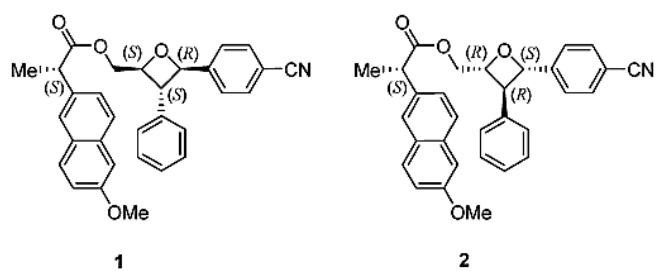


Рис. 32. Структура связанных систем (S)-NPX-(S,R,S)-OXT (1), (S)-NPX-(R,S,R)-OXT (2)

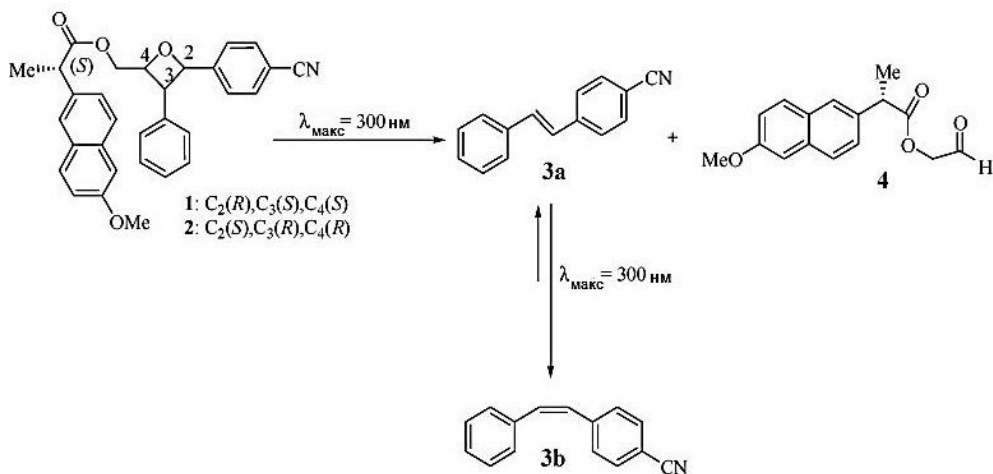


Рис. 33. Схема фотоиндуцированного раскрытия цикла в системах (S)-NPX-(S,R,S)-OXT (1) и (S)-NPX-(R,S,R)-OXT (2)

Интересно, что высокая реакционная способность при фотооблучении наблюдалась при проведении реакции в ацетонитриле, тогда как высокая стереоселективность была обнаружена в хлороформе ($\frac{\tau_{\text{фл}}((S)\text{-NPX-(S,R,S)-OXT})}{\tau_{\text{фл}}((S)\text{-NPX-(R,S,R)-OXT})} = 1,5$). Авторы объясняют проявление стереодифференциации наличием скрученной конформации, которая преобладает в диаде (2). В этой конформации нафталиновый фрагмент направлен в сторону оксетана что благоприятствует внутримолекулярному переносу электрона [71].

Данные, касающиеся фотофизических характеристик диад, включающих напроксен, представлены в обзоре [72].

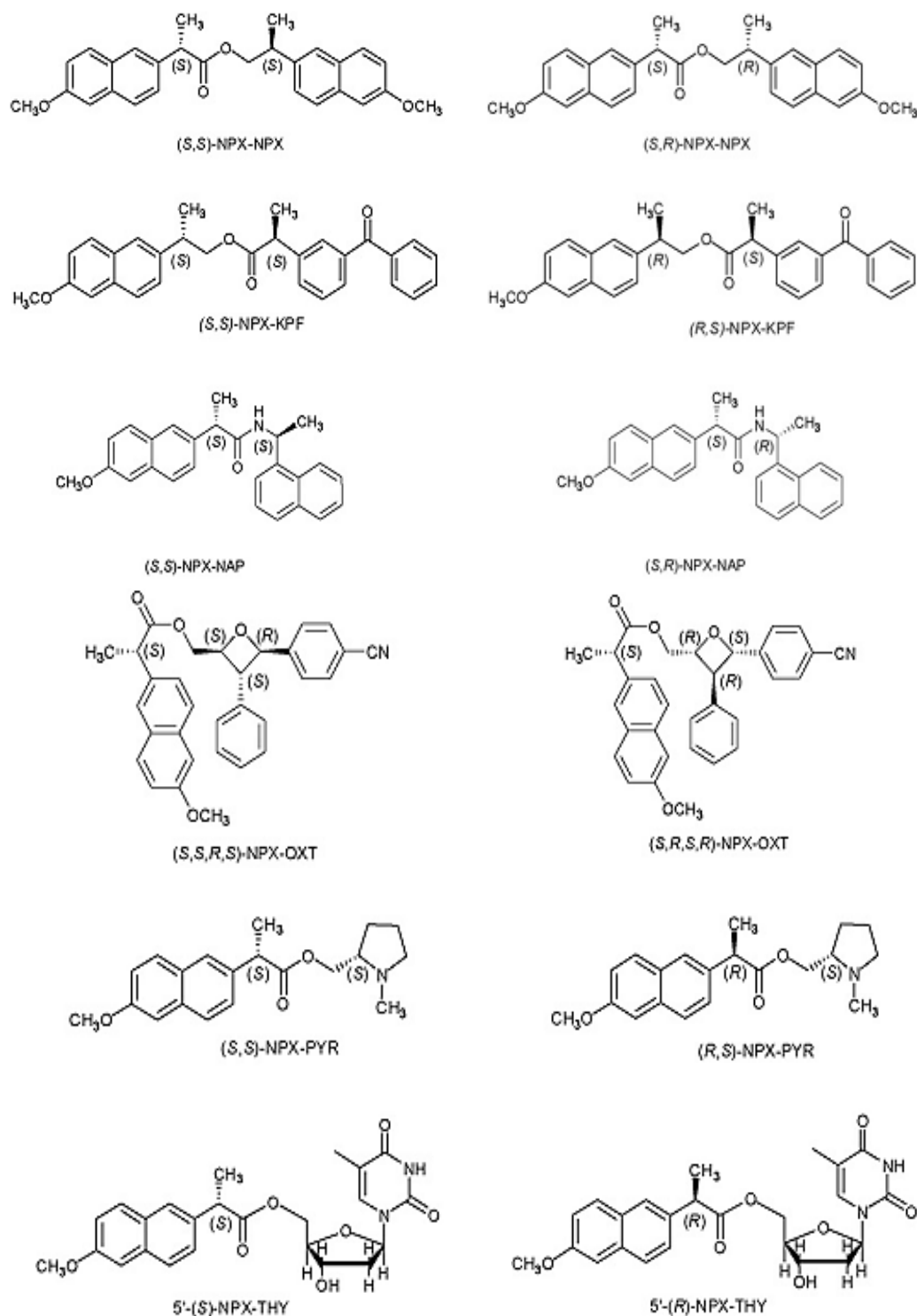


Рис. 34. Структуры связанных систем с NPX

В этом обзоре объединены 6 систем, включающих различные партнеры напроксена как то: нафталин (NAP), диарилкетон (кетопрофен, KPF), четвертичный амин (PYR), оксетан (OXT) или тимидин (THY) рис. 34. Внутримолекулярные

процессы, происходящие в диадах под действием фотооблучения, исследованы с помощью стационарной и время-разрешенной флуоресценции и импульсного фотолиза. В частности, для NPX-NPX диады было зарегистрировано образование эксимера. Он проявлялся в спектре люминесценции как ослабленная полоса эмиссии мономера с новой широкой полосой (около 400 нм), перекрывающейся с основной люминесценцией. Для этих систем не наблюдалось проявления какой-либо значительной стереодифференциацией, за исключением слегка большей интенсивности эмиссии эксимера (R,S)-NPX-NPX в ацетонитриле по сравнению с (S,S)-.

Другим процессом, характерным для напроксеновых диад оказался перенос энергии из синглетных или триплетных возбужденных состояний. Например, триплет-триплетный перенос энергии происходил в системе NPX-KPF. Поскольку в УФ-спектре KPF $n-\pi$ полоса достаточно широкая, то для данной системы возможно селективное возбуждение хромофоров.

В фемтосекундной временной шкале была зарегистрирована внутренняя конверсия из ^1KPF ($\lambda_{\text{макс}}=570\text{нм}$) в ^3KPF ($\lambda_{\text{макс}}=530\text{нм}$), затем наблюдался триплет-триплетный перенос энергии, который происходил за $380\pm 60\text{пкс}$ для (S,S)-NPX-KPF и $310\pm 30\text{пкс}$ для (R,S)-NPX-KPF. Таким образом, в этом процессе проявляется небольшая стереодифференциация.

Синглет-синглетный перенос энергии наблюдался в диадах NPX-NAP. При возбуждении на 325нм возможно селективное возбуждение напроксенового хромофора, тогда наблюдается спектр люминесценции аналогичный свободному NPX. Но если возбуждать молекулу на 290нм, где большую часть энергии поглощает нафталиновый хромофор, то спектр флуоресценции NPX-NAP представляет собой полосу с максимумом на 347нм (что соответствует NPX). Авторы считают, что это указывает на эффективный синглет-синглетный перенос энергии с NAP на NPX, что подтверждается термодинамическими расчётами ($\Delta G_{S-SI\text{Э}}=-6\text{ккал/моль}$). Для данных систем не наблюдалось стереодифференциации.

Также, NPX склонен к образованию эксиплексов и из триплетного (NPX-KPF), и из синглетного (NPX-NAP) возбужденных состояний; причём для NPX характерно образование эксиплексов как во внутримолекулярных, так и в бимолекулярных процессах.

Опираясь исключительно на термодинамические расчёты, авторы предполагают, что, помимо эксиплексов, НПХ может участвовать в реакциях переноса электрона как в качестве донора (НПХ-ОХТ), так и в качестве акцептора (НПХ-РУР).

Очень интересными оказались системы НПХ-ТНУ с НПХ присоединенным к разному положению в сахарном остатке (5' или 3'). При селективном возбуждении НПХ на 320 нм в ацетонитриле они демонстрируют одинаковые по форме и интенсивности спектры люминесценции. Однако ситуация резко меняется для 5'-(S)-НПХ-ТНУ в метаноле, где наблюдается значительное тушение и также более короткое время люминесценции. Рентгеноструктурный анализ совместно с данными ЯМР показали, что в твёрдой фазе тиминовая часть находится в анти-конформации по отношению к сахарному остатку, тогда как в растворе превалирует син-конформация. Согласно гипотезе авторов, это расположение позволяет метанолу образовать Н-связь с 5'-(S)-НПХ-ТНУ в возбужденном состоянии, что приводит к конформации, в которой НПХ и ТНУ фрагменты находятся ближе друг к другу рис. 35. И, как следствие, интенсивность люминесценции уменьшается.

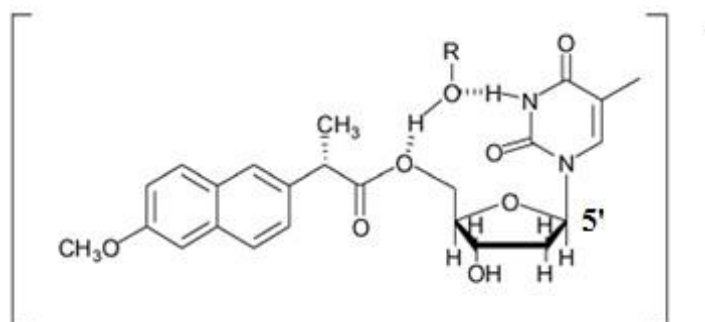


Рис. 35. Фиксированная конформация 5'-(S)-НПХ-ТНУ в присутствии молекул ROH в возбужденном состоянии

Общей чертой для всех систем, содержащих напроксен, оказалось динамическое тушение синглетного возбужденного состояния НПХ, определяемое по укорочению времен жизни люминесценции в сравнении со свободным НПХ. Тушение является результатом: переноса энергии (НПХ-НАР, НПХ-КРФ), переноса электрона (НПХ-РУР, НПХ-ОХТ), образования эксимера (НПХ-НПХ) или эксиплекса (НПХ-НАР, НПХ-КРФ), безызлучательной гибели (НПХ-ТНУ), и/или химической реакции (НПХ-ОХТ, НПХ-ТНУ). Для диад, представляющих собой пары диастереомеров, часто наблюдалась стереодифференциация; авторы связывают это со стерическими эффектами, обусловленными различным расположением электронных облаков двух хиральных

центров. Авторы считают, что область применения диад может быть расширена с уклоном в сторону синтеза новых диад с ключевыми единицами, присутствующими в липидах, белках или нуклеиновых кислотах, с целью их использования в качестве моделей для исследования взаимодействий лекарств с биомолекулами, ответственными за фармакологические и токсикологические свойства NPX [72].

Именно к этому направлению и обратились авторы в своих последующих исследованиях. В работе [66] проводилось измерение флуоресценции в модельных системах «NPX-аминокислота» и в супрамолекулярных системах, где NPX был связан с сывороточным альбумином (бычьим и человеческим) (по аналогии с работой [61], рассмотренной выше) с целью определить расстояния, на которых происходит перенос энергии между белком и лекарством. Здесь также использовались ароматические аминокислоты в качестве партнеров, структуры представлены на рис. 36.

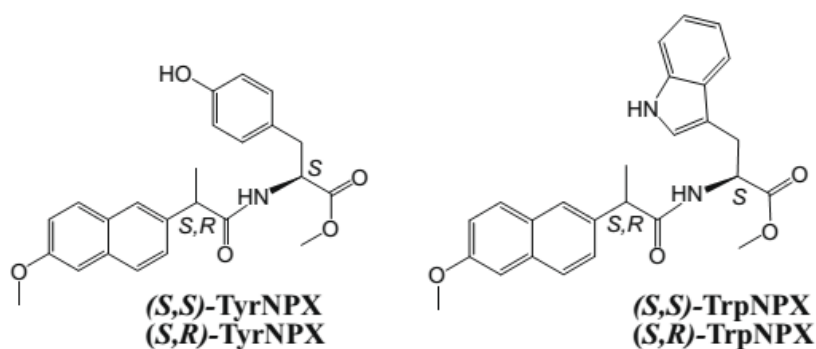


Рис. 36. Структура связанных систем Tyr-NPX и Trp-NPX

В супрамолекулярных системах изучался перенос энергии с белка на NPX, и было установлено, что эффективность этого переноса достаточно мала (~7%). Также, в предположении Фёрстеровского механизма переноса энергии, было рассчитано расстояние, на котором происходит перенос энергии, оно составило порядка 24Å. Затем эти данные сравнивались с данными по модельным системам. Для Tyr-NPX и Trp-NPX диад был зарегистрирован значительный перенос синглетной энергии, расстояния для переноса энергии у них заметно короче (~9-11Å). Для диастереомеров Trp-NPX диады была получена заметная стереодифференциация квантовых выходов флуоресценции, которая требует дальнейшего изучения, по мнению авторов. Скорее всего, она связана с высокоселективным внутримолекулярным тушением возбужденного синглетного состояния диады. Также, основываясь на значительном уменьшении времен жизни

флуоресценции диад ($\tau_{(S,R)}=1,5\text{нс}$, $\tau_{(S,S)}=3,1\text{нс}$) по сравнению со свободным (S)-NPX (11нс), была выдвинута гипотеза об образовании эксиплекса в этой системе [66].

Эта работа получила дальнейшее развитие в статье [73], посвященной изучению процессов фотоокисления в связанных системах NPX с аминокислотами: гистидином, триптофаном и тирозином (структуры представлены на рис. 37.).

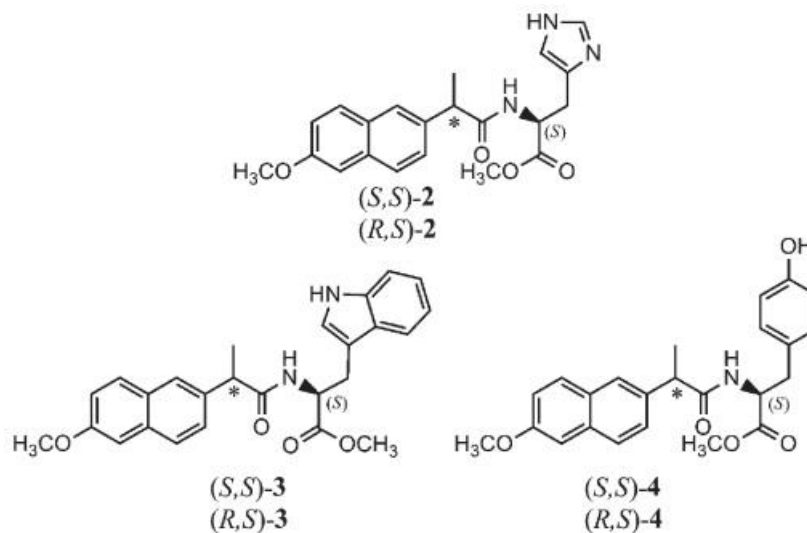


Рис. 37. Структура связанных систем NPX-His (2), NPX-Trp (3) и NPX-Tyr (4)

В этой работе авторы использовали для исследования методы: импульсного фотолиза, флуоресценции и стационарного облучения. Системы с His показали наибольшую реакционную способность по отношению к кислороду. При этом фоторазложение происходит быстрее в равновесном растворе (с воздухом), чем в растворах барботированных кислородом.

Спектры флуоресценции диад с His соответствуют свободному NPX, и также значительно подвергаются тушению кислородом, что приводит к ослабленному продуцированию NPX в триплетном состоянии ($^3\text{NPX}^*\text{-His}$). СВЭЖХ-МС анализ фотопродуктов NPX-His и NPX-Trp показал, что в обоих случаях образуются 2 фотопродукта из реакции аминокислоты с синглетным кислородом ($^1\text{O}_2$).

Отличительной чертой NPX-Trp систем было эффективное ($\phi_{\text{NPX}}=0,47$) стереоселективное внутримолекулярное тушение флуоресценции ($\phi_{RS}(\text{NPX-Trp})=0,04$, $\phi_{SS}(\text{NPX-Trp})=0,09$), которое препятствовало эффективному образованию $^3\text{NPX}^*\text{-Trp}$. Таким образом, авторы объясняют низкую реакционную способность этой системы по отношению к фотоокислению. И, наконец, NPX-Tyr системы оказались практически неактивными и проявляли фотофизические свойства аналогичные самому

напроксену. Авторы считают, что хотя и другие конкурирующие фотопроцессы, в принципе, могут рассматриваться (например, перенос заряда при тушении триптофаном), все полученные результаты, рассмотренные в данной статье, указывают на механизм фотоокисления 2 типа, который инициируется генерацией $^1\text{O}_2$ из хромофора $^3\text{NPX}^*$ [73].

Помимо прочего, в 2015 году вышла статья [74] о диастереомерах триад, содержащих напроксен, амин и нафталин (S,S)-/ (S,R)-NPX-NH-NP. В этой работе авторы синтезировали вещества таким образом, чтобы электронно-донорная часть амина была интегрирована в мостик и соединяла, таким образом, два хромофора рис. 38.

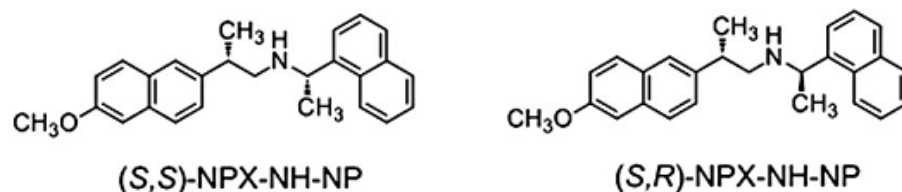


Рис. 38. Структура связанных систем (S,S)-/(S,R)-NPX-NH-NP

Были выполнены фотофизические исследования (стационарная и время-разрешенная флуоресценция) в растворителях различной полярности. В результате была обнаружена значимая стереодифференциация в процессе внутримолекулярного тушения флуоресценции в ацетонитриле ($\phi_{(S,S)}=0,13$, $\tau_{(S,S)}=5,33\text{нс}$, $\phi_{(S,R)}=0,09$, $\tau_{(S,R)}=2,39\text{нс}$). Из этих данных были рассчитаны константы скорости фотоиндуцированного переноса электрона (ФПЭ): ($k_{\text{ФПЭ}}(S,S)=1,21 \cdot 10^8 \text{с}^{-1}$, $k_{\text{ФПЭ}}(S,R)=3,52 \cdot 10^8 \text{с}^{-1}$) в ацетонитриле. А в неполярном растворителе *n*-гексане перенос электрона не происходит. Авторами было установлено, что происходит высокоэффективный перенос энергии с нафталина на напроксен. Методом лазерного импульсного фотолиза были зарегистрированы катион-радикал производных нафталина, которые также тушились амином даже с большей степенью стереодифференциации. Все результаты были подтверждены термодинамическими расчетами, которые показали, что (ФПЭ) является основным путем тушения в ацетонитриле, а в *n*-гексане он термодинамически невыгоден ($\Delta G_{\text{ФПЭ}}=+1,17\text{эВ}$). Более того, с помощью DFT расчётов авторам удалось объяснить экспериментально наблюдаемый эффект стереодифференциации, поскольку (S,R)-NPX-NH-NP демонстрирует более короткое среднее расстояние между хромофорами, чем (S,S)-. Это удаётся достичь благодаря тому, что молекула (S,R)- принимает свёрнутую

конформацию, в которой стерическое затруднение между метильной группой и аминным мостиком минимально. В результате работы была предложена схема основных фотофизических процессов, происходящих в системе при возбуждении на длине волны 308 нм рис. 39. [74].

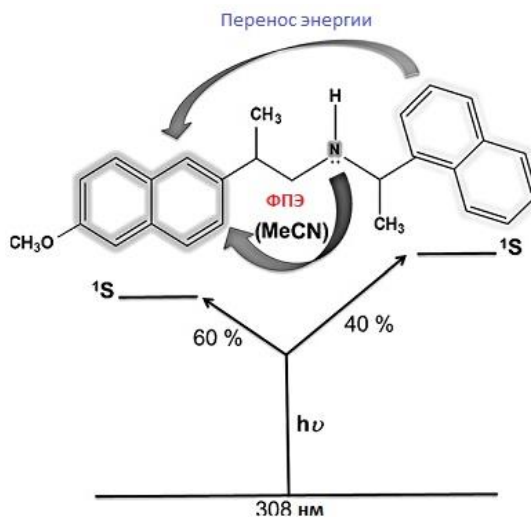


Рис. 39. Схема основных фотофизических процессов, происходящих в триадах при возбуждении на длине волны 308 нм

1.3. Заключение к Главе 1 и постановка задачи

Как следует из данных настоящего обзора, во многих связанных системах с участием нестероидных противовоспалительных препаратов фотооблучение приводит к эффективному тушению хромофора его партнером по механизму переноса энергии или электрона. При этом последний фактически только постулируется на основании самого факта тушения и оценки термодинамических характеристик исследуемых систем. Наблюдение эксиплексов в ряде систем позволяет предполагать также возможность протекания процессов с частичным переносом заряда.

Поскольку при взаимодействии НПВП с ферментом ЦОГ-2 в живых организмах предположительно играют роль донорно-акцепторные взаимодействия, то образование состояний с частичным и полным переносом заряда в диадах представляет значительный интерес. Как уже упоминалось выше, использование фото процессов для моделирования взаимодействия молекул лекарств с аминокислотными остатками в активных сайтах ферментов и рецепторов широко применяется в литературе. Поэтому целью настоящей работы, вытекающей из данных литературного обзора, является получение доказательств существования стадий с частичным и полным переносом

заряда при фотоиндуцированном взаимодействии одного из НПВП – (S)-напроксена и его (R)-изомера с хиральным донором электрона в диадах, где донор и акцептор связаны различными мостиками. Для этого в диссертации используется комбинация одного из самых информативных методов исследования короткоживущих парамагнитных частиц – химической поляризации ядер и время-разрешенной флуоресценции.

Целью настоящей работы является изучение методами спиновой химии и фотохимии различий в реакционной способности хиральных энантиомеров напроксена с помощью модельных процессов с фотоиндуцированным переносом заряда.

Глава 2. Экспериментальная часть

2.1. Материалы и реактивы

Среди объектов нашего исследования были диады, где донорная и акцепторная группировки связаны друг с другом различными хиральными мостиками рис. 40: [R, S]-((S)-1-метилпирролидин-2-ил)-метил 2-(6-метоксинафталин-2-ил)пропионат (>99%, (R,S)-/(S,S)-NPX-Pyr или **2a/2b**), ((S)-1-метилпирролидин-2-ил) метил 4-([R, S]-2-(6-метоксинафталин-2-ил)пропанамид) бутират (>99%, (R,S)-/(S,S)-NPX-AA-Pyr или **3a/3b**), (1R, 3S)-((S)-1-метилпирролидин-2-ил) метил 3-([R, S]-2-(6-метоксинафталин-2-ил)пропанамид) циклопентанкарбоксилат (>99%, (R,S)-/(S,S)-NPX-CyAA-Pyr или **4a/4b**). Все они были любезно предоставлены нашими испанскими коллегами из лаборатории проф. М. А. Миранды Политехнического Университета Валенсии, чистота веществ проверялась высокоэффективной жидкостной хроматографией.

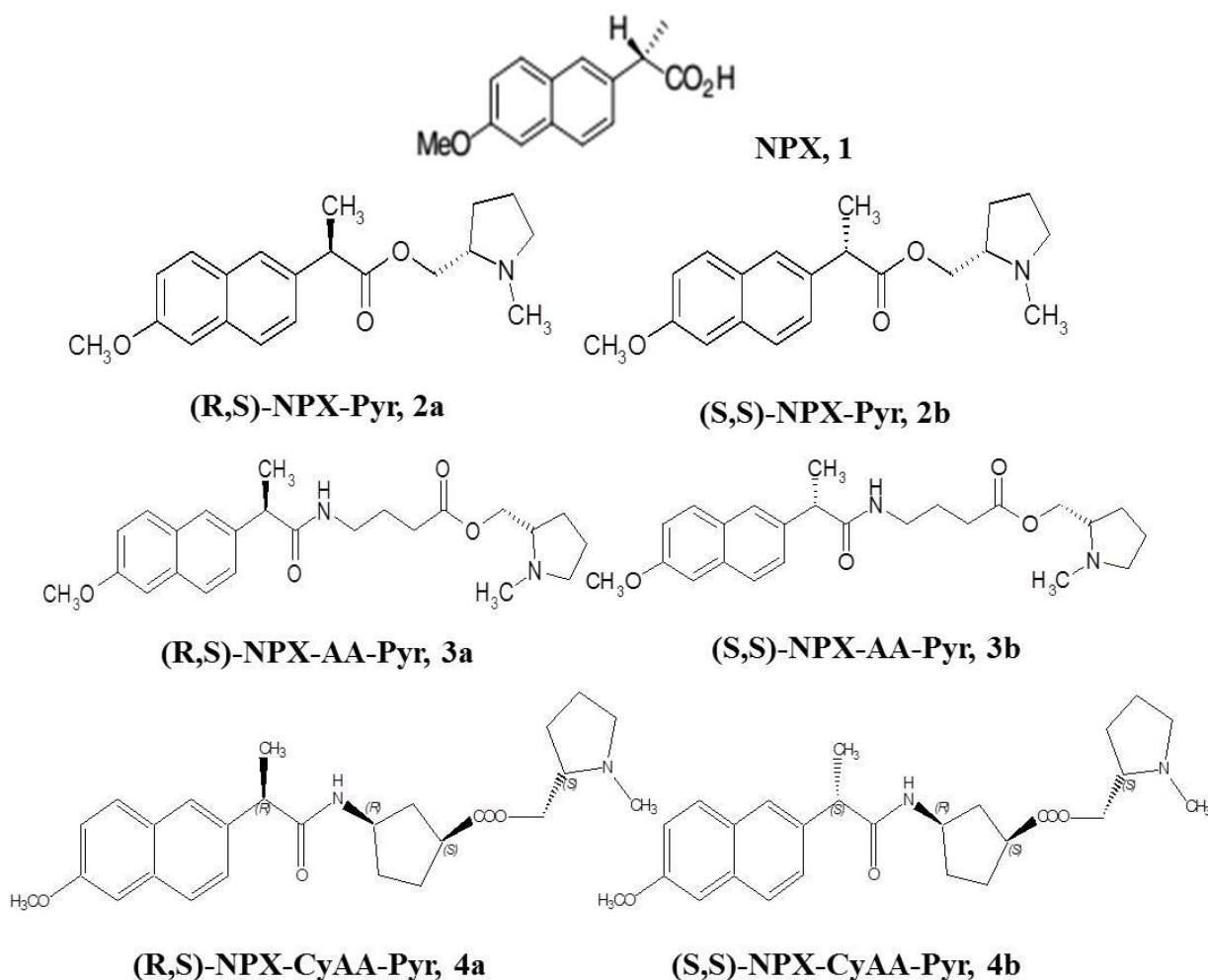


Рис. 40. Структуры исследуемых связанных систем

Исследуемые системы с двумя хиральными центрами имеют одинаковые донорный (N-метилпирролидиновый остаток) и акцепторный (напроксеновый) фрагменты, но различные мостики: **2 (a,b)** короткий мостик, **3 (a,b)** длинный гибкий мостик, **4 (a,b)** жесткий мостик.

Для экспериментов по бимолекулярному тушению в растворе были использованы: метиловый эфир напроксена и ацетат N-метилпирролидинметанола (оба были синтезированы в группе СПАС ИХКГ СО РАН А. А. Степановым), диметилнафталин и триэтиламин (ТЭА, Sigma-Aldrich). Дейтерированные растворители - ацетонитрил CD_3CN (D 99,8%) и бензол C_6D_6 (D 99,5%, были приобретены в Sigma-Aldrich. Также использовались протон-содержащие аналоги: ацетонитрил (Криохром, сорт 0, УФ поглощение на 200нм 0,1/см) и бензол (Союзхимпром, хч, массовая доля основного вещества не менее 99,8%).

2.2. Методы исследования

2.2.1. Метод Химической Поляризации Ядер (ХПЯ) в квазистационарном и время-разрешенном вариантах, приготовление растворов

ЯМР спектры регистрировались на спектрометре Bruker DPX 200 (магнитное поле 4.7Тл, резонансная частота 200МГц для 1H , $\tau(90^0)=5,8\mu\text{с}$), который оборудован фотохимическим датчиком. Блок-схема экспериментальной установки представлена на рис. 41.

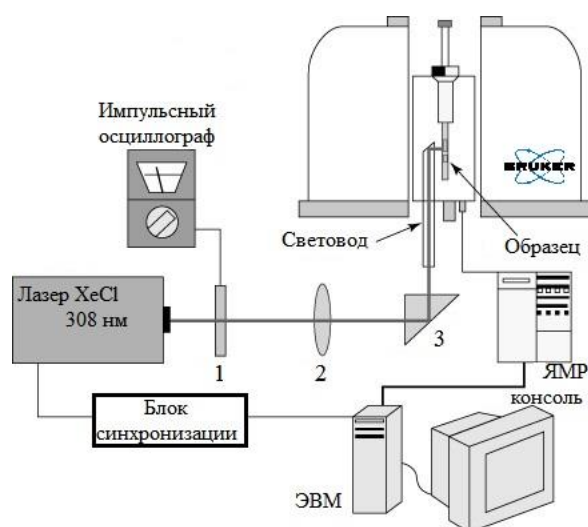


Рис. 41. Блок-схема ЯМР спектрометра, приспособленного для фотохимических исследований.

1 – измеритель мощности, 2 – длиннофокусная собирающая линза, 3 – призма

В качестве источника света использовался эксимерный лазер Lambda-Physik EMG 101 (рабочая смесь ХеСl, $\lambda_{возб}=308\text{нм}$, энергия импульса 100мДж, длительность импульса 15нс). УФ-импульс лазера и регистрирующий радиочастотный импульс (РЧ) ЯМР спектрометра синхронизованы по времени. Лазерный луч собирается длиннофокусной линзой, после чего отражается призмой в световод, по которому свет проходит непосредственно в датчик спектрометра, где находится ампула с исследуемым образцом. Все оптические элементы, а также ЯМР ампула изготовлены из кварца, поскольку длина волны излучения лежит в УФ области, где кварц поглощает мало. Излучение попадает лишь в локальную область ампулы с образцом, подводимая энергия к образцу составляет примерно 20мДж (этого достаточно для инициирования фотореакции).

Для измерения спектров ХПЯ использовались импульсные последовательности, позволяющие проводить эксперименты как с временным разрешением [75], так и в квазистационарных условиях [76]. Диаграмма время-разрешенного эксперимента приведена на рис. 42., а квазистационарного на рис. 43. Максимальное временное разрешение метода рис. 42. определяется длительностью детектирующего радиочастотного (РЧ) импульса ($\sim 1\text{мкс}$).

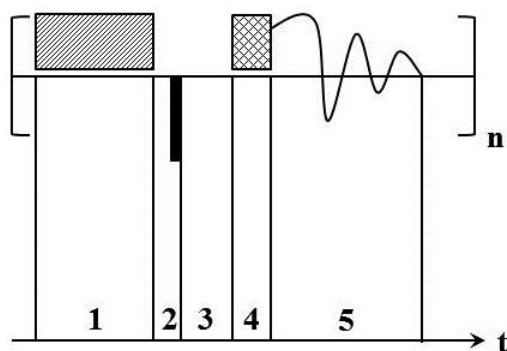


Рис. 42. Временная диаграмма время-разрешенной импульсной последовательности.

- 1 – импульс неселективного преднасыщения равновесных сигналов (предназначен для подавления равновесного сигнала исходных соединений);
- 2 – лазерный импульс, инициирующий фотохимическую реакцию (15нс);
- 3 – варьируемая временная задержка (0–500мкс), задаваемая с шагом 50нс;
- 4 – РЧ импульс регистрации длительностью 2–4мкс;
- 5 – регистрируемый спад свободной индукции

Применение неселективного преднасыщения равновесной намагниченности дает возможность наблюдать только поляризованные сигналы и избавиться от сигналов исходных соединений в поляризованных спектрах. Варьирование задержки от лазерного импульса до РЧ-импульса регистрации при используемом временном разрешении дает возможность надежно разделить вклады от первичных радикальных пар (нулевая задержка) и процессов в объеме (~50мкс).

В том случае, когда интенсивность поляризации недостаточна для проведения время-разрешенных экспериментов, можно также применять квазистационарный вариант рис. 43.

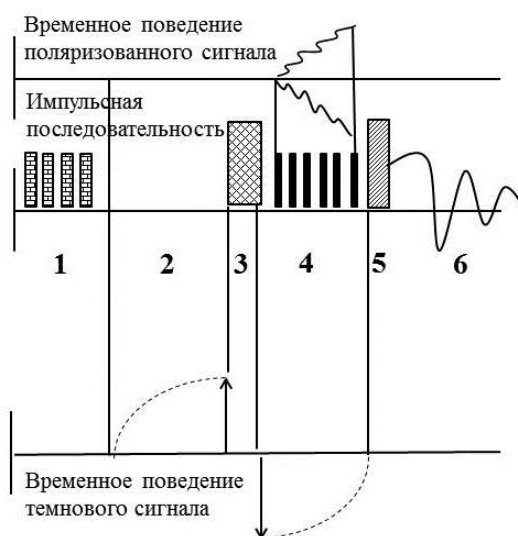


Рис. 43. Временная диаграмма квазистационарной импульсной последовательности.

- 1 – процедура преднасыщения, аналогичная время-разрешенному эксперименту;
- 2 – временная задержка $T (2,56с) < T_1(3-50с, \text{ характерное время релаксации ядер диамагнитных соединений})$;
- 3 – 180° -радиочастотный импульс;
- 4 – 32 импульса лазера с задержкой между ними $t (0,08с)$, общей продолжительностью $T (2,56с)$;
- 5 – регистрирующий радиочастотный импульс;
- 6 – регистрируемый спад свободной индукции

Преимущество квазистационарного эксперимента перед время-разрешенным в том, что он существенно повышает отношение «сигнал-шум.» Временные задержки T и t рис. 43. подбираются таким образом, чтобы $T=32 \times t$, что необходимо для того, чтобы импульсы лазера не попадали более одного раза в одну и ту же область вращающегося образца, также это позволяет минимизировать темновой сигнал. Однако полностью исключить темновые сигналы удастся не всегда. Поэтому дополнительно записывался

спектр по такой же квазистационарной схеме эксперимента, но без засветки лазером, этот темновой спектр затем вычитался из спектра ХПЯ, таким образом получался спектр с только поляризованными сигналами. Для контроля фотостабильности исходного образца после ХПЯ экспериментов всегда записывался ЯМР спектр облученного образца.

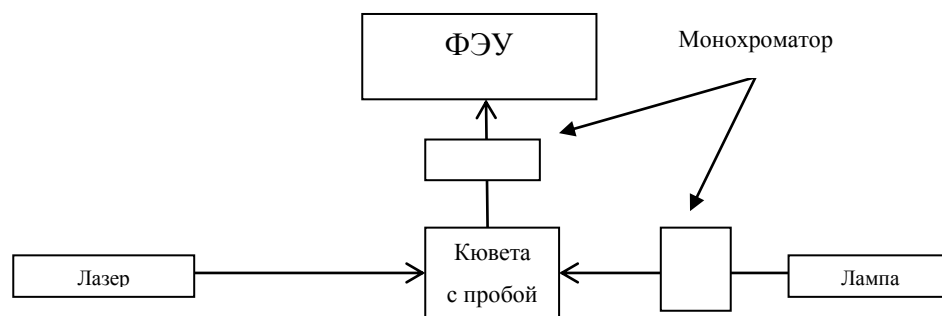
Для исследования ХПЯ диад готовились рабочие растворы с концентрацией $5,0 \cdot 10^{-3} \text{M}$ (такая концентрация выбиралась для того, чтобы не проявлялись бимолекулярные процессы) в растворителях: дейтероацетонитрил (D 99,8%, $\epsilon=36,8$ [77]) и дейтеробензол (D 99,5%, $\epsilon=2,28$ [78]). Для получения зависимостей ХПЯ от полярности, рабочие растворы с равными концентрациями смешивались в разных объемных пропорциях, значение диэлектрической проницаемости среды для смеси при температуре 20°C известны из литературы [79]. Для дегазирования растворов проводилось барботирование аргоном в течение 15 минут. Все измерения проводились при комнатной температуре.

2.2.2. Оптические методы: спектрофотометрия, флуоресценция (стационарная и время-разрешенная), методика для точного измерения квантовых выходов эксиплексов, приготовление растворов, математическое моделирование время-разрешенных экспериментов

Измерение спектров и кинетических кривых тушения флуоресценции проводились на спектрофлуориметре FLS920 фирмы Edinburg instruments с высокой чувствительностью и высоким спектральным разрешением. Спектрофлуориметр включает в себя: ксеноновую дуговую лампу CW450Вт; монохроматоры возбуждения и регистрации с компьютерным управлением и регулировкой щели со спектральным разрешением до 0,06 нм; фотоумножитель на микроканальной пластине с холодильниками Пельтье. Конструкция спектрофлуориметра позволяет существенно подавить рассеянный свет. Для подавления второй гармоники (недостаток дифракционных решеток), искажающей спектры люминесценции, после образца помещали фильтры, которые задерживали возбуждающее излучение (первая гармоника).

При регистрации кинетических кривых тушения люминесценции использовали лазерные диоды EPLED, излучающих на длинах волн 250, 280, 300, 320 нм с

длительностью импульса 0.6–0.75нс (спектральная ширина импульса ~5 нм) и диодный лазер EPL-375 (излучение на 375 нм, длительность импульса 60 пс). Регистрация светового импульса, рассеянного матовым кварцевым стеклом, позволяет определять аппаратную функцию регистрирующей системы (АФ). Обработка кинетических кривых (программы фирмы Edinburg Instruments – DATA PROCESSING и FAST) совместно с АФ за счет математической свертки позволяет определять времена фотофизических процессов с разрешением около 20 пс (при использовании лазера EPL-375) и 100 пс (при



облучении образцов лазерными диодами EPLED). Блок-схема установки представлена на рис.44.

Рис. 44. Блок-схема спектрофлуориметра

Для исследования спектров флуоресценции диады были приготовлены растворы с концентрацией $1 \cdot 10^{-4} \text{M}$ (такая концентрация выбиралась для того, чтобы оптическая плотность поглощающего вещества на длине волны возбуждения составляла $D \sim 0,1$) в различных растворителях: ацетонитрил ($\epsilon=36,8$ [77]) и бензол ($\epsilon=2,28$ [78]). Для получения зависимостей квантового выхода и времен жизни флуоресценции от полярности, рабочие растворы с равными концентрациями смешивались в разных объемных пропорциях, значение диэлектрической проницаемости среды для смеси при температуре 20°C известны из литературы [79]. Для удаления кислорода растворы барботировали аргоном в течение 30мин (длительность была установлена по эксперименту с чувствительным к наличию кислорода NPX, контроль осуществлялся по время-разрешенному эксперименту – сравнению времен жизни люминесценции). Все измерения проводились в кювете для анаэробных исследований при комнатной температуре.

Оптическая чистота растворителя и оптическая плотность вещества в ходе эксперимента контролировалась с помощью спектрофотометра Agilent8453.

Коэффициенты экстинкции для диад были измерены по четырём точкам, погрешность измерения не превышала 1%.

Для регистрации спектров флуоресценции спектральная ширина щели монохроматора (далее просто ширина щели) составляла (1-3) нм, длина волны возбуждения $\lambda_{\text{возб}}=320\text{нм}$.

Для регистрации временных зависимостей флуоресценции ширина щели монохроматора составляла 20нм (ширина полос люминесценции хромофоров и эксиплексов существенно превышала 20 нм). Регистрация производилась в максимумах полос люминесценции хромофора и эксиплекса. Для напроксена (и напроксена в диадах) максимум полосы люминесценции не зависит от полярности растворителя и расположен на 351нм, максимум полосы излучения эксиплексов в диадах зависит от полярности среды и меняется в диапазоне от 450 до 520нм.

Для точного измерения маленьких величин квантовых выходов эксиплекса совместно с проф. В. Ф. Плюсиным была отработана специальная методика. Сначала была проведена калибровка интенсивности спектра от ширины щели. Для этого записывался спектр люминесценции сначала при входной и выходной щели в 1нм рис. 45.

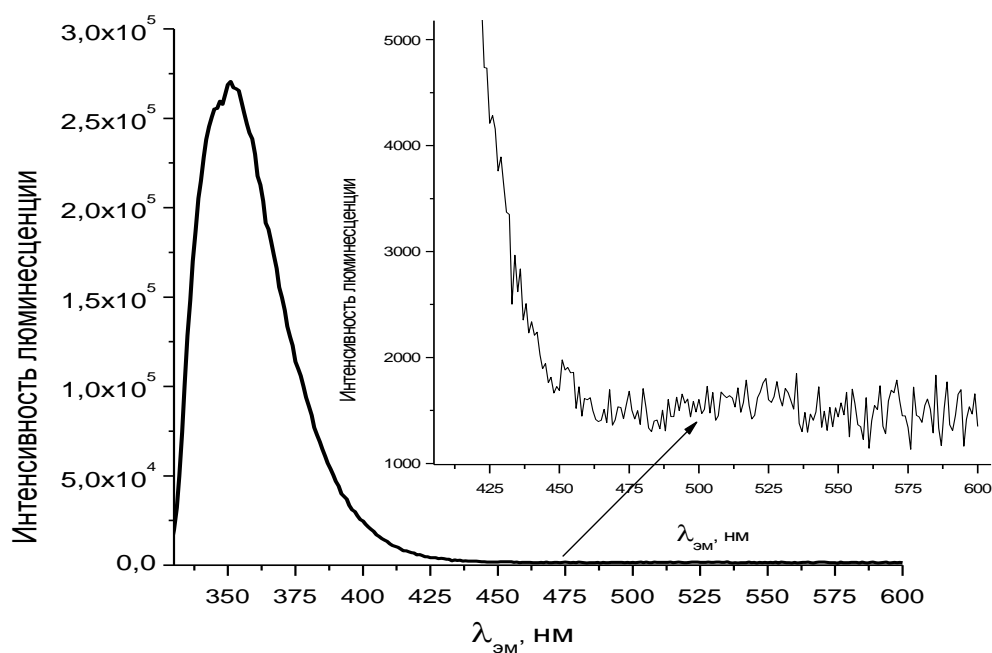


Рис. 45. Спектр люминесценции диады (R,S)-NPX-AA-Пур, **3a** в ацетонитриле при спектральных щелях 1нм, $\lambda_{\text{возб}} = 320 \text{ нм}$;

на врезке показана область от 420 до 600 нм, увеличенная в 60 раз, на ней предположительно находится полоса эксиплекса

На этом рисунке полоса эксиплекса, из-за его малого количества в полярном растворителе ацетонитриле, едва заметна. Кроме того, в длинноволновой области на спектр эксиплекса накладывается плечо от возбуждающего излучения (прямого и частично рассеянного в кюветном отделении), проникающего на ФЭУ во втором порядке диффракционной решетки (при возбуждении на 320 нм второй порядок на 640 нм). По этой причине рассчитать площадь (интеграл) полосы эксиплекса (и его квантовый выход) не представляется возможным.

Для того, чтобы более контрастно выделить полосу эксиплекса были проведены измерения интегральной интенсивности люминесценции (на примере полосы напроксена) в зависимости от спектральной ширины щелей (рис. 46). Использование этой зависимости позволило "сшить" спектр полосы напроксена с максимумом на 351 нм (снятой при небольших щелях) и полосы эксиплекса, зарегистрированной при щелях 2 нм (для увеличения интенсивности излучения эксиплекса).

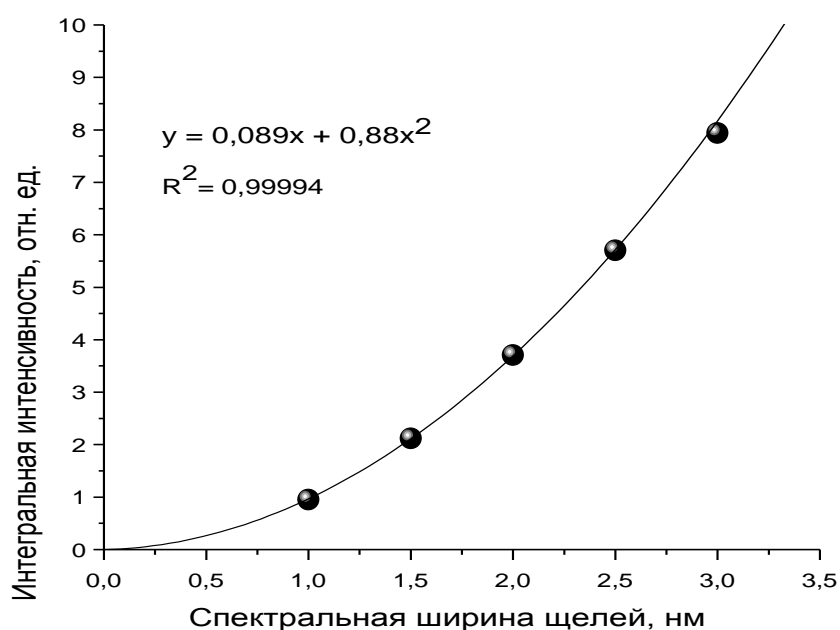


Рис.46. Калибровочная зависимость интенсивности спектра люминесценции от спектральной ширины щелей (щели возбуждающего и регистрирующего монохроматоров одинаковы)

Важно отметить, что при больших спектральных ширинах щелей возбуждающего и регистрирующего монохроматоров для соединений с высоким квантовым выходом

интенсивная люминесценция может насыщать фотокатод ФЭУ и переводить его в нелинейную область регистрации. Для регистрирующей системы спектрофлуориметра FLS920, работающей в режиме счета фотонов, насыщение наступало при скорости счета примерно $6 \cdot 10^6$ отсчетов. По этой причине при регистрации люминесценции напроксена и диад спектральная ширина щелей для полосы на 351 нм выбиралась в 1 нм. Для исключения из спектров люминесценции эксиплексов возбуждающего излучения (300–320 нм) при широких щелях (2–3 нм), проникающего на ФЭУ во втором порядке дифракционной решетки, при записи спектров (400–600 нм) использовали фильтр, пропускающий излучение с длиной волны больше 395 нм (оптическая плотность в области 300–320 нм этого фильтра больше 4). Комбинация спектров люминесценции, записанных без фильтра и с фильтром, отсекающим второй порядок (с учётом нормировки на спектр поглощения самого фильтра) были получены скорректированные спектры эксиплекса (пример такого улучшенного спектра представлен во вставке на рис. 47).

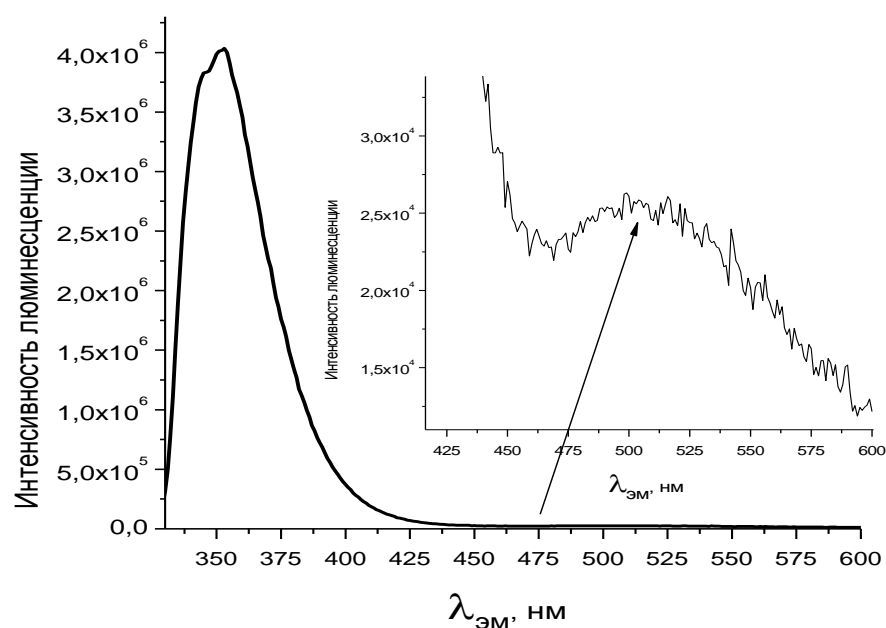


Рис. 47. *Корректированный спектр люминесценции диады (R,S)-NPX-AA-Рур, 3а в ацетонитриле (полоса эксиплекса регистрировалась при щелях 2 и 2 нм, $\lambda_{\text{возб}} = 320$ нм); во вставке показана полоса люминесценции эксиплекса с увеличением в 100 раз*

Таким образом, интегральная интенсивность полос испускания локального возбуждённого состояния NPX в диаде и эксиплекса рассчитывались по отдельности.

Для основной полосы рассчитывался интеграл при заданном диапазоне (330–450нм). Для эксиплекса полоса умножалась на соответствующий коэффициент с использованием калибровочной кривой (рис. 46). Поскольку его полоса перекрывается с основной полосой (351 нм), сначала полоса эксиплекса в области, где перекрывание отсутствует, моделировалась функцией Гаусса (пример представлен в результатах главы 4, раздел 4.1, рис.58.), а затем полученная полная Гауссова полоса интегрировалась по всему спектральному диапазону, справа и слева от максимума. Квантовые выходы флуоресценции рассчитывались согласно стандартной методике [80]. Согласно этой методике квантовый выход рассчитывается относительно известного стандарта, структурно похожего на исследуемое соединение (в данном случае NPX, $\varphi_{NPX}=0,47$ [67]) по формуле (1):

$$\varphi_D = \frac{A_{ст} \cdot F_D \cdot n_D^2}{A_D \cdot F_{ст} \cdot n_{ст}^2} \cdot \varphi_{ст}, \quad (1)$$

где φ – квантовый выход флуоресценции, A – поглощение вещества на длине волны возбуждения флуоресценции (320нм), F – площадь под спектром флуоресценции, n – показатель преломления растворителя; индекс D соответствует величинам, соответствующим диадам, а $ст$ – стандарту. Данная методика позволяет учитывать разные растворители, небольшую разницу в концентрациях стандарта и исследуемого соединения.

Полученные кинетические кривые моделировались решением системы дифференциальных уравнений для соответствующей системы. Моделирование осуществлялось при помощи программного обеспечения SPARK, основанного на численном решении системы дифференциальных уравнений методом Рунге-Кутты четвертого порядка [81]. SPARK позволяет одновременно проводить расчёт и выводить графическое решение на нескольких длинах волн (кинетические кривые основной полосы и эксиплекса). Рассчитанные кинетические кривые сопоставлялись с имеющимися экспериментальными кривыми. Эти расчеты позволили определить константы скорости фотофизических процессов и оценить адекватность предлагаемых моделей элементарных стадий.

Глава 3. Использование метода ХПЯ для изучения процессов с переносом заряда в диадах с напроксом (NPX)

3.1. Связанная система с коротким мостиком NPX-Пург

Для подтверждения гипотезы о внутримолекулярном переносе электрона в диаде (R,S)- и (S,S)-NPX-Пург (**2a** и **2b**) были измерены эффекты ХПЯ в высоких магнитных полях в дейтероацетонитриле. На рис. 48. представлены стационарный ЯМР и поляризованный спектры на примере (R,S)-диастереоизомера, также на нем отнесены поляризованные сигналы [82].

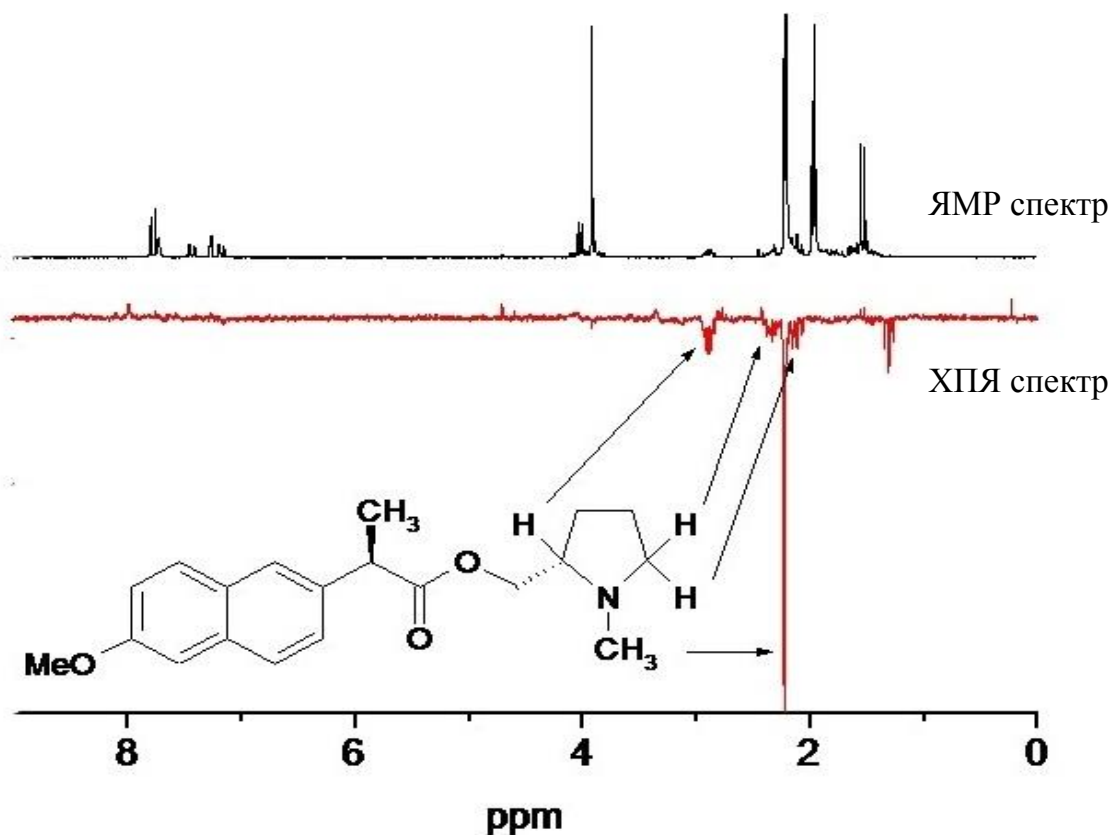


Рис. 48. ЯМР и ХПЯ спектры (R,S) NPX-Пург, **2a** в дейтероацетонитриле

Поляризация на исходном соединении наблюдается на метильных, метиленовых и метиновых протонах пирролидинового фрагмента диады. В промежуточном бирадикале цвиттер-ионе (БЦ), который образуется в акте внутримолекулярного переноса электрона, максимальных констант сверхтонкого взаимодействия (СТВ) можно ожидать именно для катион-радикала N-метилпирролидина: 2,9мТл [59]), Константы СТВ анион-радикала метоксинафталина находятся в районе 0,5мТл [59]). Проявление ХПЯ на протонах исходного соединения позволяет предположить, что эта поляризация

сформировалась по т.н. S-T₀-механизму [83]). Возможность проявления этого механизма в диаде **2(a,b)**, в отсутствие продуктов фотолиза, вероятнее всего, обусловлена различиями во вкладах в ХПЯ из S и T спиновых состояний БЦ, вследствие ядерной релаксации долгоживущего триплетного состояния NPX – продукта обратного переноса электрона из триплетного состояния БЦ [82].

Из литературы известно, что реакция переноса электрона чувствительна к изменению полярности среды [84], поэтому для выделения процесса переноса электрона среди других каналов деградации возбужденного состояния было проведено исследование реакции в различных полярностях.

Зависимости эффектов ХПЯ протонов, находящихся в α- положении к атому азота пирролидинового фрагмента, диады **2(a,b)** представлены на рис. 49. Зависимости нормировались на максимум интегральной интенсивности ХПЯ, поскольку на данном этапе устанавливался механизм протекающих фотопроцессов [82,85].

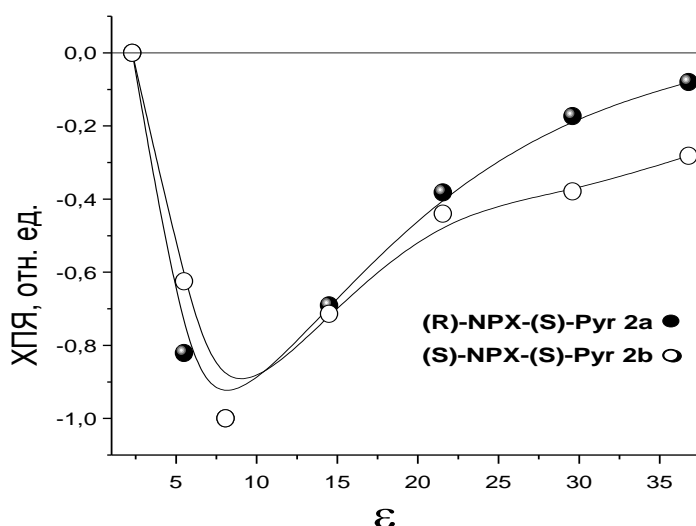


Рис. 49. Зависимость интенсивности ХПЯ от полярности растворителя для диад **2a** (●), **2b** (○)

Такой вид зависимости ХПЯ не характерен для переноса электрона. Согласно классическим представлениям, зависимость квантового выхода разделенной ион-радикальной пары от полярности среды имеет вид сигмоидальной кривой [84]. Именно такой вид зависимости представлен на рисунке для метиленовых протонов триэтиламина (ТЭА), поляризованных в акте обратного переноса электрона в системе синглетно возбужденный диметилнафталин – ТЭА рис. 50 [82,85].

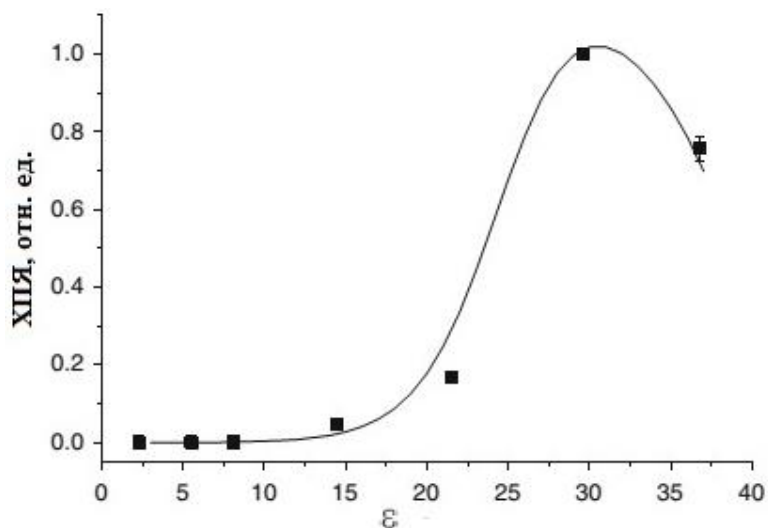


Рис. 50. Зависимость время-разрешённой ХПЯ (задержка $\tau = 1$ мкс) для интенсивности N-CH₂ протонов ТЭА в фотореакции с диметилнафталином от полярности растворителя

Возможность сравнения зависимостей от полярности в диаде NРХ–Руг и в системе «нафталин–ТЭА» обусловлена близостью значений полярографических полувольтных потенциалов окисления-восстановления: E_{red} (метоксинафталина)=2,60В, E_{red} (нафталина)=2,58В и E_{ox} (пирролидина)=1В, E_{ox} (триэтиламина)=0.96В [83]. С целью выявления особенностей молекулярной динамики в связанной системе было проведено также сравнение её зависимости от полярности с зависимостью эффективности ХПЯ от полярности для диффузионного тушения возбуждения метилового эфира напроксена (MeNРХ) двумя донорами – ацетатом N-метилпирролидина (AcРуг) и триэтиламино (ТЭА) рис. 51 [86].

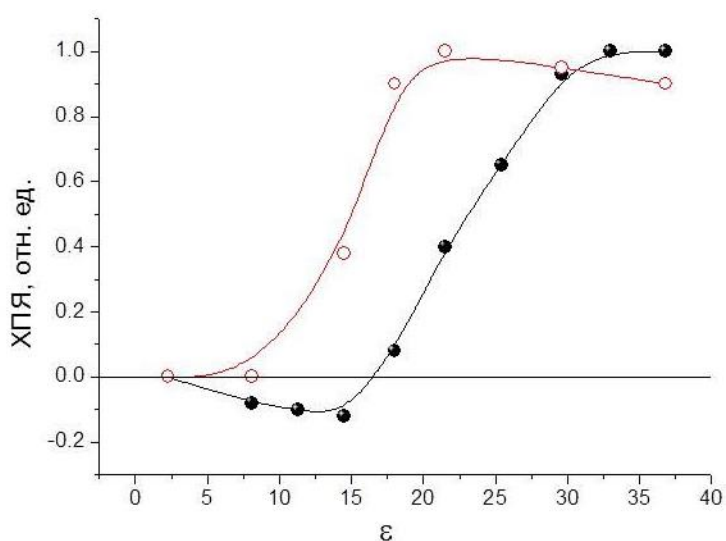


Рис. 51. Зависимость время-разрешённой ХПЯ (задержка $\tau = 1$ мкс) для систем: MeNРХ и ТЭА (○) и MeNРХ и AcРуг (●) от полярности растворителя

В области с высокими значениями диэлектрической проницаемости среды знак ХПЯ для АсРуг и ТЭА противоположен знаку ХПЯ в той же области полярностей для протонов N-метилпирролидинового фрагмента диады **2** рис. 49. Более того, в области с низкими значениями диэлектрической проницаемости среды ($\epsilon < 10$), эффекты ХПЯ наблюдаются только при фотолизе диады или при диффузионном тушении ее аналога: системы MeNPX+АсРуг. При этом зависимость для N-CH₃-протонов АсРуг при его взаимодействии с MeNPX демонстрирует смену знака рис. 51. Все эти факты указывают на наличие дополнительного канала тушения возбужденного состояния NPX в составе диады **2** и в процессе диффузионного тушения. В случае NPX – этим каналом может быть синглетный эксиплекс [82,85].

Можно предположить, что присутствие бирадикал цвиттер-ионов (БЦ) в неполярных растворителях возможно именно благодаря быстрому (сравнимому со временем жизни БЦ) динамическому равновесию между БЦ и эксиплексом [82,85]. Наблюдение магнитных эффектов во флюоресценции эксиплекса связанной системы фенантрен-диметиланилин и супрамолекулярного комплекса Zn (II)-тетрафенилпорфирин с виологеном японские исследователи также связывали с быстрым динамическим равновесием между ион-радикальной парой и эксиплексом [87].

Для оценки эффективности образования ион-радикальной пары и эксиплекса в средах различной полярности в данной системе были выполнены оценки с помощью уравнения Рэма-Веллера (2) [59] для образования ион-радикальной пары и эксиплекса

$$[85]: \Delta G = \left[E_{ox} \left(\frac{D}{D^+} \right) - E_{red} \left(\frac{A^-}{A} \right) \right]_{\epsilon_0} - \frac{e^2}{\epsilon \cdot r} + \Delta G_{solv} - E(^1NPX^*), \quad (2)$$

$$\Delta G_{solv} = \frac{e^2}{2} \left(\frac{1}{R^{D^+}} + \frac{1}{R^{A^-}} \right) \left(\frac{1}{\epsilon} - \frac{1}{\epsilon_0} \right),$$

где ΔG – изменение энергии Гиббса реакции, E_{ox} и E_{red} – стандартные потенциалы окисления восстановления, e – заряд электрона, ϵ – полярность среды, r – расстояние между партнерами, ΔG_{solv} – изменение энергии Гиббса за счет сольватации частиц растворителем, E – потенциал S₁ возбужденного состояния напроксена (3,69эВ), R^{D^+} и R^A – радиусы частиц партнеров, соответственно, ϵ_0 – диэлектрическая проницаемость среды, в которой взяты значения потенциалов окисления/восстановления. Для наших партнеров $E_{ox}(Pyr)=1В$, $E_{red}(метоксинафталина)=2,6В$. Результат представлен на рис. 52 [85].

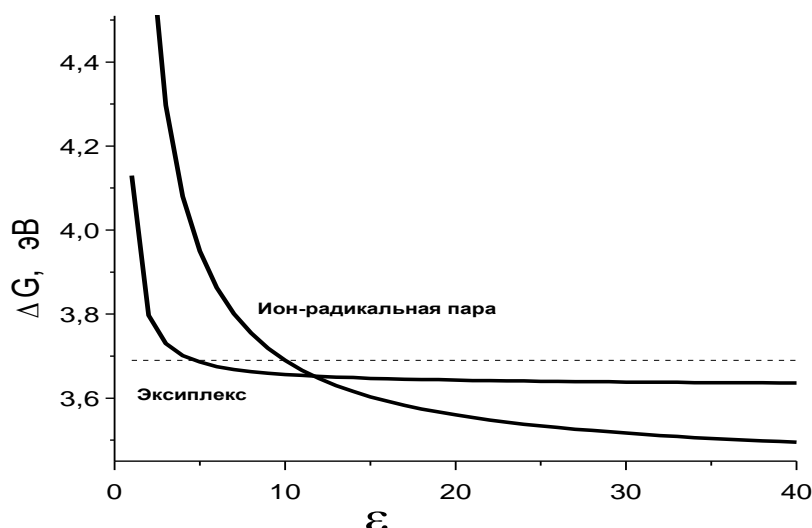


Рис. 52. Зависимости энергии ИРП и эксиплекса от полярности растворителя для диады NPX-Пург.

Энергия синглетного возбужденного состояния NPX показана пунктирной линией

Таким образом, согласно оценкам, в исследуемой системе формирование эксиплекса является наиболее выгодным в неполярных и слабополярных растворителях, а ИРП, в свою очередь, образуется преимущественно в полярных растворителях. Что касается возможности фотоиндуцированного переноса электрона между триплетным возбужденным состоянием напроксена ($E(^3\text{NPX})=2,7\text{эВ}$) и пирролидиновым фрагментом диады, то этот процесс является термодинамически невыгодным ($\Delta G > 0$) [85].

Для понимания того, каким образом существование эксиплекса может оказать влияние не только на проявление эффектов ХПЯ в области слабых полярностей, но и на знак ХПЯ, важно учесть, что во всех рассмотренных системах возможна рекомбинация (обратный перенос электрона) как из основного синглетного (k_S), так и из триплетного возбужденного состояния (k_T). При этом из литературы известно, что в процессе фотоиндуцированного переноса электрона от ТЭА к нафталину в полярной среде величина k_T больше чем k_S [59]. Этому соответствует наблюдение положительной поляризации на метиленовых протонах амина рис. 50 [82,85].

Если сравнивать диаду NPX-Пург и ее аналог – систему «MeNPX+AcPurg», то, как было упомянуто выше, все энергетические характеристики и магнитно-резонансные параметры у них одинаковы; следовательно, можно ожидать одинаковых констант рекомбинации для этих систем. Однако анализ по правилам Каптейна [33] отрицательной поляризации метильных протонов пирролидинового фрагмента диады

однозначно указывает, на то, что в этом случае при тушении возбуждения NPX k_S при всех полярностях больше чем k_T рис. 49. А вот при диффузионном тушении возбужденного состояния эфира напроксена пирролидином синглетная рекомбинация превалирует только в слабых полярностях: на рис. 51. показано, что с ростом полярности ХПЯ меняет знак с абсорбции на эмиссию. Последнее указывает на изменение соотношения между константами рекомбинации из S и T спиновых состояний БЦ. Самым разумным представляется предположение, что это изменение связано с уменьшением вклада эксиплекса в синглетную рекомбинацию с ростом полярности среды. Так, предполагается, что синглетное состояние БЦ гибнет в акте обратного переноса электрона, а также через эксиплекс, с которым он находится в состоянии быстрого динамического равновесия, а именно, его внутреннюю конверсию. Этот дополнительный канал и приводит к кажущемуся увеличению k_S , которое максимально при слабой полярности, где его образование энергетически выгодно рис. 52. Именно этим обусловлено резкое падение ХПЯ в сильнополярных средах, где вклад эксиплекса минимальный, и различие между величинами k_S и k_T стремится к нулю [82,85].

3.2. Связанные системы с гибким NPX-AA-Пур и жёстким NPX-CyAA-Пур мостиками

Также, в данной работе были изучены диады с другими типами мостиков между донором и акцептором; назовём их условно жёсткий и гибкий. В качестве жёсткого мостика была использована (1S, 3R)-3-аминоциклопентановая кислота, а в качестве гибкого – 4-аминобутановая кислота. Отметим, что для всех систем были зарегистрированы эффекты ХПЯ аналогичные вышеописанной диаде **2**. Наблюдая за сигналами N-CH₃-протонов N-метилпирролидинового фрагмента диад, были получены соответствующие зависимости от полярности для диастереомеров диады с гибким ((R,S)-/(S,S)-NPX-AA-Пур, **3 a,b**) и жёстким ((R,S)-/(S,S)-NPX-CyAA-Пур, **4 a,b**) мостиками рис. 53 [18].

Положение экстремума кривых рис. 53. указывает на то, что для этих диад максимальная поляризация формируется при больших значениях диэлектрической проницаемости среды ($\epsilon \sim 11$). Точка максимума соответствует точке пересечения термов бирадикал цвиттер-иона и эксиплекса рис. 52. Таким образом, можно заключить, что в

случае с диадой **2** равновесие сдвинуто в сторону эксиплекса, тогда как для диад с более длинными мостиками **3** и **4** наоборот – в сторону БЦ. Это наблюдение поддерживает распространённую точку зрения, см. например [89], о том, что эксиплекс образуется в тех конфигурациях диады, где имеет место наибольшее сближения донора и акцептора [18].

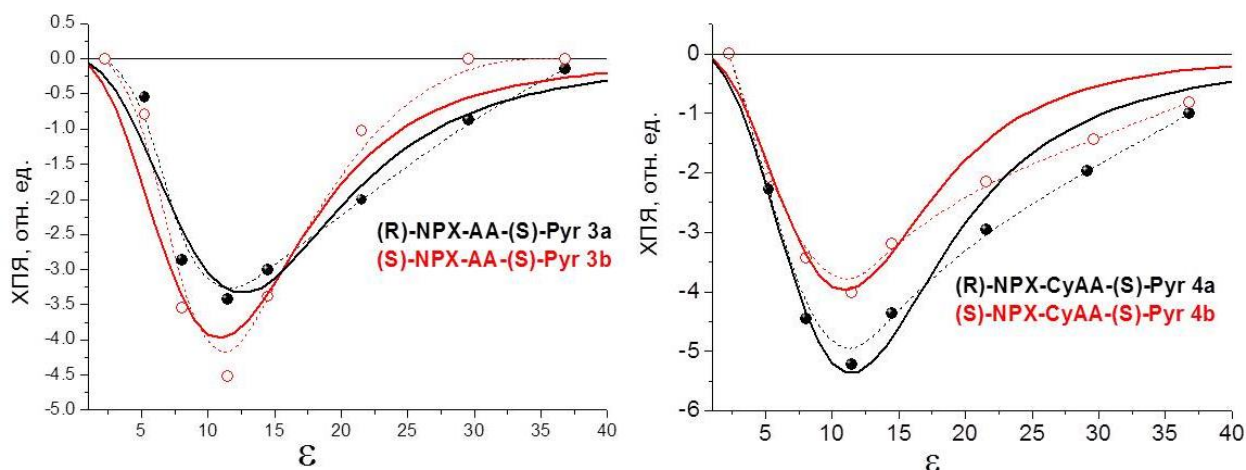


Рис. 53. Зависимость интенсивности ХПЯ от полярности растворителя для диастереомеров диады NPX-AA-Пург (●-3a и ○-3b) слева и NPX-CyAA-Пург (●-4a и ○-4b) справа, сплошными линиями приведены результаты моделирования (обсуждение расчётов в главе 5 разделе 5.1)

Таким образом, согласно данным ХПЯ, во всех исследованных диадах происходит внутримолекулярный перенос электрона. Форма зависимостей эффективности ХПЯ от диэлектрической проницаемости указывает на то, что образовавшийся БЦ находится в состоянии быстрого динамического равновесия с эксиплексом [18].

Глава 4. Исследование люминесценции диад с напроксом

4.1. Связанная система с коротким мостиком NPX-Pyr

Поскольку метод ХПЯ не дает возможность наблюдать эксиплекс напрямую, для того, чтобы подтвердить его участие в исследуемом процессе, а также определить его роль в тушении возбужденного состояния, были использованы возможности оптических методов анализа, а именно – флуоресцентной спектроскопии, которая позволяет зарегистрировать короткоживущие возбужденные состояния.

Спектры поглощения обоих диастереоизомеров (R,S)- и (S,S)-NPX-Pyr **2(a,b)** и метилового эфира (S)- напроксена (для сравнения) представлены на рис. 54 [90].

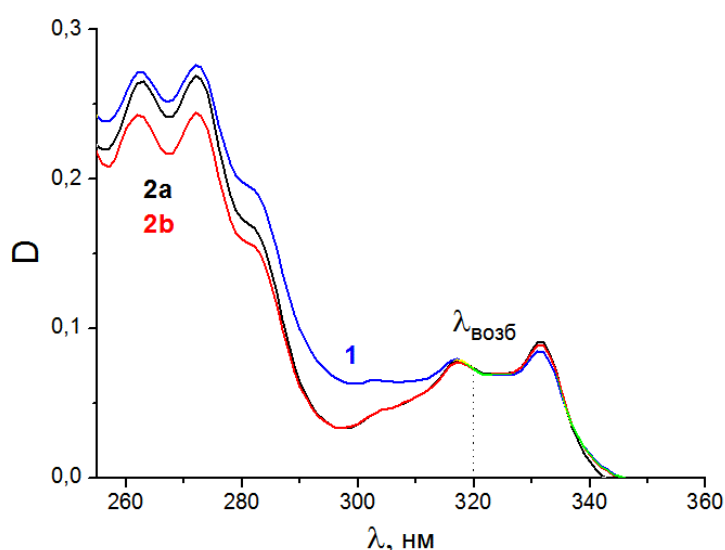


Рис. 54. Спектры поглощения метилового эфира напроксена (**1**,синий), (R,S)-NPX-Pyr (**2a**,чёрный) и (S,S)-NPX-Pyr (**2b**,красный) в ацетонитриле, концентрация составляет $\sim 10^{-4}$ М. Пунктиром отмечена длина волны возбуждения для регистрации спектров и кинетических кривых тушения флуоресценции ($\lambda_{\text{возб}}=320\text{нм}$)

Поскольку хромофором в диаде также является напроксен, спектры поглощения изомеров диады, ожидаемо, близки друг к другу. Полосы поглощения относятся к $\pi\text{-}\pi^*$ типу переходов. Хиральная конфигурация слабо влияет на спектральное распределение и силу осциллятора $\pi\text{-}\pi^*$ переходов [90].

В спектре флуоресценции диады **2** есть две полосы испускания: с максимумом на $\sim 350\text{нм}$ и слабой интенсивности в длинноволновой области. Последнюю, в соответствии с работами [67, 72], можно отнести к эксиплексу рис. 55 [90]. Отметим, что несовпадение положений максимумов полос эксиплекса (с работой [67]), скорее всего,

связано с тем, что авторы использовали аэрированный ацетонитрил (в данной работе непосредственно перед экспериментом все образцы барботировались аргоном для удаления кислорода).

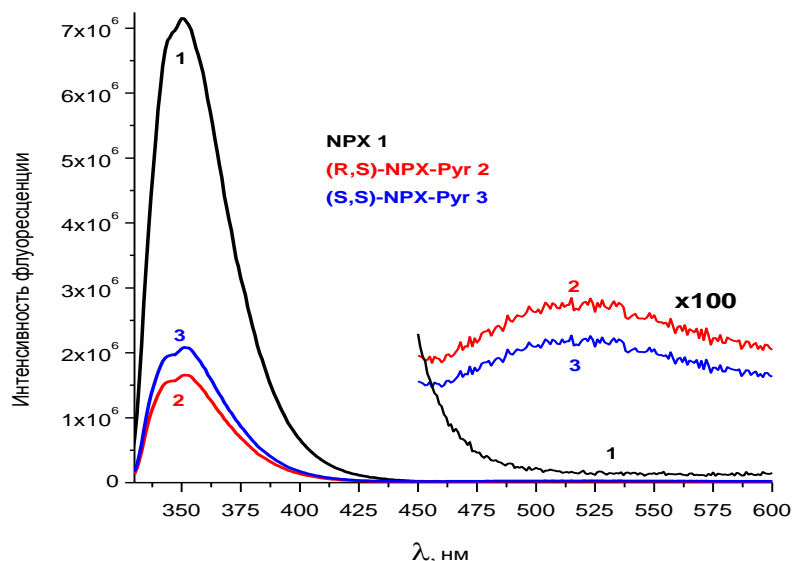


Рис. 55. Спектры флуоресценции диад (R,S)- NPX-Пург (2) и (S,S)-NPX-Пург (3) в ацетонитриле в сравнении с их предшественником напроксеном (1); длина волны возбуждения 320нм, справа приведены увеличенные в 100 раз спектры, на которых видна полоса эксиплекса

Спектры возбуждения для полос на 350 и 520нм были одинаковы и соответствовали возбуждаемой полосе поглощения, что говорит о том, что они образуются из одного и того же хромофора. Поскольку спектры люминесценции у NPX и диады аналогичны, можно предположить, что константы скоростей безызлучательных, излучательных и $S_1 \rightarrow T_1$ переходов также приблизительно равны друг другу. Поэтому ослабление интенсивности люминесценции можно связать с появлением нового канала релаксации возбужденного синглетного состояния – перехода в эксиплекс [90].

Кинетические кривые тушения флуоресценции в максимумах основной полосы и эксиплекса регистрировались также на длине волны возбуждения 320нм. На рис. 56. представлены кинетические кривые для (R,S)-изомера диады 2 в ацетонитриле [90].

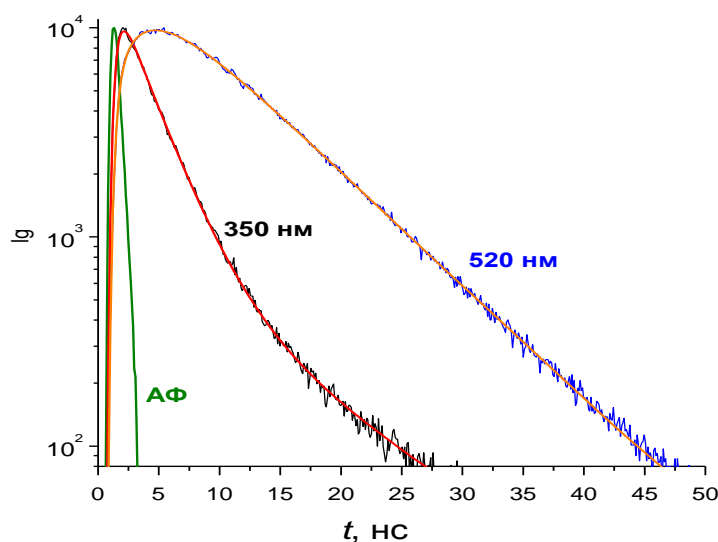


Рис. 56. Кинетические кривые спада флуоресценции диады (R,S)-NPX-Пург, **2а** в дезаэрированном ацетонитриле ($\lambda_{возб}=320\text{нм}$, $\lambda_{набл}$ (нижняя кривая)=350нм, $\lambda_{набл}$ (верхняя кривая)=20нм), *зеленый* – аппаратная функция, *красный* – биэкспоненциальная аппроксимация кривой

Диада, в отличие от самого NPX характеризуется двумя временами жизни флуоресценции – коротким временем 2,71нс (для (R,S)-изомера и 3,36нс для (S,S)-) и длинным 11,2нс (11,4нс), близким к единственному времени жизни флуоресценции самого напроксена (12,8нс). В свою очередь, полоса эксиплекса (на 520нм в ацетонитриле) описывается биэкспоненциальным приближением [90]:

$$A_1 e^{\frac{t}{\tau_{роста}}} + A_2 e^{-\frac{t}{\tau_{гибели}}}, \quad (3)$$

где A_1 и A_2 – вклады экспонент в общую кинетическую кривую, t – время наблюдения, $\tau_{роста}$ – время появления флуоресценции эксиплекса, $\tau_{гибели}$ – время гибели флуоресценции эксиплекса.

Поэтому кинетическую кривую эксиплекса можно разделить условно на 2 участка: роста люминесценции с характерным временем 2,35нс (2,88нс для (S,S)-изомера) и гибели со временем жизни 8,2нс (7,3нс, соответственно) [90].

Таким образом, образование эксиплекса при фотооблучении исследуемой диады можно считать доказанным. Принимая во внимание данные химической поляризации, доказывающие осуществление переноса электрона в этой системе, мы можем составить схему процесса тушения возбуждения хромофора донором N-метилпирролидином,

включающую стадии с частичным (эксиплекс) и полным (бирадикал цвиттер-ион) переносом заряда рис. 57 [90].

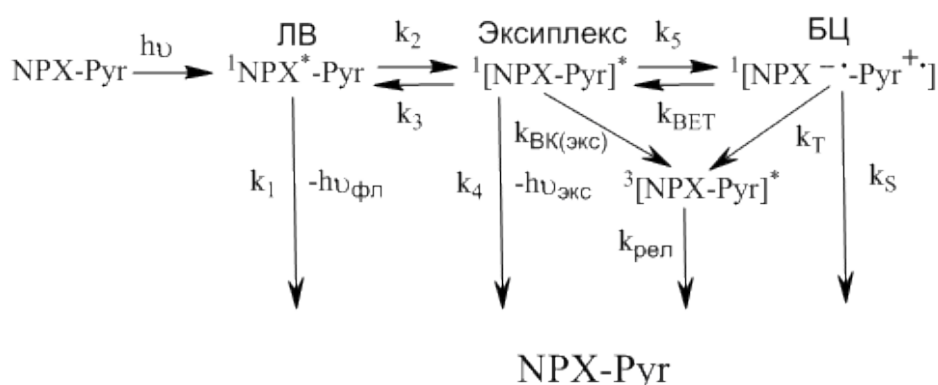


Рис. 57. Кинетическая схема тушения возбужденного состояния диады NPX-Pyr

В данной схеме после фотовозбуждения возникает синглетное локальное возбужденное состояние (ЛВ), которое затем гибнет излучательно (с константой скорости k_1) или безызлучательно (все возбужденные состояния могут безызлучательно возвращаться в исходное состояние, далее не будем это упоминать) и переходит в состояние с частичным переносом заряда (эксиплекс) с константой скорости k_2 . Эксиплекс, в свою очередь, также может гибнуть (k_4) и переходить в состояние с полным переносом заряда (бирадикал цвиттер-ион, БЦ) с константой скорости k_5 , кроме этого, в нём может происходить внутренняя конверсия в триплетное состояние или же, он может вернуться обратно в ЛВ. В представленной схеме процесс перехода эксиплекса в ЛВ - это обратимая стадия. Основанием для этого предположения является близость значений двух времен: времени гибели флуоресценции эксиплекса и второй (длинной) компоненты в биэкспоненциальной кинетической кривой тушения флуоресценции ЛВ $^1\text{NPX}^*$ при всех значениях полярности среды (см. данные табл. 2) [90]. Дополнительные доказательства обратимости обсуждаемой стадии приведены в конце этого раздела.

Согласно данным ХПЯ БЦ и эксиплекс находятся в состоянии быстрого динамического равновесия (k_5 , $k_{\text{БЕТ}}$). БЦ, также может претерпевать внутреннюю конверсию в триплетное состояние или же релаксировать в основное состояние (k_S). Возбужденное триплетное состояние также релаксирует с константой скорости k_T [82,85].

Поскольку известно, что состояния с переносом заряда зависят от полярности среды, спектры и кинетические кривые флуоресценции были также исследованы в

смесях растворителей различной полярности. На рис. 58. представлены спектры, полученные для (S,S)-NPX-Пур, **2b**. Уменьшение полярности приводит к увеличению интенсивности и квантовых выходов ЛВ напроксена и эксиплекса. Максимум полосы ЛВ остаётся на месте, тогда как максимум полосы эксиплекса смещается в коротковолновую область (врезка на рис. 58.) [90].

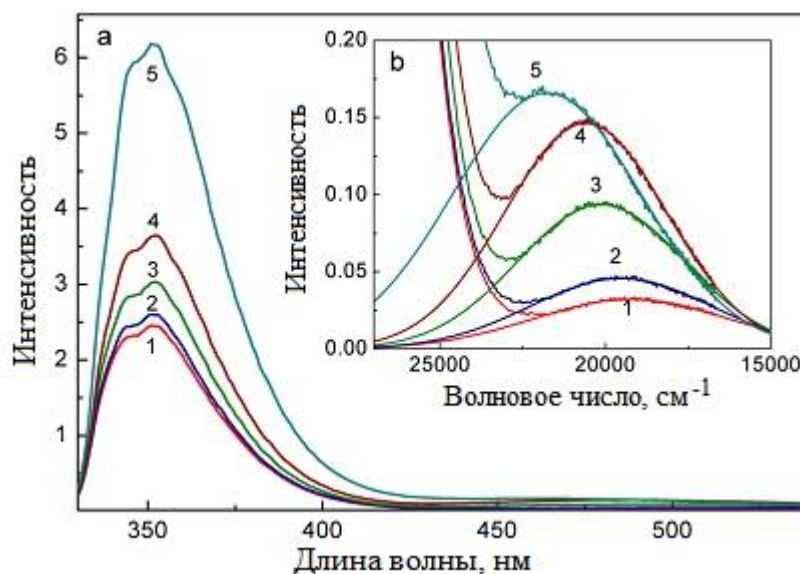


Рис. 58. Спектры испускания (S,S)-NPX-Пур, **2b** диады в смеси ацетонитрил-бензол ($\lambda_{возб}=320$ нм): (1) 100% CH₃CN ($\epsilon=36,8$); (2) 80% CH₃CN ($\epsilon=29,6$); (3) 60% CH₃CN ($\epsilon=21,6$); (4) 40% CH₃CN ($\epsilon=14,5$); (5) 20% CH₃CN ($\epsilon=8,1$) [a]. Аппроксимация полосы эксиплекса функциями Гаусса [b]

Кинетические кривые спада флуоресценции напроксенового фрагмента (350нм, рис. 59) хорошо описывались в рамках биэкспоненциального приближения [90].

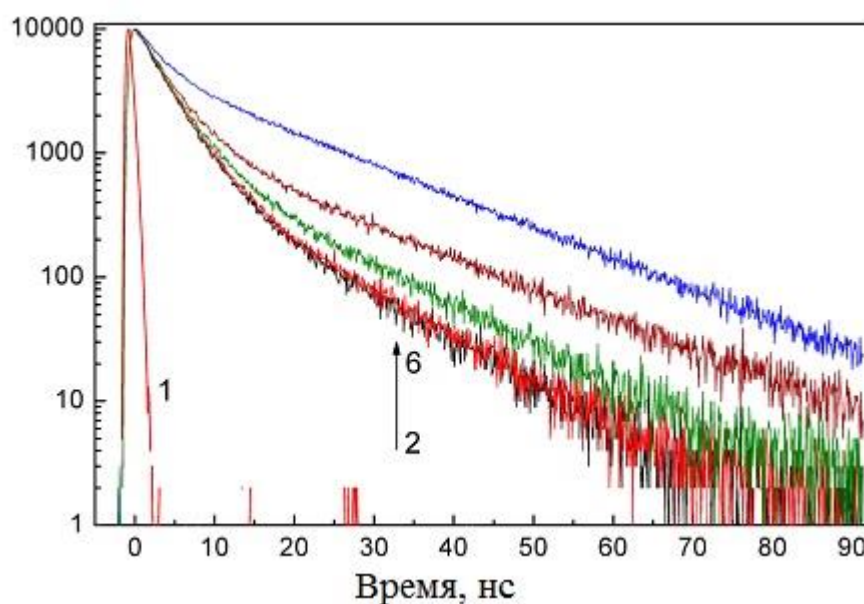


Рис. 59. Кинетические кривые спада флуоресценции на 350нм (S,S)-NPX-Пуг, **2b** диады в смеси ацетонитрил-бензол ($\lambda_{возб}=320\text{нм}$): (1) аппаратная функция; (2) 100% CH_3CN ($\epsilon=36,8$); (3) 80% CH_3CN ($\epsilon=29,6$); (4) 60% CH_3CN ($\epsilon=21,6$); (5) 40% CH_3CN ($\epsilon=14,5$); (6) 20% CH_3CN ($\epsilon=8,1$)

Влияние полярности на квантовые выходы люминесценции для (R,S)- и (S,S)-изомеров диады NPX-Пуг показано в таблице 2 (погрешность измерения квантовых выходов ЛВ составляет $\sim 10\%$, эксиплексов $\sim 20\%$, соответственно, подробнее методика измерения описана в экспериментальной части) [90].

Т а б л и ц а 2

Квантовые выходы и времена жизни люминесценции локального возбужденного состояния диад и эксиплекса в процессе фотооблучения изомеров диады в растворителях с разной диэлектрической проницаемостью среды.

(R,S)-NPX-Пуг								
ЛВ (350нм)						Эксиплекс		
ϵ	$\varphi_{фл}$	$\tau_1/\text{нс}$	$A_1/\%$	$\tau_2/\text{нс}$	$A_2/\%$	$\varphi_{экс}(\lambda_{\text{макс}}/\text{нм})$	$\tau_{\text{роста}}/\text{нс}$	$\tau_{\text{гибели}}/\text{нс}$
36,8	0,11	2,7	82	11,2	18	0,016 (520)	2,4	8,2
29,6	0,15	2,7	81	11,2	19	0,021 (512)	2,4	9,3
21,6	0,14	2,8	73	13,5	27	0,039 (497)	2,6	15,9
14,5	0,18	2,8	58	17,9	42	0,059 (486)	2,6	20,0
8,1	0,28	2,4	17	17,7	83	0,077 (459)	2,1	18,4
(S,S)-NPX-Пуг								
ЛВ (350 нм)						Эксиплекс		
ϵ	$\varphi_{фл}$	$\tau_1/\text{нс}$	$A_1/\%$	$\tau_2/\text{нс}$	$A_2/\%$	$\varphi_{экс}(\lambda_{\text{макс}}/\text{нм})$	$\tau_{\text{роста}}/\text{нс}$	$\tau_{\text{гибели}}/\text{нс}$
36,8	0,14	3,4	78	11,4	22	0,009 (522)	2,9	7,3
29,6	0,15	3,4	76	11,4	24	0,011 (515)	3,1	9,5
21,6	0,18	3,4	70	13,0	30	0,020 (500)	3,3	15,2
14,5	0,22	3,5	59	16,7	41	0,030 (488)	3,3	19,0
8,1	0,36	2,9	21	17,0	79	0,037 (460)	2,7	17,7

С уменьшением полярности растворителя, время жизни соответствующее первой компоненте кинетической кривой ЛВ (τ_1) остаётся практически без изменения, однако ее вклад (A_1) в общую интенсивность полосы с максимумом на 350нм уменьшается с $\sim 80\%$ ($\epsilon=36,8$, ацетонитрил) до $\sim 20\%$ ($\epsilon=8,1$, 20% ацетонитрил+80% бензол). С другой стороны, значение предэкспоненциального фактора для второй компоненты (A_2) и ее соответствующее время (τ_2) увеличиваются с уменьшением полярности. Таким образом, увеличение квантового выхода флуоресценции ЛВ связано с большим вкладом второй компоненты (A_2). Время появления эксиплекса ($\tau_{\text{роста}}$) оказалось независимым от

полярности среды и близким по значению к τ_1 , тогда как значение времени гибели эксиплекса ($\tau_{гибели}$) значительно больше, чем $\tau_{роста}$ (табл. 2., рис. 60.) [90].

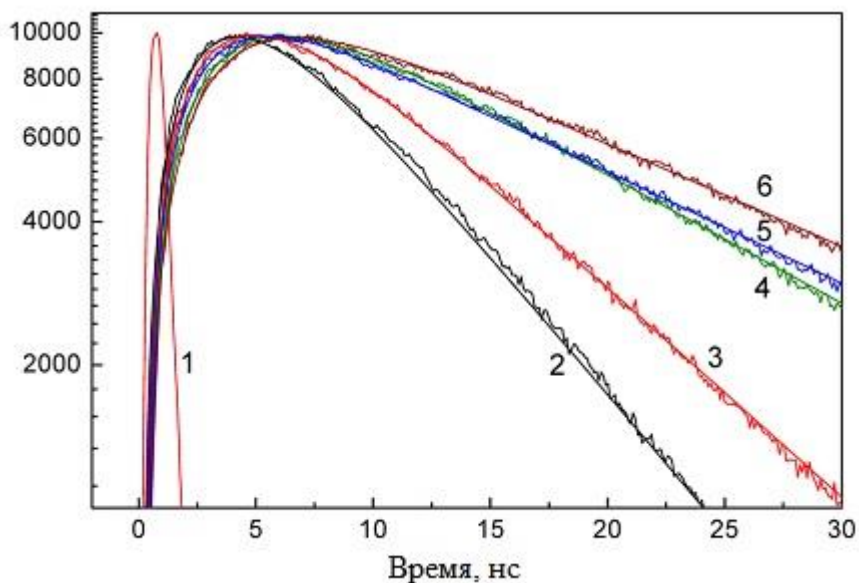


Рис. 60. Кинетические кривые флуоресценции эксиплекса (S,S)-NPX-Пур диады в смеси ацетонитрил-бензол ($\lambda_{возб}=320\text{нм}$): (1) аппаратная функция; (2) 520нм, 100% CH_3CN ($\epsilon=36,8$); (3) 510 нм, 80% CH_3CN ($\epsilon=29,6$); (4) 500нм, 60% CH_3CN ($\epsilon=21,6$); (5) 490нм, 40% CH_3CN ($\epsilon=14,5$); (6) 470нм, 20% CH_3CN ($\epsilon=8,1$). Сплошными линиями показаны результаты моделирования экспериментальных кривых в рамках предложенной схемы на рис. 57. с константами, указанными в табл. 3.

Для того чтобы объяснить причину биэкспоненциальности кинетических кривых флуоресценции диады и описать кинетические кривые ЛВ и эксиплекса в растворах с различной полярностью в рамках одной схемы, была проанализирована упрощенная версия кинетической схемы на рис. 57. Основной отличительной чертой упрощенной схемы являлось отсутствие стадии обратного переноса электрона из БЦ в эксиплекс (а также не учитывались стадии внутренних конверсий в триплетное состояние). Равновесие между БЦ и эксиплексом учитывалось путём варьирования величины константы скорости k_5 [90].

Решение системы дифференциальных уравнений показывает, что в рамках упрощенной схемы кинетические кривые флуоресценции $^1\text{NPX}^*\text{-Pyr}$ ($N_1(t)$) и эксиплекса ($N_2(t)$) определяются следующими выражениями [90]:

$$N_1(t) = A_1 e^{-k_{\text{набл}}^{\text{быстрая}}} + A_2 e^{-k_{\text{набл}}^{\text{медленная}}} \quad (4)$$

$$N_2(t) = A_3 (e^{-k_{\text{набл}}^{\text{быстрая}}} - e^{-k_{\text{набл}}^{\text{медленная}}}), \quad (5)$$

где

$$k_{\text{набл}}^{\text{быстрая}} = \frac{1}{2} [(k_1 + k_2 + k_3 + k_4 + k_5) + \sqrt{(k_1 + k_2 - k_3 - k_4 - k_5)^2 + 4k_2k_3}] \quad (6)$$

и

$$k_{\text{набл}}^{\text{медленная}} = \frac{1}{2} [(k_1 + k_2 + k_3 + k_4 + k_5) - \sqrt{(k_1 + k_2 - k_3 - k_4 - k_5)^2 + 4k_2k_3}] \quad (7)$$

С другой стороны, численное решение дифференциальных уравнений в рамках упрощенной схемы позволяет рассчитать кинетические кривые флуоресценции ЛВ диады (350нм) и эксиплекса (520–460нм) и сравнить их с экспериментальными кривыми рис. 60. Моделирование осуществлялось при помощи программного обеспечения SPARK, основанного на численном решении системы дифференциальных уравнений методом Рунге-Кутты четвертого порядка [81]. Гибель флуоресценции ЛВ и образование эксиплекса в основном определяются константами k_1 , k_2 и k_3 . Кинетические кривые для эксиплекса определяются суммой констант (k_4+k_5). Численные значения констант, полученные из моделирования, при различных полярностях растворителя для диастереоизомеров диады представлены в табл. 3 [90].

Т а б л и ц а 3

Константы скорости отдельных стадий для тушения люминесценции диастереоизомеров диады NPX-Пур в соответствии с упрощенной схемой в растворителях с различными диэлектрическими постоянными

(R,S)-NPX-Пур					
ϵ	k_1	k_2	k_3	k_4	k_5
8,1	0,78	2,0	1,6	0,10	0,23
14,5	0,78	2,5	0,31	0,03	0,44
21,6	0,78	2,6	0,20	0,03	0,59
29,6	0,78	2,6	0,16	0,03	1,1
36,8	0,78	2,6	0,17	0,03	1,3
(S,S)-NPX-Пур					
ϵ	k_1	k_2	k_3	k_4	k_5
8,1	0,78	1,2	1,0	0,04	0,34
14,5	0,78	1,8	0,30	0,02	0,49
21,6	0,78	1,8	0,28	0,02	1,1

29,6	0,78	1,8	0,23	0,02	1,2
36,8	0,78	2,0	0,26	0,02	1,6

Примечание: k_i (с^{-1}), указанные в таблице следует умножать на 10^8

Квантовые выходы люминисценции ЛВ ($\varphi_{\text{фл}}$) и эксиплекса ($\varphi_{\text{экс}}$) также можно выразить через константы скорости [90]:

$$\varphi_{\text{фл}} = \varphi_{\text{фл}}^0 \frac{k_1}{k_1 + k_2 - \frac{k_2 k_3}{k_3 + k_4 + k_5}} \quad (8)$$

$$\varphi_{\text{экс}} = \varphi_{\text{фл}} \frac{k_{\text{изл}}^{\text{экс}}}{k_{\text{изл}}^{\text{ЛВ}}} \times \frac{k_2}{k_3 + k_4 + k_5}, \quad (9)$$

где $\varphi_{\text{фл}}^0 = 0,47$ [67] – квантовый выход флуоресценции свободного напроксена, $k_{\text{изл}}^{\text{ЛВ}}$ и $k_{\text{изл}}^{\text{экс}}$ константы скорости излучательных процессов для ЛВ состояния диады и эксиплекса. Для свободного напроксена $k_{\text{изл}} = 0,37 \cdot 10^8 \text{с}^{-1}$, она может быть рассчитана, используя квантовый выход и время жизни люминесценции (12,8нс) напроксена и квантовый выход триплетного состояния ($\varphi_T = 0,28$) [13].

Экспериментальные данные по квантовым выходам люминесценции ЛВ и эксиплекса диады на табл. 2. можно представить в виде регулярной зависимости от полярности растворителя, это указывает на то, что стадия переноса заряда играет роль в тушении синглетного возбужденного состояния NPX-Руг диады во всем диапазоне исследуемых полярностей [90]. Этот вывод находится в полном соответствии с результатами, полученными методами ХПЯ.

Время появления ($\tau_{\text{роста}}$) эксиплекса слабо зависит от полярности среды, однако имеет место уменьшение величины времен гибели эксиплекса с ростом полярности среды табл. 2. В литературе последнее обычно связывают с наличием равновесия между эксиплексом и ИРП (а в нашем случае БЦ) [91,92]. Выше было отмечено, что время роста люминесценции эксиплекса ($\tau_{\text{роста}}$) близко по значению к короткой компоненте люминесценции ЛВ диады (τ_I) табл. 2. Так, очень короткое время появления полосы эксиплекса вместе со слабой зависимостью этого времени от полярности подтверждает предположение о том, что эксиплекс образуется преимущественно из ЛВ состояния диады [90].

Кроме того, обсуждаемые времена и величины квантовых выходов отличаются для (R,S) и (S,S)-диастереомеров [90]. Обнаруженные отличия (стереодифференциация) будут подробно обсуждены в главе 5, разделе 5.1.

4.2. Связанные системы с гибким NPX-AA-Pyr и жёстким NPX-CyAA-Pyr мостиками

У диад с модифицированными мостиками NPX-AA-Pyr, **3(a,b)** и NPX-CyAA-Pyr, **4(a,b)** такие же спектры поглощения, что и у диады NPX-Pyr, **2(a,b)** см. рис. 54., также не наблюдается различия в коэффициентах экстинкции для диастереомеров. Спектры флуоресценции для всех диастереомеров диад **3** и **4** в ацетонитриле представлены на рис. 61. (для сравнения там также представлен NPX, **1**) [18].

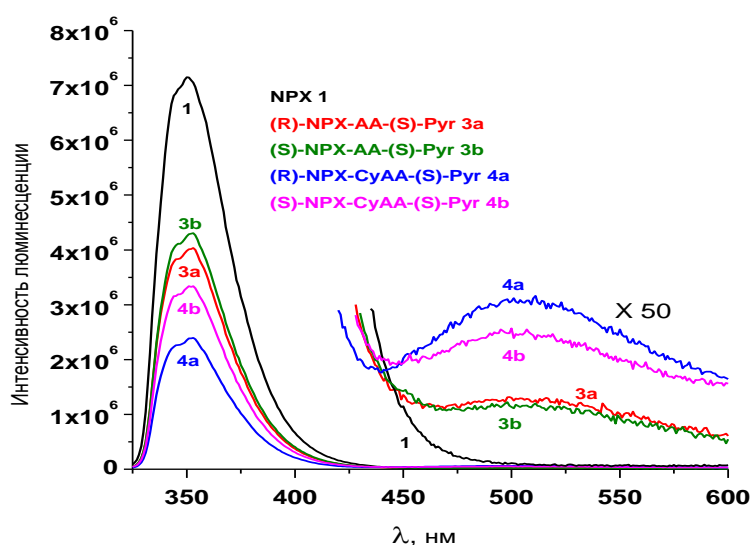


Рис. 61. Спектры флуоресценции **1**, **3(a,b)** и **4(a,b)** в ацетонитриле ($\lambda_{возб}=320\text{nm}$), концентрация $\sim 10^{-5}\text{M}$.
На врезке показан увеличенный фрагмент спектра в длинноволновой области ($\lambda > 420\text{ nm}$),
увеличенный в 50 раз

Эти спектры похожи на спектры предшественника NPX, но содержат полосу эксиплекса в длинноволновой области спектра. Его концентрация в растворе также как и положение максимума полосы в спектре флуоресценции зависят от полярности среды. Следует отметить, что квантовые выходы флуоресценции для локального возбужденного состояния диады **3(a,b)** с гибким мостиком выше значений, полученных для диады **4(a,b)** с жёстким. Более того, полоса эксиплекса для **3(a,b)** намного меньше чем для **4(a,b)** [18].

Характерные кинетические кривые флуоресценции для ЛВ состояния и эксиплекса показаны на рис. 62 [18].

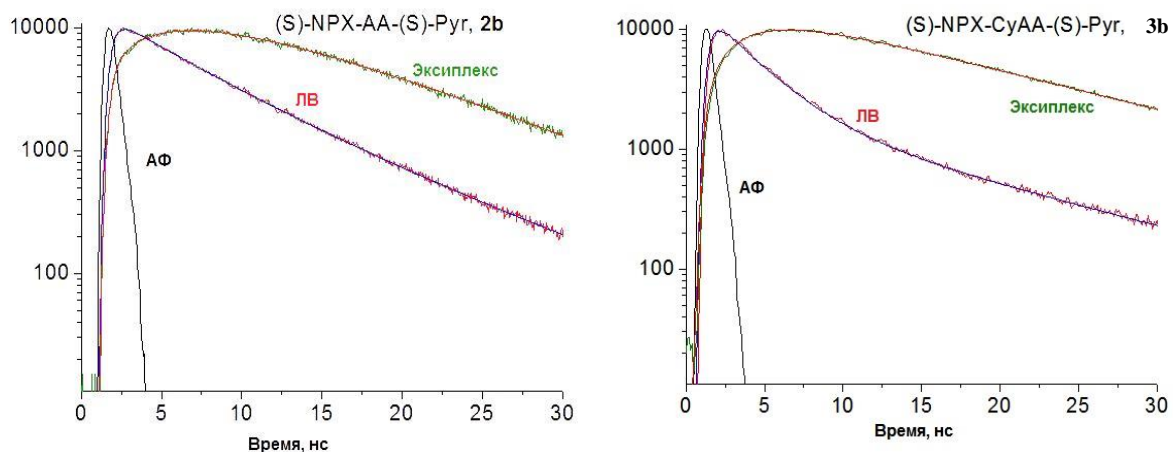


Рис. 62. Кинетические кривые флуоресценции диад (S)-NPX-AA-(S)-Pyr (2б, слева) и (S)-NPX-CyAA-(S)-Pyr (3б, справа) на 351 и 500нм ($\lambda_{возб}=320$ нм) в смеси ацетонитрил-бензол ($\epsilon=21,6$).

АФ – аппаратная функция

Оба диастереомера диад **3** и **4** демонстрируют биэкспоненциальные кинетические кривые и для ЛВ состояния, и для эксиплекса. Кинетическим кривым ЛВ состояния соответствуют два времени гибели люминесценции (τ_1 и τ_2), эксиплекса – времена появления и гибели люминесценции ($\tau_{роста}$ и $\tau_{гибели}$). Зависимость времен жизни флуоресценции от полярности среды представлена на рис. 63. (для диады **3** и **4**) [18].

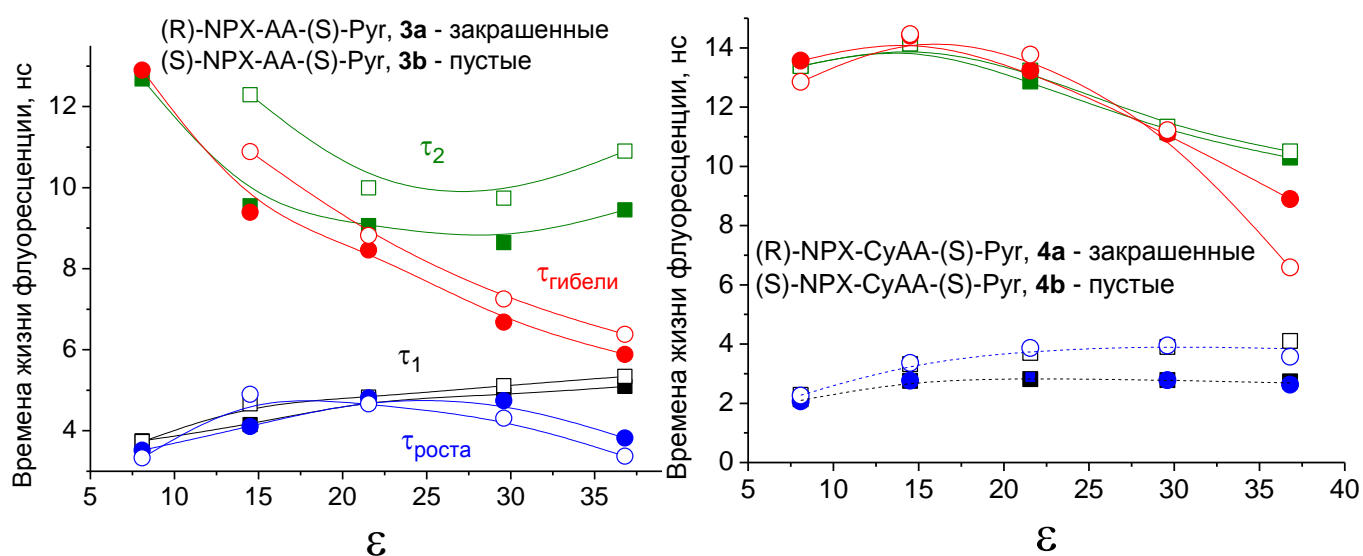


Рис. 63. Зависимость времен жизни флуоресценции от полярности среды для NPX-AA-Pyr (**3**, слева) и NPX-CyAA-Pyr (**4**, справа): ЛВ – квадраты (τ_1 , τ_2) и эксиплекса – круги ($\tau_{роста}$, $\tau_{гибели}$).

Из рис. 63. видно, с одной стороны, определённую взаимосвязь между величинами времени гибели эксиплекса ($\tau_{гибели}$) и длинным временем гибели ЛВ (τ_2) и, с другой стороны, между временем образования эксиплекса ($\tau_{поста}$) и коротким временем гибели ЛВ (τ_2) (табл. 4). Эти данные указывают существование определенной связи между процессами образования и гибели эксиплекса и ЛВ состояния [18].

В табл. 4 (см. следующую страницу) сведены все экспериментальные данные по флуоресценции диад (R)-/(S)-NPX-AA-(S)-Pyr, **3(a,b)** и (R)-/(S)-NPX-CyAA-(S)-Pyr, **4(a,b)** [18].

**Квантовые выходы и времена жизни люминесценции локального
возбужденного состояния диад (ЛВ) и эксиплекса в процессе фотооблучения
изомеров диад 3(a,b) и 4(a,b) в разной полярности среды**

(R)-NPX-AA-(S)-Pyr, 3a								
	ЛВ (350 нм)					Эксиплекс		
ε	$\varphi_{ЛВ}$	$\tau_1/нс$	$A_1/\%$	$\tau_2/нс$	$A_2/\%$	$\varphi_{экс}(\lambda_{макс}/нм)$	$\tau_{роста}/нс$	$\tau_{гибели}/нс$
36,8	0,26±0,01	5,1	78	9,5	22	0,005±0,001 (502)	3,8	5,9
29,6	0,30±0,02	4,9	51	8,6	39	0,007±0,001 (496)	4,7	6,7
21,6	0,31±0,02	4,8	51	9,1	49	0,010±0,001 (488)	4,8	8,5
14,5	0,33±0,02	4,2	40	9,6	60	0,013±0,001 (479)	4,1	9,4
8,1	0,43±0,04	3,8	16	12,7	84	0,012±0,002 (455)	3,5	12,9
(S)-NPX-AA-(S)-Pyr, 3b								
	ЛВ (350 нм)					Эксиплекс		
ε	$\varphi_{ЛВ}$	$\tau_1/нс$	$A_1/\%$	$\tau_2/нс$	$A_2/\%$	$\varphi_{экс}(\lambda_{макс}/нм)$	$\tau_{роста}/нс$	$\tau_{гибели}/нс$
36,8	0,28±0,01	5,3	73	10,9	27	0,004±0,001 (500)	3,4	6,4
29,6	0,32±0,02	5,1	58	9,7	42	0,007±0,001 (493)	4,3	7,3
21,6	0,36±0,02	4,8	44	10,0	56	0,009±0,001 (486)	4,7	8,8
14,5	0,43±0,02	4,7	33	12,3	67	0,013±0,001 (475)	4,9	10,9
8,1	0,54±0,08	3,7	12	(12,1)	88	0,012±0,002 (453)	3,3	(11,8)
(R)-NPX-CyAA-(S)-Pyr, 4a								
	ЛВ (350 нм)					Эксиплекс		
ε	$\varphi_{ЛВ}$	$\tau_1/нс$	$A_1/\%$	$\tau_2/нс$	$A_2/\%$	$\varphi_{экс}(\lambda_{макс}/нм)$	$\tau_{роста}/нс$	$\tau_{гибели}/нс$
36,8	0,17±0,01	2,7	75	10,3	25	0,013±0,001 (506)	2,6	8,9
29,6	0,19±0,01	2,8	66	11,1	34	0,019±0,002 (496)	2,8	11,1
21,6	0,24±0,01	2,8	53	12,9	47	0,025±0,003 (489)	2,9	13,2
14,5	0,33±0,02	2,8	36	14,1	64	0,031±0,003 (476)	2,8	14,4
8,1	0,50±0,05	2,1	11	13,4	89	0,025±0,002 (455)	2,1	13,6
(S)-NPX-CyAA-(S)-Pyr, 4b								
	ЛВ (350 нм)					Эксиплекс		
ε	$\varphi_{ЛВ}$	$\tau_1/нс$	$A_1/\%$	$\tau_2/нс$	$A_2/\%$	$\varphi_{экс}(\lambda_{макс}/нм)$	$\tau_{роста}/нс$	$\tau_{гибели}/нс$
36,8	0,23±0,01	4,1	70	10,5	30	0,011±0,001 (500)	3,6	6,6
29,6	0,26±0,01	3,9	60	11,3	40	0,015±0,001 (494)	4,0	11,2
21,6	0,31±0,02	3,7	45	13,2	55	0,022±0,002 (485)	3,9	13,8
14,5	0,43±0,02	3,3	26	14,1	74	0,025±0,003 (472)	3,4	14,5
8,1	0,55±0,08	2,3	6	13,4	94	0,018±0,002 (442)	2,3	12,9

Все эти представления и легли в основу общей схемы процессов, происходящих при УФ-облучении всех диад рис. 64 [18].

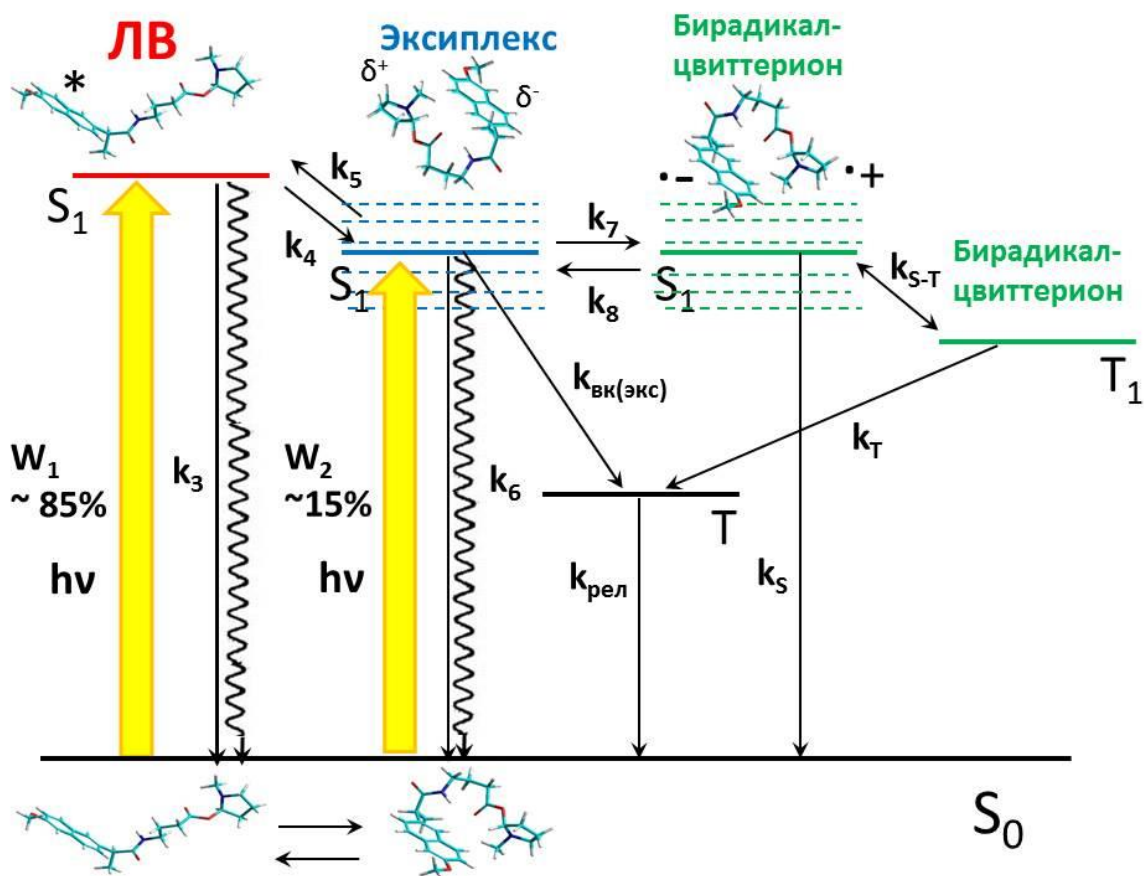


Рис. 64. Схема процессов, происходящих при фотооблучении исследуемых диад, содержащих (R)-/(S)-NPX и (S)-N-метилпирролидин в растворе

Схема объединяет в себе все процессы, происходящие при тушении возбужденного хромофора диады в присутствии донора электронов. В данной схеме W_1 и W_2 представляют переходы диады в различных конформациях (скрученной и развернутой) в возбужденные состояния. Первый путь (W_1) это образование локального возбужденного состояния (ЛВ) из развернутой конформации, тогда как эксиплекс, в свою очередь, образуется из скрученной конформации (W_2). При математическом моделировании кинетических кривых k_1 и k_2 отражали долю различных конформаций, участвующих в реакции (около 0,8 и 0,2, соответственно) [18].

Заметим, что эта схема на рис. 64. отличается от схемы, предложенной в предыдущем разделе для диады NPX-Pyr, **2** с коротким мостиком. В предыдущей схеме на рис. 57. эксиплекс образовывался только из ЛВ состояния [90]. Однако, в этом случае для диад **3** и **4** передний фронт кинетических кривых эксиплекса удовлетворительно описать не удастся. Передний фронт описывается, только если предположить параллельное образование эксиплекса из ЛВ состояния и его непосредственное

образование, как это представлено в схеме на рис. 64 [18]. Это заставило нас предположить существование как минимум двух термодинамически стабильных геометрических конформаций молекул диад с разными энергиями [86, 93, 94].

Как и в ранее рассмотренной схеме эксиплекс находится в быстром динамическом равновесии с ЛВ состоянием (k_4 , k_5) и с БЦ (k_7 , k_8). ЛВ состояние и эксиплекс излучают с константами скорости k_3 и k_8 , соответственно. БЦ может быть в синглетном и триплетном изоэнергетических спиновых состояниях. При этом под влиянием магнитных взаимодействий в парамагнитных центрах БЦ происходит спиновая конверсия (k_{S-T}). Обратный перенос электрона из обоих спиновых состояний БЦ приводит к образованию исходной диады в основном синглетном и триплетном возбужденном состоянии с константами скорости k_5 и k_7 . Возбужденное триплетное состояние релаксирует в основное синглетное состояние молекулы со временем релаксации ($k_{рел}$). Эксиплекс, в свою очередь, претерпевает внутреннюю конверсию с константой скорости $k_{вк(экс)}$. Пунктирными линиями на рис. 64. изображена зависимость положения энергетических уровней БЦ и эксиплекса от диэлектрической проницаемости среды (также это отображено на рис. 52.) [18,85].

Кинетические кривые для диад **3** и **4** были проанализированы таким же образом, как и для диады **2** в предыдущем разделе. Следует отметить, что диада **2** также может быть описана в рамках данной схемы рис. 64. Полученные константы скорости, относящиеся к процессам тушения возбужденного состояния диад показаны в табл. 5 (см. следующую страницу) [18].

Рассчитанные константы скорости для стадий процесса, отображенного на рис. 64, при различных значениях полярности среды для диад 3 и 4

(R)-NPX-AA-(S)-Pyr, 3a						(R)-NPX-CyAA-(S)-Pyr, 4a					
ε	k_3	k_4	k_5	k_6	k_7	ε	k_3	k_4	k_5	k_6	k_7
8,08	0,15	1,5	0,68	0,40	0,9	8,08	0,13	2,0	0,93	0,67	0,53
14,5	0,15	1,5	0,10	0,40	1,1	14,5	0,13	2,7	0,45	0,30	0,53
21,6	0,15	1,5	0,07	0,40	1,1	21,6	0,13	2,9	0,29	0,30	0,54
29,6	0,15	1,6	0,03	0,40	1,6	29,6	0,13	3,0	0,15	0,30	0,70
36,8	0,15	1,6	0,03	0,40	2,5	36,8	0,13	3,1	0,12	0,30	0,92
(S)-NPX-AA-(S)-Pyr, 3b						(S)-NPX-CyAA-(S)-Pyr, 4b					
ε	k_3	k_4	k_5	k_6	k_7	ε	k_3	k_4	k_5	k_6	k_7
8,08	0,15	1,2	0,42	0,63	1,0	8,08	0,13	1,5	0,90	0,95	0,58
14,5	0,15	1,4	0,25	0,40	1,0	14,5	0,13	1,8	0,40	0,30	0,58
21,6	0,15	1,4	0,10	0,40	1,2	21,6	0,13	1,9	0,22	0,30	0,58
29,6	0,15	1,4	0,03	0,40	1,8	29,6	0,13	2,0	0,17	0,30	0,70
36,8	0,15	1,5	0,03	0,40	2,5	36,8	0,13	2,1	0,15	0,30	1,6

Примечание: k_i (c^{-1}), указанные в таблице следует умножать на 10^8 .

Таким образом, диады с жёстким и гибким мостиками также демонстрируют образование эксиплекса и различия между (R,S)- и (S,S)-диастереомерами, которые зависят от диэлектрической проницаемости среды [18]. Эти различия подробно обсуждаются в следующей главе.

Глава 5. Стереодифференциация в диадах, содержащих оптические изомеры напроксена

5.1. Результаты

Анализ табл. 3 и 5 позволил проследить различия между диастереоизомерами исследуемых диад. Так, наибольшая разница значений полученных констант скорости относится к переносу электрона: k_4 , k_7 , в последнем случае эффект наблюдается только в полярных средах. Константа k_4 больше для всех (R,S)-диастереомеров диад рис. 65., тогда как в случае с k_5 не наблюдается систематической зависимости. Константа скорости k_7 , соответствующая процессу превращения эксиплекса в бирадикал цвиттер-ион (БЦ), показывает более выраженную зависимость от полярности среды чем от оптической конфигурации [18,90].

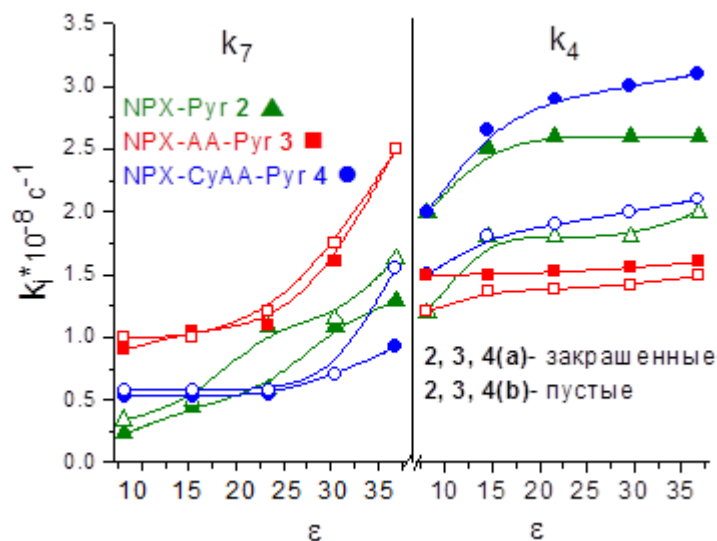


Рис. 65. Корреляция между константами скорости k_4 (переход из ЛВ в эксиплекс), k_7 (переход из эксиплекса в БЦ) и полярностью среды для всех исследуемых диад

Зависимость квантовых выходов флуоресценции от полярности среды для ЛВ состояния ($\varphi_{ЛВ}$) и эксиплекса ($\varphi_{экс}$) для обеих диад **3(a,b)** и **4(a,b)** представлена на рис. 66. (для сравнения еще представлена диада **2(a,b)**) [18,90].

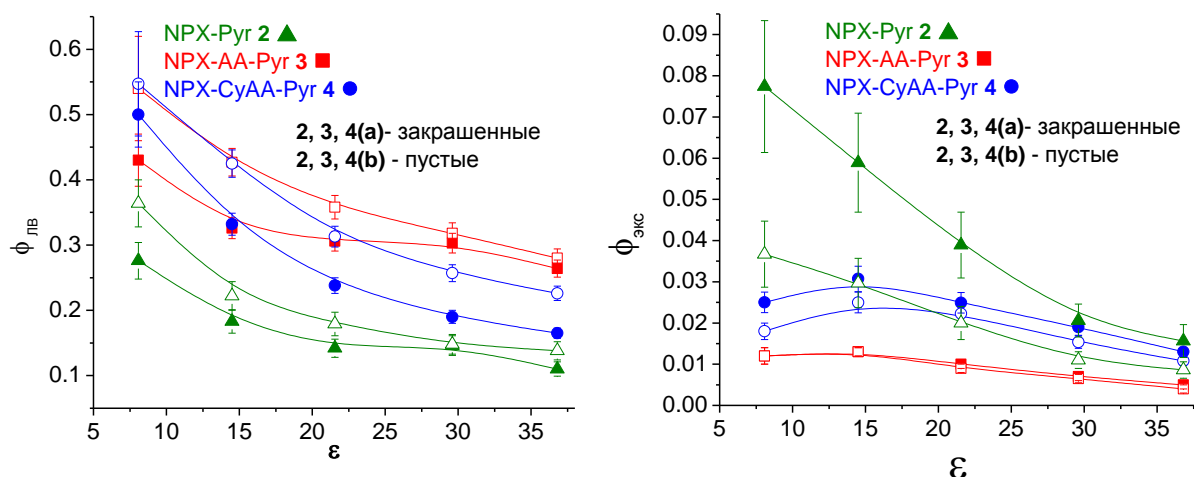


Рис. 66. Зависимость квантовых выходов флуоресценции (локального возбужденного состояния, $\phi_{ЛВ}$ – слева; эксиплекса, $\phi_{экс}$ – справа) от полярности среды для диад **2(a,b)**, **3(a,b)** и **4(a,b)**.

Эти величины были получены, используя данные по NPX в ацетонитриле ($\rho=0,47$), в качестве стандарта

Анализ зависимостей квантовых выходов флуоресценции ЛВ и эксиплекса от полярности среды показал, что (R,S)-диастереомеры более склонны к процессам с переносом заряда, поскольку константы скорости образования эксиплекса и его квантовые выходы имеют большие значения, чем для (S,S)-изомеров. Что касается (S)-NPX, совместный анализ квантовых выходов флуоресценции эксиплекса и соответствующих констант скорости указывает на то, что в этом случае эксиплекс должен слегка медленнее образовываться и быстрее гибнуть. Последнее отражают меньшие значения $\phi_{экс}$ и большие значения $\phi_{ЛВ}$ для диад, содержащих (S)-NPX. Сравнение квантовых выходов флуоресценции всех диад показывает, что степень стереодифференциации зависит и от длины и от структуры мостика. Так, $\phi_{экс}$ для (R,S)- и (S,S)-диастереомеров отличается больше всего для диады с коротким мостиком NPX-Pyr, и меньше всего для диады NPX-AA-Pyr с гибким мостиком. Тогда как диада NPX-CyAA-Pyr с жёстким мостиком показывает стереодифференциацию и $\phi_{экс}$, и $\phi_{ЛВ}$. Разница в значениях для (R,S)- и (S,S)-изомеров зависит от диэлектрической проницаемости среды меньше, чем в других случаях. Это может быть объяснено тем, что вклад состояний с переносом заряда в процесс тушения определяется в большей степени взаимным расположением донора и акцептора, чем эффектами окружения [18,90].

Совместный анализ данных ХПЯ и флуоресценции позволяет проследить за всеми короткоживущими интермедиатами, вовлеченными в процесс тушения

возбужденного состояния хромофора в диадах. Это – локальное возбужденное состояние, эксиплекс, бирадикал цвиттер-ион. Все они в той или иной степени зависят от полярности среды. Однако, только в случае ХПЯ источник этой зависимости полностью понятен; он обусловлен сдвигом равновесия «эксиплекс-БЦ» в сторону последнего с увеличением полярности среды [18,82,85,90].

Интересно посмотреть как квантовые выходы эксиплекса ($\varphi_{\text{экс}}$) и локального возбужденного состояния ($\varphi_{\text{ЛВ}}$) соотносятся с эффективностью ХПЯ при разных полярностях. Анализ этих отношений может помочь идентифицировать основные факторы, которые влияют на квантовые выходы флуоресценции. Эта корреляция между эффективностью ХПЯ для диастереомеров обеих диад и квантовыми выходами флуоресценции в средах различной полярности показана на рис. 67 [18,82,85,90].

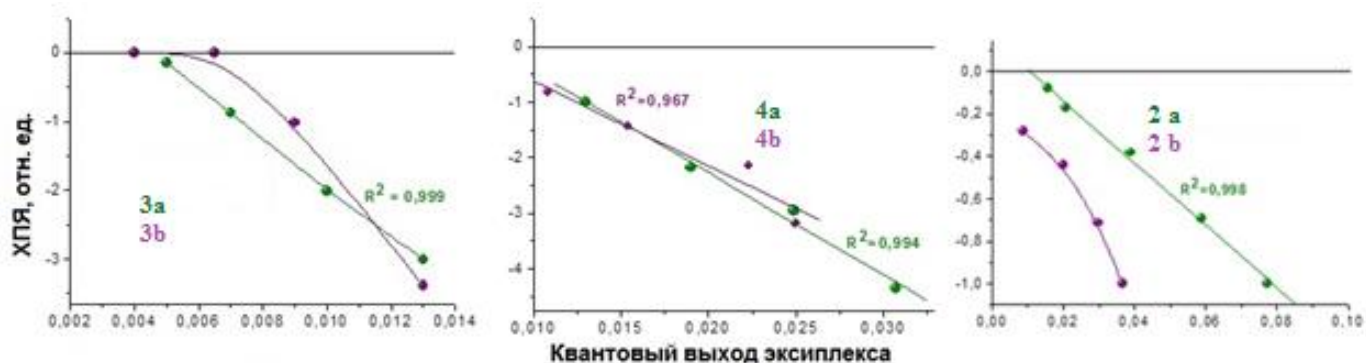


Рис. 67. Корреляция между эффектами ХПЯ и квантовыми выходами флуоресценции эксиплекса для **2** (справа), **3** (слева) и **4** (в центре); (а)-зеленый, (b)-фиолетовый.

Как видно из рис. 67., зависимость практически линейна, особенно для (R,S)-диастереомеров. Это полностью подтверждает предыдущий вывод о том, что с увеличением полярности равновесие сдвигается в сторону БЦ. Эта корреляция позволяет специфицировать различия в свойствах (R,S)- и (S,S)-диастереомеров эксиплексов. Поскольку $\varphi_{\text{экс}}$ для (R,S)-изомеров зависит от эффективности ХПЯ практически линейно, это означает, что состояния с переносом заряда вносят основной вклад в процессы образования и гибели эксиплекса. Понятно, что $\varphi_{\text{экс}}$ (S,S)-диастереомеров, которые не демонстрируют линейную зависимость, зависят не только от процессов 4 и 7, но также и от 5 процесса [18].

С другой стороны, анализ биэкспоненциальных кинетических кривых тушения флуоресценции ЛВ состояния демонстрирует, что эксиплекс также вносит вклад в этот процесс: один из каналов гибели эксиплекса это его обратный переход в ЛВ состояние

рис. 64. Однако зависимость между $\phi_{ЛВ}$ и ХПЯ (не показана), далека от линейности. Последнее означает, что кроме обратного перехода эксиплекса в ЛВ состояние, в тушения флуоресценции вносят вклад другие процессы, менее чувствительные к полярности среды [18].

Для оценки правильности вышеизложенных заключений, а также предложенной схемы процесса тушения возбуждения НРХ донором электрона в диадах была проведена проверка независимым методом: рассчитаны зависимости эффективности ХПЯ от диэлектрической проницаемости среды в рамках предложенной схемы с использованием констант скоростей отдельных стадий, полученных из данных по флуоресценции диад (результаты приведены в табл. 5.) [18].

Расчет выполнен Сосновским Д.В. в приближении матрицы плотности для получения выражений для заселенностей синглетного и триплетного состояний БЦ, эксиплекса, а также локального возбужденного состояния НРХ. Решение дифференциальных уравнений для элементов матрицы плотности с использованием преобразований Лапласа и функции Грина выполнено в рамках следующих приближений. П.А. Пуртовым и Д.В. Сосновским была разработана трехуровневая модель ограниченного диффузионного движения радикальных центров БЦ в кулоновском поле [18]. В рамках этой модели радикальные центры, которые не могут сойтись на расстояние ближе, чем реакционный радиус, и разойтись на расстояние большее, чем длина связи – оказываются в пространстве, разделенном на три зоны. Это тонкая реакционная зона со временем пребывания t_1 , зона возврата, где t_2 в 10 -100 раз больше чем t_1 , и зона невозврата t_c . Каждой зоне соответствует свой энергетический уровень с барьером для перехода равным $\frac{e^2}{r\epsilon}$.

Решения получены в следующих приближениях [18]:

- приближение бесконечного обменного взаимодействия (J) на контакте (при $J \rightarrow \infty$, его воздействие на спиновую эволюцию учитывается через оператор \hat{R} : $\hat{U} = \hat{R} + iJ$);
- приближение слабосвязанной диады (спин–спиновое взаимодействие между партнерами диады пренебрежимо мало);
- приближение одного ядра (расчет проводится для одноядерной модели, со спином $\frac{1}{2}$ и утроенной константой СТВ для метильной группы пирролидинового фрагмента);
- константа рекомбинации из синглетного состояния БЦ в два раза больше, чем из триплетного;

- принимается, что в слабополярной среде константа скорости перехода в реакционную зону ($1/t_2$) велика из-за кулоновского взаимодействия, в сильнополярной среде эта величина мала: $t_1 \approx t_2$;
- приближение квазистационарного движения (рассматривается спиновая эволюция на длительных временах и стационарная ХПЯ);
- приближение локального движения (один парамагнитный центр неподвижен, второй движется преимущественно вблизи реакционной зоны).

Как видно из рис. 53., рассчитанные зависимости удовлетворительно согласуются с экспериментальными, за исключением области высоких полярностей. Поскольку известно [84], что заряженные частицы ведут себя в средах высокой полярности как нейтральные, можно заключить, что модель движения в кулоновском поле не совсем адекватно описывает спиновую и молекулярную динамику в этой области [18].

Следует также обратить внимание на то, что кроме независимого подтверждения правильности предложенной схемы, которое демонстрирует расчет эффективности ХПЯ в средах различной полярности, расчет показывает небольшое различие между эффектами ХПЯ (R,S)- и (S,S)-диастереомеров [18].

Между тем, именно область высоких полярностей, где вклад в ХПЯ от эксиплекса минимален, представляет особый интерес для сравнения эффектов ХПЯ оптических изомеров. В диссертации сделана попытка сравнить наблюдаемые коэффициенты ХПЯ диастереомеров жесткой диады в ацетонитриле, измерив их в одном эксперименте. Были приготовлены образцы растворов, содержащих (R,S)- и (S,S)-диастереомеры диады **4** в разном концентрационном соотношении см. табл. 6.

Т а б л и ц а 6

**Соотношения интегральных интенсивностей сигналов N-CH₃
в стационарном и поляризованном спектрах ЯМР**

Соотношение RS/SS до облучения	2,35	2,06	1,45	0,97	0,67	0,41
Соотношение RS/SS в спектре ХПЯ	3,98	3,56	2,79	1,26	1,11	0,57

Далее измерялись соотношения интенсивностей метильных протонов пирролидинового фрагмента обоих диастереомеров в стационарных спектрах и в

спектрах записанных при УФ облучении, это удалось сделать благодаря отличиям в химических сдвигах N-CH₃ протонов диады **4** рис. 68.

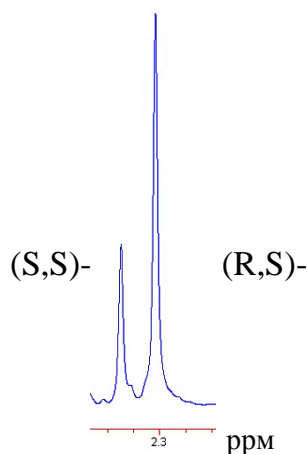


Рис. 68. Фрагмент стационарного спектра ЯМР диады **4** (а–справа, б–слева)

Спектры ХПЯ записывались как в квазистационарном варианте (32 накопления), так и с временным разрешением (16 накоплений) с нулевой задержкой между импульсами. Таким образом, был получен наблюдаемый коэффициент усиления ХПЯ $1,6 \pm 0,3$. Следует подчеркнуть, что диастереомеры этой диады имеют отличающиеся химические сдвиги метильных протонов пирролидинового фрагмента, и практически одинаковые коэффициенты экстинкции ($\epsilon_{308}(\text{R,S})=836 \pm 1 \text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$, $\epsilon_{308}(\text{S,S})=839 \pm 9 \text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$) [18]. Эти обстоятельства позволяют считать, что отношения интенсивностей, измеренные в спектрах ХПЯ и до (или после) облучения действительно отражают различия в наблюдаемых коэффициентах усиления для (R,S)- и (S,S)-диастереоизомеров рис. 53 [18]. По нашим данным это первое наблюдение различий в эффектах ХПЯ диастереомеров, но оно представляется вполне закономерным, если принять во внимание, что аналогичные различия для констант СТВ известны в литературе [95]. Оригинальным моментом здесь может быть то, что отличия обнаружены для продуктов рекомбинации короткоживущих бирадикалов диастереомеров, тогда как в литературе исследовались в основном стабильные радикалы или свободные радикалы при низких температурах [96].

Таким образом, можно считать, что проявление различий в константах СТВ и эффектах ХПЯ диастереомеров указывают на различие в электрон-ядерных взаимодействиях в хиральных парамагнитных частицах.

5.2. Сравнение с литературными данными биохимических исследований

Интересно сравнить реакционную способность (R,S)- и (S,S)-диастереомеров диад NPX-Пур, NPX-AA-Пур и NPX-СуAA-Пур в модельных процессах переноса заряда с различиями между активностями (R)- и (S)- NPX в биологических системах. Известно, что только (S)-NPX является ингибитором окисления арахидоновой кислоты [6] (противовоспалительный эффект), но все изомеры производных арилпропионовой кислоты сильные ингибиторы окисления эндоканнабиноидов [7] (анальгетический эффект), также (R)-NPX активнее претерпевает хиральную инверсию [33]. Наши результаты показывают, что квантовые выходы флуоресценции эксиплексов для (R,S)-диастереомеров диад ($\varphi_{\text{экс}}$) больше до 2 раз и константы скоростей образования эксиплекса (k_4) несколько превышают таковые для (S,S)-аналогов (максимальный эффект в полтора раза). Также следует отметить и впервые зарегистрированное различие эффектов ХПЯ для оптических изомеров: для (R,S)- диастереомера диады **4** коэффициент усиления больше в 1,6 раз [18].

Разница между $\varphi_{\text{экс}}$ и k_4 для изомеров позволяет предположить, что вклад процессов с переносом заряда больше для диад, содержащих (R)-NPX. Это предположение также подтверждается линейным отношением между $\varphi_{\text{экс}}$ и эффективностью ХПЯ для (R,S)-диастереомеров, которое полностью определяется равновесием «эксиплекс-бирадикал цвиттер-ион» [18].

В соответствии с этими результатами можно предположить, что (R)-NPX должен быть активнее в метаболизме под действием цитохрома P450, который включает процесс переноса электрона [97]. На самом деле, в процессе окислительного метаболизма в микросомальной фракции цитохрома P450 для (R)-NPX отношение $v_{\text{макс}}/K_M$ больше в 1,3 раза чем для (S)-изомера [98]. Однако, в случае хиральной инверсии NPX-СоА эфиров другими ферментами (АМАСР и др. трансферазы), (R)-изомер демонстрирует во много раз большую активность, чем (S)- [33, 99-101].

Касательно (S)-NPX, известно, что он является слабым обратимым ингибитором ЦОГ-2 [7]. Поскольку мы считаем, что наша модельная реакция переноса заряда может в какой-то мере симулировать процесс донорно-акцепторного связывания лекарства с аминокислотой в активном сайте фермента, меньшие $\varphi_{\text{экс}}$ и большие $\varphi_{\text{ЛВ}}$ для (S,S)-диад согласуются с большей обратимостью связывания (S)-NPX [18]. Отметим, что это заключение соответствует результатам биохимических исследований [7].

Полученные результаты продемонстрировали, что стереодифференциация (R,S)- и (S,S)-диад зависит также от длины и структуры мостика. Относительная близость донора и акцептора приводит к большим различиям в реакционной способности диастереомеров. Последнее указывает на то, что отличия в реакционной способности оптических изомеров могут быть чувствительными к относительному положению партнеров, например, в активных сайтах [18].

Основные результаты и выводы.

1) На основании анализа данных ХПЯ и время-разрешенной флуоресценции установлена полная схема процесса тушения возбуждения энантиомеров NPX хиральным донором (S)-N-метилпирролидином в средах различной полярности.

2) Показано, что фотоиндуцированное взаимодействие включает стадии частичного и полного переноса заряда с образованием следующих короткоживущих интермедиатов: локальное возбужденное состояние энантиомеров NPX, эксиплекс (состояние с частичным переносом заряда) и бирадикал цвиттер-ион (полный перенос заряда).

3) Анализ кинетических кривых тушения флуоресценции и квантовых выходов эксиплекса и локального возбужденного состояния NPX показал существование различий (стереодифференциация) для квантовых выходов и отдельных стадий процесса тушения возбужденного состояния (R,S)- и (S,S)-диастереомеров диад.

4) Степень стереодифференциации зависит от длины и строения мостика, связывающего донор и акцептор электронов, а также от полярности среды.

5) Зарегистрировано отличие в эффектах ХПЯ, возникающих в акте обратного переноса электрона в диастереомерах диад.

Рекомендации, перспективы дальнейшей разработки темы.

Поскольку полученные результаты продемонстрировали заметные различия в фотоиндуцированных процессах с переносом заряда при участии (R)- и (S)-NPX, представляется целесообразным распространить предложенную методику на исследование остальных НПВП. Это представляется актуальным, поскольку результаты биохимических исследований других НПВП, в частности метаболизма под действием цитохрома P450, а также ферментативной хиральной инверсии демонстрируют значительные различия для (R)- и (S)-оптических изомеров. Поскольку, в настоящее время предлагается несколько новых направлений использования НПВП (анальгетическое, противоопухолевое), то полученные данные могут быть полезны для направленного получения препаратов с заданными свойствами.

Список литературы

1. Leffingwell J. C. Chirality & bioactivity I: pharmacology // *Leffingwell Reports*. – 2003. – V. 3. – N. 1. – P. 1-27.
2. Ranade V. V., Somberg J. C. Chiral cardiovascular drugs: an overview // *American Journal of Therapeutics*. – 2005. – V. 12. – N. 5. – P. 439-459.
3. Evans A. M. Enantioselective pharmacodynamics and pharmacokinetics of chiral non-steroidal anti-inflammatory drugs // *European Journal of Clinical Pharmacology*. – 1992. – V. 42. – N. 3. – P. 237-256.
4. Hutt A. J., O'Grady J. Drug chirality: a consideration of the significance of the stereochemistry of antimicrobial agents // *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. – 1996. – V. 37. – N. 1. – P. 7-32.
5. Andersson T. Pharmacokinetics, metabolism and interactions of acid pump inhibitors. Focus on omeprazole, lansoprazole and pantoprazole // *Clinical Pharmacokinetics*. – 1996. – V. 31. – N. 1. – P. 9-28.
6. Duggan K. C., Walters M. J., Musee J., Harp J. M., Kiefer J. R., Oaters J. A., Marnett L. J. Molecular basis for cyclooxygenase inhibition by the non-steroidal anti-inflammatory drug naproxen // *Journal of Biological Chemistry*. – 2010. – V. 285. – N. 45. – P. 34950-34959.
7. Duggan K. C., Hermanson D. J., Musee J., Prusakiewicz J. J., Scheib J. L., Carter B. D., Banerjee S., Oaters J. A., Marnett L. J. (R)-Profens are substrate-selective inhibitors of endocannabinoid oxygenation by COX-2// *Nature Chemical Biology*. – 2011. – V. 7. – N. 11. – P. 803-809.
8. Thurkauf A., Hillery P., Mattson M. V., Jacobson A. E., Rice K. C. Synthesis, pharmacological action, and receptor binding affinity of the enantiomeric 1-(1-phenyl-3-methylcyclohexyl) piperidines // *Journal of Medicinal Chemistry*. – 1988. – V. 31. – N. 8. – P. 1625-1628.
9. Plenge P., Gether U., Rasmussen S. G. Allosteric effects of R- and S-citalopram on the human 5-HT transporter: evidence for distinct high- and low-affinity binding sites // *European Journal of Pharmacology*. – 2007. – V. 567. – N. 1-2. – P. 1-9.
10. Chen F., Larsen M. B., Sanchez C., Wiborg O. The S-enantiomer of (R,S)-citalopram, increases inhibitor binding to the human serotonin transporter by an

- allosteric mechanism. Comparison with other serotonin transporter inhibitors // *European Neuropsychopharmacology*. – 2005. – V. 15. – N. 2. – P. 193-198.
- 11.** Moaddel R., Patel S., Jozwiak K., Yamaguchi R., Ho P. C., Wainer I. W. Enantioselective binding to the human organic cation transporter-1 (hOCT1) determined using an immobilized hOCT1 liquid chromatographic stationary phase // *Chirality*. – 2005. – V. 17. – N. 8. – P. 501-506.
- 12.** Selinsky B. S., Gupta K., Sharkey C. T., Loll P. J. Structural analysis of NSAID binding by prostaglandin H2 synthase: time-dependent and time-independent inhibitors elicit identical enzyme conformations // *Biochemistry*. – 2001. – V. 40. – N. 17. – P. 5172-5180.
- 13.** Rau H. Asymmetric photochemistry in solution // *Chemical Reviews*. – 1983. – V. 83. – N. 5. – P. 535-547.
- 14.** Inoue Y. Asymmetric photochemical reactions in solution // *Chemical Reviews*. – 1992. – V. 92. – N. 5. – P. 741-770.
- 15.** Griesbeck A. G., Meierhenrich U. J. Asymmetric photochemistry and photochirogenesis // *Angewandte Chemie International Edition*. – 2002. – V. 41. – N. 17. – P. 3147-3154.
- 16.** Schleifer K.-J. Correlation of LUMO energies and free energies of binding for a series of nifedipine analogues // *Pharmazie*. – 1999. – V. 54. – N. 11. – P. 804-807.
- 17.** Атауллаханов Ф. И., Жаботинский А. М., Фотоиндуцированное восстановление феррипероксидазы 1. Реакция с никотинамидадениндинкулеотидом. // *Биофизика*. – 1975. – Т. 20. – С. 596-601.
- 18.** Khrantsova E. A., Sosnovsky D. V., Ageeva A. A., Nuin E., Marin M. L., Purto P. A., Borisevich S. S., Khursan S. L., Roth H. D., Miranda M. A., Plyusnin V. F., Leshina T. V. Impact of chirality on the photoinduced charge transfer in linked systems containing naproxen enantiomers // *Physical Chemistry Chemical Physics*. – 2016. – N. 18. – P. 12733-12741.
- 19.** Polyakov N. E., Taraban M. B., Leshina T. V. Photo-CIDNP study of the interaction of tyrosine with nifedipine. An attempt to model the binding between calcium receptor and calcium antagonist nifedipine // *Photochemistry and Photobiology*. – 2004. – V. 80. – N. 3. – P. 565-571.
- 20.** Polyakov N. E., Khan V. K., Taraban M. B., Leshina T. V., Luzina O. A., Salakhutdinov N. F., Tolstikov G. A. Mechanisms of photoinduced electron transfer

- reactions of lappaconitine with aromatic amino acids. Time-resolved CIDNP study // *Organic & Biomolecular Chemistry*. – 2005. – V. 3. – N. 5. – P. 881-885.
21. Vaya I., Lhiaubet-Vallet V., Jimenez M. C., Miranda M. A. Photoactive assemblies of organic compounds and biomolecules: drug–protein supramolecular systems // *Chemical Society Reviews*. – V. 43. – N. 12. – P. 4102-4122.
 22. Chiral drugs: chemistry and biological action / Lin G.-Q., You Q.-D., Cheng J.-F. - / (Wiley, USA), 2011
 23. Piutti A. Cristallographic chimique-surune nouvelle espke d'asparagine // *Comptes Rendus*. – 1886. – V. 103. – P. 134-138.
 24. McConathy J., Owens M. J. Stereochemistry in drug action. Primary care companion // *Journal of Clinical Psychiatry*. – 2003. – V. 5. – P. 70-73.
 25. Bartsch W., Sponer G., Strein K., Müller-Beckmann B., Kling L., Böhm E., Martin U., Borbe H. O. Pharmacological characteristics of the stereoisomers of carvedilol // *European Journal of Clinical Pharmacology*. – 1990. – V. 38. – N. 2. - P. S104-S107.
 26. Drug Stereochemistry: Analytical Methods and Pharmacology / Jozwiak K., Lough W.J., Wainer I. W. - / (CRC Press, USA), 2012.
 27. Textbook of drug design and discovery / Krogsgaard-Larsen P., Liljefors T., Madsen U. - / (Taylor and Francis, USA), 2002.
 28. Hollister L. E., Gillespie H. K., Mechoulam R., Srebnik. M. Human pharmacology of 1S and 1R enantiomers of delta-3-tetrahydrocannabinol // *Psychopharmacology*. – 1987 – V. 92. – N. 4. – P. 505-507.
 29. Salunkhe M. M., Nair R. V. Novel route for the resolution of both enantiomers of dropropizine by using oxime esters and supported lipases of *Pseudomonas cepacia* // *Enzyme and Microbial Technology*. – 2001. – V. 28. – N. 4-5. – P. 333-338.
 30. Brocks, D. R. Drug disposition in three dimensions: an update on stereoselectivity in pharmacokinetics // *Biopharmaceutics & Drug Disposition*. – V. 27. – N. 8. – P. 387-406.
 31. Andersson T., Weidolf L. Stereoselective disposition of proton pump inhibitors // *Clinical Drug Investigation*. – 2008. – V. 28. – N. 5. – P. 263-279.
 32. Bonabello A., Galmozzi M. R., Canaparo R., Isaia G. C., Serpe L., Muntoni E., Zara G. P. Dexibuprofen (S+-isomer ibuprofen) reduces gastric damage and

- improves analgesic and antiinflammatory effects in rodents // *Anesthesia & Analgesia*. – 2003. – V. 97. – N. 2. – P. 402-408.
- 33.** Woodman T. J., Wood P. J., Thompson A. S., Hutchings T. J., Steel G. R., Jiao P., Threadgill M. D., Lloyd M. D. Chiral inversion of 2-arylpropionyl-CoA esters by human α -methylacyl-CoA racemase 1A (P504S)—a potential mechanism for the anti-cancer effects of ibuprofen // *Chemical Communications*. – 2011. – V. 47. – T. 26. – P. 7332-7334.
- 34.** Copeland R. A., Williams J. M., Giannaras J., Nurnberg S., Covington M., Pinto D., Pick S., Trzaskos J. M. Mechanism of selective inhibition of the inducible isoform of prostaglandin G/H synthase // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 1994. – V. 91. – N. 23. - P. 11202-11206.
- 35.** Laponogov I., Sohi M. K., Veselkov D. A., Pan X., Sawhney R., Thompson A. W., McAuley K. E., Fisher L. M., Sanderson M. R. Structural insight into the quinolone-DNA cleavage complex of type IIA topoisomerases // *Nature Structural & Molecular Biology*. – 2009. – V. 16. – N. 6. - P. 667-669.
- 36.** Humphrey G. H., Shapiro M. A., Randinitis E. J., Guttendorf R. J., Brodfuehrer J. I. Pharmacokinetics of clinafloxacin enantiomers in humans // *Journal of Clinical Pharmacology*. – 1999. – V. 39. – N. 11. - P. 1143-1150.
- 37.** Olbe L., Carlsson E., Lindberg P. A proton-pump inhibitor expedition: the case histories of omeprazole and esomeprazole // *Nature Reviews Drug Discovery*. – 2003. – V. 2. – N. 2. - P. 132-139.
- 38.** Roth B. D. The discovery and development of atorvastatin, a potent novel hypolipidemic agent // *Progress in Medicinal Chemistry*. – 2002. – V. 40. – P. 1-22.
- 39.** Garg R., Yusuf S. Overview of randomized trials of angiotensin-converting enzyme inhibitors on mortality and morbidity in patients with heart failure // *The Journal of the American Medical Association*. – 1995. – V. 273. – N. 18. – P. 1450-1456.
- 40.** Chirumamilla R. R., Marchant R., Nigam P. Captopril and its synthesis from chiral intermediates // *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*. – 2001. – V. 76. – N. 2. – P. 123-127.
- 41.** Agranat I., Caner H., Caldwell J. Putting chirality to work: the strategy of chiral switches // *Nature Reviews Drug Discovery*. – 2002. – V. 1. – N. 10. – P. 753-768.

42. Chen C. S., Shieh W. R., Lu P. H., Harriman S., Chen C. Y. Metabolic stereoisomeric inversion of ibuprofen in mammals // *Biochimica et Biophysica Acta - Protein Structure and Molecular Enzymology*. – 1991. – V. 1078. – N. 3. – P. 411-417.
43. Tracy T. S., Hall S. D. Metabolic inversion of (R)-ibuprofen. Epimerization and hydrolysis of ibuprofenyl-coenzyme A // *Drug Metabolism and Disposition*. – 1992. – V. 20. – N. 2. – P. 322-327.
44. Montgomery S. A., Moller H. J. Is the significant superiority of escitalopram compared with other antidepressants clinically relevant? // *International Clinical Psychopharmacology*. – 2009. – V. 24. – N. 3. – P. 111-118.
45. Dent J. Review article: pharmacology of esomeprazole and comparisons with omeprazole // *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*. – 2003. – V. 17. – N. Suppl. 1. – P. 5-9.
46. Landoni M. F., Soraci A. Pharmacology of chiral compounds: 2-arylpropionic acid derivatives // *Current Drug Metabolism*. – 2001. – V. 2. – N. 1. – P. 37-51.
47. Tanner M. E. Understanding nature's strategies for enzyme-catalyzed racemization and epimerization // *Accounts of Chemical Research*. – 2002. – V. 35. – N. 4. – P. 237-246.
48. Ku E. C., Wasvary J. M. Inhibition of prostaglandin synthase by piroprofen. Studies with sheep seminal vesicle enzyme // *Biochimica et Biophysica Acta*. – 1975. – V. 384. – N. 2. – P. 360-368.
49. Evans A. M., Nation R. L., Sansom L. N., Bochner F., Somogyi A. A. Stereoselective plasma protein binding of ibuprofen enantiomers // *European Journal of Clinical Pharmacology*. – 1989. – V. 36. – N. 3. – P. 283-290.
50. Adam W., Arnold M. A., Nau W. M., Pischel U., Saha-Moller Ch. R. Structure-dependent reactivity of oxyfunctionalized acetophenones in the photooxidation of DNA: base oxidation and strand breaks through photolytic radical formation (spin trapping, EPR spectroscopy, transient kinetics) versus photosensitization (electron transfer, hydrogen-atom abstraction) // *Nucleic Acids Research*. – 2001. – V. 29. – N. 24. – P. 4955-4962.
51. Inmaculada A., Neshchadin D., Batchelor S. N., Miranda M. A., Gescheidt G. Examples for biological reactivity involving free radicals followed by CIDNP // *Molecular Physics*. – 2013. – V. 111. – N. 18-19. – P. 2992-2998.

- 52.**Schlotgauer A. A., Petrova S. S., Kruppa A. I., Leshina T. V. Photoinduced interaction of atorvastatin with acetophenone // *Applied Magnetic Resonance*. – 2015. – V. 46. – N. 2. – P. 219-237.
- 53.**Schlotgauer A. A., Klimentiev V. I., Kornievskaya V. S., Polyakov N. E., Stepanov A. A., Vasilevsky S. F., Leshina T. V. Influence of substituents on the lappaconitine acetylenic derivatives photodegradation // *Applied Magnetic Resonance*. – 2015. – V. 46. – N. 5. – P. 559-573.
- 54.**Sankaran N. B., Das A., Samanta A. Interaction between a pyridyl and naphthyl/pyrenyl moiety in covalently linked systems // *Chemical Physics Letters*. – 2002. – V. 351. – N. 1-2. – P. 61-70.
- 55.**Wegner, M., Fischer, H., Koeberg, M., Verhoeven, J. W., Oliver, A. M., Paddon-Row, M. N. Time-resolved CIDNP from photochemically generated radical ion pairs in rigid bichromophoric systems // *Chemical Physics*. – 1999. – V. 242. – N. 2. – P. 227-234.
- 56.**Tkachenko N. V., Tauber A. Y., Hynninen P. H., Sharonov A. Y., Lemmetyinen. Light-induced electron transfer in pyropheophytin-anthraquinone dyads: vectorial charge transfer in Langmuir-Blodgett films // *Journal of Physical Chemistry B*. – 1999. – V. 103. – N. 19. – P. 3657-3665.
- 57.**Osterlind A. Cancer and UV-Radiation // *Pharmacology and Toxicology*. – 1993. – V. 72. – Supplementary 1. – P. 67-68.
- 58.**Bonancia P., Vaya I., Climent M. J., Gustavsson T., Markovitsi D., Jimenez M. C., Miranda M. A. Excited-state interactions in diastereomeric flurbiprofen – thymine dyads // *Journal of Physical Chemistry A*. – 2012. – V. 116. – N. 35. – P.8807-8814.
- 59.**Bargon J CIDNP from geminate recombination of radical-ion pairs in polar solvents // *Journal of the American Chemical Society*. – 1977. – V. 99. – N. 25. – P. 8350-8351.
- 60.**He X. M., Carter D. C. Atomic structure and chemistry of human serum albumin // *Nature*. – 1992. – V. 358. – N. 6383. – P. 209-215.
- 61.**Vaya I., Jimenez M. C., Miranda M. A. Excited-state interactions in flurbiprofen -tryptophan dyads // *Journal of Physical Chemistry B*. – 2007. – V. 111. – N. 31. – P. 9363-9371.
- 62.**Neumann N. J., Holzle E., Plewig G., Schwarz T., Panizzon R. G., Breit R., Ruzicka T., Lehmann P. Photopatch testing: the 12-year experience of the German, Austrian,

- and Swiss photopatch test group // *Journal of the American Academy of Dermatology*. – 2000. – V. 42. – N. 2. – P. 183-192.
- 63.** Abad S., Bosca F., Domingo L. R., Gil S., Pischel U., Miranda M. A. Triplet reactivity and regio-/stereoselectivity in the macrocyclization of diastereomeric ketoprofen–quencher conjugates via remote hydrogen abstractions // *Journal of the American Chemical Society*. – 2007. – V. 129. – N. 23. – P. 7407-7420.
- 64.** Lhiaubet-Vallet V., Belmadoui N., Climent M. J., Miranda M. A. The long-lived triplet excited state of an elongated ketoprofen derivative and its interactions with amino acids and nucleosides // *Journal of Physical Chemistry B*. – 2007. – V. 111. – N. 28. – P. 8277-8282.
- 65.** Lhiaubet-Vallet V., Bosca F., Miranda M. A. Stereodifferentiating drug–biomolecule interactions in the triplet excited state: studies on supramolecular carprofen/protein systems and on carprofen-tryptophan model dyads // *Journal of Physical Chemistry B*. – 2007. – V. 111. – N. 2. – P. 423-431.
- 66.** Vayá, I., Pérez-Ruiz, R., Lhiaubet-Vallet, V., Jiménez, M. C., Miranda, M. A. Drug–protein interactions assessed by fluorescence measurements in the real complexes and in model dyads // *Chemical Physics Letters*. – 2010. – V. 486. – N. 4. – P. 147-153.
- 67.** Pischel U., Abad S., Miranda M. A. Stereoselective fluorescence quenching by photoinduced electron transfer in naphthalene-amine dyads // *Chemical Communications*. – 2003. – V. 9. – P. 1088 -1089.
- 68.** Abad S., Pischel U., Miranda M. A. Wavelength-dependent stereodifferentiation in the fluorescence quenching of asymmetric naphthalene-based dyads by amines // *Journal of Physical Chemistry A*. – 2005. – V. 109. – N. 12. – P. 2711-2717.
- 69.** Vaya I., Jimenez M. C., Miranda M. A. Stereodifferentiation in the fluorescence of naproxen–arginine salts in the solid state // *Tetrahedron: Asymmetry*. – 2005. – V. 16. – P. 2167-2171.
- 70.** Kurumbail, R. G., Stevens, A. M., Gierse, J. K., McDonald, J. J., Stegeman, R. A., Pak, J. Y., Gildehaus D., Miyashiro J. M., Penning T. D., Seibert K., Isakson P. C., Stallings W. C. Structural basis for selective inhibition of cyclooxygenase-2 by anti-inflammatory agents // *Letters to Nature*. – 1996. – V. 384. – N. 19. – P. 644-648.
- 71.** Perez-Ruiz R., Gil S., Miranda M. A. Stereodifferentiation in the photochemical cycloreversion of diastereomeric methoxynaphthalene-oxetane dyads // *Journal of Organic Chemistry*. – 2005. – V. 70. – P. 1376-1381.

72. Jimenez M. C., Pischel U., Miranda M. A. Photoinduced process in naproxen-based chiral dyads // *Journal of Photochemistry and Photobiology C*. – 2007. – V. 8. – P. 128-142.
73. Vaya I., Andreu I., Jimenez M. C., Miranda M. A. Photooxygenation mechanisms in naproxen-amino acid linked systems // *Photochemical & Photobiological Sciences*. – 2014. – V. 13. – N. 2. – P. 224-230.
74. Nuin, E., Sastre, G., Pischel, U., Andreu, I. and Miranda, M. A. Configuration-Dependent Photoinduced Electron Transfer in Diastereomeric Naphthalene-Amino-Naphthalene Triads // *Chemistry- A European Journal*. – 2015. – V. 21. – P. 12940-12946.
75. Closs G. L., Miller R. J. Laser flash photolysis with NMR detection. Submicrosecond time-resolved CIDNP: kinetics of triplet and biradicals // *Journal of the American Chemical Society*. – 1981. – V. 103. – N. 12. – P. 3586-3588.
76. Goetz M. Pseudo steady-state photo-CIDNP measurements // *Chemical Physics Letters*. – 1992. – V. 188. – N. 5-6. – P. 451-456.
77. Cunningham G. P., Vidulich J. A., Kay R. L. Several properties of acetonitrile-water, acetonitrile-methanol, and ethylene carbonate-water systems // *Journal of Chemical & Engineering Data*. – 1967. – V. 12. – N. 3. – P. 336-337.
78. Table of dielectric constants of pure liquids / Mariott A. A., Smith E. R. - / (NBS, USA), 1951.
79. Диэлектрические свойства бинарных растворов / Ахадов Я. Ю. - / (Наука, Россия), 1977.
80. Eaton, D. F. Reference materials for fluorescence measurement // *Pure&Appl.Chem*. – 1988. - Vol. 60. – N 7. – P. 1107-1114.
81. Numerical methods for ordinary differential equations / Butcher J. C.-(Wiley, USA), 2003.
82. Magin I. M., Polyakov N. E., Khramtsova E. A., Kruppa A. I., Tsentalovich Yu. P., Leshina T. V., Miranda M. A., Nuin E., Marin M. L. Spin effects in intramolecular electron transfer in naproxen-N-methylpyrrolidine dyad // *Chemical Physics Letters*. – 2011. – V. 516. – N. 1-3. - P. 51-55.
83. Spin polarization and magnetic field effects in radical / Molin Yu. N., Salikhov K. M., Sagdeev R. Z., Buchachenko A. L. - / (Akademiai Kiado, Hungary), 1984.
84. Electrochemical reactions in nonaqueous systems / Mann C. K., Barnes K. K. - / (M. Dekker, USA), 1970.

- 85.** Magin I. M., Polyakov N. E., Khramtsova E. A., Kruppa A. I., Stepanov A. A., Purtov P. A., Leshina T. V., Tsentalovich Yu. P., Miranda M. A., Nuin E., Marin M. L. Spin chemistry investigation of peculiarities of photoinduced electron transfer in donor–acceptor linked system // *Applied Magnetic Resonance*. – 2011. – V. 41. – N. 2-4. – P. 205-220.
- 86.** Chibisov A. K. Electron transfer in photochemical reactions // *Russian Chemical Reviews*. – 1981. – V. 50. – N. 7. – P. 615-629.
- 87.** Cao H., Fujiwara Y., Haino T., Fukazawa Y., Tung C.-H., Tanimoto Y. Magnetic field effects on intramolecular exciplex fluorescence of chain-linked phenanthrene and N,N-dimethylaniline: influence of chain length, solvent, and temperature // *Bulletin of the Chemical Society of Japan*. – 1996. – V. 69. – N. 10. – P. 2801-2813.
- 88.** Bhattacharya K., Chowhurry M. Environmental and magnetic field effects on exciplex and twisted charge transfer emission // *Chemical Reviews*. – 1993. – V. 93. – N. 1. – P. 507-535.
- 89.** Khramtsova E. A., Plyusnin V. F., Magin I. M., Kruppa A. I., Polyakov N. E., Leshina T. V., Nuin E., Marin M. L., Miranda M. A. Time-resolved fluorescence study of exciplex formation in diastereomeric naproxen–pyrrolidine dyads // *The Journal of Physical Chemistry B*. – 2013. – V. 117. – N. 50. – P. 16206-16211.
- 90.** Werner U., Staerk H. Magnetic field effect in the recombination reaction of radical ion pairs: dependence on solvent dielectric constant // *Journal of Physical Chemistry*. – 1995. – V. 99. – N. 1. – P. 248-256.
- 91.** Beecroft R., Davidson S., Goodwin D., Pratt J. Photo-induced electron transfer reactions: pitfalls and opportunities // *Pure and Applied Chemistry*. – 1982. – V. 54. – N. 9. – P. 1605 – 1621.
- 92.** Azumaya I., Kagechika H., Fujiwara Y., Itoh M., Yamaguchi K., Shudo K. J. Twisted intramolecular charge-transfer fluorescence of aromatic amides: conformation of the amide bonds in the excited states // *Journal of the American Chemical Society*. – 1991. – V. 113. – N. 8. – P. 2833-2838.
- 93.** Olsen S., McKenzie R. H. A two-state model of twisted intramolecular charge-transfer in monomethine dyes // *Journal of Chemical Physics*. – 2012. – V. 137. – P. 164319.
- 94.** Levkin P. A., Kokorin A. I., Schurig V., Kostyanovsky R. G. Solid-state ESR differentiation between racemate versus enantiomer // *Chirality*. – V. 18. – N. 4. – P. 232-238.

95. Schuler P., Schaubert F.-M., Stegmann H. B., Janzen E. Recognition of chirality in nitroxides using EPR and ENDOR spectroscopy // *Magnetic Resonance in Chemistry*. – 1999. – V. 37. – N. 11. – P. 805-813.
96. Miners J. O., Coulter S., Tukey R. H., Veronese M. E., Birkett D. J. Cytochromes P450, 1A2, and 2C9 are responsible for the human hepatic O-demethylation of R- and S-naproxen // *Journal of Biochemical Pharmacology*. – 1996. – V. 51. – N. 8. – P. 1003 – 1008.
97. Sanoh S., Horiguchi A., Sugihara K., Kotake Y., Tayama Y., Uromaru N., Ohshita H., Tateno Ch., Horie T., Kitamura Sh., Ohta Sh. Prediction of in vivo hepatic clearance and half-life of drug candidates in human using chimeric mice with humanized liver // *Drug Metabolism and Disposition*. – 2012. – V. 40. – N. 2. – P. 2267-2272.
98. Sevoz C., Benoit E., Buronfosse T. Thioesterification of 2-arylpropionic acids by recombinant acylcoenzyme A synthetases (ACS1 and ACS2) // *Drug Metabolism and Disposition*. – 2000. – V. 28. – N. 4. – P. 398-402.
99. Knadler M. P., Hall S. D. Stereoselective arylpropionyl-CoA thioester formation in vitro // *Chirality*. – 1990. – V. 2. – N. 2. – P. 67-73.
100. Mouelhi M. El., Ruelius H. W., Fenselau C., Dulik D. M. Species-dependent enantioselective glucuronidation of three 2-arylpropionic acids // *Drug Metabolism and Disposition*. – 1987. – V. 15. – N. 6. – P. 762-772.

Благодарности

Автор выражает благодарность сотрудникам ИХКГ им. В. В. Воеводского СО РАН: научному руководителю д.х.н., профессору Т.В. Лёшиной, сотрудникам лаборатории Магнитных явлений во главе с д.ф.-м.н., профессором П.А. Пуртовым, лаборатории Фотохимии во главе с д.х.н., профессором В. Ф. Плюсниним, а также к.х.н. А.А. Степанову (группа СПАС ИХКГ СО РАН), сотрудникам МТЦ СО РАН: к.ф.-м.н. П.С. Шерину и Д.В. Сосновскому.